

蛋白核小球藻与单甲脒的相互作用*

阎海 叶常明 赵武善

(中国科学院生态环境研究中心, 北京, 100085)

摘 要

本文运用评价化学品对藻类毒性的标准实验方法, 得出单甲脒抑制蛋白核小球藻 (*C. pyrenoidosa chick*) 生长的 96h-EC₅₀ 为 3.5 mg · l⁻¹. 实验结果表明, 在单甲脒初始浓度分别为 3, 5, 10 和 20 mg · l⁻¹ 条件下, 蛋白核小球藻都不具备降解单甲脒的能力.

关键词: 蛋白核小球藻, 单甲脒, 藻类毒性, 降解.

藻类是吸收无机营养, 通过光合作用来合成细胞物质而使生命得以维持和生长的, 即光能无机营养. 藻类对有机物的降解是藻类除光能无机营养外还具备的兼性化能有机营养作用的结果^[1], 尽管藻类对印染废水中的多种有机污染物^[2]、酚类化合物^[3]和邻苯二甲酸酯类^[4]有很强的降解能力, 但对单甲脒的降解能力尚未见报道. 本文用蛋白核小球藻与单甲脒相互作用, 对藻种能否降解单甲脒进行了初步探讨.

实 验 部 分

1. 试剂

单甲脒, 密度 1.08 g · ml⁻¹, 纯度 25%, 武汉国营慈惠化工厂生产. 为避免单甲脒在碱性条件下水解, 实验溶液初始 pH 值调为 5.0.

蛋白核小球藻 (*C. pyrenoidosa chick*) 购自中国科学院武汉水生生物研究所, 毒性评价实验和降解实验藻细胞的初始浓度分别为 5.0 × 10⁵ · ml⁻¹ 和 1.0 × 10⁶ · ml⁻¹.

2. 实验方法

采用水生 4 号培养液^[5], 温度 26 ± 1 °C, 持续光照, 光照强度 2500 lux 左右.

首先通过藻细胞计数和在波长 650nm 下测定藻液的光密度, 建立了在不同藻细胞浓度下藻细胞浓度和光密度之间的线性关系, 实验中以光密度值表示藻生物量.

3. 水中单甲脒浓度的测定

对经 0.45 μm 滤膜过滤的藻液, 用 Shimadzu LC-3A 高效液相色谱仪进行测定. 测定条件: Zorbax-CN 不锈钢色谱柱 (长 25cm, 内径 4.6mm), 流动相 (甲醇: 水: 1mol · l⁻¹

* 国家自然科学基金资助课题.

NaCl 液) = 475 : 25 : 4.6 (体积比), pH 为 3.1, 流速 $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 紫外检测波长: 254nm, 进样量 $10 \mu\text{l}$.

4. 对照实验

在没有藻类存在且其它条件完全一样的情况下, 实验结果显示, 初始 $20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 单甲脒溶液在 10d 内的浓度相对变化率仅为 2.4%. 因此, 可以认为在本降解实验中, 水中单甲脒浓度的减少是藻降解作用的结果.

结 果 与 讨 论

1. 藻细胞浓度与光密度的线性关系

图 1 显示, 在不同藻细胞浓度下, 计数的藻细胞浓度 (y) 和测定的光密度 (x) 之间有很好的线性关系, 得到的线性回归方程为:

$$y(10^6 \cdot \text{ml}^{-1}) = 40.483x - 0.724 \quad (r = 0.999)$$

用此方程计算出的藻细胞浓度值与实测值之间的平均相对偏差为 2.1%.

在单甲脒浓度从 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 到 $8.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 呈几何级数增加的情况下, 通过光密度计算出的藻细胞浓度的增长过程 (图 2) 显示, 随着单甲脒浓度的增大, 抑制蛋白核小球藻生长的作用加强, 特别在实验初期这种抑制作用更加明显. 针对 96h 实验结果, 单甲脒浓度对数 (x) 与机率单位 (y) 的一元线性回归剂量反应方程为:

$$y = 11.70 - 1.89x \quad (r = -0.997)$$

当机率单位为 5 时, 通过上述方程计算出的单甲脒抑制蛋白核小球藻生长的 96h- EC_{50} 为 $3.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. 对此方程的检验结果表明 (表 1), 当自由度为 3 时, 查表 $X_{0.05}^2$ 为 7.82, 计算 X^2 等于 0.831, 因此, $X_{0.05}^2 > X^2$, 故剂量反应方程符合精度要求, 用此方程计算出 96h- $\text{EC}_{50} = 3.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 真实可靠 (图 3).

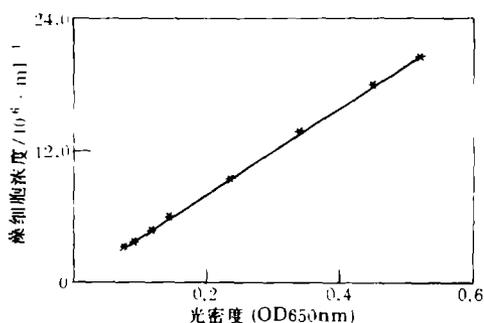


图 1 藻细胞浓度与光密度的线性关系

Fig. 1 Linear relation between the density of *C. pyrenoidosa* cells and optical density

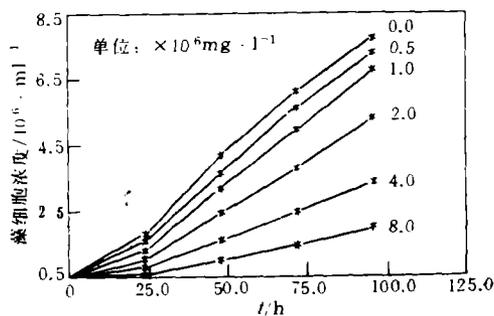


图 2 藻细胞浓度的增长过程

Fig. 2 Growing process of *C. pyrenoidosa* cells density

表 1 单甲脒剂量反应方程的 X^2 检验Table 1 X^2 test result of reaction equation of mono-methanimidamide

单甲脒浓度对数 (x)	2.70	3.00	3.30	3.60	3.90	X^2
计算机率单位 (y)	6.597	6.030	5.463	4.896	4.329	
查表反应率 (p)	0.9452	0.8480	0.6777	0.4587	0.2498	
对照反应率 (k) / %	100	100	100	100	100	
实际反应率 (r) / %	93.70	87.02	68.25	43.19	25.58	
kp %	94.52	84.80	67.77	45.87	24.98	
$r-kp$	-0.82	2.22	0.48	-2.68	0.60	
$(r-kp)^2 / (kp(1-p))$	0.130	0.382	0.011	0.289	0.019	0.831

2. 降解实验

图 4 显示, 在单甲脒初始浓度分别为 3, 5, 10 和 $20\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, 也就是在单甲脒不同程度抑制蛋白核小球藻生长情况下, 7d 内水中单甲脒浓度的相对变化率都小于 10.0%, 由此说明, 蛋白核小球藻在本实验条件下基本没有降解单甲脒的作用。

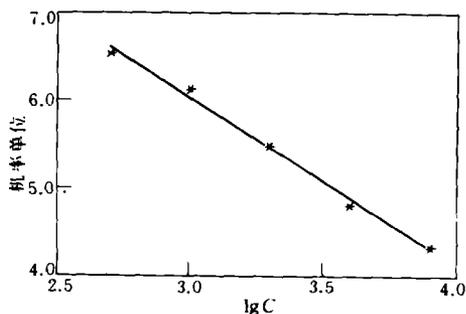


图 3 单甲脒剂量反应方程

Fig. 3 Dose reaction curve of mono-methanimidamide hydrolysis

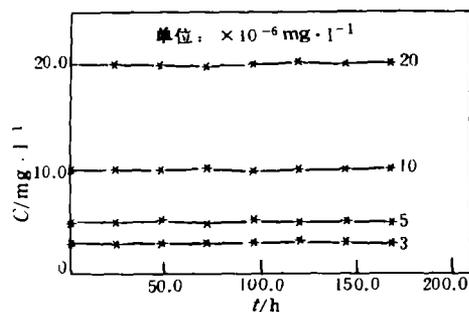


图 4 蛋白核小球藻降解单甲脒的实验结果

Fig. 4 Results of mono-methanimidamide hydrolysis biodegradation by *C. pyrenoidosa*

结 论

1. 单甲脒抑制蛋白核小球藻生长的 96h-EC_{50} 为 $3.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, 远较邻苯二甲酸酯类对蛋白核小球藻的毒性大^[4], 说明蛋白核小球藻对单甲脒的毒性敏感度高, 在自然水环境中单甲脒的存在会对蛋白核小球藻的生长产生较大影响。

2. 在单甲脒浓度分别为 3, 5, 10 和 $20\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 下, 蛋白核小球藻都不具备降解单甲脒的能力, 说明单甲脒可能是藻类难降解的有机污染物。

参 考 文 献

- [1] 福格 GE 著, 纪明候译, 1962. 藻类的新陈代谢. 科学出版社, 35—45
- [2] Jinqi L et al., 1992. Degradation of Azo Dyes by Algae. *Environ. Sciences*, **9** (5) : 49—54
- [3] Klekner V et al., 1992. Degradation of Phenols by Algae. *Environ. Technol.*, **13** : 493—501
- [4] 闫海, 1993. 蛋白核小球藻与邻苯二甲酸酯类的相互作用研究. 中科院生态环境研究中心硕士学位论文
- [5] 周水欣等著, 1989. 水生生物毒性试验方法. 农业出版社, 175—176

1994 年 7 月 12 日收到.

AN INTERACTION BETWEEN
Chlorella Pyrenoidosa Chick AND N' -(2,4-
DIMETHYLPHENYL)-N-METHYLFORMAMIDINE

Yan Hai Ye Changming Zhao Wushan

(Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100085)

ABSTRACT

A standard method of algal bioassay for evaluating the toxicity of toxic chemicals was applied and the 96h-EC₅₀ of N' -(2,4-dimethylphenyl)-N-methylformamidine on inhibition of *C. pyrenoidosa*'s growth was calculated as $3.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. It was found that N' -(2,4-dimethylphenyl)-N-methyl formamidine could not be biodegraded by *C. pyrenoidosa* at the concentration of 3.0, 5.0, 10.0, and 20.0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ respectively.

Keywords: *Chlorella pyrenoidosa chick*, N' -(2,4-dimethylphenyl)-N-methyl formamidine, algal bioassay, biodegradation.