

藻类对重金属污染水体的生物修复

江用彬¹ 季宏兵^{1,2}

(1. 首都师范大学 资源环境与旅游学院 首都圈生态环境过程重点实验室, 北京 100037;

2. 首都师范大学 北京市资源环境与 GIS 重点实验室, 北京 100037)

摘 要: 重金属对水体的污染已成为全球性的环境问题, 利用藻类生物修复重金属污染水体, 因其有效、低廉和环保引起了国内外的广泛重视, 并且取得了一定的成效。本文介绍了藻类修复重金属废水的应用概况, 总结了多年来在藻类对重金属离子的吸收途径、耐受机理、生物吸附机制、模型解释及影响因素等方面的研究成果, 同时指出了当前在这些方面尚存的不足, 并就今后继续筛选、利用生物技术培育对重金属高耐受、高富集性藻类, 进一步探求修复机理以及野外应用方面的研究。

关 键 词: 藻类; 重金属; 生物修复; 吸收; 生物吸附

中图分类号: X144; P935

重金属对水体的污染已成为全球性的环境问题。我国 20 世纪 80 年代初的调查发现, 在金沙江、湘江、蓟运河及锦州湾等地水体均有不同程度的重金属污染, 严重地段的水相重金属浓度高达几百 $\mu\text{g/L}$, 沉积物中重金属浓度甚至达到上千 mg/L ^[1]; 2005 年底, 广东北江突发镉污染事件, 孟洲坝断面的镉超标 12 倍, 一度引起当地工农业用水的中断。国外, 20 世纪上半叶, 日本的“水俣事件”和“富山事件”重金属污染案例早已为人熟知。重金属污染物进入水体通过参与复杂的水体生物地球化学循环, 影响着水生生态环境, 给环境和人类带来了极大的危害, 限制可持续发展^[2]。

治理水体重金属污染, 传统的方法主要以物理和化学方法居多, 包括沉淀法、螯合树脂法、高分子捕集剂法、天然沸石吸附法、膜技术、活性炭吸附工艺、离子交换法等^[3,4]。这些方法具有净化效率高、周期较短等优点, 但工作流程大多过长、操作繁琐、处理费用也昂贵。因此, 人们一直在寻求更为环保、经济适用的方法来代替它们。生物修复就是这种方法之一, 自 1989 年美国利用生物修复技术成功处理“瓦尔迪斯”号油轮溢油污染^[5]以来, 已为国内外研究者应用到各种污染处理中。藻类具有吸收污水中重金属的能力, 利用藻类修复重金属污染的水体已为众多的研究证明具有高效、低耗、环保等特点^[6]。在此基础上探索藻类对重金属污染水体的生物修复技术已逐渐成为国际水体污染治理研究中的一个新热点。本文就多年来对藻类修复重金属污染水体的研究作一较为全面的综述。

收稿日期: 2006-09; 修订日期: 2006-11.

基金项目: 国家自然科学基金(40473051), 北京市优秀人才项目(20051A0501012), 北京市资源环境与 GIS 重点实验室项目共同资助。

作者简介: 江用彬(1978-), 男, 安徽舒城人, 在读硕士, 研究方向为生物地球化学与污染环境的生物修复。

E-mail: yongbin_jiang@163.com

1 藻类对水体中重金属的吸收及修复应用

1.1 藻类对重金属的吸收

对藻类吸收可溶性金属的动力学研究认为, 藻细胞对金属的吸收过程主要由两个阶段组成^[7], 第一步: 在细胞表面, 金属离子和胞壁上的功能基团发生吸附反应, 反应的时间极短, 不需任何代谢过程和能量提供, 金属离子是被动的吸附在细胞表面, 该过程被称为生物吸附(biosorption), 这个重要特点说明死亡藻体也具吸附能力, 因为其功能基团活性并未丧失; 第二步: 细胞表面结合、沉积或结晶的金属离子与质膜上的某些酶(如膜转移酶、水解酶等)结合从而被细胞主动转移至胞内, 这一过程与代谢活动有关, 缓慢、不可逆, 所以定义为生物累积(bioaccumulation)(见图 1)。更具体的过程目前还在进一步探索, 不排除有其它吸收途径。

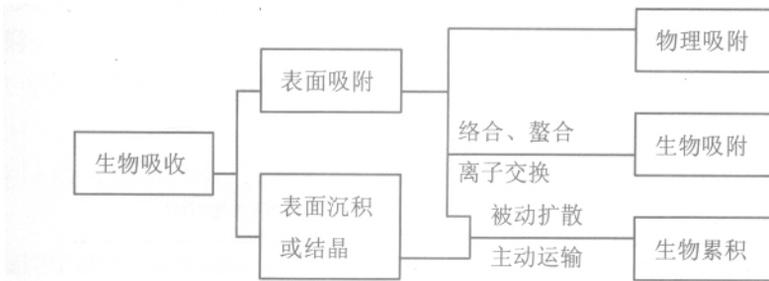


图 1 藻类生物吸收重金属的主要途径

Fig.1 The main ways of uptake heavy metal by algae

众多的研究表明, 生物吸附过程在生物吸收中占据主要作用, 人们在利用藻类进行生物修复环境时更多注重生物吸附。首先, 藻类对重金属中某些微量元素的需求量极微, 如在自然水体中, Cu 的浓度在 1~2 μg/L 的低范围时, 才可为一些藻类的营养元素^[8], 这说明藻类在正常生长中只累积微量的 Cu。其次, 藻类在修复重金属污染水体时, 长时间内会受累积的高浓度金属离子的毒害; 比如铅, 我国学者指出 PbCl₂ 对羊角月芽藻 (*Selenastrum Capricornutum*) 生长的影响有双重性, 低于 38.5mg/L PbCl₂ 能促进其生长, 高于 38.5mg/L 则抑制^[9]。因此, 生物累积无论在量上还是在持续修复上实际意义都不大。

生物吸附的优点主要有:

(1) 吸附量大。在整个吸收过程中, 生物累积重金属的量只占总吸收量的 10%~20%, 而生物吸附的量则占 80%~90%, 因此生物吸附为吸收的主要途径^[10, 11]; (2) 吸附快速、可逆、不需能量。所以死亡藻体也是很好的吸附剂; (3) 吸附过程存在吸附—解吸的动态平衡, 故可利用洗脱的办法来回收金属, 藻体可重复利用; (4) 吸附用的藻类种类丰富。不论是大型海藻, 还是淡水微藻, 都可为吸附研究和应用提供充足原材料; (5) 应用处理经济、方便, 尤其适合处理较低浓度(100mg/L 以下)的重金属废水。

1.2 藻类在修复重金属废水中的应用

到目前为止, 已有大量的藻类被应用到对有毒重金属(如 Cu、Cd、Pb、Hg 等)、放射性金

属(U、Ra、Th等)及有经济价值的金属(Au、Ag、Co、Pt)等的生物修复研究上。

现在稍具规模的藻类修复是采用高效藻类氧化塘(High Rate Algal Ponds, HRAP)来处理重金属污水,经测定,相对于传统的废水固定池(Waste stabilization ponds, WSP),高效藻类氧化塘去除铜的速率和效率都要高出10倍^[12]。Rose等^[13]在利用高效藻类氧化塘系统治理酸性矿山废水(Acid mine drainage, AMD)时,将该系统加以改进,向塘中加入硫酸盐还原性细菌(sulfate reduction bacteria, SRB,能将金属硫化形成硫化物沉淀),结果在人工调节的高pH值条件下,改进的系统能很好地清除废水中的重金属。这是一种菌藻共生系统,将是以后研究的重点方向。其次是藻床过滤系统(Algal Turf Scrubber, ATS),Adey等^[14]发现,藻床过滤系统也可用来清除重金属,不过其应用技术目前还不成熟。其它如构建藻类湿地也逐渐被人们应用到处理酸性矿山废水上,有研究利用改进的绿藻湿地将酸性矿山废水中的锰降到环境安全水平^[15]。清除重金属污染物的同时,贵重金属的回收也是藻类生物修复的一个重要应用,目前已有藻类金属回收反应器被开发,但规模性应用不多,离商业化还有一段距离^[16]。

在最优条件下,几种对重金属生物吸附的藻类类型及其吸附能力见表1。

表1 不同藻类对重金属的吸收

Tab.1 Uptake of heavy metal by several algae species

重金属	藻类	吸附能力
Cu	海百合 <i>Palmaria palmate</i> ^[17]	6.65mg·g ⁻¹
	石莼 <i>Ulva lactuca</i> ^[18]	65.54 mg·g ⁻¹
	江蓠 <i>Gracilaria fisheri</i> ^[19]	46.08 mg·g ⁻¹
	马尾藻 <i>Sargassum fluitans</i> ^[20]	74mg·g ⁻¹
	小球藻 <i>Chlorella sorokiniana</i> ^[21]	46.4mg·g ⁻¹
Pb	墨角藻 <i>Fucus vesiculosus</i> ^[22]	336mg·g ⁻¹
	海百合 <i>Palmaria palmate</i> ^[17]	15.17 mg·g ⁻¹
	马尾藻 <i>Sargassum wightii</i> ^[23]	290.52mg·g ⁻¹
	泡叶藻 <i>Ascophyllum nodosum</i> ^[22]	280mg·g ⁻¹
	褐藻 <i>Lessonia nigresense</i> ^[24]	362.5 mg·g ⁻¹
	褐藻 <i>Lessonia flavicans</i> ^[24]	300.44mg·g ⁻¹
Cd	海洋巨藻 <i>Durvillaea potatorum</i> ^[24]	321.16mg·g ⁻¹
	马尾藻 <i>Sargassum wightii</i> ^[23]	181.48mg·g ⁻¹
	泡叶藻 <i>Ascophyllum nodosum</i> ^[22]	100mg·g ⁻¹
	马尾藻 <i>Sargassum baccularis</i> ^[25]	83.18 mg·g ⁻¹
	马尾藻 <i>Sargassum vulgare</i> ^[26]	123.64mg·g ⁻¹
	小球藻 <i>Chlorella sorokiniana</i> ^[21]	43mg·g ⁻¹
	墨角藻 <i>Fucus sp</i> ^[27]	90mg·g ⁻¹
Ni	马尾藻 <i>Sargassum fluitans</i> ^[28]	108mg·g ⁻¹
	石莼 <i>Ulva lactuca</i> ^[18]	21.00 mg·g ⁻¹
	小球藻 <i>Chlorella sorokiniana</i> ^[29]	48.08 mg·g ⁻¹
	马尾藻 <i>Sargassum vulgare</i> ^[26]	58.69 mg·g ⁻¹
	马尾藻 <i>Sargassum natans</i> ^[22]	44.02 mg·g ⁻¹
	泡叶藻 <i>Ascophyllum nodosum</i> ^[22]	30 mg·g ⁻¹
	墨角藻 <i>Fucus vesiculosus</i> ^[22]	40.02 mg·g ⁻¹

注:表中g指的是单位藻的干重

上述几个系统均是生活藻细胞在修复上的综合应用。生活细胞在规模性、连续性应用上有一定优势,如可以大面积应用、直接添加营养源继代培养等。不过其也有一些局限性:有些情况下,废水环境的 pH 值波动较大,其中有害金属及其他生物毒性物质含量偏高,往往超出藻类的耐受能力,使藻类的生物活性难以长时间维持;吸附后洗脱所用的试剂多为酸碱溶液,对生活藻细胞也有杀伤力。Skowronski 等^[30]很早就实验证明死亡藻细胞也具有较强的吸附能力。用生活藻细胞和预先用热水杀死的细胞对 Cu^{2+} 进行吸附对比实验,尽管最终吸附量相同,但死亡细胞对 Cu^{2+} 的吸附速度要大于生活细胞^[31]。对蓝藻 (*Gloeothece magna*) 的研究发现,死亡藻体比活体对 Cd^{2+} 和 Mn^{2+} 的吸附量更高^[32]。这种吸附能力提高的原因是:生活藻细胞的表面积一定,细胞膜具有高度的选择性,一般只允许中性分子通过;细胞死亡后,胞壁破碎,细胞内部更多的功能团外露,与离子结合的功能团增多;同时,细胞膜失去选择透性功能,离子很容易通过,故总吸附能力增强。此外,用死亡藻体作吸附剂,无需在污水中续添营养源,可洗脱多次利用,因此在小范围的应用中比生活细胞更为经济、高效。而在大范围内使用,仅人工制取干藻体就要耗资不少,所以和生活细胞相比,二者各有优缺点。

2 藻类对重金属的耐受机理

2.1 藻类细胞壁的结构、生理特点

藻类细胞壁分层,外层主要由纤维素、果胶质、藻酸铵岩藻多糖和聚半乳糖硫酸酯等多层微纤丝组成的多孔结构,内层主要成分是纤维素。细胞外壁富含藻细胞释放的以多肽、多糖(藻酸盐、盐藻衣聚糖等)为主的胞外产物,如小球藻(*Chlorella sp.*)等的细胞壁含 24%~74%($\text{m}\cdot\text{m}^{-1}$)的多糖,2%~16%($\text{m}\cdot\text{m}^{-1}$)的蛋白质和 1%~24%的糖醛酸($\text{m}\cdot\text{mol}^{-1}$)。这些多聚复合体给藻类提供了大量可以与金属离子结合的官能团(如羧基、氨基、醛基、羟基、巯基、磷酸基及羰基等)^[33],在藻类对金属离子的吸收中扮演了重要的角色;细胞壁表面多褶皱,表面积较大,供官能团合理地排列其上。

藻类细胞结构和生理上的特征为其免受重金属毒害提供了第一道防御屏障——外排作用(即胞壁上的生物大分子与重金属结合的结果,形成的有机-金属化合物具有较高的稳定系数,可束缚有毒重金属离子,阻止其进入细胞)。有人指出小球藻(*Chlorella sp.*)对金属的耐受,外排占主要^[34]。有实验发现,莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的细胞壁缺失突变株较野生型对重金属的毒害更敏感^[35],给上述说法提供了分子学证据。此外,有些藻类能在培养过程中向培养液中分泌多聚糖,如有些种类的蓝藻分泌多糖、糖醛酸等胞外多糖(exopolysaccharide; EPS),这些大分子物质多为复杂的阴离子络合物,能与重金属结合^[10,36,37],因此在胁迫环境下也可对蓝藻起一定的保护作用。

2.2 藻类细胞内金属结合蛋白(或多肽)

国内外的研究表明,某些生活藻类不仅具有修复高浓度重金属废水的能力,而且也可在此环境中持续生存。这说明这些藻类对进入胞内的金属离子具有一定的抗性。这种抗性能力,目前认为主要是藻细胞内的植物螯合肽(PC)、金属硫蛋白(MT)、谷胱甘肽(GSH)等大分子物质所为。植物螯合肽的基本结构是($-\text{Glu}-\text{Cys}$)_n-Gly,有研究证实它是莱茵衣藻细胞内 Cd

的主要螯合剂^[39]。金属硫蛋白在藻细胞中常以 Gly-X-Gly 的结构居多,多硫基易与金属离子结合。如转 MT 基因的蓝藻能耐受 60 μM 的 CdCl_2 ^[39],有假说认为 MT 更多起了重金属的储存库或转运蛋白的作用。谷胱甘肽结构为 -Glu-Cys-Gly,其在重金属胁迫下可分解,用于细胞合成 PC。如锌处理单细胞硅藻杜氏藻(*Dunaliella tertidlecta*),发现 GSH 大量生成的同时,PC 也在加速合成^[40]。这种物质结合了金属离子,目前认为最终通过液泡储存、细胞外排作用将有害物质清除,也有储存到叶绿体或线粒体中,如纤细裸藻(*Euglena gracilis*)能耐受高浓度的 Cd,60%的 Cd 储存在叶绿体^[12]。藻类以上这些耐受重金属的机制目前尚有争议,但作为藻细胞解毒机制已被众多研究者认可。

3 藻类生物修复机制

3.1 藻类对重金属的吸附与关键功能基团

由上所知,藻类生物修复潜力直接取决于藻类吸附能力的大小。不论是生活细胞还是死亡细胞,藻类对金属离子的吸附主要是与藻细胞壁提供的功能基团有关。羧基多糖在藻类细胞壁中的含量相对较高,在螺旋藻(*Spirulina sp.*)中,多糖是除蛋白质外的第二类主要组分,在盐泽螺旋藻(*S. subsalsa*)中含量达 18%~23%,在钝顶螺旋藻(*S. platensis*)和极大螺旋藻(*S. maxam*)等藻株中含量占 6%~9%。在所有官能团中,多糖提供的羧基最为丰富,也最为重要,占藻细胞表面将近 70%的可滴定位点^[41]。包括羧基在内,这些基团有些可以失去质子而带负电荷,靠静电引力吸附金属离子;有的带孤对电子,可与金属离子形成配位键而络合金属离子,这些已为不少实验证实。例如,金属离子(如 Cd^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Pb^{2+} 等)在 pH 值接近羧酸的解离常数时能被最大量、或接近最大量地被藻细胞吸收,用傅立叶转换红外光谱分析表明,镉与藻细胞表面的羧基基团形成了桥连或二齿状结构^[42]。在褐藻类中,第二个最为重要的酸性功能基团是岩藻衣聚糖上的磺酸基团,其在褐藻生物吸附中也扮演了重要的角色;此外,在低 pH 值中,多聚糖上的羟基基团作用也不容小视^[43]。

此前,人们一直认为,金属离子是通过物理吸附结合到吸附剂高度发达的表面^[44]。然而近来的研究表明,事实远非如此简单,如果这种解释成立的话,那么所依靠的应该是藻细胞高度发达的细胞壁。通过藻细胞对亚甲基蓝的吸附来计算螺旋藻的藻细胞面积发现,在藻细胞吸附重金属的总量中,物理吸附不超过其中的 3.7%^[45]。

3.2 离子交换机制

众多的研究表明,离子交换是生物吸附中重要的机制之一。例如褐藻,很早人们发现在金属离子与细胞表面的藻酸盐之间有离子交换发生^[46],进一步研究认为其上参与离子交换的主要官能团是羧基和磺酸根^[47]。藻类对金属离子吸附的同时,伴随着其它离子的释放,如用泡叶藻吸附含钴废水,发现钴被吸附的同时, K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的释放量增加,研究者认为这些离子在细胞培养过程中多少会吸附在细胞表面的酸性功能基团上,当高浓度的重金属离子存在时就会发生阳离子交换,同时,用 CaCl_2 和 HCl 对该藻进行前处理发现, Ca^{2+} 的释放和 Co^{2+} 的吸收呈 2:3 的计量关系^[48],比值应该是在电荷达到平衡时获得的,反映了离子交换的存在,不过能否精确说明吸附与解吸附之间的定量关系、是否具有普遍性,目前还没有

定论。进一步证明藻细胞表面存在大量离子交换则由化学修饰方法来完成。将马尾藻等藻类细胞表面的羧基位点部分或完全酯化(起屏蔽作用),发现该藻对镉、铜、铝的吸收量大大降低^[42, 49]; Chojnacka 等^[49]以螺旋藻为材料,化学修饰其细胞壁上羧基和磷酸基,发现螺旋藻生物吸附能力降低 61%,离子交换能力则下降了 62%。另外,当前众多文献描述的用适当浓度的 HCl 或 HNO₃ 来洗脱吸附后藻细胞回收重金属的实验也只有离子交换才能加以解释,因此可以认为离子交换是生物吸附的主要机制。不过要完全解释藻细胞-金属离子的结合机制,准确的说还应该包括物化机制,如形成静电力、范德华力、离子键和共价键等^[43]。

3.3 络合机制

阳离子可与分子或带有自由电子对的阴离子(碱基对)起络合或螯合反应。藻类细胞对金属离子的吸附也存在这种现象。如海藻细胞硫酸根、氨基、羧基与金属离子有络合现象^[2], Haug 等^[50]在研究褐藻(*Laminaria digitata*)时发现,金属离子与藻酸盐上基团的亲和力依 Cu²⁺> Ba²⁺> Ca²⁺> Co²⁺顺序而减小, Haug 和 Smidsrod 解释为金属离子越大,越有利于同相互之间距离较远的功能基团组成的络合位点相结合。运用 X 光衍射以及核磁共振光谱分析,可以直观地看到金属离子与藻酸盐上的配基结合,进一步的分析发现金属离子络合的方向极有可能是羧基上的氧原子^[2]。目前对金属离子和盐藻衣聚糖之间的络合研究不多,加强这方面的工作,将丰富对金属离子和藻细胞之间吸附—解吸附关系的理解。

4 藻类生物修复的量化——吸附模型

随着对藻类重金属生物吸附的研究不断深入,各具特点的吸附模型不断为人们所建立,以此来描述和预期藻——金属系统(无论是定量培养还是连续培养)之间的反应、平衡行为。模型里的术语简列如下:

C ₀	金属的起始浓度, mg/l	X	藻体吸收的金属浓度, 等于 C ₀ - C _e , mg/l
C _e	溶液中平衡时的金属浓度, mg/l	x/m	单位藻体所吸附的金属浓度, mg/g
C ₀ /C _e	平衡与起始金属浓度比	(x/m) _{C₀}	(M/C ₀) _{C₀} x/m 和 M/C ₀ 标准值
M	藻体浓度, mg/l	(x/m) _{max}	本模型中 x/m 最大值
M/C ₀	藻体与金属的起始浓度比		, 本模型中的系数。
b, n, K _f	与吸附相关经验常数		

4.1 Langmuir 和 Freundlich 等温吸附式

Langmuir 和 Freundlich 等温吸附模型一直是人们广为用以描述藻类对重金属的吸附行为的两个著名模型,其表达式如下:

Langmuir 等温吸附方程的线性表达式:

$$C_e / (x/m) = C_e \cdot [1/(x/m)_{max}] + 1/(x/m)_{max} \cdot b \tag{1}$$

Freundlich 等温吸附方程的线性表达式:

$$\lg(x/m) = 1/n \cdot \lg C_e + \lg K_f \tag{2}$$

式(1)所示的 Langmuir 方程应用前提是基于以下几点假设:细胞表面由吸附位点组成;

金属离子与吸附位点是一对一结合;单层吸附;相邻位点间吸附互不干扰^[51]。式中 b 不是真正的 Langmuir 吸附常数,而是一个当量参数,因为整个反应系统不是完全符合前面的假设状态,因此与反应的 Gibbs 自由能相关不大。但它是一个很有用的参数,它的大小反应了生物吸附能力的大小以及不同生物量的吸附效率。式(2)所示的 Freundlich 等温式是一个经验式,也是基于几点假设:吸附剂表面要有强吸附位点;藻细胞吸附能力随藻金属离子结合的增加而逐渐降低;吸附反应的自由能与反应平衡时金属离子浓度的大小呈线性增加;藻-金属离子亲和力呈对数分布^[51]。此式中 n 代表藻-金属离子亲和力或结合能力,而 K_f 代表的是最大吸附量。这两种模型在解释一些单一吸附体系时,都能很好地描述金属吸附的动力学行为。如小球藻(*Chlorella fusca*)吸附 Cu、Cd、Pb 动力学行为就可用这两种模型很好地解释^[52],但是更多情况下就拟合实验数据而言, Freundlich 等温吸附式比 Langmuir 吸附等温式更能反映高浓度金属吸附关系^[52,53]。然而当吸附试验体系里有多种条件同时存在时,均难以用这两种模型解释清楚。如有研究报道,在同一复杂吸附体系里,会有不同起始藻量、起始金属浓度导致的变化,这种多维条件的变量用以上模型无法得到一个理想的拟合曲线^[54]。因此,有必要建立一些更好的多维生物吸附模型。

4.2 其它吸附模型

目前,已有大量文献报道改进的数学模型,这里只介绍一个由 Karina Yew-Hong Gin 等^[54]建立的生物吸附模型。该模型最终应用到藻类吸附方面有三组方程:

$$C_e/C_0 = \exp(-M/C_0) \quad (3)$$

$$x/m = [1 - \exp(-M/C_0)] / (M/C_0) \quad (4)$$

$$x/m = (1 - C_e/C_0) / \ln(C_e/C_0) \quad (5)$$

这三组方程能较好地描述复杂吸附体系中,多维条件下的吸附动力学行为,并能对吸附数据进行很好的拟合。由式(3)可建立 C_e/C_0 和 M/C_0 关系式,即在生物吸附过程中不同起始藻量与不同金属浓度之间的存在的适量关系,以解决废水中欲修复的金属浓度与我们要放入多少吸附用的藻的问题。式(4)、(5)建立的是 x/m 和 M/C_0 之间,以及 x/m 和 C_e/C_0 之间的关系,由这两组关系,可以知道在吸附过程中起始金属浓度、起始藻量对藻吸附能力大小的影响。Karina Yew-Hong Gin 等^[54]用卵胞藻(*Oocystis* sp)及绿球藻(*Chlorococcum* sp)为吸附材料来验证该模型的实际效果,结果在多因素条件(包括不同起始藻量、重金属浓度及 pH 等)下,无论是生活细胞还是死亡细胞对 Cu、Cd、Zn、Pb 的吸附动力学行为,都可用此模型进行很好的描述。因此,在一定程度上弥补了上述两种传统模型的缺陷。不过该模型也有其局限性:首先,在极低或极高的 pH 条件下应用不理想;其次,实验过程中的藻量损耗不能太大,当然这可以避免。

5 藻类生物修复的影响因素

利用藻类进行生物修复,常选用长势好的藻体,这样的藻体生命力强,胞壁物质丰富,吸附量大。因此,在进行生物修复过程中,需考虑外界因素的影响。这些外界影响因子包括:pH 值、背景离子的竞争、光照条件、水温、氮磷比、藻类起始浓度及重金属的浓度等。

首先是 pH 对藻类吸附的影响。离子交换机制认为藻类细胞壁停留的 H^+ 会和金属离子发生交换, 从而影响藻的吸附能力。Jose 等^[59]用褐藻 (*Ecklonia radiata*) 做 pH 影响实验, 发现该藻对铅的吸收从 0.005mM/g (pH 1.0) 上升到 1.25mM/g (pH 5.5)。Hashim 等^[60]用马尾藻 (*Sargassums*) 做有关 pH 影响其对镉的吸附的实验, 也证实了同样的结果。尽管有实验认为, pH 与吸附能力大小并不总是呈线性关系^[22]。Marques 等^[57]和 Fourest 等^[58]分别实验发现, 藻类和真菌在 pH 值增高的同时, 对铅的去除能力也提高, 但在过高 pH 条件下, 反而有所降低, 他们认为, 低 pH 时, 高浓度的 H^+ 会竞争细胞表面负电位吸附位点, 随着 pH 上升, 铅离子竞争力超过了 H^+ , 因此去除能力加强。至于为什么 pH 过高时, 吸附能力反而降低, 这是因为过高的电负离子会在金属离子周围形成一个负性包围圈, 从而不易和藻细胞上的负电位吸附位点结合。因此, 合适的 pH 条件无论对于藻细胞生长还是其生物吸附都非常重要。

其次, 工业应用藻类去除重金属, 还必需考虑的因素是环境背景中存在的阴阳离子的干扰。这些阴阳离子常会同重金属离子竞争藻细胞壁的吸附位点, 这一点也可以用 Donnan 模型和离子交换模型来解释。Hashim 和 Chu^[60]研究发现, 马尾藻对 Cd 的吸附, 阳离子中 K、Na、Mg 对其影响不大, 然而 Ca 却明显降低藻对 Cd 的吸附, 1.62mmol/l 的 Ca 的存在, 可将藻对 Cd 的吸收降为原来的 80%, 当 Ca 的浓度增到 3.24mmol/l 时, 对 Cd 的吸附降到 65%。唯一肯定的是 Ca 与 Cd 竞争, 但详细的原因还不清楚。在阴离子对马尾藻吸附 Cd 的影响中, 结果显示高浓度的氯、硝酸根、硫酸根、醋酸根离子对马尾藻吸附 Cd 的影响不大。尽管如此, 醋酸根的存在还是将藻对 Cd 的吸附降到原先的 90%, 究其原因, 可能是 Cd 与醋酸根形成了 11.1% 左右的 $(CH_3COOCd)^+$, 由吸附的降低可推断这种复合物无法吸附到藻细胞上, 另外一个可能形成的化合物是 $CdSO_4$, 但由其导致的吸附并未下降, 可推断 $CdSO_4$ 能够被吸附到藻细胞上的^[60]。有时由 Na 造成的高离子强度环境, 会与 Zn 和 Ni 竞争吸附位点, 对 Cu 的影响则不大, 但这种离子强度对吸附造成的影响并不能简单地认为是涉及离子交换竞争, 还包括 Na 与重金属竞争与藻类细胞的静电效应^[41]。

除上述两大因素外, 藻类起始浓度、重金属的浓度从 Karina Yew-Hoong Gin 建立的生物吸附模型来看, 对藻类生物吸附的也有着很大的影响。实验条件下的氮磷比、光照条件及水温对藻类生物吸附的影响已有多篇文献报道, 在此只作一些必要补充: 藻类在自然界, 一般其生长所需的水体氮磷比为 10~25 1; 从早春开始, 藻类生命活动随着光照的增加与水温的升高而加强, 一般是夏季达到高峰, 入秋后, 随着光照的减少与水温的下降而减弱, 冬季达到低谷; 藻类生长发育年周期变化直接影响其对水环境中重金属的吸收, 所以在自然条件下应用藻类修复重金属污染水体时, 对此问题应予注意。

6 存在的问题与展望

利用藻类生物修复重金属污染水体, 国内外在藻类的选择、耐受性、吸收机理以及应用方面均取得了一定的进展。但是, 作为一项新兴的技术, 包括我国在内的发展中国家, 在利用藻类对重金属污染水体的修复基本处于起步阶段, 还存在诸多不足和不完善。

当前国际上对这项技术的研究还存在如下几个问题: 首先是藻类这一新型生物材料修复持续时间以及环境适应的问题, 不少藻类的修复能力均为实验条件下的结果, 如螺旋藻,

虽然在实验条件下富集能力较强^[45],但它在自然界的生境很窄,我国只有云南程海有大量分布;其次是野外多生长影响因素、多重金属混合污染的研究和应用方面所开展的工作甚少,除发达国家外,发展中国家包括我国,在这方面的科研力度明显落后;第三是规模性应用所涉及到的藻类收集及合理的藻类固定问题^[60],淡水微藻如单细胞衣藻,其个体直径也就在10 μm左右,收集就相当困难,不少藻类同衣藻一样有鞭毛,具游动性,因此,针对这类藻类开发合理的污水处理的藻类固定化技术很有必要;第四,环境科学领域与生命科学领域等其他学科的交叉有待深入,目前我们对藻类生物修复的机理、吸收途径等方面并未完全弄清楚,藻类对重金属的抗性、吸收能力还需生物技术助其进一步提高,如 Surasak 等^[59]曾用转基因技术增强衣藻对 Cd 的耐受力 and 吸附核辐射能力;最后是综合治理技术的结合和商业性利用的问题,如何与其它修复技术如漂浮植物修复技术等结合^[60]、开发修复重金属污染的菌藻共生综合系统^[61,62]、回收贵金属、加工藻类食品饲料等也是摆在我们面前很现实的问题。

针对以上问题,今后可在以下几点展开实验研究工作:

- (1) 筛选环境适应性强的藻类,对具有修复潜力的藻类进行优化培养,延长修复时间。
- (2) 进一步开展多因素条件下的藻类修复研究,解决自然水体中多金属污染、种群竞争、微生物侵袭等导致修复能力下降的问题。
- (3) 进一步研发藻塘、湿地、藻类过滤系统,加强菌藻共生的研究,解决这些系统中藻类的分布密度和光合作用之间的关系等问题。
- (4) 改进适宜的藻类吸附装置和金属回收装置,采用藻类细胞固定化技术与这些装置相结合,同时加强与其它传统修复技术的结合。
- (5) 利用基因工程技术提高藻类对重金属的吸收能力和耐受性。

参考文献

- [1] 李 然, 李 嘉, 赵文谦. 水环境中重金属污染研究概述. 四川环境, 1997, 16(1):18-22.
- [2] 李永华, 王五一, 杨林生 等. 汞的环境生物地球化学研究进展. 地理科学进展, 2004, 23(6): 33-40.
- [3] 张剑波, 冯金敏. 离子吸附技术在废水处理中的应用和发展. 环境污染治理技术与设备, 2000, 1(1):46-51.
- [4] 赵 璇, 吴天宝, 叶裕才. 我国饮用水源的重金属污染及治理技术深化问题. 给水排水, 1998, 24(10) :22-25.
- [5] 涂书新, 韦朝阳. 我国生物修复技术的现状与展望. 地理科学进展, 2004, 23(6) :20-32.
- [6] Volesky B, Schiewer S. In: Flickinger M C, Drew S W (eds), Encyclopedia of bioprocess engineering, Wiley, New York., 1999, 433-453.
- [7] Jahan K, Mosto P, Mattson C, Frey E, Derchak. Metal uptake by algae. In: Popov V, Itoh H, Brebbia C A, Kungolos S. Waste Management and the Environment ,WIT press. 2004.
- [8] Wetzel R G. Limnology. 2nd edition Saunders college printing, New York. 1983,767.
- [9] 董庆霖, 林 碧. 铅对羊角月芽藻的毒性及吸收作用的研究. 辽宁大学学报, 1997, 24(1):89-94.
- [10] Parker D L, Hai L C, Mallick N, et al. Effect of cellular metabolism and viability in metal ion accumulation by cultured biomass from a bloom of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Appl Environ Microbiol. 1998, 64: 1545-1547.
- [11] Mehta S K, Tropathi B N, Gaur J P. Influence of pH, culture age and cations on adsorption and uptake of Ni by *Chlorella vulgaris*. Kur J Protistol, 2000, 36: 443-450.
- [12] Perales-Vela H V, Pena-Castro J M, Canizares-Villanueva R O. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. Chemosphere, 2006, 64: 1-10.
- [13] Rose P D, Boshoff G A, van Hille R P, et al. An integrated algal sulphate reducing high rate ponding process for the treatment of acid mine drainage wastewaters. Biodegradation, 1998, 9:247-257.
- [14] Adey W H, Luckett C, Smith M. Purification of industrially contaminated groundwaters using controlled ecosystems. Ecol.

- Eng. 1996, 7:191~212.
- [15] Phillips P, Bender J, Simms R, et al. Manganese removal from acid coal- mine drainage by a pond containing green algae and microbial mat. *Water Sci. Technol*, 1995,31, 161~170.
- [16] 李志勇, 李 琳, 蔡妙颜 等. 利用藻类去除与回收工业废水中的金属. *重庆环境科学*, 1997, 19(6):27~32.
- [17] Prasher S O, Beaugeard M, Hawari J, et al. Biosorption of heavy metals by red algae (*Palmaria palmata*). *Environ Technol*, 2004, 25(10):1097~106.
- [18] Lau T C, Ang P O, Wong P K. Development of seaweed biomass as a biosorbent for metal ions. *Water sci Technol*, 2003, 47(10): 49~54.
- [19] Chaisulsant Y. Biosorption of cadmium () and copper () by pretreat- biomass of marine alga *Gracilaria fisheri*. *Environ Technol*, 2003, 24(2):1505~1508.
- [20] Kratochvil D, Volesky B, Demopoulos G. Optimizing Cu removal/recovery in a biosorption column. *Wat Res*, 1997, 31(9): 2327~2339.
- [21] Yoshida N, Ikeda R, Okuno T Identification and characterization of heavy metal - resistant unicellular alga isolated from soil and its potential for phytoremediation. *Biores Technol* 2006, 97: 1843~1849.
- [22] Holan Z R, Volesky B. Biosorption of lead and nickel by biomass of marine algae. *Biotechnol Bioeng*, 1994, 43: 1001~1009
- [23] Kumar V V, Kaladharan P. Biosorption of metals from contaminated water using seaweed. *Current Science*, 2006, 90(9): 1263~1267.
- [24] Yu Q, Matheickal J T, Yin P, et al. Heavy metal uptake capacities of common marine macro algal biomass. *Water Res*, 1999, 33: 1534~1537.
- [25] Jalali R, Ghafourian H, Asef Y, et al. Removal and recovery of lead using nonliving biomass of marine algae. *J Hazard Mater*, 2002, 92(3): 253~262.
- [26] Ofer H, Yerachmiel A, Shmuel Y. Marine macroalgae as biosorbents for cadmium and nickel in water. *Water Environ Res*, 2003, 75(3): 246~253.
- [27] Herrero R, Cordero B, Lodeiro P, et al. Interactions of cadmium () and protons with dead biomass of marine algae *Fucus* sp. *Marine Chemistry* 2006, 99:106~116.
- [28] Leusch A, Volesky B. The influence of film diffusion on cadmium biosorption by marine biomass. *J Biotechnology*, 1995, 43: 1~10.
- [29] Jana K, Edga V, Comparison of differences between copper bioaccumulation and biosorption. *Environ Intern*, 2005, 31(2): 227~232.
- [30] Pirszel J, Pawlik B, Skowronski T. Cation- exchange capacity of algae and cyanobacteria: A parameter of their metal sorption abilities. *J Indus Microbiol Biotechnology*, 1995, 14:319~322.
- [31] Hassen A, Saidi N, Cherif M, et al. Effects of heavy metal On *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*. *BioresTechnol*, 1998,65(1~2):73~82.
- [32] Mohamed Zakaria A. Removal of cadmium and manganese by a non- toxic strain of the freshwater cyanobacterium *Gloethece magna*. *Wat Res*, 2001, 35(18):4405~4409.
- [33] Jorge L, Garden T, Dennis W, et al., Effects of chemical modification of algal carbonyl groups on metal ion binding. *Environ Sci Technol*. 1990, 24(9): 1372~1378.
- [34] Foster P L. Copper exclusion as a mechanism of heavy metal tolerance in a green alga. *Nature*, 1977, 269: 322~323.
- [35] Center R B. Ecotoxicology of inorganic chemical stress on algae. In: Stevenson R J, Bothwell M L, Lowe R L, eds. *Algal ecology- freshwater benthic ecosystems*. California: Academic Press, 1996: 403~468.
- [36] De Philippis H, Vincenzini M. Extracellular polysaccharides from cyanobacteria and possible applications. *FEMS Microbiol Rev*, 1998, 22: 151~175.
- [37] De Philippis R, Sili C, Paperi R, et al. Exopolysaccharide- producing cyanobacteria and their possible exploitation: A review. *J Appl Phycol*, 2001, 13: 293~299.
- [38] Hu S X, Lau K W K, Wu M. Cadmium sequestration in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Sci*, 2001, 161: 987~996.
- [39] Chen Z, Ren Q, Shi D. et al. Expression of mammalian metallothionein- gene in cyanobacteria to enhance heavy metal resistance. *Nar pollut Bull*, 1999, 39: 155~158.

- [40] Tauji N, Hirayanagi N, Lwabe O, et al. Regulation of phytochelatin synthesis by zinc and cadmium in marine green alga, *Dunaliella tertiolecta*. *Phytochemistry*, 2003, 62: 453-459.
- [41] Schiewer S, Wong M H. Ionic strength effects in biosorption of metals by marine algae. *Chemosphere*, 2000, 41(1-2): 271-282.
- [42] Fourest E, Volesky B. Contribution of sulphonate groups and alginate to heavy metal biosorption by the dry biomass of *Sargassum fluitans*. *Environ Sci Technol*, 1996, 30(1): 277-282.
- [43] Davis T A, Volesky B, Mucci A. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Res*, 2003, 37(18): 4311-4330.
- [44] Crist D R, Crist R H, Martin J R, Watson J R. Ion exchange systems I proton-metal reaction with algal cell walls. *FEMS Microbiol. Rev.* 1994, 14: 309-314.
- [45] Chojnacka K, Chojnacki A, Gorecka H. Biosorption of Cr, Cd and Cu ions by blue-green algae *Spirulina* sp: kinetics, equilibrium and the mechanism of the process. *Chemosphere*, 2005, 59: 75-84.
- [46] Myklesstad S. Ion-exchange properties of brown algae I. Determination of rate mechanism for calcium-hydrogen ion exchange for particles from *Laminaria hyperborea* and *Laminaria digitata*. *J Appl Chem*, 1968, 18: 60-36.
- [47] Crist R H. Interaction of metals and protons with algae. *Environ Sci Technol*, 1992, 26: 496-502.
- [48] Kuyucak N, Volesky B. Accumulation of cobalt by marine alga. *Biotechnol Bioeng* 1989, 33(7): 809-814.
- [49] Gardea Torresdey Jorge L. Effect of chemical modification of algae carboxyl groups on metal ion binding. *Environ Sci Technol*, 1990, 24: 1372-1378.
- [50] Haug A. The affinity of some divalent metals to different types of alginates. *Acta Chem Scand*, 1961, 15: 1794-1795.
- [51] Yang J, Volesky B. Cadmium biosorption rate in protonated *Sargassum* biomass. *Environ Sci Technol* 1999, 33(5): 751-757.
- [52] Da Costa ACA, De Franca F P. Cadmium uptake by biosorbent seaweeds: sorption isotherms and some process conditions. *Environ Sci Technol*, 1996, 31(17): 2373-2379.
- [53] Wehrheim B, Wettren M. biosorption of cadmium, copper and lead by isolated mother cell walls and whole cells of *Chlorella fusca*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1994, 41: 725-728.
- [54] Gin K Y-H, Tang Y Z, Aziz M A. Derivation and application of a new model for heavy metal biosorption by algae. *Wat Res*, 2002, 36: 1313-1323.
- [55] Jose T, Matheickal and Qiming Yu. Biosorption of lead from aqueous solutions by marine algae *Ecklonia radiata*. *Wat Sci Tech*, 1996, 34(9): 1-7.
- [56] Hashim M A, Chu K H. Biosorption of cadmium by brown, green, and red seaweeds. *Chemical Engineering Journal*, 2004, 97: 249-255.
- [57] Marques P A S S, Rosa M F, Pinheiro H M. pH effects on the removal of Cu Cd and Pb from aqueous solution by waste brewery biomass. *Bioprocess Engineering*, 2000, 23: 135-141.
- [58] Fourest E, Canal C, Toux, J-C. Improvement of heavy metal biosorption by micelial dead biomass (*Rhizopus arrhizus*, *Mucor miehei* and *Penicillium chrysogenum*), pH control and cation activation. *FEMS Microbiol. Rev.* 1994(14): 325-332.
- [59] Surasak S, Samuel T, Desh V, et al., Molecular mechanisms of praline mediated tolerance to toxic heavy metal in transgenic microalgae. *Plant Cell*, 2002, 14(11): 2837-2847.
- [60] 黄廷林, 戴栋超, 王震等. 漂浮植物修复技术净化城市河湖水体实验研究. *地理科学进展*, 2006, 25(6): 62-67.
- [61] Gonzalez L E, Bashan Y. Growth promotion of the microalgae *Chlorella vulgaris* when coimmobilized and cocultured in alginate beads with the plant growth-promoting bacteria *Azospirillum brasilense*. *Appl Environ Microbiol* 2000, 6: 1537-1541.
- [62] Luz E, de-Bashan, Juan-Pablo Hernandez, Taylor Morey, Yoav Bashan. Microalgae growth-promoting bacteria as "helpers" for microalgae: a novel approach for removing ammonium and phosphorus from municipal wastewater. *Wat Res*, 2004, 38: 466-474.

Bioremediation of Heavy Metal Contaminated Water by Algae

JIANG Yongbin¹, JI Hongbing^{1,2}

(1. The Key Laboratory of Metropolitan Eco- Environment Processes, College of Environmental Resource and Tourism, Capital Normal University, Beijing 100037, China; 2. The Key Laboratory of Environmental Resource and GIS of Beijing, Capital Normal University, Beijing 100037, China)

Abstract: Heavy metal pollution in aqueous system is a significant world-wide problem. Heavy metal ions which are present as ions in wastewater are toxic and can be readily absorbed into the human body through the food chain in aquatic ecosystem. The prevention of heavy metal contamination in aquatic environments is often performed by conventional methods. However, these methods have many disadvantages, such as incomplete metal removal, toxic sludge generation and cost inefficiency. Metal uptake by microorganisms has been studied for some years. Researches indicate that algae have the abilities to accumulate trace metals. Based on findings, technologies of bioremediation of heavy metal contaminated water by algae in living and non-living form have been developed and got more and more attention around worldwide for its cost-effective and environmental friendly characteristics. Some of the technologies in heavy metal removal, such as High Rate Algal Ponds and Algal Turf Scrubber, have been justified for some practical application in China and abroad and limitations of these methods in large scale still exist. As an innovative clean-up technology, it mainly depends on the biosorption and bioaccumulation abilities of algae, and the former is dominated in the whole process of bioremediation. Studies suggest that the constituents of algae cell wall such as alginate and fucoïdan which have key functional groups are chiefly responsible for biosorption of heavy metal ions. Cell storage and extracellular polysaccharides play important role in heavy metal detoxification of algae. In order to quantification of metal-biomass interactions, several adsorption models are also discussed for algae so that we can evaluate their potential for metal uptake. Although a number of studies using different types of algae have proved that bioremediation is a more effective method for heavy metal removal than the conventional methods. However, there still exist some deficiencies in mechanism and application of bioremediation. So, further investigation is still needed to elucidate the process of bioremediation and optimize the maximum efficiency of removal, which is expected to lead to its large scale exploitation in our country.

Key words: algae; heavy metal; bioremediation; uptake; biosorption