

羟基自由基致死小新月菱形藻的生化机制

薛晓红, 白敏冬, 杨波, 张拿慧, 范丹, 华六三

大连海事大学环境工程研究所, 辽宁大连 116026

摘要 船舶压载水中悬浮微藻的去除一直是一个难题。本文以小新月菱形藻 (*Nitzschia closterium minutissima*) 为压载水代表生物, 研究了羟基自由基致死小新月菱形藻的生化机制。结果表明, 当小新月菱形藻的浓度为 $1.2 \times 10^6/\text{mL}$ 时, 致死小新月菱形藻的羟基溶液浓度范围为 $0.81 \sim 0.91 \text{ mg/L}$ 。羟基自由基对小新月菱形藻的致死机制是对细胞蛋白质、藻糖和叶绿素等大分子的破坏, 使其无法再生, 从而达到压载水排放的生物量要求。

关键词 压载水; 小新月菱形藻; 羟基自由基; 致死机制

中图分类号 X55

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)09-0080-04

Biochemical Mechanism of Killing *Nitzschia closterium minutissima* by Hydroxyl Radicals

XUE Xiaohong, BAI Mindong, YANG Bo, ZHANG Nahui, FAN Dan, HUA Liusan

Institute of Environmental Engineering, Dalian Maritime University, Dalian 116026, Liaoning Province, China

Abstract It has always been an important issue to remove suspended algae in ship's ballast water. The ballast water discharge process is the main cause of pest spreads in a body of water of geographic isolation. The treatment of micro-organisms in ballast water by hydroxyl radicals is based on the advanced oxidation technology, a new method, that will not adversely affect the water environment. Hydroxyl radical is similar to fluorine in oxidation capability, and is one of the most offensive chemicals, and can react with different types of organic and inorganic matters. With *Nitzschia closterium minutissima* as biological representatives in ballast water, this paper mainly study the biochemical reaction mechanism of killing *Nitzschia closterium minutissima* by the hydroxyl radicals. Tests for dead *Nitzschia closterium minutissima* concentrations were carried out with increase of hydroxyl radical concentration, to observe the changes of biological macromolecules of protein, glucose and chlorophyll. Results show that when the concentration of *Nitzschia closterium minutissima* reaches $1.2 \times 10^6/\text{mL}$, the concentration range of dead *Nitzschia closterium minutissima* hydroxyl is $0.81 \sim 0.91 \text{ mg/L}$. When the hydroxyl radical solution reaches progressively the concentration of 0.7 mg/L , 99% of *Nitzschia closterium minutissima* can be killed, with no regeneration after 24 hours. The lower rate of protein and glucose shows a further decrease after an initial increase and chlorophyll is in the trend of reducing. Hydroxyl radicals are effective in oxidation, decomposition of protein and sugar, and reduction of the chlorophyll content. The reaction of the hydroxyl radical solution is to kill *Nitzschia closterium minutissima*, at the same time, to undermine vivo biological molecules so that it can not be regenerated, which can meet the requirements of the ballast water discharge of biomass.

Keywords ballast water; *Nitzschia closterium minutissima*; hydroxyl radical; lethal mechanism

0 引言

船舶压载水的排放是造成地理性隔离水体间有害生物传播的主要途径之一^[1-3]。在船舶压载水有害生物入侵问题的

防治上, 较大型生物可以用物理过滤的方法去除, 但对于诸如小新月菱形藻 (*Nitzschia closterium minutissima*) 这样的单细胞生物或原生动物, 因其个体微小而去除困难。在航深海

收稿日期: 2010-03-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (60801010, 50578020); “十一五”国家科技支撑计划重点项目 (2006BAC11B06)

作者简介: 薛晓红, 助教, 研究方向为海洋生物防治, 电子信箱: xiaohong-xue@163.com; 白敏冬 (通信作者, 中国科协所属全国学会个人会员登记号: S292102158M), 教授, 研究方向为环境污染治理, 电子信箱: mindong-bai@163.com

明显减少。当 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度为 0.91mg/L 时,小新月菱形藻反应后的致死率已达 96% 。24h后,浓度为 $0.71\text{mg/L}\cdot\text{OH}$ 溶液作用后的小新月菱形藻样品的致死率达到 99.8% ;浓度为 $0.91\text{mg/L}\cdot\text{OH}$ 溶液作用后的样品中的小新月菱形藻已完全致死且无再生现象。48h后,各 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度下的小新月菱形藻的致死率均达到 100% 。从24h及48h的小新月菱形藻存活情况可以看出,虽然在显微镜下仍可观察到小新月菱形藻,但 $\cdot\text{OH}$ 已破坏了小新月菱形藻的细胞结构,使其无法再生。综上得出, $\cdot\text{OH}$ 溶液的致死小新月菱形藻的最佳浓度在 $0.81\sim 0.91\text{mg/L}$ 之间。

2.2 $\cdot\text{OH}$ 对藻蛋白质的破坏

$\cdot\text{OH}$ 溶液对蛋白质含量的影响情况如图2所示。从图2可以看出,水样中的蛋白质含量(由于实验使用的样品是过滤后的海水中加入高浓度的小新月菱形藻,检测未加藻原海水中蛋白质含量为零,证明水样中为小新月菱形藻的蛋白质含量)呈先减小,后增加,再减小的趋势(蛋白质的含量和吸光度值成正比)。当 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度在 $0\sim 0.4\text{mg/L}$ 区间内,蛋白质的含量随 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度的增加而减少。蛋白质构成的形态是多种多样的,有的附着在膜的表面,有的镶嵌在脂类双分子层内,还有的存在于细胞内部。根据蛋白质的构成形态推断:当 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度较低时, $\cdot\text{OH}$ 只能和部分的附着蛋白质反应,使其肽键断裂,而不能使藻细胞膜破裂,水样中蛋白质的含量减少;当 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度继续增加达到 0.5mg/L 时, $\cdot\text{OH}$ 将藻细胞膜氧化破碎,其中镶嵌的蛋白质和细胞内的蛋白质泄漏出来,但由于 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度不够高,不能继续氧化蛋白质,使肽键断裂,水样中蛋白质的量增加;当 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度大于 0.5mg/L 时, $\cdot\text{OH}$ 溶液能够将泄漏的蛋白质氧化,最终,水样中的蛋白质完全被氧化分解,吸光度呈现最小值。此结果也证明了 $\cdot\text{OH}$ 逐步氧化藻细胞的过程。

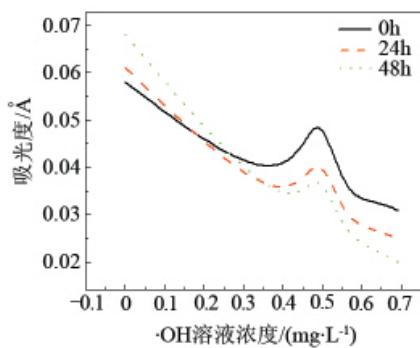


图2 $\cdot\text{OH}$ 溶液对蛋白质含量的影响
Fig. 2 Effect of hydroxyl on protein content

2.3 $\cdot\text{OH}$ 对藻糖的破坏

图3为 $\cdot\text{OH}$ 溶液对葡萄糖含量的影响情况。由图3可知,水样中的葡萄糖含量(由于实验使用的样品是过滤后的海水中加入高浓度的小新月菱形藻,检测未加藻的原海水中葡萄糖含量为零,证明水样中为小新月菱形藻的葡萄糖含

量)呈先减小,后增加,再减小,最后增加的趋势(葡萄糖的含量和吸光度值成正比)。当羟基浓度在 $0\sim 0.4\text{mg/L}$ 区间内,葡萄糖的含量随 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度的增加而减少,此时 $\cdot\text{OH}$ 作为氧化剂可能是不足量的,它仅可以和膜表面的葡萄糖发生氧化反应,而不能使藻细胞膜破裂,因此水样中葡萄糖的含量减少;当 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度继续增加到约 0.55mg/L 时,葡萄糖的含量反而增加,推测 $\cdot\text{OH}$ 溶液将藻细胞膜氧化使其破碎,藻细胞内的葡萄糖泄漏出来,但由于 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度还是较低,不能继续氧化葡萄糖,这时水样中的葡萄糖的含量就会增加,体现出来的吸光度也增加;当 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度在 $0.55\sim 0.62\text{mg/L}$ 区间内,葡萄糖的含量随 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度的增加而减少,这是因为泄露出来的葡萄糖也继续被 $\cdot\text{OH}$ 溶液氧化;当 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度大于 0.62mg/L 时,葡萄糖的含量又呈现增大的趋势,究其原因很可能是 $\cdot\text{OH}$ 氧化分解了小新月菱形藻内的大分子多糖,使之降解为单糖,导致葡萄糖的含量增加。这一结果也表明大分子物质比小分子物质更容易被 $\cdot\text{OH}$ 破坏。据此分析,实验结果和理论是完全吻合的。

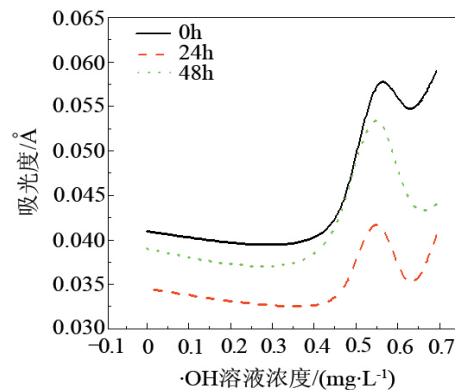


图3 $\cdot\text{OH}$ 溶液对葡萄糖含量的影响
Fig. 3 Effect of hydroxyl on glucose content

2.4 $\cdot\text{OH}$ 对叶绿素的破坏

$\cdot\text{OH}$ 对叶绿素含量的影响情况如图4和图5所示。从图4和图5可以看出,水样中的叶绿素含量都是呈减小的趋势。

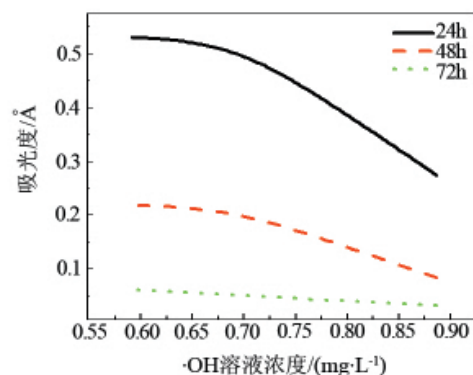


图4 $\cdot\text{OH}$ 对叶绿素a含量的影响
Fig. 4 Effect of hydroxyl on chl-a content

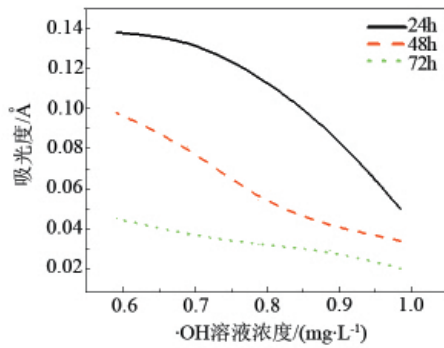


图5 $\cdot\text{OH}$ 对叶绿素b含量的影响
Fig. 5 Effect of hydroxyl on chl-b content

由于叶绿素a是由单、双键交替的不饱和结构组成的,极易与羟基自由基反应,发生氧化、断裂、变构和分解等生化反应。叶绿素b是多键和单键交替的不饱和结构,也容易被氧化。随着 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度的不断增加,其不断氧化叶绿素,使叶绿素的含量不断减少,体现出吸光度下降。叶绿素是藻细胞光合作用的重要组成部分,本实验说明 $\cdot\text{OH}$ 可以在很短的时间内氧化分解叶绿素,破坏其光合作用,导致微生物细胞体的死亡。

3 结论

- 1) 当羟基溶液浓度范围在0.81~0.91mg/L时,可将浓度为10⁶/mL的小新月菱形藻杀灭,且48h后无再生现象。
- 2) 羟基自由基能够氧化、分解小新月菱形藻的蛋白质和糖,并使叶绿素含量降低,这是致死小新月菱形藻的重要生化机制。

参考文献 (References)

- [1] Ruiz G M, Rawlings T K, Dobbs F C, *et al.* Global spread of microorganisms by ships[J]. *Nature*, 2000, 408: 49-50.
- [2] Mackenzie D. Alien invaders[J]. *New Scientist*, 1999, 162: 18-19.
- [3] Rigby G. From ballast to bouillabaisse[J]. *Science*, 2000, 289: 241.
- [4] 廖铭胜.《国际压载水船舶压载水和沉积物管理与控制公约》简介[J]. 交通环保, 2004, 25(5): 48-50.
Liao Mingsheng. *Environmental Protection in Transportation*, 2004, 25(5): 48-50.
- [5] International Joint Commission and the Great Lakes Fishery Commission. Exotic species and the shipping industry [C]//The Great Lakes -St Lawrence Ecosystem at Risk: A Special Report to the Government of the United and Canada, 1990.
- [6] Debra M W, Chris O, Mike D S, *et al.* Eradication success down under: Heat treatment of a sunken trawler to kill the invasive seaweed *Undaria pinnatifida*[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, 49: 844-849.
- [7] Zhang S, Chen X, Yang D, *et al.* Effects of the chlorination treatment for ballast water[C]//2nd International Ballast Water Treatment R&D Symposium IMO, London, 21-23 July, 2003.
- [8] Rigby G, Hallegraeff G M. Ballast water exchange trials and marine plankton distribution on the MV "Iron Whyalla"[R]. Canberra: Australian Government Publishing Service, 1997, 2: 123.
- [9] Matheickal J T, Waite T D, Mylvaganan S T. Ballast water treatment by filtration [C]. Abstract 1st International Ballast Water Treatment R + D Symposium, London England: IMO, 2001.
- [10] Mario N T, Kerstin W, Masayasu M. Ballast water deoxygenation can prevent aquatic introductions while reducing ship corrosion [J]. *Biological Conservation*, 2002, 103: 331-341.
- [11] 白敏冬, 张芝涛, 白希尧. 海洋生物入侵性传播及绿色防治[M]. 北京: 科学出版社, 2005.
Bai Mindong, Zhang Zhitao, Bai Xiyao. *Marine biological invasion green prevention of transmitted*[M]. Beijing: Science Press, 2005.

(责任编辑 王芷)

·学术动态·



“第三届全国应用地球化学学术讨论会”征文

由中国矿物岩石地球化学学会、中国地质学会等主办的“第三届全国应用地球化学学术讨论会”将于2010年12月1日在广州市举行。

征文范围: 矿产资源勘查地球化学; 油气及能源勘查地球化学; 深部及隐伏矿床预测的地球化学技术与方法; 危机矿山突围的地球化学技术与方法; 生态地球化学或多目标区域地球化学调查、评价; 复杂景观区地球化学填图; 遥感、物探、化探以及地质综合信息处理; 勘查地球化学快速圈定靶区; 地质统计学与地球化学数据信息挖掘; 应用地球化学信息系统、标准与应用; 应用地球化学新理论、方法与技术; 基础地质与应用地球化学; 特色农业发展与应用地球化学; 地方病防治与应用地球化学; 人-地相互作用与应用地球化学; 农产品安全与应用地球化学; 土地、环境评价与应用地球化学; 重大工程用地决策与应用地球化学; 生态环境安全与应用地球化学; 矿山环境地球化学; 温泉、矿泉水地球化学; 重要都市区地球化学灾害预警预测; 应用地球化学教育与地学信息社会服务; 地球化学在其他领域的应用。论文截止日期: 2010年7月30日。

联系电话: 020-84111255; 电子邮箱: aahuxiaoqiong@126.com, zhouyongzhang2005@163.com。