

海水中铬(VI)对浮游植物 生长率的影响

孙秉一 叶霖 史致丽 戴国升 祝陈坚

(青岛海洋大学海洋化学系)

摘 要

本工作使用一次培养法初步研究了Cr(VI)对菱形硅藻和隐藻的毒性,实验结果表明,当Cr(VI)浓度大于16 ppb时,则对其生长率产生抑制作用,其72小时EC₅₀值分别为260 ppb和230 ppb。根据活性点位模式计算了Cr(VI)与藻体的结合常数,约为 2×10^5 。藻体中Cr含量与培养液中Cr浓度有关,两者近似指数关系,根据藻体中Cr含量和溶液中Cr的浓度,估计每个硅藻细胞与Cr最大结合容量约为 5×10^{17} mol/dm³。

海水中铬主要以Cr(VI)形式存在,还有少量的以Cr(III)的形式存在;其在大洋水体中的垂直分布与营养盐的垂直分布类似^[1],表明海水中铬的循环与海洋生物过程有关。水体中铬(VI)的浓度过高,对浮游植物有毒性作用,已为许多研究所证实。人们关于铬(VI)对浮游植物的毒性,对淡水的研究较多,对海水则较少^[2-4],且结论不一,有必要进一步开展研究工作。

胶州湾东北部海域由于受到近岸工厂排放含铬废物的影响,水体中总铬含量可高达数百ppb¹⁾,使水体和底质均受到一定程度的污染。这种含有较高铬的水体是否会对浮游植物的生长有较大影响;其对铬的富集情况如何等一系列问题,都有待于进一步研究。为此,我们对上述问题进行了初步探讨。

一、材料和方法

(一) 浮游植物的培养

1. 在胶州湾水域铬含量较高的区域(娄山河口附近),拖网采集浮游植物,将其放入过滤并煮沸过的海水中,同时加入1/2营养盐配方和少量铬盐,进行培养。经过培养后,挑选出两种较耐铬污染的浮游植物,一种是菱形硅藻(*Nitzschia* sp.),其长为29—35 μm,宽为6.9—9 μm;另一种是隐藻(*Cryptophyta*),长为10—13.3 μm,宽为6—6.7 μm将其分离置于不含铬的海水培养液中(同上),单种培养,以作为研究之用。

本文于1988年3月22日收到,修改稿于1988年9月20日收到。

° 国家自然科学基金资助项目。参加本工作的还有王永辰、吕小乔、薛敏、郝恩良等同志。

1) 山东海洋学院海洋化学系,胶州湾污染调查报告,1987。

为了解不同浓度Cr(VI)对隐藻和菱形硅藻生长率的影响,在海水培养液(f/2)中加入不同量的 K_2CrO_4 进行培养,光照为1600—1800 lux,光周期明暗比为8:16,室温为16℃,在培养过程中,每2—3天用血球计数板测量藻数。

为测定藻体对铬的富集,需一定数量的藻体,因此在22℃下,在3200 lux光照下培养24小时,而后分成4瓶,一瓶Cr(VI)的浓度为6 ppb,两瓶为100 ppb,另一瓶为1000 ppb。13天后,分离藻体,测定其中铬的含量。实验中除了菱形硅藻和隐藻之外,还增加了三角褐指藻(*Phaeodacty tricornutum*)。在培养过程中,每间隔3天测定培养液中Cr(VI)的浓度。

(二) 铬的测定

水体中的铬按《海洋污染调查规范》²⁾中规定的分光光度法规定。

藻体中铬用浓 HNO_3 和 H_2SO_4 消化,至有机物全部分解后,加热赶掉 HNO_3 ,而后用水溶解定容,用上法规定。

二、结果和讨论

(一) 铬(VI)的毒性

菱形硅藻和隐藻在含有不同浓度Cr(VI)的培养液中,其细胞数随时间的变化情况见图1和图2。从图中可以看出,随着Cr(VI)含量的增加,对细胞分裂的抑制作用加强,当Cr(VI)浓度为3000 ppb时,细胞停止分裂,且藻体变形,色素变淡。

根据观测结果,计算了两种藻的单位生长率(μ):

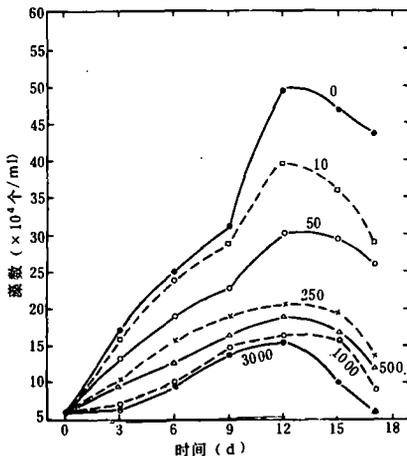


图1 菱形硅藻在不同铬(VI)浓度海水中的生长曲线

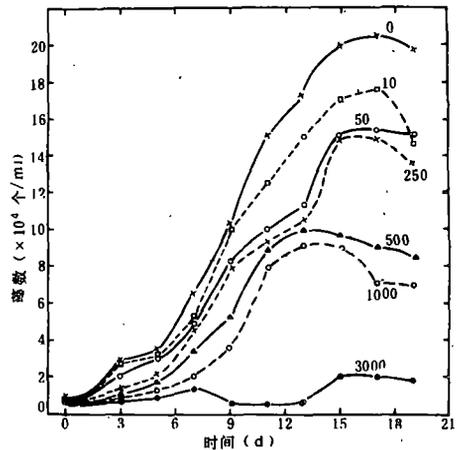


图2 隐藻在不同铬(VI)浓度海水中的生长曲线

2) 国家海洋局, 海洋调查规范, 1975。

$$\mu = (\log_2 N_t - \log_2 N_0) / t \quad (1)$$

式中, N_0 和 N_t 分别表示初始和 t 天后单位体积中的细胞数。图3和图4是72小时后两种藻的 μ 值与培养液中Cr(VI)浓度的关系图。两图均呈S曲线形式,图中 $p[\text{Cr(VI)}]$ 为 $-\log[\text{Cr(VI)}]$ 。图中高台区是对海藻生长率无影响的范围,此区Cr(VI)浓度的起始点为 $10^{-6.5} \text{ mol/dm}^3$ (16.4ppb),此值为Cr(VI)毒性阈值,大于此值会对海藻的生长率产生抑

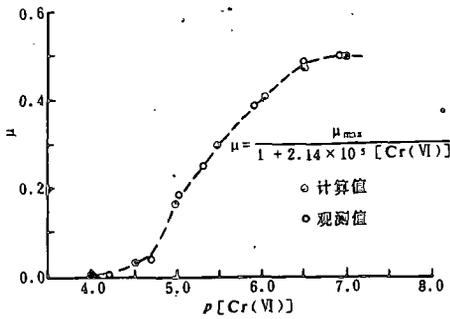


图3 菱形硅藻的 μ 值与
 $p[\text{Cr(VI)}]$ 的关系

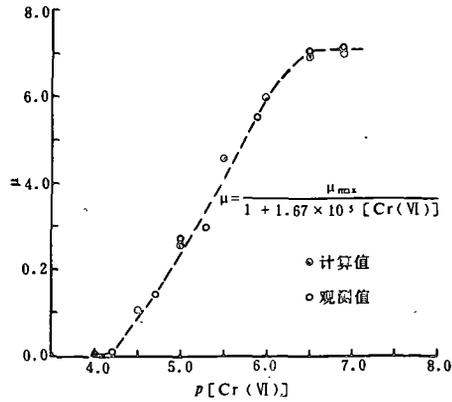


图4 隐藻的 μ 值与
 $p[\text{Cr(VI)}]$ 的关系

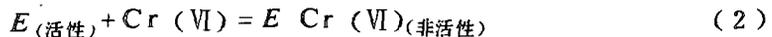
制作用。半高台值为半数效应值,72小时 EC_{50} 值,对菱形硅藻和隐藻分别为 $10^{-5.30} \text{ mol/dm}^3$ (260 ppb)和 $10^{-5.35} \text{ mol/dm}^3$ (230 ppb);零生长率值(细胞停止分裂)均为 $10^{-4.2} \text{ mol/dm}^3$ (3000 ppb)。

Cr(VI)对浮游植物的毒性与水体盐度有关, Fray等研究表明^[3],其毒性在低盐度时大,高盐度时则小;在高盐度时,因仅有3个浓度数据,因而只得出当Cr(VI)为 $19 \mu\text{mol/dm}^3$ (988 ppb)时,对骨条藻(*Skeletonema costatum*)的生长有明显的抑制作用。Hollibaugh等^[2]对加拿大Sannich Inlet的海链藻(*Thalassiosira aectiralis*)研究表明,当Cr(VI)浓度大于 $1.0 \mu\text{mol/dm}^3$ (53 ppb)时,对其生长率有抑制作用。上述结果与本文结果相近(见图1—2)。吴瑜端等^[4]的实验结果表明:铬对硅藻的72小时的 EC_{50} 值为200 ppb,略小于本文的结果。不同区域和不同浮游植物对Cr(VI)的忍耐力可能有一定的差异。

(二) 铬(VI)对浮游植物生长率的抑制模式

关于重金属对浮游植物生长率的抑制作用,曾进行过许多研究。大多数人认为,是重金属与活性酶结合,使其难以有效地进行正常的生化作用;关于浮游植物方面的计算模式已有好多种^[6—8]。

关于Cr(VI)对浮游植物的毒性,据推测主要是Cr(VI)与藻体(酶)中某些活性点(E)结合,抑制了催化作用,从而对生长也产生抑制作用,这样可以近似表示为:



当处于平衡时, 则活性点浓度 $[E]$ 与Cr(VI)的浓度 $[Cr(VI)]$ 之间具有以下关系^[7]:

$$K = [ECr(VI)] / [E][Cr(VI)] \quad (3)$$

K 为表观结合常数。如活性点的总浓度为 $[E_T]$, 其中部分与Cr(VI)结合, 则剩余活性点的分数 A 为:

$$A = [E] / [E_T] = [E] / \{ [E] + [Cr(VI)] \} \\ = 1 / \{ 1 + K [Cr(VI)] \}$$

在相对稳定的条件下, 浮游植物的单位生长率 (μ) 必然与活性点 E 的浓度有关, 当 μ 值为最大值时 (即 μ_{max}), 则 E 的浓度在数值上应等于 $[E_T]$, 因此:

$$\mu / \mu_{max} = [E] / [E_T] = 1 / \{ 1 + K [Cr(VI)] \} \quad (5)$$

$$\text{则} \quad \mu = \mu_{max} / \{ 1 + K [Cr(VI)] \} \quad (6)$$

根据实验结果, 通过回归分析, 可以分别得到式(6)的表达式为:

$$\text{菱形硅藻: } \mu = \mu_{max} / \{ 1 + 2.14 \times 10^5 [Cr(VI)] \} \quad (n = 7, r = 0.991) \quad (7)$$

$$\text{隐藻: } \mu = \mu_{max} / \{ 1 + 1.67 \times 10^5 [Cr(VI)] \} \quad (n = 7, r = 0.998) \quad (8)$$

式(7)、(8)的相关系数 (r) 都较高, 表明两式与实验值吻合很好, 见图3和图4中计算值(黑点), 两者的 K 值略有差异, 可能与藻体的结构等差异有关。

金属对浮游植物的毒性主要与金属离子的活度有关, 与总浓度无关。式(7)、(8)两式中铬的浓度是以 $[Cr(VI)]$ 表示的, 主要是以 CrO_4^{2-} 的形式存在, 其他形式含量均很低, 如 $HCrO_4^-$ 的解离常数约为 $pK \approx 5.7$, 当 $pH = 8.2$ 时, $[CrO_4^{2-}] / [HCrO_4^-] \approx 10^{2.5}$; 又如 $NaCrO_4$ 和 $KCrO_4$ 的稳定常数都很小, 可以忽略。另外在培养过程中, Cr(VI)是否会被还原为Cr(III), 经连续分析结果表明, Cr(VI)平均占总铬的90%, 标准偏差2%, 分析方法误差为10%左右, 可以认为还原作用很小。这可能是由于植物光合作用释放出氧气, 水体处于氧化状态, 而使Cr(VI)处于稳定状态。因此, 式(7)、(8)中Cr的浓度用 $[Cr(VI)]$ 或 $[CrO_4^{2-}]$ 来表示是合理的。如果把Cr(VI)的浓度用活度来表示, 估计 CrO_4^{2-} 的活度系数为0.1, 则 K 值约增大10倍。

浮游植物与重金属的结合常数的大小, 除表现为两者间的结合能力外, 也可近似说明其毒性。对必需元素, 如果元素的含量超过其适应浓度范围; 对非必需元素, 其浓度超过毒性阈值, 则 K 值越大, 则表现为毒性也越高。

(三) 浮游植物对铬的富集

生物体最少需要11种微量元素。铬是否是必需元素, 目前尚无定论, 有的人认为是必需元素^[8], 也有的人认为需要进一步研究^[11]。海洋中Cr的垂直分布与Si的分布相似^[1], 表明浮游生物在表层水吸收Cr, 在深层水得以再生, 生物过程是海洋中Cr循环中的一个重要环节。关于浮游植物对Cr富集情况的报道较少, 测定海洋中浮游植物体内Cr含量存在有一定的困难。因为在现场往往难以采集到足够的样品用以分析, 而采集到的样品又是浮游生物的混合体, 还会受到悬浮体的干扰, 另外易受到沾污, 也会由于分析方法间的不同, 而带来较大误差^[9]。实验室模拟方法, 虽与现场情况有差异, 但易于得到足够量的纯种,

也可得出一些近似的规律。有关浮游植物体内Cr的含量, Martin和Knauer^[10]采自美国加州Menterey湾至夏威夷间的浮游植物样品,分为3组,其中含钛的1组, Cr的平均含量为3.9 ppm(干重,下同),含钛低和富含Sr的两组的含量分别低于1.3 ppm和1.6 ppm。Bowen^[11]曾总结前人的工作,认为浮游植物中Cr含量在2.2—7.5ppm之间。

隐藻、菱形硅藻和三角褐指藻在不同浓度的含铬培养液中,13天后,藻体中的铬含量见表1。结果表明,藻体中Cr含量随着培养液中Cr含量的增加而增加,富集系数则相反,这与Riley和Roth的结果一致。

表1 藻体中铬的含量(ppm,干重)

介质中Cr含量 (ppb)	隐 藻		菱形硅藻		三角褐指藻	
	含 量	富集系数	含 量	富集系数	含 量	富集系数
6	0.45	75	1.7	283	1.5	250
106	0.30	2.8	3.4	32	2.6	25
1000	3.6	3.6	6.9	6.9	5.8	5.8

Sunda和Guillard^[5]在研究铜对海链藻的毒性时,对细胞中铜的含量与培养液中铜离子活度的关系,曾得出类似Langmuir吸附公式的关系式,从而估计每个细胞对铜的最大结合容量为 5×10^{-16} mol,表观缔合常数为 $10^9 \cdot 2$ 。根据实验结果,也可得出如下关系式:

$$\text{菱形硅藻: } C_{Cr} = \{ 6.5 \times 10^{-17} [\text{Cr(VI)}] \} / \{ [\text{Cr(VI)}] + 10^{-5.5} \} \quad (9)$$

$$\text{三角褐指藻: } C_{Cr} = \{ 1.4 \times 10^{-17} [\text{Cr(VI)}] \} / \{ [\text{Cr(VI)}] + 10^{-5.7} \} \quad (10)$$

式中, C_{Cr} 为每个细胞中含Cr的摩尔数(mol/cell), $[\text{Cr(VI)}]$ 为在介质中平衡时Cr(VI)的浓度。如把式(9)和式(10)结合,可近似表示硅藻,得到:

$$\text{硅藻: } C_{Cr} = \{ 5.4 \times 10^{-17} [\text{Cr(VI)}] \} / \{ [\text{Cr(VI)}] + 10^{-5.3} \} \quad (n=6, r=0.88) \quad (11)$$

由式(11)大致可估计出每个硅藻细胞与Cr(VI)最大结合容量为 5×10^{-17} mol/dm³,而其表观缔合常数为 $10^{5.3}$ (2×10^5)。

以上实验结果仅仅是在室内模拟的,结果与现场的情况可能有一定差别。浮游植物吸收微量元素的过程和速率与很多因素有关,与其所在水体的盐度、温度,重金属含量和形态、营养盐的含量及光照等都有关。因此,上述的结果仅仅是近似的。

三、小 结

Cr(VI)对菱形硅藻和隐藻的毒性阈值为16 ppb,如水体中含量大于此值,则会对其生长率产生一定的抑制作用;72小时EC₅₀值分别为260 ppb和230 ppb;当Cr(VI)浓度为3000 ppb时,两种藻停止分裂。

根据活性点位模式,得出菱形硅藻和隐藻与Cr(VI)结合常数分别为 2.1×10^5 和 1.7×10^5 。藻体中Cr的含量与培养介质中Cr的浓度有关,近似有指数关系,每个藻细胞与Cr的最大结合容量约为 5×10^{-17} mol/dm³。

参 考 文 献

- [1] Bruland, K. W., Trace Elements in Sea-sea, in *Chemical Oceanography* (J. P. Riley and R. Chester eds.) Vol. 8, Academic Press, 1983.
- [2] Hollibaugh, J. T. et al., A comparison of acute toxicities of ions of ten heavy metals to phytoplankton from Saanich Inlet, B.C. Canada, *Estuar. Coast. Mar.*, **10** (1980), 93—105.
- [3] Frey, B. E. et al., Sensitivity of estuarine phytoplankton to hexavalent chromium, *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **17** (1983), 181—187.
- [4] 吴瑜端、陈慈美、王隆发, 厦门港湾重金属污染与海域生产力关系, *海洋与湖沼*, **17** (1986), 2: 173—184.
- [5] Sunda, W. and R. R. L. Guillard, The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton, *Jour. Mar. Res.*, **34** (1976), 511—529.
- [6] Gavis, J., Toxic binding of cupric ion by marine phytoplankton, *Jour. Mar. Res.*, **41** (1983), 53—63.
- [7] Sunda, W. G. et al., Phytoplankton growth in nutrient rich seawater: important of copper-manganese cellular interactions, *Jour. Mar. Res.*, **39** (1981), 567—586.
- [8] Gerlach, S. A., *Marine Pollution, Diagnosis and Therapy*, Springer-Verlag, 1981, 218.
- [9] Brix, H. et al., The reproducibility in the determination of heavy metals in marine plant material — an interlaboratory calibration. *Mar. Chem.*, **12** (1983), 181—187.
- [10] Martin, J. H. and G. A. Knauer, The elemental composition of plankton, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **37** (1973), 1639—1653.
- [11] Brown, H. J. M., *Environmental Chemistry of the Element*, Academic Press, 1979.
- [12] Riley, J. P. and I. Roth, The distribution of trace elements in some species of phytoplankton grown in culture, *Jour. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **51** (1971), 63—72.