

改性粘土对球形棕囊藻的消除研究*

邱丽霞^{1, 2, 3, 4} 俞志明^{1, 2, 3, 4} 宋秀贤^{1, 2, 3, 4} 贺立燕^{1, 2, 4} 曹西华^{1, 2, 4} 于志刚^{2, 5}

(1. 中国科学院海洋生态与环境科学重点实验室 中国科学院海洋研究所 青岛 266071; 2. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋生态与环境科学功能实验室 青岛 266071; 3. 中国科学院大学 北京 100049; 4. 中国科学院海洋大科学研究中心 青岛 266071; 5. 中国海洋大学 海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室 青岛 266100)

摘要 球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)暴发藻华时多以囊体形态出现,但迄今缺乏囊体消除方法研究。本文在球形棕囊藻藻华暴发水域取样进行实验,比较了原土及不同改性材料制备的改性粘土对囊型球形棕囊藻的消除效果,并考察了水体 pH、溶解有机碳(DOC)、溶解无机磷(DIP)等在治理前后的变化。结果表明:粘土经表面改性后对球形棕囊藻消除能力明显提高,对囊体亦有一定破碎作用,且改性粘土浓度越高,其除藻破囊效果越好;在有效消除囊体细胞情况下,添加改性粘土对水体中 pH 及 DOC 含量影响较小,但可以导致 DIP 水平降低。

关键词 改性粘土;球形棕囊藻;消除效率;囊体破碎

中图分类号 X55 **doi:** 10.11693/hyhz20180800201

球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)是一类有毒有害的浮游藻类,以单细胞和囊体两种生活形态存在(Smith *et al.*, 1991; Baumann *et al.*, 1994)。球形棕囊藻囊体由几千乃至数万个单细胞所构成,其粒径可以从几十微米到 3.0cm 不等(沈萍萍等, 2000)。球形棕囊藻单细胞与囊体在不同环境条件下能够相互转换,藻华发生前多以单细胞形式存在,藻华暴发时以囊体为主(覃仙玲等, 2016),且会分泌大量粘液(van Rijssel *et al.*, 2000),进入消亡期后胶质囊破裂在海面形成白色泡沫(李波等, 2015)。自 1997 年在我国沿海首次发现球形棕囊藻藻华后,该种藻华灾害频繁发生,至 2016 年已有记录达到 42 次,累计发生面积 6950km²,给养殖业、旅游业等带来巨大危害(齐雨藻等, 2002; 黄海燕等, 2016),更为严重的是,巨大的胶质囊体会引发核电冷源取水口滤网堵塞,从而对核电安全造成巨大隐患(覃仙玲等, 2016; 曹西华等, 2017)。

前期研究表明,改性粘土法是最有发展前景的有害藻华防治方法之一(Anderson, 1997; Anderson *et*

al., 2012),不仅可以有效消除藻华生物,而且可以降低富营养化程度、改善水质环境(Lu *et al.*, 2015)。而改性粘土治理有害藻华的相关研究多集中在东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)、赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)、中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)、米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)、抑食金球藻(*Aureococcus anophagefferens*)等微型藻类(Liu *et al.*, 2016; 邱丽霞等, 2017),对于多以囊体形式存在的球形棕囊藻研究较少。同时,改性粘土法已成功应用于 2015—2018 年广西防城港球形棕囊藻藻华治理,并取得了理想效果(曹西华等, 2017),而室内实验研究结果也表明改性粘土法对球形棕囊藻单细胞有较好的消除效果(邱丽霞等, 2017),但未见到不同改性粘土消除囊型球形棕囊藻的比较研究。

本研究在深圳养殖场球形棕囊藻暴发水域取样进行实验,比较了原土及不同改性粘土(MC₁、MC₂、MC₃)对囊型球形棕囊藻的消除效果,并考察了添加改性粘土后水体 pH、溶解无机磷(DIP)、溶解有

*国家重点研发计划, 2017YFC1404300 号; 国家自然科学基金资助项目, 41576119 号; 青岛海洋科学与技术国家实验室鳌山科技创新计划, 2016ASKJ02-3 号; 青岛海洋科学与技术国家实验室鳌山人才计划资助, 2017ASTCP-OS16 号。邱丽霞, 博士研究生, E-mail: lxqilxqiu@126.com

通信作者: 俞志明, 研究员, 博士生导师, E-mail: zyu@qdio.ac.cn

收稿日期: 2018-08-20, 收修改稿日期: 2018-11-06

机碳(DOC)变化情况,为改性粘土应急处置球形棕囊藻有害藻华提供了参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

于 2017 年 1 月在深圳市大鹏新区南澳镇斜吓村海马养殖场取样进行实验,实验用球形棕囊藻取自桡足类养殖池,囊体直径约 3—7mm,其中 5mm 左右囊体居多,初始囊体密度为 $(1455\pm 15)\text{ind./L}$,对藻液进行显微镜检未发现其他浮游植物,但含有少量桡足类浮游动物。

实验用的高岭土来自广西兖矿北海高岭土有限公司,标示为 Clay,其粒径分布见图 1。粘土使用前经不同结构铝化合物的表面改性处理,分别制备形成无机改性粘土 PAC-MC (MC⁻) (Yu *et al.*, 1994)和 AS-MC (MC⁻) (Liu *et al.*, 2016),以及复合改性粘土 $\text{KHSO}_5/\text{PAC-MC}$ (MC⁻) (刘扬, 2016)。

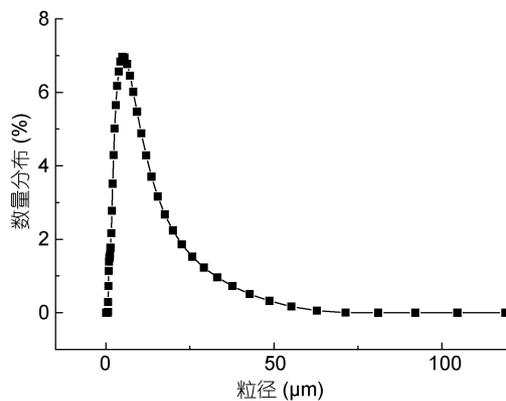


图 1 实验用高岭土粒度分布

Fig.1 The particle size distribution of kaolinite in experiment

1.2 实验方法及实验指标测定

1.2.1 实验方法 将球形棕囊藻藻液平均分在 2L 烧杯中,吸除破碎囊体,加入一定量改性粘土悬浮液,轻轻搅匀后静置,分别于 3、24h 取中上部藻液进行相关参数测定,其中取 100mL 进行囊体计数,过滤 200mL 藻液留取 GF/F 膜样测定叶绿素 *a*,同时采集 DOC、DIP 样品,并测定藻液 pH。

1.2.2 生物量测定 实验囊体粒径存在较大个体差异,且显微镜观察发现脱色囊体内已无存活藻细胞,因此以囊体数量计算消除率存在一定误差;另外,球形棕囊藻叶绿素含量与藻细胞数量有较好的正相关性(黄天吾等, 2012),因此本文以叶绿素 *a* 为基础计算生物量(chl *a*)消除率(以下简称为消除率)。消

除率的计算公式为:

$$\text{消除率}(\%) = (1 - \text{实验组叶绿素 } a / \text{对照组叶绿素 } a) \times 100\% \quad (1)$$

囊体计数: 取 100mL 水样,分多次加入培养皿中对完整囊体进行计数,同时进行囊体破碎程度、含色素情况观察。

1.2.3 水质参数测定 pH: 添加原土或改性粘土 3h 后,使用手持式 pH 计测定藻液 pH。

DOC: 经 GF/F 膜过滤后,使用总有机碳分析仪 (MultiNC2100, Elementar, 德国)进行测定。

DIP: 用 Skalar San⁺⁺营养盐自动分析仪测定。

2 结果与讨论

2.1 改性粘土种类与浓度对除藻效率的影响

对照组囊体呈棕黄色,在水体中均匀分布,几乎无破碎脱色情况,但随静置时间增长,部分囊体自然沉降;而添加原土或改性粘土后,粘土颗粒及小絮体附着在囊体表面,囊体脱色、破碎及沉降至水体底层的现象。在显微镜下可观察到,未处理囊体多糖外被较为坚硬厚实,藻细胞较为均匀地分布在囊体内壁上;处理组囊体多糖外被变薄,粘土絮体附着在囊体外表面,而囊体内藻细胞数量减少或无完整藻细胞。图 2 为实验室内添加 0.2g/L 的 MC⁻ 后在藻液中挑选出的完整囊体,囊体中未观察到藻细胞,且囊体多糖外被变薄,轻轻搅动后即可破碎。

实验囊体直径约 3—7mm,虽 5mm 左右囊体居多,但囊体粒径大小不等,且显微镜观察发现改性粘土处理后无色或白色囊体内已无存活藻细胞,因此无法以囊体数量计算消除率,因此本文消除率以叶绿素 *a* 为基础计算。对照组藻液叶绿素 *a* 含量为 11.5μg/L,添加原土或改性粘土后部分藻细胞死亡分解,叶绿素 *a* 含量有不同程度降低。叶绿素变化情况与改性粘土种类、使用浓度及消除作用时间有关,当添加同种改性粘土时,粘土使用浓度越高,藻液中叶绿素 *a* 含量越低,消除率越高;粘土经表面处理后,除藻能力得到大幅度提升,且不同改性粘土除藻能力不同,具体为: MC⁻ > MC⁻ > MC⁻ > Clay,这与不同改性粘土对球形棕囊藻单细胞的消除结果类似(邱丽霞等, 2017);另外,作用时间越长,消除率越高(图 3)。其中,Clay 消除效果最差,浓度为 1.0g/L 时消除率仅为 52%,而粘土经过表面改性处理后除藻能力均有不同程度提升。MC⁻ 消除效率增幅最小,MC⁻ 使用浓度为 0.2g/L 时 3h 消除率即可达到 80%,MC⁻ 消除效果最佳,0.2g/L 时

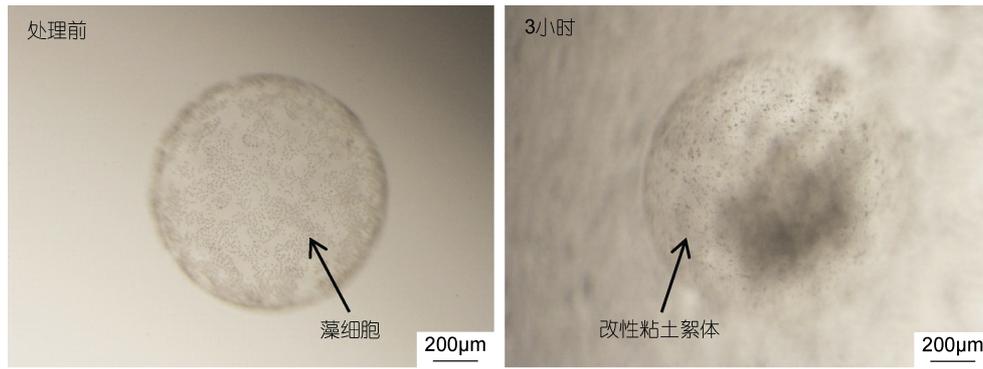


图 2 添加 0.2g/L MC 后囊体表面变化

Fig.2 Colony of *Phaeocystis globosa* after addition of MC in dosage of 0.2g/L

消除率即可接近 100%。当实验进行 24h 后, 此时消除率均高于 3h 消除率, 各处理组均有较好的除藻效果, Clay 与 MC 消除率达到 80%以上, 而 MC 与 MC 消除率则接近 100%, 这也表明原土/改性粘土可持续对藻细胞产生消杀作用, 随作用时间增长, 残余藻细胞逐渐死亡。另外, 3h 消除率高于 80%的处理组(MC

: 1.0g/L、MC : 0.2g/L) 24h 消除率可达到 95%以上。这与前期研究结果一致, 在现场应用中消除率达到 70%—80%即可有效控制有害藻华(Yu *et al*, 2017), 室内研究也表明改性粘土可通过撞击、“遮荫效应”、活性氧积累、抑制光合作用等对残余藻细胞造成损伤, 因此残余藻细胞不会再次大量增殖(Liu *et al*, 2017)。

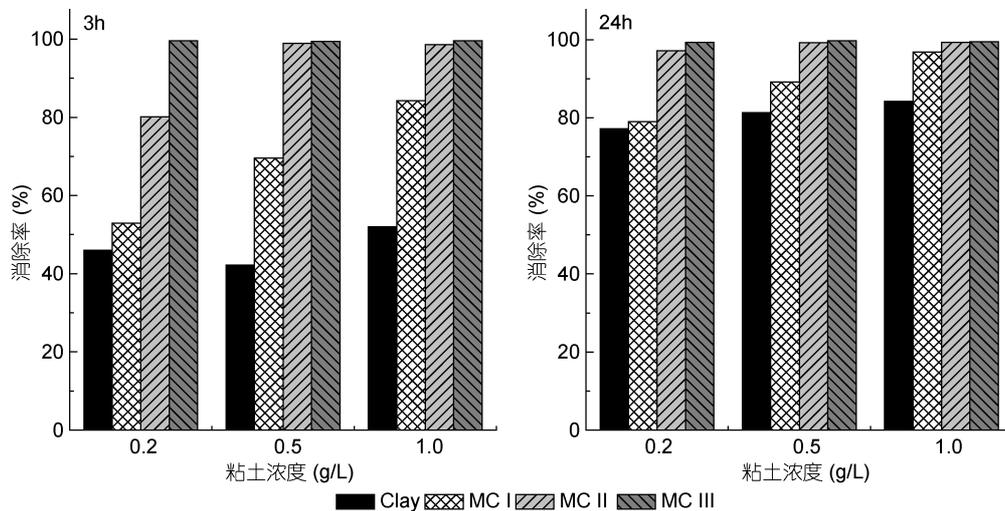


图 3 不同改性粘土对球形棕囊藻消除效果

Fig.3 The efficiencies of *Phaeocystis globosa* removal with clay and modified clays in different dosages

注: Clay: 实验用的高岭土; MC : 无机改性粘土 PAC-MC; MC : 无机改性粘土 AS-MC; MC : 复合改性粘土 KHSO₅/PAC-MC

在进行东海原甲藻、赤潮异弯藻等传统微藻去除时, 微藻细胞死亡即可达到治理目的, 而对于球形棕囊藻, 即使囊体内藻细胞死亡, 藻华消亡期多糖外被会形成灰白色泡沫, 仍会对环境造成不良影响(李波等, 2015), 因此, 添加改性粘土后囊体数量变化及破碎程度也需重点关注。表 1 为添加不同改性粘土后藻液中球形棕囊藻囊体数量及形态变化。添加改性粘土后, 藻液中囊体数量降低, 其中 MC 效果最佳, 在使用浓度为 0.2g/L 时藻液中上层已无完整囊体, 只有

少量脱色碎片漂浮。对照组囊体几乎无破碎、脱色情况; 而添加改性粘土后, 多数囊体出现脱色、破碎现象, 其中添加 MC 后脱色、破碎程度最为严重, 因此囊体沉降也较为完全, 水体中上层几乎无囊体碎片存在。本文球形棕囊藻囊体直径多为 5mm 左右, 破碎后碎片大小也约在 0.5—3.0mm, 而 Clay、MC 、MC 、MC 中值粒径分别为 (19.03±0.54)、(22.92±0.69)、(26.28±0.60)、(22.93±1.28)µm(邱丽霞等, 2017), 粘土颗粒大小与囊体或囊体碎片悬殊, 碰

撞效率低(Han *et al.*, 2001), 即使粘土颗粒附着在囊体表面也难以使其完全沉降, 因此在囊体未破碎或破

碎程度较低的情况下, 藻细胞已经死亡, 但水体中上层仍有少量囊体或囊体碎片漂浮。

表 1 添加改性粘土后球形棕囊藻数量及状态
Tab.1 Variation in *Phaeocystis* colony concentration after adding modified clay

粘土种类	粘土浓度(g/L)	3h 囊体数量 (ind./L)	24h 囊体数量及状态		
			囊体数量(ind./L)	脱色指数	破碎程度
对照组	0	1480	1140		
	0.2	570	520	★★★	★
MC	0.5	420	340	★★★	★★
	1.0	0	0	★★★★★	★★★★★
	0.2	420	240	★★★★★	★★★
MC	0.5	400	220	★★★★★	★★★
	1.0	0	0	★★★★★	★★★★★
	0.2	0	0	★★★★★	★★★★★
MC	0.5	0	0	★★★★★	★★★★★
	1.0	0	0	★★★★★	★★★★★

注: ★: 0%—20%脱色或破碎; ★★: 20%—40%脱色或破碎; ★★★: 40%—60%脱色或破碎; ★★★★: 60%—80%脱色或破碎; ★★★★★: 80%—100%脱色或破碎

2.2 改性粘土对水体参数影响

2.2.1 改性粘土对水体 pH 影响 未处理球形棕囊藻藻液 pH 为 8.1(图 4 中虚线所示), 向其中添加原土 3h 后, 藻液 pH 无变化, 而添加不同种类不同含量改性粘土, 藻液 pH 有不同程度降低(图 4), 其中添加 MC 后藻液 pH 降低程度相对较大。同时, 3h 消除率达到 80%时各改性粘土处理组(MC : 1.0g/L、MC : 0.2 g/L、MC : 0.2 g/L)水体 pH 均高于 7.0。综合考虑各种改性粘土对球形棕囊藻的消除效果及对藻液酸碱扰动程度, 本文中最适改性粘土为 MC , 使用浓度为 0.2g/L 即可在短时间内达到 100%消除球形棕囊藻细胞、破碎其囊体的效果, 且此时 pH 变化程度小。

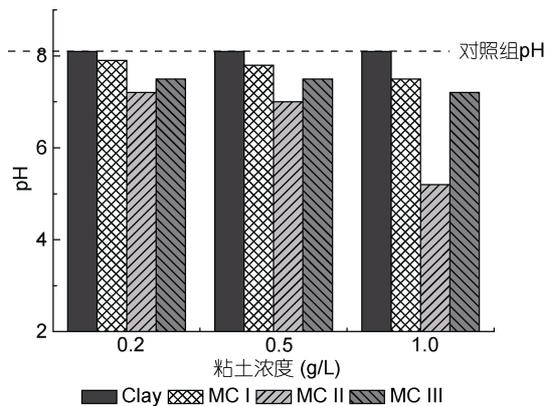


图 4 添加改性粘土后藻液 pH 变化

Fig.4 The pH variation in the algae culture after adding modified clays

2.2.2 改性粘土对水体 DOC 影响 初始藻液 DOC 含量为(2.362±0.505)mg/L, 而在 3h 和 24h 藻液 DOC 含量有所升高, 分别为(2.903±0.005)、(3.577 ±0.081)mg/L, 这可能是由于少量囊体破碎, 囊体内有机质释放至水体所致。而添加原土或改性粘土后, 各处理组 DOC 含量均有一定变化(图 5)。经 3h 处理后各处理组 DOC 含量范围为 2.095—3.661mg/L, 无明显变化规律, 但大致表现为改性粘土组 DOC 含量高于原土组; 而经 24h 处理后, 各处理组 DOC 含量范围为 2.158—3.010mg/L, 均低于对照组水平, 对水体 DOC 含量有一定降低作用。添加原土或改性粘土后, 一方面会导致微藻细胞死亡、细胞器流出, 以及囊体破碎、囊体内部藻细胞或藻细胞碎片流出, 会导致水体 DOC 含量升高; 另一方面, 原土或改性粘土颗粒会吸附水体中及球形棕囊藻释放的有机质并在沉降过程中将有机质带至底层, 同时促进有机质分解, 会使得 DOC 含量降低, 因此, 处理组 DOC 含量无明显变化规律。结果显示: 在较短时间内囊体有机质释放水平相对较高, 而有机质吸附、分解过程发生较慢, 因此部分处理组 DOC 含量有明显升高; 在相对较长时间内, 藻细胞逐渐死亡、沉降, 有机质释放水平较低, 而粘土颗粒对有机质的持续吸附、分解作用明显, 因此各处理组 DOC 含量低于对照组。

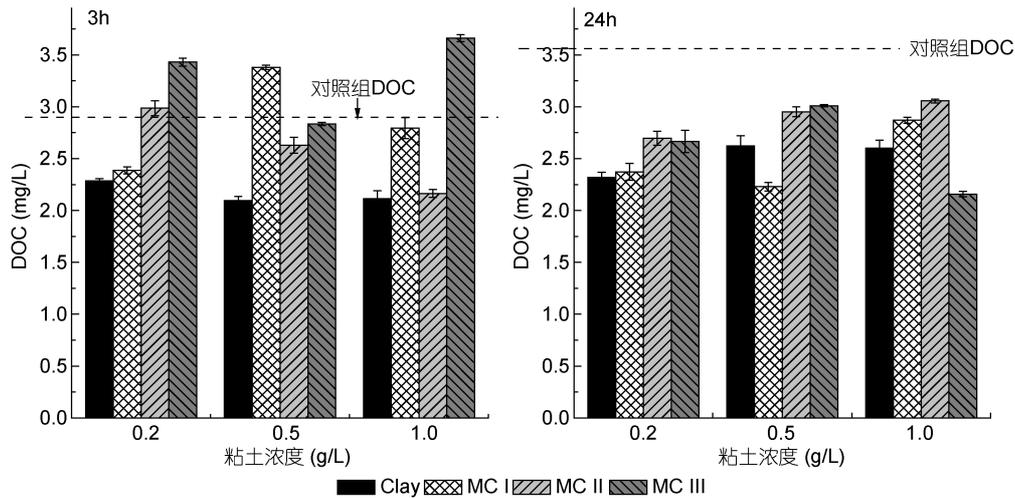


图5 添加改性粘土后藻液中 DOC 变化情况

Fig.5 Variation of DOC in the algae culture after adding modified clays

2.2.3 改性粘土对水体 DIP 影响 对照组球形棕囊藻藻液 3、24h 的 DIP 值分别为 0.53、0.32 $\mu\text{mol/L}$ ，向藻液中添加不同改性粘土后，DIP 含量均低于对照组水平(图 6)。为这与 Lu 等(2015)的研究结果一致，

改性粘土对无机磷具有一定的埋存保护作用，通过吸附絮凝、螯合等作用使其脱离水体系统，降低水体富营养化程度，对抑制有害藻华的二次暴发有一定作用。

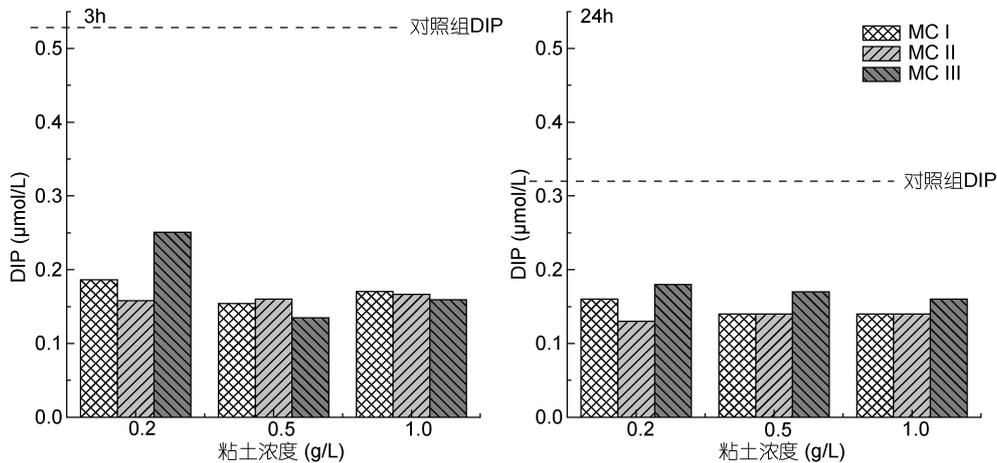


图6 添加改性粘土后藻液中 DIP 变化情况

Fig.6 Variation of DIP in the algae culture after adding modified clays

3 结论

(1) 改性粘土能够有效消除球形棕囊藻细胞，对囊体亦有一定破碎作用，且改性粘土浓度越高，其除藻破囊效果越好；

(2) 粘土经表面改性后对球形棕囊藻消除能力明显提高，其中 MC 效果最佳，使用浓度为 0.2g/L 时生物量(chl *a*)消除率为 99.57%，囊体破碎率达 100%；

(3) 添加改性粘土后水体中 DIP 有一定程度降低，

改性粘土法治理有害藻华能够有效降低水体富营养化程度。

参 考 文 献

- 刘 扬, 2016. 提高改性粘土除藻效率的机理与方法研究. 青岛: 中国科学院大学博士学位论文
- 齐雨藻, 徐 宁, 王 艳等, 2002. 中国赤潮研究的新进展——球形棕囊藻赤潮及其产硫的研究. 中国基础科学, (4): 23—28
- 李 波, 蓝文陆, 李天深等, 2015. 球形棕囊藻赤潮消亡过程环境因子变化及其消亡原因. 生态学杂志, 34(5):

- 1351—1358
- 邱丽霞, 俞志明, 曹西华等, 2017. 改性粘土对球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*) 和东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense*) 的去除作用. 海洋与湖沼, 48(5): 982—989
- 沈萍萍, 王 艳, 齐雨藻等, 2000. 球形棕囊藻的生长特性及生活史研究. 水生生物学报, 24(6): 635—643
- 黄海燕, 康林冲, 杨 翼等, 2013 年我国近海赤潮引发种类和分布研究. 海洋科学, 2016, 40(11): 17—27
- 黄天吾, 王小冬, 王 艳, 2012. 球形棕囊藻的生长、囊体形态以及囊体细胞的分布. 植物学报, 47 (5): 508—514
- 曹西华, 俞志明, 邱丽霞, 2017. 改性黏土法消除球形棕囊藻赤潮的现场实验与效果评估. 海洋与湖沼, 48(4): 753—759
- 覃仙玲, 赖俊翔, 陈 波等, 2016. 棕囊藻北部湾株的 18S rDNA 分子鉴定. 热带亚热带植物学报, 24(2): 176—181
- Anderson D M, 1997. Turning back the harmful red tide. Nature, 388(6642): 513—514
- Anderson D M, Cembella A D, Hallegraeff G M, 2012. Progress in understanding harmful algal blooms: Paradigm shifts and new technologies for research, monitoring, and management. Annual Review of Marine Science, 4(1): 143—176
- Baumann M E M, Lancelot C, Brandini F P *et al*, 1994. The taxonomic identity of the cosmopolitan prymnesiophyte *Phaeocystis*: a morphological and ecophysiological approach. Journal of Marine Systems, 5(1): 5—22
- Han M Y, Kim W, 2001. A theoretical consideration of algae removal with clays. Microchemical Journal, 68(2—3): 157—161
- Liu S Y, Yu Z M, Song X X *et al*, 2017. Effects of modified clay on the physiological and photosynthetic activities of *Amphidinium carterae* Hulburt. Harmful Algae, 70: 64—72
- Liu Y, Cao X H, Yu Z M *et al*, 2016. Controlling harmful algae blooms using aluminum-modified clay. Marine Pollution Bulletin, 103(1—2): 211—219
- Lu G Y, Song X X, Yu Z M *et al*, 2015. Effects of modified clay flocculation on major nutrients and diatom aggregation during *Skeletonema costatum* blooms in the laboratory. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 33(4): 1007—1019
- Smith W O Jr, Codispoti L A, Nelson D M *et al*, 1991. Importance of *Phaeocystis* blooms in the high-latitude ocean carbon cycle. Nature, 352(6335): 514—516
- van Rijssel M, Janse I, Noordkamp D J B *et al*, 2000. An inventory of factors that affect polysaccharide production by *Phaeocystis globosa*. Journal of Sea Research, 43(3—4): 297—306
- Yu Z M, Song X X, Cao X H *et al*, 2017. Mitigation of harmful algal blooms using modified clays: Theory, mechanisms, and applications. Harmful Algae, 69: 48—64
- Yu Z M, Zou J Z, Ma X N, 1994. Application of clays to removal of red tide organisms II. Coagulation of different species of red tide organisms with montmorillonite and effect of clay pretreatment. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 12(4): 316—324

REMOVAL EFFICIENCY OF *PHAEOCYSTIS GLOBOSA* COLONIES WITH MODIFIED CLAYS

QIU Li-Xia^{1,2,3,4}, YU Zhi-Ming^{1,2,3,4}, SONG Xiu-Xian^{1,2,3,4}, HE Li-Yan^{1,2,4},
CAO Xi-Hua^{1,2,4}, YU Zhi-Gang^{2,5}

(1. CAS Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Laboratory of Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Science, Qingdao 266071, China; 5. Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Abstract At present, removal of *Phaeocystis globosa* that presented in forms of colonies during harmful algal blooms remains to be explored. We compared the removal efficiencies of *P. globosa* with original clay and different modified clays (MC): MC₁, MC₂, and MC₃ (see detail formulations in the text), and determined the changes of pH, dissolved organic carbon (DOC), and dissolved inorganic phosphorus (DIP). The results show that MC addition increased the removal efficiencies to *P. globosa*. The algal biomass removal efficiencies of original clay, MC₁, MC₂, and MC₃ in dosage of 0.2g/L were 46.01%, 52.87%, 80.06%, and 99.57%, respectively. The experiment showed that *P. globosa* colonies were decolorized and disrupted after MC addition. However, the MC addition showed no significant effect on the pH and DOC in the algae culture but reduced the DIP levels.

Key words modified clay; *Phaeocystis globosa*; removal efficiency; colony disruption