

不同来源钝顶螺旋藻砷富集特性

王志忠^{1,2}, 刘果厚¹, 巩东辉³, 睦其尔^{2,4}, 杨娜^{2,4}, 李馨⁵, 穆洁⁶

1. 内蒙古农业大学生态环境学院, 呼和浩特 010019
2. 鄂托克旗螺旋藻工程技术研究中心, 鄂尔多斯 016109
3. 内蒙古科技大学数理与生物工程学院, 包头 041010
4. 鄂尔多斯市新宇力藻业集团有限公司, 鄂尔多斯 016109
5. 包头市出入境检验检疫局, 包头 014100
6. 鄂托克旗园林绿化局, 鄂尔多斯 016109

摘要 为进一步探讨2个不同来源钝顶螺旋藻的砷富集特性,明晰藻液砷浓度与生长、产量及藻粉砷含量的对应关系,在不同质量浓度砷溶液中培养鄂尔多斯钝顶螺旋藻与引进螺旋藻藻种,通过比较2藻种生长情况、藻粉的干重及藻粉中砷的质量比,分析2藻种对砷的适应性和抵抗性。结果表明,在0~0.32 mg/L的砷环境中,2藻种生长均没有受到抑制,当地藻种产量高于引进藻种,在各砷浓度下鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻粉砷质量比明显低于引进种。

关键词 钝顶螺旋藻;藻粉;砷富集

中图分类号 Q945.1

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2014.32.006

Characterization of Arsenic Concentration in *Spirulina platensis* from Different Sources

WANG Zhizhong^{1,2}, LIU Guohou¹, GONG Donghui³, MU Qier^{2,4}, YANG Na^{2,4}, LI Xin⁵, MU Jie⁶

1. Ecology and Environmental Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China
2. Etuoke Research Centre of Spirulina Engineer and Technology, Erdos 016109, China
3. School of Mathematics, Physics and Biological Engineering, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 041010, China
4. Erdos Xinyuli Spirulina Industry Group Company Limited, Erdos 016109, China
5. Baotou Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Baotou 014100, China
6. Etuoke Landscape and Forestry Bureau, Erdos 016109, China

Abstract Comparative study is carried out on the dry weight, the growth (OD_{560}) and the arsenic content of the spirulina powder at different arsenic concentrations for the *Spirulina platensis* from the alkaline lake of Erdos plateau and the introduced species to find out the characteristics of the arsenic enrichment and analyze the arsenic adaptation and the arsenic resistivity of two species of *Spirulina platensis*. The results show that the growth of two species of *Spirulina platensis* is not inhibited, the production of *Spirulina platensis* from Erdos is higher than the introduced, and the arsenic content of spirulina powder is obviously lower than the introduced at different arsenic concentrations.

Keywords *Spirulina platensis*; spirulina powder; arsenic enrichment

收稿日期:2014-07-23;修回日期:2014-09-26

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(2011MS0519,2011MS0306)

作者简介:王志忠,工程师,研究方向为野生植物资源保护与利用,电子信箱:zhizhong866@126.com;刘果厚(通信作者),教授,研究方向为野生动植物开发利用,电子信箱:guohouliu@163.com

引用格式:王志忠,刘果厚,巩东辉,等.不同来源钝顶螺旋藻砷富集特性[J].科技导报,2014,32(32):37-40.

螺旋藻是一种主要分布于热带、亚热带地区淡水或盐碱湖泊中的单细胞丝状蓝藻,长约200~500 μm ,属于蓝藻门、藻殖段纲、颤藻目、颤藻科、螺旋藻属,是地球上最古老的光合生物之一^[1,2],已经有36亿年的生活史。自20世纪中叶被发现和研究开发以来,螺旋藻逐渐受到世界的关注^[3]。螺旋藻目前已成为开发和利用最广泛的经济微藻^[4],获得包括联合国粮农组织和世界卫生组织在内的诸多机构和国家的赞誉^[5],已被推荐为或者规定为一种安全型、营养型、保健型的全能保健食品。

重金属可以通过多种途径进入水体,且较难降解,通过参与复杂的水体水系生物地球化学循环,对水生态系统产生影响^[4-6]。水生生物有极强富集元素的作用,能将水体中元素的浓度浓缩到体内达千倍、万倍甚至几十万倍^[7]。王亚等^[8]研究指出,无菌盐藻对砷的耐性较强,但富集砷的能力不强,而盐藻及其共生菌协同富集砷的能力较强,带菌盐藻可以通过As(III)氧化、As(V)还原、As(III)甲基化和排出胞外等途径降低砷的毒害。王振红等^[9]指出藻类作为水体的初级生产者,对砷高效累积并提升其向食物链的转移。螺旋藻作为一种水生低等植物,对水体中的砷、铅、汞等重金属有一定的富集作用,若重金属含量超过人体可以承受的限度,就会给人体造成极大的毒害。本研究比较鄂尔多斯钝顶螺旋藻(当地藻种)与引进钝顶螺旋藻(引进藻种)在不同砷浓度下的生长及对砷的富集程度,探索砷在螺旋藻中的富集规律,以期找到降低螺旋藻食品中砷含量的途径。

1 材料与方法

1.1 材料及培养

藻种是鄂托克旗螺旋藻工程技术研究中心从鄂尔多斯碱湖分离纯化的钝顶螺旋藻和从南京大学引进的非洲乍得湖钝顶螺旋藻,基础培养基采用鄂托克旗螺旋藻工程技术研究中心自制培养基,培养温度28℃,光暗比12 h:12 h。

1.2 实验方法

1.2.1 螺旋藻富砷培养

在500 mL三角瓶中加入标准培养基300 mL,在培养基中加入砷标准液,使培养液的砷质量浓度分别达到0.01、0.02、0.04、0.08、0.16、0.32 mg/L,每组设3个重复,以不加砷标准液的培养基为对照。将藻种接种到培养基中,使其 OD_{560} 达到0.10。在光照培养箱中设置温度为28℃,光照强度3500 lx,光照时间12 h/d,培养15 d采收。

1.2.2 螺旋藻的光密度值(OD 值)测定

培养过程中,每天测定 OD 值比较螺旋藻生长情况,直至采收。

1.2.3 藻液中砷质量浓度测定

在培养第15天测定藻液中砷的质量浓度,根据《GB/T 5009.11—2003 食品中总砷及无机砷的测定》,利用原子荧光分光光度计法^[10]测定和计算。

1.2.4 螺旋藻的干重及藻粉砷含量测定

培养结束后,用400目滤布过滤藻液并用蒸馏水清洗藻泥至中性,放入烘箱内60℃干燥至恒重后称量。根据《GB/T 5009.11—2003 食品中总砷及无机砷的测定》,利用原子荧光分光光度计法^[10]测定和计算藻粉中的砷含量,并进行对比。

2 结果与分析

2.1 不同砷质量浓度下2藻种的干重比较

从图1可以看出,鄂尔多斯钝顶螺旋藻在培养期的干重在不同砷质量浓度下均显著高于引进种,且2藻种各自的干重在不同砷质量浓度下均保持较稳定的数值,由此可以说明培养液中砷质量浓度在0~0.32 mg/L时,随着砷质量浓度的增加,螺旋藻的干重没有发生显著变化($P>0.05$),即该质量浓度范围内砷对螺旋藻生长没有促进或抑制作用。另外,在同等培养条件下,鄂尔多斯当地钝顶螺旋藻干重高于非洲引进钝顶螺旋藻干重。

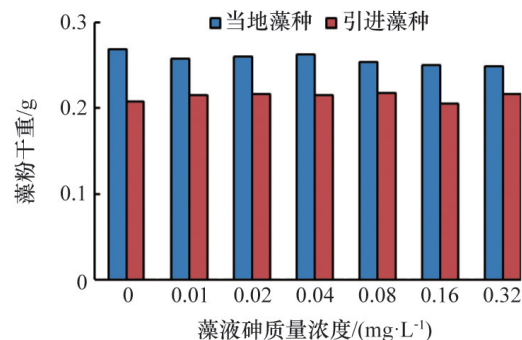


图1 不同砷质量浓度下2藻种的干重

Fig. 1 Dry weight under different arsenic concentration

2.2 不同砷质量浓度下2藻种藻液砷消耗量对比

从表1可以看出,不同砷质量浓度下培养15 d,鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻液中的砷消耗率基本维持在初始砷质量浓度的30%~40%(32.21%~39.81%),由此可知,在初始藻液藻种接种量和培养条件一致的前提下,培养过程中,藻液中砷的

表1 2藻种培养液砷消耗率比较

Table 1 Declining rate of arsenic concentration of nutrient solution for two species of *Spirulina platensis*

砷质量浓度/(mg·L ⁻¹)	砷消耗率/%	
	鄂尔多斯钝顶螺旋藻	引进钝顶螺旋藻
0.01	32.21	53.85
0.02	35.26	54.63
0.04	37.31	55.06
0.08	38.19	56.22
0.16	39.47	56.66
0.32	39.81	58.78

消耗量与藻液中初始砷质量浓度密切相关,总体消耗率虽有小幅增长(差异显著, $P<0.01$),但最大与最小消耗量相差仅7.6%,而藻液的最大砷质量浓度是最小砷质量浓度的32倍。消耗的砷没有自然流失,而是被富集到藻体,最后以藻粉中砷的形式存在。由此可以推断,在同等生产条件下,藻液中的砷质量浓度越高,生产出的藻粉中的砷浓度就越高。

引进钝顶螺旋藻各浓度的砷消耗率明显增大,但仍然维持在一个相对集中的数值范围内,最大与最小消耗率相差不到5%(4.93%)(差异显著, $P<0.01$)。

螺旋藻在培养过程中,藻液中砷的消耗量与藻液的总砷浓度有关,在总藻量相同的前提下,藻液砷质量浓度越高,砷的消耗量越大。且随着藻液砷质量浓度的增大,2藻种砷消耗量都略有增大。比较两藻种不同砷质量浓度下的砷消耗量,可见非洲引进藻种对藻液中的砷消耗量显著大于鄂尔多斯当地藻种。

2.3 不同砷质量浓度下2藻种生长情况

由图2可以看出,2藻种的 OD 曲线基本趋于一致,且随着藻液砷质量浓度的增加,每一藻种各砷浓度的 OD 值差距较小,这更加证明了在不同砷质量浓度下2藻种的生长不受藻液中砷含量的制约。从图2还可看出,鄂尔多斯当地钝顶螺旋藻的 OD 值在不同砷质量浓度下均显著大于引进藻种($P<0.01$),说明在同等培养条件下当地藻种的生长量大于引进藻种。

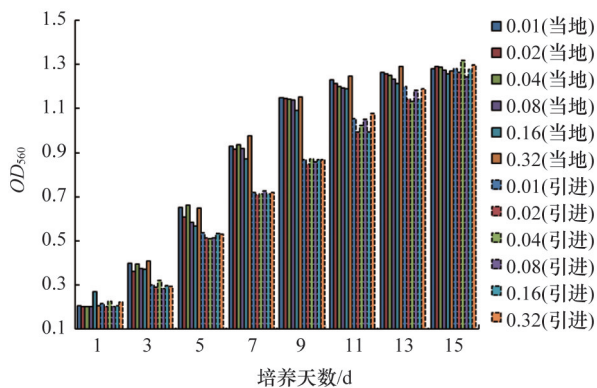


图2 不同砷质量浓度下2藻种的 OD_{560}

Fig. 2 OD_{560} at different arsenic concentration

2.4 采收后藻粉砷质量浓度比较

由图3可以看出,在相同砷环境下培养,当地藻种采收的藻粉砷含量都显著低于引进藻粉砷含量($P<0.01$),且随着藻液中砷质量浓度的增大,2藻种藻粉中的砷含量差距增大。当砷质量浓度为0.32 mg/L时非洲引进藻种藻粉砷质量比已经突破2.5 mg/kg,而鄂尔多斯当地藻种藻粉砷质量比仍然保持在1.0 mg/kg以内。从图3还可看出,在藻液砷质量浓度超过0.04 mg/L时,引进藻种藻粉的砷质量比已经超过1.0 mg/kg,而对于鄂尔多斯当地藻种,即使藻液砷浓度为本试验设置的最大砷质量浓度0.32 mg/kg,藻粉砷质量比依然保持

在1.0 mg/kg以下。相对于引进藻种,鄂尔多斯当地藻种在控制藻粉砷含量方面表现出了独特的优越性。

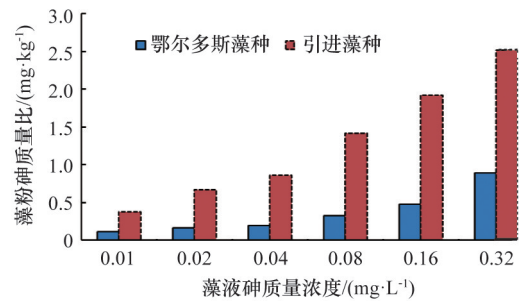


图3 不同砷质量浓度下2藻种藻粉砷质量比

Fig. 3 Arsenic content of spirulina powder at different arsenic concentration

3 讨论

3.1 不同砷质量浓度对2藻种生长和产量的影响

有报道指出,当向生长基质中加入少量砷时,5价砷促进了磷的吸收从而促进了蜈蚣草(一种超富集植物)的生长^[11],同时促进了一些抗氧化酶类的活性^[12],但本研究中,从低到高不同质量浓度的砷对2产地的钝顶螺旋藻的生长和产量均没有产生影响,没有表现出低浓度砷积极的促进生长和增产作用,也没有表现出高浓度砷对螺旋藻生长的抑制作用和对产量的缩减作用。由此可以推断,螺旋藻对一定质量浓度范围内的砷没有较强的敏感性。较高浓度的砷对螺旋藻没有产生较大的毒害作用,说明螺旋藻存在着与常规砷富集植物不同的耐砷机理。

3.2 不同砷质量浓度对2藻种砷的富集程度的影响

从本研究结果看,引进藻种富集的砷比鄂尔多斯当地藻种更多,且随着培养液砷浓度的增大,引进藻种在藻粉单位重量下富集砷的程度比当地藻种更大。这可能与2藻种的不同原生境有关,鄂尔多斯当地钝顶螺旋藻藻种长期生活在鄂尔多斯高原碱湖中,碱湖中积累了含量较高的砷^[13],此藻种在长期对砷的吸收和吸附以及消化排出和解吸附的作用过程中形成了一套适应高砷环境的机制,以免因无限量吸入砷而导致中毒,另外也可能是其在长期与高砷环境互作的过程中,形成了一定的排砷、拒砷与解毒的机制,使其能够在高砷的鄂尔多斯高原碱湖长期繁衍生息。而对于非洲引进的钝顶螺旋藻来说,其长期生活在热带亚热带碱湖中,没有经历过高砷环境的生存繁衍及驯化,在引进到鄂尔多斯地区后,将其培养在高砷培养液中,造成其不间断高速吸收吸附,致使最终藻粉中的砷含量显著超过鄂尔多斯藻种。从邵丽华等^[14]的对以上2藻种的RAPD分析结果看,2藻种虽为同一个物种,但却是在不同生态环境下的各生态种,尽管它们在形态特征上很相似,但它们的DNA碱基系列差异较大,因此,2藻种应答砷环境的机制可能存在不同,所以就出现了本实验中2藻种对砷的富集程度不同的结果。

本实验中2藻种藻粉中的砷含量都表现出随藻液砷浓度增大而增加的趋势,这也印证了藻粉砷含量与养殖用水砷含量存在正相关的观点^[15],即养殖用水砷含量越高,正常养殖所产螺旋藻藻粉砷含量也越高,所以选择低砷含量的地下水作为养殖用水是获得低砷藻粉的关键环节。

在北方的螺旋藻养殖过程中,由于地下水砷含量的差异,导致了螺旋藻藻粉中砷含量的不同。砷作为一系列食品标准中严格限量的卫生指标^[16],影响着螺旋藻产品的质量,也影响着螺旋藻生产企业的效益和生命,所以选用优质水源进行螺旋藻生产是获得优质低砷螺旋藻产品的必然选择。

4 结论

1) 螺旋藻在培养的过程中,其生长和产量不受一定质量浓度内砷含量(0~0.32 mg/L)的影响,鄂尔多斯藻种的生长情况和产量优于引进藻种。本实验中,砷质量浓度为0~0.32 mg/L的藻液均未对2个品种螺旋藻的生长和产量产生影响,所以在正常生产过程中,符合生产用水标准(砷质量浓度 ≤ 0.05 mg/L)^[17,18]的砷浓度不会对螺旋藻生产和产量造成影响。

2) 虽然藻液中砷的质量浓度对螺旋藻生长和产量没有影响,但影响藻粉中的砷含量,并且藻液中砷浓度越高,藻粉砷含量越高。

参考文献(References)

- [1] 曾文炉, 丛威, 蔡昭铃, 等. 螺旋藻的营养方式及光合作用影响因素[J]. 植物学通报, 2002, 19(1): 70-77.
Zeng Wenlu, Cong Wei, Cai Zhaoling, et al. Reviews on the trophic modes and factors affecting photosynthesis of *Spirulina*[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2002, 19(1): 70-77.
- [2] 胡鸿均. 国外螺旋藻生物技术的现状及发展趋势[J]. 武汉植物学研究, 1997, 15(4): 360-374.
Hu Hongjun. Current statuses and emerging prospects of the biotechnology of *Spirulina* in overseas[J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 1997, 15(4): 360-374.
- [3] 王志忠, 巩东辉, 刘华, 等. 螺旋藻乙醇酸氧化酶(GO)的研究[J]. 微生物学通报, 2005, 32(4): 68-71.
Wang Zhizhong, Gong Donghui, Liu Hua, et al. Study on Glycolicacid Oxidase (GO) of *Spirulina* (*Arthrospira*)[J]. Microbiology China, 2005, 32(4): 68-71.
- [4] Gupta V K, Rastogi A, Nayak A. Biosorption of nickel onto treated alga (*Oedogonium hatei*): Application of isotherm and kinetic models[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2010, 342(2): 533-539.
- [5] Celekli A, Yavuzatmaca M, Bozkurt H. An eco-friendly process: Predictive modelling of copper adsorption from aqueous solution on *Spirulina platensis*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 173(1): 123-129.
- [6] 江用彬, 季宏兵. 藻类对重金属污染水体的生物修复[J]. 地理科学进展, 2007, 26(1): 56-67.
Jiang Yongbin, Ji Hongbing. Bioremediation of heavy metal contaminated water by algae[J]. Progress in Geography, 2007, 26(1): 56-67.
- [7] 姜桥. 海藻中砷的分布与去除研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2006.
Jiang Qiao. Study on distributing of As and to remove in seaweed[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2006.
- [8] 王亚, 张春华, 王淑, 等. 带菌盐藻对不同形态砷的富集和转化研究

- [J]. 环境科学, 2013, 34(11): 4257-4265.
Wang Ya, Zhang Chunhua, Wang Shu, et al. Enrichment and transformation of salina carrying bacteria on the different forms of arsenic[J]. Environmental Science, 2013, 34(11): 4257-4265.
- [9] 王振红, 罗专溪, 颜昌宙. 铜绿微囊藻对无机砷的富集和甲基化[C]//第七届全国环境化学学术大会论文集. 北京: 中国化学会, 2013: 321-322.
Wang Zhenhong, Luo Zhuaxi, Yan Changzhou. Enrichment and methylation of *Microcystis aeruginosa* to the inorganic arsenic[C]//Seventh National Environmental Academic Conference of Chemistry Papers. Beijing: Chinese Chemical Society, 2013: 321-322.
- [10] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.11—2003 食品中总砷及无机砷的测定[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会, 2003.
The People's Republic of China national standard. GB/T 5009.11—2003 Determination of total arsenic and abio-arsenic in foods[S]. Beijing: Ministry of Health of People's Republic of China, China National Standardization Management Committee, 2003.
- [11] Tu S, Ma L Q. Interactive effects of pH, arsenic and phosphorus on uptake of As and P and growth of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. under hydroponic conditions[J]. Environmental and Experimental Botany, 2003, 50: 243-251.
- [12] Cao X D, Ma L Q, Tu C. Antioxidative responses to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator chinese brake fern (*Pteris vittata* L.) [J]. Environmental Pollution, 2004, 128: 317-325.
- [13] 乔辰, 栗淑媛. 鄂尔多斯高原碱湖螺旋藻[M]. 北京: 科学出版社, 2013: 34-40.
Qiao Chen, Li Shuyuan. *Spirulina platensis* from Erdos Plateau Alkaline Lake[M]. Beijing: Science Press, 2013: 34-40.
- [14] 邵丽华, 张晓嵘, 于涛, 等. 不同生境下钝顶螺旋藻 RAPD 分析[J]. 微生物学通报, 2008, 35(3): 462-465.
Tai Lihua, Zhang Xiaorong, Yu Tao, et al. The RAPD study on the *Spirulina platensis* in different habitats[J]. Microbiology China, 2008, 35(3): 462-465.
- [15] 王志忠, 刘果厚, 巩东辉, 等. 鄂尔多斯碱湖钝顶螺旋藻粉砷的来源追踪[J]. 中国农学通报, 2012, 28(11): 108-111.
Wang Zhizhong, Liu Guohou, Gong Donghui, et al. Tracking sources of arsenic in the *Spirulina platensis* power from the Ordos Alkali Lake in Inner Mongolia[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(11): 108-111.
- [16] 中华人民共和国农业部. NY/T 1709—2011 绿色食品 藻类及其制品[S]. 北京: 中华人民共和国农业部, 2011.
Agricultural Industry Standard of the People's Republic of China. NY/T 1709—2011 Green food: Algae and algae products[S]. Beijing: Ministry of Agriculture of People's Republic of China, 2011.
- [17] 中华人民共和国卫生部. GB 5749—2006 生活饮用水卫生标准[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会, 2006.
The People's Republic of China National Standard. GB 5749—2006 Drinking water sanitary standard[S]. Beijing: Ministry of Health of People's Republic of China, China National Standardization Management Committee, 2006.
- [18] 国家环境保护局. GB 11607—89 渔业水质标准[S]. 北京: 国家环境保护局, 1989.
The People's Republic of China National Standard. GB 11607—89 Water quality standard for fisheries[S]. Beijing: National Environmental Protection Agency, 1989.

(责任编辑 王媛媛)