

钝顶螺旋藻生物富集 Cr(III) 影响因素的研究

李志勇^{1*} 李元广² 郭祀远¹ 李琳¹ 张嗣良²

(华南理工大学食品与生物工程学院 广州 510641)

(华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室 上海 200237)

摘 要 对钝顶螺旋藻生物富集 Cr(III) 的影响因素进行了研究。发现螺旋藻对 Cr(III) 的生物富集主要经历了快速的吸附和缓慢的吸收两个步骤,化学键较弱的 Cr(III) 化合物具有较高的富集效率;藻细胞浓度一定时,随着 Cr(III) 浓度的增加,单位重量螺旋藻对 Cr(III) 的富集量不断增加,最后趋于饱和;当 Cr(III) 浓度一定时,随着藻细胞浓度的增加,螺旋藻对 Cr(III) 的总富集量逐渐增加而单位重量藻体的富集量减少。研究还证实,螺旋藻干粉比新鲜藻能富集更多的 Cr(III),pH 值是影响 Cr(III) 生物富集的一个重要影响因素,最佳 pH 在 7 左右,温度升高和加强光强均可加强 Cr(III) 的富集,阳离子对 Cr(III) 的富集存在一定的促进或抑制作用。

关键词 钝顶螺旋藻、Cr(III) 生物富集、影响因素

中图分类号 Q949.2 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2000)01-0108-05

藻类对许多金属具有较强的生物富集能力,可广泛应用于污水处理及水质净化、稀有或重金属(如 Au、Ga)的回收、有毒(如 Pb、Cd、Hg)或放射性物质(如 U 等)的去除、痕量及超痕量元素分析等领域^[1,2]。近年来生物富集被认为是一项非常有前途的环境生物技术。此外,生物富集技术在功能性食品的研制方面也具有重要应用价值^[3]。除一些个别的应用外,生物富集技术的应用大多仍处于实验室阶段。由于生物富集过程颇为复杂,有关生物富集的机理还有待研究。与国外相比,我国在金属生物富集方面的研究才刚刚开始。

Cr 是人体和动物必需的微量元素,其中 Cr(III) 具有重要的生理活性^[4],如可防治糖尿病、增强胰岛素的生理功能、降低血清胆固醇含量,减少动脉硬化及防止肿瘤发生等。此外,Cr 也是一个普遍存在的金属污染源。因此开展有关 Cr 生物富集的研究具有重要的理论和实际意义。

自然界中的一些微生物对 Cr 具有较高的生物富集能力,相对于 Cr(VI) 的生物富集研究而言,Cr(III) 的研究较少。目前已有小球藻等绿藻生物富集金属的研究报道^[5],而关于螺旋藻生物富集金属的研究报道则极少。螺旋藻现已成为世界上主要的微

藻生产对象,在保健食品、环保及废物利用,以及医药、精细化工产品等领域显示出日益广阔的应用前景^[6],但是其所含 Cr 的量极低(一般在 2 mg/kg 左右^[7])。鉴于 Cr(III) 的重要生理活性,开展螺旋藻富集 Cr(III) 的研究,对于进一步增加螺旋藻的保健功能,开发新型功能性保健食品具有重要意义。同时,这对于金属废液处理中金属的生物去除与回收也具有一定的指导意义。

本文报道了钝顶螺旋藻生物富集 Cr(III) 的影响因素的研究结果。至于螺旋藻对 Cr(III) 生物富集过程的动力学及热力学、Cr(III) 的解吸过程、以及有关机理等方面的研究将另文报道。

1 材料与方法

1.1 螺旋藻及其培养

钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*) 由华南师范大学提供。采用 Zarrouk 培养基^[8],在 3L 气升式内环流光生物反应器中进行光自养分批培养^[9]。最大光强为 20 klx,24h 照射,温度 30℃,通气量为 32 L/h。螺旋藻细胞干重浓度的测定同文献^[9]。钝顶螺旋藻干粉由深圳蓝藻公司提供。

1.2 Cr(III) 的生物富集

收稿日期:1999-01-04,修回日期:1999-08-06。

* 作者目前在华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室从事博士后研究工作。

通讯地址:200237 上海市梅陇路 130 号华东理工大学 283 信箱。

将第 6 天收获的螺旋藻用绢布过滤,蒸馏水洗 3 次,刮下藻泥,重新悬浮于一定体积蒸馏水中,加入一定浓度的 Cr(III)溶液,自然光下(研究光的影响除外)置于 ZD84 型恒温振荡器中恒温(具体温度见相应结果与讨论部分)混合振荡一定时间(振荡频率 100 r/min)进行生物富集。用稀 NaOH 或稀 HCl 溶液调节 pH 值,由 pH-S-ZqA 型数字式酸度计测定。

1.3 Cr(III)浓度的测定及 Cr(III)富集量和富集效率的计算

富集处理后的藻液经 LD5-2 型离心机离心 30min 左右(转速 2000r/min)得上清液。用美国 PE3100 型原子吸收分光光度仪测定上清液中 Cr(III)的浓度,取 3 次的平均值。测定条件:吸收线波长:357.9 nm;灯电流:8mA;狭缝宽度:0.7 nm;空气流量:4.5 L/min;乙炔流量:2.3 L/min~2.8 L/min。

富集量 q :

$$q \text{ (mg/g)} = [(c_1 V_1 - c_2 V_2) \times 51.9961] / (mM) \quad (1)$$

富集效率 y :

$$y \text{ (%) } = [1 - (c_2 V_2 / c_1 V_1)] \times 100 \quad (2)$$

式中: c_1 —加入的 Cr(III)溶液浓度(mg/L); c_2 —上清液中 Cr(III)的浓度(mg/L); V_1 —加入的 Cr(III)溶液体积(L); V_2 —最后藻液的总体积(L); m —相应于一定光密度的藻细胞干重(g); M —Cr(III)源的分子量。

2 结果与讨论

2.1 富集时间的影响

取 0.03 mol/L 的 CrCl_3 溶液 2 mL 加至 20 mL,细胞干重浓度为 1.28 g/L 的新鲜螺旋藻悬浮液中,在 pH=4、恒温 55℃ 条件下进行生物富集 6h,分别测定、计算不同时间 Cr(III)的富集量,结果如图 1。由图 1 发现,螺旋藻对 Cr(III)的生物富集过程大致上经历了一快一慢两个步骤,首先是 Cr(III)

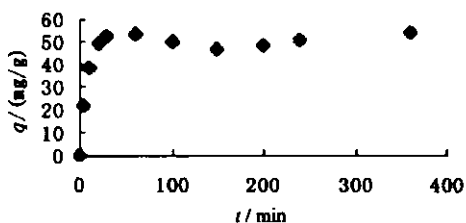


图 1 时间对 Cr(III)生物富集的影响

Fig. 1 Effect of time on the bioaccumulation of Cr(III) on *Spirulina*

快速地与藻细胞壁和膜结合(如 20 min 时 Cr(III)的富集量已达 48.2 mg/g);随后被吸附的 Cr(III)向藻细胞内部缓慢迁移,直至最后达到平衡。螺旋藻对 Cr(III)的生物富集在 60 min 左右基本可达到平衡。由此可见,其生物富集速度比一般无机吸附剂的物理或化学吸附速度要快得多。

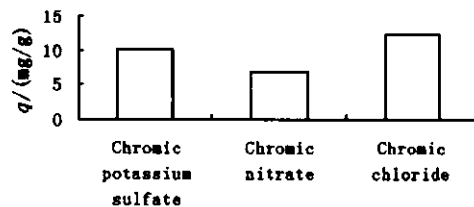


图 2 不同 Cr(III)源生物富集的比较

Fig. 2 Bioaccumulation comparison of different Cr(III) compounds

2.2 Cr(III)源的影响

2.2.1 阴离子: 分别将 0.025 mol/L 的 $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 与 $\text{CrK}(\text{SO}_4)_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 溶液 2 mL 加至 20 mL,细胞干重浓度为 3.33 g/L 的新鲜螺旋藻悬浮液中,在恒温 30℃、pH=4 条件下富集 1.5 h,对比结果如图 2 所示。图 2 显示,在所用的 3 种 Cr(III)源中以 $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 的生物富集效果最佳,Cr(III)的富集量明显高于其它两者。这是由于 $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 中 Cr^{3+} 与 Cl^- 间的结合键是三者中最弱的,螺旋藻生物配体中带负电荷的官能团易与 Cl^- 产生竞争,从而与 Cr^{3+} 结合。

2.2.2 Cr(III)浓度: 分别取不同浓度的 CrCl_3 溶液各 2 mL 加至 20 mL,细胞干重浓度为 2.45 g/L 的新鲜螺旋藻悬浮液中,在 pH=4、恒温 30℃ 条件下富集 1 h,结果如图 3。由图 3 可知,随着起始 Cr(III)浓度的增加,单位重量螺旋藻对 Cr(III)的富集量不断增加,最后趋于饱和。另一方面,螺旋藻对 Cr(III)的总富集效率却不断降低。当 $c_{\text{平}} = 102.8$ mg/L 时,Cr(III)的富集量可达 17.4 mg/g,而未经富集处理时螺旋藻含铬量为 6.32 mg/kg(对于本实

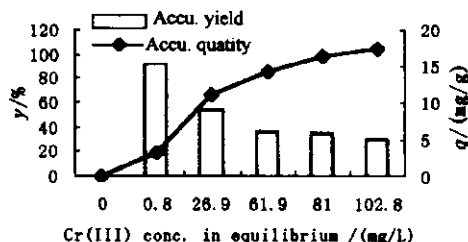


图 3 Cr(III)的生物富集等温曲线及富集效率

Fig. 3 Bioaccumulation isotherm and efficiency of Cr(III) on *Spirulina*

验藻种和培养条件),前者是后者的 2753.16 倍,可见螺旋藻对 Cr(III)的富集量是非常高的。此外,螺旋藻对 Cr(III)的富集效率也相当高,如当 $c_{\text{平}} = 0.80 \text{ mg/L}$ ($c_{\text{始}} = 9.45 \text{ mg/L}$)时,Cr(III)的富集效率可达 91.54%。

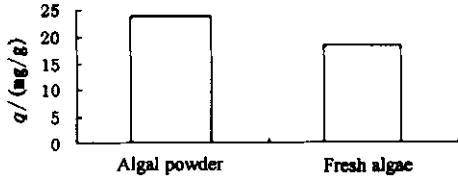


图 4 螺旋藻状态对 Cr(III)生物富集的影响
Fig.4 Effect of *Spirulina* state on the bioaccumulation of Cr(III)

2.3 螺旋藻状态的影响

2.3.1 鲜藻与藻粉的比较:将 2 mL、0.03 mol/L 的 CrCl₃ 溶液分别加至 20 mL、细胞干重浓度均为 2.42 g/L 的新鲜螺旋藻和螺旋藻干粉配成的蒸馏水悬浮液中,于 pH=4、恒温 30℃ 下进行生物富集 1 h,比较结果如图 4。图 4 表明,在其它条件相同时,螺旋藻干粉比新鲜藻能富集更多的 Cr(III)。这是由于无生命的藻粉细胞壁受到破坏,有更多的生物配体官能团暴露出来与 Cr(III)结合,而且与 Cr(III)接触的表面积也增大,所以具有更强的富集能力。这种现象与 Tadeusz S. 关于其它藻类对金属生物富集的研究结果相吻合^[10]。

2.3.2 藻细胞浓度:将 2 mL、0.03 mol/L 的 CrCl₃ 溶液分别加至 20 mL、细胞干重浓度为 1.28 g/L、1.56 g/L、8.48 g/L 的新鲜螺旋藻悬浮液中,在 pH=4、恒温 35℃ 下生物富集 1 h,富集结果如图 5 所示。由图 5 可见,在其它条件一定时,单位重量螺旋藻藻体对 Cr(III)的生物富集量随藻液细胞浓度的增加而降低,这是由于藻体中生物配体之间存在相互竞争所致。同时,由于藻液浓度增加使可供螺旋藻与 Cr(III)结合的生物配体总数目增加,从而使 Cr(III)的富集总量增加。

2.4 酸碱度的影响

将 2 mL、0.03 mol/L 的 CrCl₃ 溶液分别加至 pH 值分别为 1.70、2.68、3.65(未加酸或碱)、5.13、7.24 的 20 mL、细胞干重浓度均为 1.56 g/L 的新鲜螺旋藻悬浮液中,恒温 35℃ 下生物富集 1 h,结果如图 6。由图 6 可知,pH 值是影响螺旋藻对 Cr(III)生物富集的一个重要因素。在 Cr(III)能稳定存在的 pH 范围内(pH 酸性至中性),较高的 pH 值有利于 Cr(III)的富集。鉴于 CrCl₃ 溶液本身显酸性(pH 约

在 3.7 左右),实际应用中应加碱调节 pH。适于螺旋藻生物富集 Cr(III)的最佳处理 pH 值在 7 左右。pH 值对金属离子生物富集的影响很大程度上是由于 H⁺ 与金属离子之间的竞争,或因其改变了藻体表面及内部的电荷性质所致。

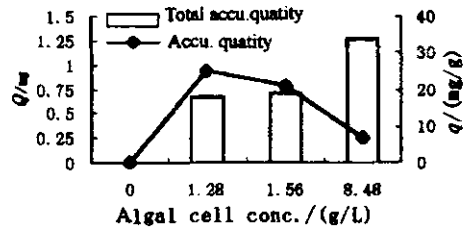


图 5 藻细胞浓度对 Cr(III)富集的影响
Fig.5 Effect of *Spirulina* concentration on the Cr(III) bioaccumulation

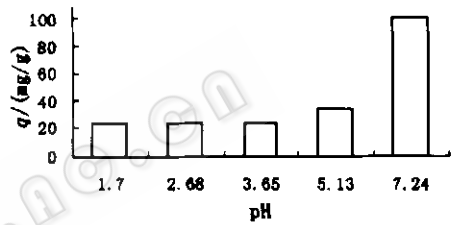


图 6 不同 pH 时 Cr(III)生物富集的比较
Fig.6 Comparison of Cr(III) bioaccumulation on *Spirulina* at different pH

2.5 温度的影响

将 0.03 mol/L 的 CrCl₃ 溶液 2 mL 加至 20 mL、细胞干重浓度为 1.28 g/L 的新鲜螺旋藻悬浮液中,pH=4,温度在 35℃ 与 55℃ 下进行生物富集 6 h,动力学过程对比如图 7。由此图可看出,温度升

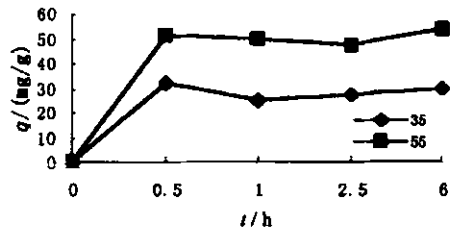


图 7 温度对 Cr(III)生物富集的影响
Fig.7 Effect of temperature on the bioaccumulation of Cr(III) on *Spirulina*

高可加强 Cr(III)的富集,尤其是可显著提高第一步的生物吸附,这从一定程度上证明该过程是一吸热过程。鉴于一般的物理和化学吸附均为放热过程,因此可以肯定地说,螺旋藻对 Cr(III)的生物吸附过程存在着不同于传统吸附的、生物过程所特有的生物富集途径^[11]。

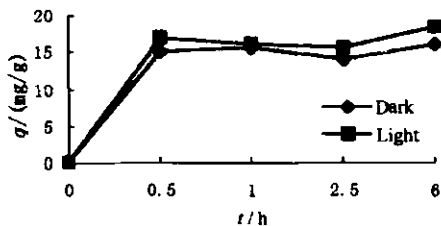


图 8 光对 Cr(III) 生物富集的影响

Fig. 8 Effect of light on the bioaccumulation of Cr(III) on *Spirulina*

2.6 光的影响

将 2 mL、0.025 mol/L 的 CrCl_3 溶液加至 20 mL、细胞干重浓度为 2.45 g/L 的新鲜螺旋藻悬浮液中,于 pH=4、恒温 30℃ 下,对比黑暗和适当光照 (3200lx) 两种情况下 Cr(III) 的生物富集,结果如图 8 所示。由图 8 可知,一定强度的光照能提高螺旋藻对 Cr(III) 的生物富集效果,尤其是对第二个缓慢吸收步骤的影响较大。由此可初步证明螺旋藻对 Cr(III) 的生物富集过程中除生物吸附外,还存在着主动吸收途径。该途径需要消耗一定的能量,而且可能涉及到某些酶的参与^[12]。

2.7 阳离子的影响

分别将 2 mL、0.2 mol/L 的 KCl、 MnCl_2 、 CaCl_2 、 MgCl_2 、NaCl、 CuCl_2 、 FeCl_3 、 ZnCl_2 溶液与 2 mL、0.03 mol/L 的 CrCl_3 溶液一起加至 20 mL、细胞干重浓度为 1.56 g/L 的新鲜螺旋藻悬浮液中,在 pH=4、恒温 35℃ 下进行 1 h 的生物富集,以不加上述阳离子时 Cr(III) 的富集作为参比,对比结果如图 9。

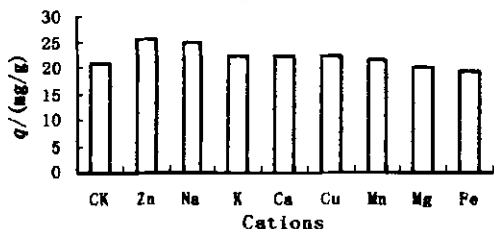


图 9 阳离子对 Cr(III) 生物富集影响

Fig. 9 Effect of cations on Cr(III) bioaccumulation on *Spirulina*

图 9 表明,该实验浓度下,这些阳离子对 Cr(III) 的生物富集具有促进或抑制作用。其中 Zn^{2+} 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 均有利于 Cr(III) 的富集,促进作用大小依次为: $\text{Zn}^{2+} > \text{Na}^+ > \text{K}^+$ 、 Ca^{2+} 、 $\text{Cu}^{2+} > \text{Mn}^{2+}$,这可能与其影响离子运输的细胞渗透压和通透性有关。而 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 对 Cr(III) 的生物富集具有轻微抑制作用,这可能是由于 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 与 Cr^{3+} 具有相同的结合位或经过相同的富集途径而产生的竞争所致。

3 结 论

螺旋藻对 Cr(III) 的生物富集过程是一个复杂的生物过程,存在着不同于一般物理、化学吸附的特殊生物途径,该过程受许多因素如富集时间、阴离子、Cr(III) 浓度、螺旋藻存在状态、藻细胞浓度、酸碱度、温度、光以及阳离子等影响。研究证实:

(1) 螺旋藻对 Cr(III) 的生物富集过程大致主要经历了快速的生物吸附,以及缓慢的细胞内主动吸收两个步骤,很快便能达到平衡状态。

(2) 化学键较弱的 Cr(III) 化合物比强化学键的 Cr(III) 化合物具有较高的富集效率。

(3) 螺旋藻细胞浓度一定时,随着 Cr(III) 浓度的增加,单位藻体对 Cr(III) 的富集量不断增加,最后趋势于饱和。

(4) 当 Cr(III) 浓度一定时,随着藻细胞浓度的增加,螺旋藻对 Cr(III) 的总富集量逐渐增加,而单位藻体的富集量减少。

(5) 相同条件下,螺旋藻干粉比新鲜藻能富集更多的 Cr(III)。

(6) pH 值是影响螺旋藻对 Cr(III) 生物富集的一个重要因素,最佳生物富集的 pH 在 7 左右。

(7) 其它条件一定时,升高温度和加强光照均可一定程度上加强 Cr(III) 在螺旋藻上的生物富集。

(8) 其它阳离子对 Cr(III) 的生物富集存在一定的促进或抑制作用。

参 考 文 献

- [1] 李志勇,郭祀远,李琳等.重庆环境科学,1997,19(6):27~32
- [2] 李志勇,郭祀远,李琳等.微生物学通报,1997,24(6):368~369
- [3] 李志勇,郭祀远,李琳等.食品科技,1997,(3):12~14
- [4] 郑建仙.功能性食品.北京:中国轻工业出版社,1995
- [5] Edward W Wild, John R. Benemann *Biotech Adv*, 1993, 11:781~812
- [6] 李志勇,郭祀远,李琳等.粮食与饲料工业,1997,(10):37~39

- [7] 程双奇. 营养学报, 1990 (4): 415~417
- [8] Rejean Samson. *Can J Chem Eng*, 1985, **63**: 105~112
- [9] 李志勇, 郭祀远, 李琳等. 郑州粮食学院学报, 1998, **19**(2): 24~28
- [10] Tadeusz Skowronski. *Chemosphere*, 1984, **13**: 1385~1389
- [11] 李志勇, 郭祀远, 李琳等. 华南理工大学学报(自然科学版), 1998, **26**(2): 33~37
- [12] Tadeusz S. *Chemosphere*, 1984, **12**: 1379~1384

Study of the Factors of Cr(III) Bioaccumulation on *Spirulina platensis*

LI Zhi-yong¹ LI Yuan-guang² GUO Si-yuan¹ LI Lin¹ ZHANG Si-liang²

¹(School of Food & Biological Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510641)

²(State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science & Technology, Shanghai 200237)

Abstract Some factors of Cr(III) bioaccumulation on *Spirulina platensis* were studied in detail. It was found that the bioaccumulation of Cr(III) on *Spirulina platensis* involved two steps: rapid adsorption and slow absorption. Chromium(III) compounds with weaker chemical bond had higher bioaccumulation efficiency. Under the same algal cell concentration Cr(III) bioaccumulation rose up with Cr(III) concentration. On the other hand, with Cr(III) concentration not changed, the total bioaccumulation of Cr(III) on *Spirulina platensis* increased with algal cell concentration, but the Cr(III) bioaccumulation on unit algae reduced. The study also showed that *Spirulina platensis* powder could bioaccumulate more Cr(III) than fresh *Spirulina platensis*. pH is a quite important factor and more suitable pH for Cr(III) bioaccumulation is 7. It was also proved that Cr(III) bioaccumulation benefited from the increase of temperature and light intensity. Cations had either stimulation or inhibition effects on the Cr(III) bioaccumulation on *Spirulina platensis*.

Key words *Spirulina platensis*, Cr(III) bioaccumulation, factors