

# 石油和油分散剂对藻类胞内外有机氮的影响\*

孙林枫 王兴建  
(青岛海洋大学)

收稿日期: 1989年4月11日

关键词 藻类连续培养, 原油, 油分散剂, 藻类胞内外有机氮

**提要** 本文利用藻类连续培养法, 研究胜利原油、渤海原油和油分散剂 (Corexit 9527) 慢性和急性污染对藻类胞内外有机氮的影响。结果表明, 在慢性污染实验中, PON 与藻生长有关。藻生长得到促进, PON 减小, 藻生长受到抑制, PON 增大; DON 减小, DFAA 增大, 在急性污染实验中, PON 的变化与藻种有关, DON 增大, DFAA 减小。原油中加入油分散剂后原油的影响有所加强, 但随藻种、原油和污染方式不同其影响程度也不同。本文还讨论了 DON/PON 和 DFAA/DON 的比值变化。

海洋浮游植物在生长过程中吸收同化无机氮营养盐, 在其体内转换成含氮有机物质, 并通过浮游生物的分泌排泄和死亡分解等过程将各种形式的有机氮释放出来。因此藻类胞内外有机氮在藻类生理代谢和海洋氮的循环再生过程中具有重要的作用。石油污染的海洋生物效应是海洋环境保护的重要研究内容。利用藻类连续培养法进行藻类污染研究是新近发展起来的一种藻类污染研究方法, 具有许多优点<sup>[1,2]</sup>, 但目前在我国开展得相对很少。本文利用藻类连续培养法研究慢性和急性石油和油分散剂污染对藻类胞内外有机氮的影响。

## I. 实验材料和分析方法

### I.1. 原油和油分散剂

胜利原油, 渤海原油, Corexit 9527 油分散剂 (Cor.)。

### I.2. 藻种

三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*), 杜氏盐藻 (*Dunaliella* sp.)。

### I.3. 分析方法

Cd-Cu 还原法<sup>[3]</sup>测定无机硝酸盐,  $K_2S_2O_8$  消解法<sup>[4]</sup>测定溶解总氮, KJEDAHL 法<sup>[5]</sup>和 240 元素分析仪测定颗粒态有机氮 (PON), 荧光分光光度法<sup>[6,7]</sup>测定游离氨基酸 (DFAA)。溶解总氮与无机氮的差值为溶解有机氮 (DON)。PON 和 DON 的单位为  $\mu\text{mol}/10^6$  藻个数, DFAA 为谷氨酸相当量  $\mu\text{mol}/10^6$  藻个数。

## II. 藻类培养

营养盐培养液: 青岛近岸海水, 过滤煮沸, 采用 f/2 营养盐配方<sup>[4]</sup>, 但有所变动。

连续培养: 恒化连续培养, 连续光照 (约 6 000lx), 20—23°C, 2 000mL 培养瓶, 营养盐输入速率为 800mL/d, 稀释速率

$$D = 0.4/d。$$

## III. 石油和油分散剂污染实验

### III.1. 含原油培养液的制备

在大三角瓶中加入营养盐培养液和原油,

\* 本文是在青岛海洋大学唐恩齐教授指导下完成的, 在此表示衷心的感谢。

用电动搅拌器激烈搅拌、静置、虹吸下清液然后用紫外分光光度法<sup>1)</sup>测定石油浓度。用此法制备的含原油水溶性组份的培养液,用于慢性石油污染实验。

### III. 2. 连续培养慢性石油污染实验

在培养瓶中接种 1 000mL, 光照培养, 待藻生长刚达到指数生长时, 用含油培养液配成所需油浓度, 使总体积为 2 000mL, 并开始输入含相同油浓度的培养液, 进行连续培养, 藻生长达到稳态后取样测定, 同时进行空白对照实验。输入含油培养液每隔两天重新配制一次,

以保持石油浓度相对恒定。加入油分散剂的浓度为  $10 \times 10^{-6}$

### III. 3. 连续培养急性石油污染实验

藻类连续培养达到稳态后, 直接投放原油和油分散剂( $10 \times 10^{-6}$ ), 继续培养一定时间后取样测定。同时进行空白对照实验。

## IV. 结果与讨论

连续培养慢性和急性石油和油分散剂污染对藻类胞内外有机氮的影响见表 1, 2。

实验结果表明, 在慢性石油污染实验中, 两

表 1 连续培养慢性石油和油分散剂污染对藻类胞内外有机氮的影响

Tab. 1 The effects of chronic crude oil and dispersant on cellular and extracellular organic nitrogen in continuous culture

藻种	油种	原油浓度 (mg/L)	DON ( $\mu\text{mol}/10^6$ )	PON ( $\mu\text{mol}/10^6$ )	DFAA ( $\mu\text{mol}/10^6$ )	DON/PON	DFAA/DON
三角褐指藻	胜利原油	对照	19.20	82.13	0.35	0.23	0.018
		1.0	21.09	67.21	0.45	0.31	0.022
		3.0	14.78	64.17	0.52	0.23	0.035
		3.0 + Cor.	10.38	61.75	0.48	0.17	0.046
	渤海原油	对照	18.98	65.04	0.47	0.29	0.025
		1.0	20.95	75.34	0.88	0.28	0.042
		3.0	15.26	72.04	0.70	0.22	0.046
		3.0 + Cor.	15.45	83.13	0.77	0.19	0.049
杜氏盐藻	胜利原油	对照	109.86	32.47	1.31	3.38	0.012
		1.0	67.37	32.32	2.60	2.08	0.034
		3.0	64.57	32.68	1.59	1.98	0.025
		3.0 + Cor.	153.70	44.47	2.40	3.46	0.016
	渤海原油	对照	130.12	50.89	1.88	2.56	0.015
		1.0	130.30	58.77	3.29	2.22	0.025
		3.0	116.50	66.59	2.19	1.75	0.019
		3.0 + Cor.	136.57	66.27	2.12	2.06	0.016

三角褐指藻:  $n = 9$ ; 杜氏盐藻:  $n = 8$ 。

种藻的 PON 与藻生长状况有关, 三角褐指藻在胜利原油实验中藻生长得到促进, PON 相对于对照值减小, 两种藻在其它石油污染实验中其生长都受到抑制, PON 增大, 这可能与藻的分裂速率和胞内有机氮的积累有关。原油中加入油分散剂后, 原油对 PON 的影响得到加强。三角褐指藻的 DON 变化与石油浓度有关, 低浓度时, DON 增大, 高浓度时, DON 减小; 杜

氏盐藻的 DON 在原油实验中明显减小, 但原油中加入油分散剂后却增大。DON/PON 反映有机氮在胞内外的分配情况。总的来说两种藻的 DON/PON 的比值减小, 表明石油污染后藻类胞外有机氮所占比例相对减小, 两种藻的 DFAA 增大, DFAA/DON 的比值亦增大,

1) 国家海洋局, 1979。海洋污染调查暂行规范。112-114。

表2 连续培养急性石油和油分散剂污染对藻类胞内外有机氮的影响  
 Tab. 2 The effects of acute crude oil and dispersant on cellular and extracellular organic nitrogen in continuous culture

实验项目	藻种	三角褐指藻						杜氏盐藻					
	原油	胜利原油			渤海原油			胜利原油			渤海原油		
	日期	投油前	投油后3天	投油后8天	投油前1天	投油后3天	投油后8天	投油前1天	投油后3天	投油后6天	投油前1天	投油后3天	投油后6天
对照	DON	5.11	14.03	18.94	16.00	16.36	19.95	59.25	64.19	58.26	49.20	56.58	51.96
	PON	34.18	54.66	63.15	55.81	69.79	71.75	28.63	31.52	19.80	41.49	49.68	40.85
	DFAA	0.47	0.53	0.98	0.58	0.80	0.86	0.58	1.36	2.35	2.56	5.20	3.99
	DON/PON	0.15	0.26	0.30	0.29	0.23	0.28	2.07	2.04	2.94	1.19	1.14	1.27
	DFAA/DON	0.092	0.038	0.052	0.036	0.049	0.043	0.010	0.021	0.040	0.052	0.092	0.077
投放原油	DON	5.19	13.88	13.35	13.05	18.80	20.47	65.27	73.03	64.83	48.33	64.88	62.42
	PON	36.20	53.09	53.44	61.84	67.34	83.58	24.62	36.37	23.69	39.93	44.03	34.92
	DFAA	0.34	0.51	0.71	0.49	0.29	0.39	0.99	2.03	2.26	2.50	2.61	4.35
	DON/PON	0.14	0.26	0.25	0.21	0.28	0.25	2.65	2.01	2.74	1.21	1.47	1.65
	DFAA/DON	0.065	0.037	0.053	0.038	0.015	0.019	0.015	0.028	0.035	0.052	0.040	0.070
投放原油 Cor.	DON	4.73	12.29	17.92	16.54	22.63	20.96	62.00	70.09	52.35	45.33	65.50	52.36
	PON	34.80	53.58	61.18	61.45	67.60	75.83	20.50	26.96	22.18	36.84	40.94	41.88
	DFAA	0.25	0.39	0.49	0.48	0.42	0.64	0.84	2.39	2.67	4.35	4.69	1.80
	DON/PON	0.14	0.23	0.29	0.27	0.35	0.28	3.02	2.60	2.36	1.23	1.06	1.25
	DFAA/DON	0.053	0.032	0.027	0.029	0.019	0.031	0.014	0.034	0.051	0.096	0.071	0.034
投放 Cor.	DON	5.36	17.75	19.16				61.82	65.11	52.35			
	PON	39.94	51.63	53.11				25.96	27.08	17.40			
	DFAA	0.39	0.44	0.62				0.80	1.24	1.25			
	DON/PON	0.13	0.33	0.36				2.38	2.40	3.01			
	DFAA/DON	0.073	0.026	0.032				0.013	0.019	0.024			

单位同表1

表明 DFAA 在 DON 中的相对比例增大。实验中发现呼吸作用增加,细菌活动增强,可能细菌降解作用导致溶解有机氮中蛋白质分解, DFAA 增加。

在急性污染实验中,相对于对照值和投油前后的情况,投油后三角褐指藻的 PON 略有减小,杜氏盐藻的 PON 有所增大,两种藻的 DON 增大, DFAA 减小。单独投放油分散剂对藻的影响不大,原油中加入油分散剂后与原油的影响相似,但影响程度随藻种和原油不同而变化。两种藻的 DON/PON 的比值投放胜利原油后变化不大,投放渤海原油后不久比值增大,但随后降低。三角褐指藻的 DFAA/DON

比值减小,杜氏盐藻在胜利原油实验中比值增大,在渤海原油实验中比值减小。

近年来人们越来越注意海洋的慢性石油污染,认为长期低浓度的近岸排放产生的石油慢性污染要比一次性泄漏对海洋生物的毒害大得多<sup>[2,6]</sup>。连续培养慢性石油污染实验便主要研究原油低浓度水溶性组份对藻类的影响。在急性石油污染实验中原油(包括水溶性组份和非水溶性组份)经连续培养溢流过程得到稀释,近似于海洋溢油污染情况。海上围隔生态系的实验结果表明,原油中加入 Corexit 9527 油分散剂后,原油表现出较大的毒性,认为是一种协同毒性效应<sup>[5,8]</sup>。

原油对藻类的毒性主要来自原油中含有芳烃的化合物。实验中紫外和荧光测定发现渤海原油中芳烃含量较高,对藻类有较大的毒性。由于两种原油的毒性不同,其实验结果亦有差异。慢性和急性石油污染的方式不同,其实验结果也不同。急性石油污染实验中由于原油水溶性和非水溶性组份同时存在,经搅拌非水溶性组份分散在培养瓶中,不但原油的毒性增大,而且还影响光照强度等生长因素,使实验结果相对复杂。

### 参 考 文 献

- [1] 宁修仁,胡钦贤,朱碧英等,1984。海水中氨基酸荧光微量测定法及浙江近海夏季总游离氨基酸的分布。海洋学报 5(增刊): 862—869。
- [2] Clark, R. B., 1982. Biological Effect of Oil Pollution. *Wat. Sci. Tech.* **14**: 1185—1194.
- [3] Grasshoff K., M. Ehrhardt and K. Krenning, 1983. *Methods of Seawater Analysis*. Second Revised and Extended Edition. Verlag Chemie.
- [4] Guillard R. R. L., 1975. Culture of Phytoplankton for feeding Marine Invertebrates. *Culture of Marine Invertebrate Animals*. (Edited by W. L. Smith and M. H. Chanley). 29—61.
- [5] Harrison P. J., W. P. Cochlan, J. C. Acreman et al, 1986. The Effect of Crude Oil and Corexit 9527 on Marine Phytoplankton in an Experimental Enclosure. *Mar. Environ. Res.* **18**: 93—109.
- [6] Miller M. C., V. Alexander and R. J. Barsdate, 1978. The Effect of oil Spills on Phytoplankton in an Arctic Lake and Ponds. *Arctic*, **31**: 192—198.
- [7] Parsons T. R., Y. Maita and C. M. Lalli, (ed.) 1984. *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Pergamon Press.
- [8] Parsons T. R., P. J. Harrisow, J. C. Acreman, et al., 1984. A Experimental Marine Ecosystem Research to Crude Oil and Corexit 9527: Part 2—Biological Effects. *Mar. Environ. Res.* **13**: 265—275.
- [9] Strickland J. D. H. and T. R. Parsons, 1972. *A Practical Handbook of Seawater Analysis*, 2nd ed. *Bull. Fish. Res. Bcl Can.* 223—226.
- [10] Wong P. T. S., Y. K. Chan and D. Patel, 1983. The Use of Algal Batch and Continuous Culture Techniques in Metal Toxicity Study. *Aquatic Toxicology*, 449—466.

## THE EFFECTS OF CRUDE OILS AND DISPERSANT ON CELLULAR AND EXTRACELLULAR ORGANIC NITROGEN IN CONTINUOUS CULTURE

Sun Linfeng and Wang Xingjian  
(Ocean University of Qingdao)

Received: Apr. 11, 1989

Key Words: Algae, continuous culture, Crude oil, Dispersant, Cellular and extracellular organic nitrogen

### Abstract

Shengli and Bohai oils and a dispersant Corexit 9527 were used in the chronic and acute-crude oil experiments in continuous culture of algae, *Phaeodactylum tricornutum* and *Dunaliella* sp. The experiment results showed that in chronic pollution experiments. PON was related with the growth of the algae, i. e. growth was stimulated with the decrease of PON, inhibited with the increase of PON. DON decreased and DFAA increased in the experiments. In acute pollution experiments, PON varied with the species of algae, DON increased and DFAA decreased. The effects of oils in oil-plus-dispersant experiments was strengthened, but the extent of dispersant influence was different with the difference of species of algae, crude oil and the way of pollution. The variation of the ratio of DON/PON and DFAA/DON were also discussed.