



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102912000 A

(43) 申请公布日 2013.02.06

(21) 申请号 201210439970.2

(22) 申请日 2012.11.07

(71) 申请人 中国科学院地球化学研究所

地址 550002 贵州省贵阳市观水路 46 号

(72) 发明人 吴沿友 谢腾祥 吴明津 李海涛

刘莹 刘丛强 王宝利

(74) 专利代理机构 贵阳中新专利商标事务所

52100

代理人 吴无惧

(51) Int. Cl.

C12Q 1/64(2006.01)

C12R 1/89(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 8 页

(54) 发明名称

一种定量微藻对灰岩的生物溶蚀作用方法

(57) 摘要

本发明公开一种定量微藻对灰岩的生物溶蚀作用方法,灰岩溶出的镁离子一部分为藻体吸收利用,一部分导致溶液中的镁离子浓度变化;以生物增长率方程乘以时间对时间积分代表着单位体积培养液中藻体生物溶蚀累积作用时间;单位体积培养液微藻对灰岩镁的溶出量随藻体生物溶蚀累积作用时间变化的方程代表着不同藻体生物溶蚀累积作用时间下单位体积培养液中微藻对灰岩镁的溶出量,然后对其求导则代表了单位生物量单位时间藻体对灰岩镁的溶出量;而镁的溶出又直接反映了灰岩的溶蚀,因此单位生物量单位时间微藻对灰岩镁的溶出量能够定量地反映微藻对灰岩的生物溶蚀作用;本发明填补了定量微藻对灰岩生物溶蚀作用的空白;技术成熟,操作简单,成本低。

1. 一种定量微藻对灰岩的生物溶蚀作用方法,其特征在于:包含以下步骤:

第一,测定灰岩粉末钙镁质量比,分别在两组常规培养液中添加过量的钙镁质量比大于 40 的灰岩粉末和不添加灰岩粉末后培养待测微藻,再在另一组培养液中只添加这种钙镁质量比大于 40 的灰岩粉末而不添加藻体;

第二,待测微藻在被考察的培养条件下培养,在不同培养时间后,分别测定添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液的叶绿素 a 浓度、对应培养时间溶液的镁离子浓度和只添加灰岩粉末未培养有藻体的培养液中溶液的镁离子浓度,用只添加灰岩粉末未培养有藻体的培养液中溶液起始的镁离子浓度和其不同时间的溶液的镁离子浓度来归一化校准在添加有灰岩粉末且培养有藻体的对应培养时间的培养液中溶液的镁离子浓度,得到对应培养时间校准后的添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度;再将不同培养时间校准后的添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度数据减去其起始的溶液的镁离子浓度,得出不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度的变化值;

第三,待培养 6 天以上,收获在不添加灰岩粉末培养液中培养的藻体,测定该藻体镁的含量和对应的叶绿素 a 含量,并计算单位质量叶绿素 a 对应的镁含量;

第四,将不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液的叶绿素 a 浓度值减去其初始的叶绿素 a 浓度值后乘以单位质量叶绿素 a 对应的镁含量,得到不同培养时间下单位体积培养液藻体吸收利用的来自灰岩溶出的镁量;

第五,将不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度的变化值加上对应培养时间下单位体积培养液藻体吸收利用的来自灰岩溶出的镁量,获得不同培养时间单位体积培养液藻体对灰岩镁的溶出量;

第六,依据不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液叶绿素 a 浓度数据,构建微藻在待测培养条件下的叶绿素 a 浓度随培养时间变化的指数生长方程,并对叶绿素 a 浓度随培养时间变化的方程求导,获得微藻生物增长率方程;

第七,将微藻生物增长率方程乘以时间对时间积分,获得单位体积培养液微藻生物溶蚀累积作用时间方程,并计算不同培养时间下单位体积培养液中微藻生物溶蚀累积作用时间;

第八,构建单位体积培养液中不同培养时间藻体对灰岩镁的溶出量随对应的微藻生物溶蚀累积作用时间变化的方程,并对该方程求导,得出单位时间单位叶绿素 a 含量下的待测藻体对灰岩的生物溶蚀效应;

第九,将单位时间单位叶绿素 a 含量的微藻对灰岩的生物溶蚀效应进行溶蚀量换算,获得单位时间单位叶绿素 a 含量的微藻对灰岩的溶蚀量;具体换算方法为单位时间单位叶绿素 a 含量的微藻对灰岩的生物溶蚀效应乘以溶蚀量换算因子 F,溶蚀量换算因子 F 用下列的溶蚀量换算方程表示:

$$F = \frac{B_{Mg} \cdot M_{MgCO_3}}{M_{Mg}} + \frac{B_{Ca} \cdot M_{CaCO_3}}{M_{Ca}}$$

上述的溶蚀量换算方程中的  $B_{Mg}$  和  $B_{Ca}$  分别为实验所用灰岩镁和钙所占的质量比例; $M_{MgCO_3}$  和  $M_{CaCO_3}$  分别为碳酸镁和碳酸钙的分子质量; $M_{Mg}$  和  $M_{Ca}$  分别为镁和钙的分子质量。

## 一种定量微藻对灰岩的生物溶蚀作用方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种定量微藻对灰岩的生物溶蚀作用方法,属于生态环境治理监测和工程地质监测领域。

### 背景技术

[0002] 灰岩的溶蚀作用,包括物理作用、化学作用和生物作用。灰岩经常遭受周围生物体的溶蚀作用,因此,生物溶蚀作用至关重要。岩溶地区岩石表面有丰富的藻类聚集,水体中大量藻类对基底和堤岸中的岩石进行侵蚀。

[0003] 虽然有人对藻类、地衣、苔藓对灰岩浅表层溶蚀形成的生物岩溶微形态及持水性进行过研究,也有人对微生物以及碳酸酐酶在岩溶作用过程中的作用进行了研究。但对“生物对灰岩的生物溶蚀作用”这一复杂过程的定量研究还未见报道。

[0004] 微藻(microalgae)包括所有生活在水中营浮游生活方式的微小植物,通常就指浮游藻类。微藻结构简单,其生理过程也相对简单,有些种类是科学研究的模式植物,如:莱茵衣藻、小球藻,很多种类还可以人工培养,这为我们的研究提供了便利。微藻对灰岩溶蚀作用同样也包括物理作用、化学作用和生物作用。不同的藻类对灰岩的生物溶蚀作用明显不同,有胞外碳酸酐酶的藻类与无胞外碳酸酐酶的藻类相比具有较强的溶蚀效果。目前,不同种类微藻的溶蚀效果的定量是一个非常棘手的问题。

[0005] 在微藻对灰岩的生物溶蚀作用过程中会产生大量的钙镁离子,这些钙镁离子一部分为藻类吸收利用,一部分存在于溶液中,还有一部分以沉淀物的方式沉淀下来。由于,灰岩的钙镁质量比普遍大于 40 :1,而藻体利用的钙镁质量比小于 10 :1,因此,镁离子成为微藻生长的限制因子。当藻类利用从灰岩中溶出的镁时,虽然有一部分钙也被藻类利用,但绝大多数从灰岩中溶出的钙不被利用,或以离子形式存在于溶液中,或以碳酸钙沉淀形式沉淀在溶液中,而沉淀下来的碳酸钙量较难估算,镁相对于钙受沉淀的影响较小。因此,我们可以通过测定待测微藻中镁的含量以及溶液中的镁的浓度变化,通过一系列计算获取单位藻体单位时间对灰岩的生物溶蚀作用。

[0006] 目前定量微藻对灰岩生物溶蚀作用的方法还未见报道,而微藻对灰岩生物溶蚀作用的定量又极为重要,它能够有效地评估湖泊河流微藻对岩溶地区生态环境和堤坝等建筑的危害,从而达到预测灾害的目的。特别是在当前,众多湖泊富营养化严重的情况下,显得更为重要和紧迫。

### 发明内容

[0007] 本发明要解决的技术问题是,提供一种微藻对灰岩生物溶蚀作用的定量方法,填补定量微藻对灰岩的生物溶蚀作用的空白。

[0008] 本发明采取以下技术方案:一种定量微藻对灰岩的生物溶蚀作用方法,其特征在于:包含以下步骤:

第一,测定灰岩粉末钙镁质量比,分别在两组常规培养液中添加过量的钙镁质量比大

于 40 的灰岩粉末和不添加灰岩粉末后培养待测微藻,再在另一组培养液中只添加这种钙镁质量比大于 40 的灰岩粉末而不添加藻体;

第二,待测微藻在被考察的培养条件下培养,在不同培养时间后,分别测定添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液的叶绿素 a 浓度、对应培养时间溶液的镁离子浓度和只添加灰岩粉末未培养有藻体的培养液中溶液的镁离子浓度,用只添加灰岩粉末未培养有藻体的培养液中溶液起始的镁离子浓度和其不同时间的溶液的镁离子浓度来归一化校准添加有灰岩粉末且培养有藻体的对应培养时间的培养液中溶液的镁离子浓度,得到对应培养时间校准后的添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度;再将不同培养时间校准后的添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度数据减去其起始的溶液的镁离子浓度,得出不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度的变化值;

第三,待培养 6 天以上,收获在不添加灰岩粉末培养液中培养的藻体,测定该藻体镁的含量和对应的叶绿素 a 含量,并计算单位质量叶绿素 a 对应的镁含量;

第四,将不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液的叶绿素 a 浓度值减去其初始的叶绿素 a 浓度值后乘以单位质量叶绿素 a 对应的镁含量,得到不同培养时间下单位体积培养液藻体吸收利用的来自灰岩溶出的镁量;

第五,将不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度的变化值加上对应培养时间下单位体积培养液藻体吸收利用的来自灰岩溶出的镁量,获得不同培养时间单位体积培养液藻体对灰岩镁的溶出量;

第六,依据不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液叶绿素 a 浓度数据,构建微藻在待测培养条件下的叶绿素 a 浓度随培养时间变化的指数生长方程,并对叶绿素 a 浓度随培养时间变化的方程求导,获得微藻生物增长率方程;

第七,将微藻生物增长率方程乘以时间对时间积分,获得单位体积培养液微藻生物溶蚀累积作用时间方程,并计算不同培养时间下单位体积培养液中微藻生物溶蚀累积作用时间;

第八,构建单位体积培养液中不同培养时间藻体对灰岩镁的溶出量随对应的微藻生物溶蚀累积作用时间变化的方程,并对该方程求导,得出单位时间单位叶绿素 a 含量下的待测藻体对灰岩的生物溶蚀效应;

第九,将单位时间单位叶绿素 a 含量的微藻对灰岩的生物溶蚀效应进行溶蚀量换算,获得单位时间单位叶绿素 a 含量的微藻对灰岩的溶蚀量;具体换算方法为单位时间单位叶绿素 a 含量的微藻对灰岩的生物溶蚀效应乘以溶蚀量换算因子 F,溶蚀量换算因子 F 用下列的溶蚀量换算方程表示:

$$F = \frac{B_{Mg} \cdot M_{MgCO_3}}{M_{Mg}} + \frac{B_{Ca} \cdot M_{CaCO_3}}{M_{Ca}}$$

上述的溶蚀量换算方程中的  $B_{Mg}$  和  $B_{Ca}$  分别为实验所用灰岩镁和钙所占的质量比例; $M_{MgCO_3}$  和  $M_{CaCO_3}$  分别为碳酸镁和碳酸钙的分子质量; $M_{Mg}$  和  $M_{Ca}$  分别为镁和钙的分子质量。

[0009] 本发明的优点如下:

定量单位藻体单位时间微藻对灰岩的生物溶蚀效应的原理:

灰岩溶出的镁一部分为藻体吸收利用,一部分导致溶液中的镁离子浓度变化,单位体积培养液中藻体生物溶蚀累积作用时间对应的灰岩镁的溶出量,代表着单位体积培养液中

藻体生物溶蚀作用总累积时间下灰岩的溶蚀情况。因此,可以利用单位体积培养液中藻体生物溶蚀累积作用时间和对应的微藻对灰岩镁的溶出量方程的导数,来获得单位藻体单位时间微藻对灰岩的生物溶蚀效应。

[0010] 灰岩溶出的镁离子一部分为藻体吸收利用,一部分导致溶液中的镁离子浓度变化,因此不同培养时间溶液的镁离子浓度变化值加上单位体积培养液藻体镁离子吸收利用量代表着单位体积培养液中微藻对灰岩镁的溶出量。以生物增长率方程乘以时间对时间积分代表着单位体积培养液中藻体生物溶蚀累积作用时间。单位体积培养液微藻对灰岩镁的溶出量随藻体生物溶蚀累积作用时间变化的方程代表着不同藻体生物溶蚀累积作用时间下单位体积培养液中微藻对灰岩镁的溶出量,然后对其求导则代表了单位生物量单位时间藻体对灰岩镁的溶出量。而镁的溶出又直接反映了灰岩的溶蚀,因此单位生物量单位时间微藻对灰岩镁的溶出量能够定量地反映微藻对灰岩的生物溶蚀作用。

[0011] 本发明的优点如下:

- 1) 本方法能定量微藻对灰岩的生物溶蚀作用,填补了定量微藻对灰岩生物溶蚀作用的空白;
- 2) 本方法只需要测定叶绿素 a 浓度和镁含量,技术成熟,操作简单,成本低;
- 3) 本方法在完全相同的实验条件下开展培养实验,因此,获取微藻对灰岩的生物溶蚀作用的数据更为可靠。

## 具体实施方式

[0012] 本发明的实施例:第一步骤,测定所要添加灰岩粉末的钙镁质量比,分别在两组常规培养液中添加过量的钙镁质量比大于 40 的灰岩粉末(小于 60 目)和不添加灰岩粉末后培养待测微藻,再在另一组培养液中只添加这种钙镁质量比大于 40 的灰岩粉末而不添加藻体;

第二步骤,待测微藻在被考察的培养条件下培养,在不同培养时间后,分别测定添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液的叶绿素 a 浓度  $CHLa_1$ 、对应培养时间溶液的镁离子浓度  $CMg_1$  和只添加灰岩粉末未培养有藻体的培养液中溶液的镁离子浓度  $CO_1$ ,用只添加灰岩粉末未培养有藻体的培养液中溶液起始的镁离子浓度  $CO_0$  和其不同时间的溶液镁离子浓度  $CO_1$  来归一化校准添加有灰岩粉末且培养有藻体的对应培养时间的培养液中溶液的镁离子浓度  $CMg_1$ ,得到对应培养时间校准后的添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度  $CTMg_1$ ,校准公式为  $CTMg_1 = CMg_1 \cdot CO_0 / CO_1$ 。再将不同培养时间校准后的添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度数据  $CTMg_1$  减去其起始的溶液的镁离子浓度  $CTMg_0$ ,得出不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度的变化值  $\delta CTMg_1$ ;

第三步骤,待培养 6 天以上,收获在不添加灰岩粉末培养液中培养的藻体,测定该藻体镁的含量和对应的叶绿素 a 含量,并计算单位质量叶绿素 a 对应的镁含量  $CMgPCh1$ ;

第四步骤,将不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液的叶绿素 a 浓度值  $CHLa_1$  减去其初始的叶绿素 a 浓度值  $CHLa_0$  后乘以单位质量叶绿素 a 对应的镁含量  $CMgPCh1$ ,得到不同培养时间下单位体积培养液藻体吸收利用的来自灰岩溶出的镁量  $Qa_1$ ;

第五步骤,将不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液中镁离子浓度的变化值  $\delta CTMg_1$  加上对应培养时间下单位体积培养液藻体吸收利用的来自灰岩溶出的镁量

$Q_{a_i}$ , 获得不同培养时间单位体积培养液藻体对灰岩镁的溶出量  $Q_i$ ;

第六步骤, 依据不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有藻体的培养液叶绿素 a 浓度  $CHLa_i$  数据, 构建微藻在待测培养条件下的叶绿素 a 浓度随培养时间 T 变化的指数生长方程, 并对叶绿素 a 浓度  $CHLa_i$  随培养时间 T 变化的方程求导, 获得微藻生物增长率 Vch 方程;

第七步骤, 将微藻生物增长率 Vch 方程乘以时间后对时间积分, 获得单位体积培养液微藻生物溶蚀累积作用时间方程, 并计算不同培养时间下单位体积培养液中微藻生物溶蚀累积作用时间  $PT_i$ ;

第八步骤, 构建单位体积培养液不同培养时间藻体对灰岩镁的溶出量  $Q_i$  随对应的微藻生物溶蚀累积作用时间  $PT_i$  变化的方程, 并对该方程求导, 将导数乘以单位换算因子, 进行单位换算, 得出单位时间单位叶绿素 a 含量下的待测藻体对灰岩的生物溶蚀效应 E;

第九步骤. 将单位时间单位叶绿素 a 含量的微藻对灰岩的生物溶蚀效应 E 进行溶蚀量换算, 获得单位时间单位叶绿素 a 含量微藻对灰岩的溶蚀量 M; 具体换算方法为单位时间单位叶绿素 a 含量的微藻对灰岩的生物溶蚀效应 E 乘以溶蚀量换算因子 F; 溶蚀量换算因子 F 用下列溶蚀量换算方程表示:

$$F = \frac{B_{Mg} \cdot M_{MgCO_3}}{M_{Mg}} + \frac{B_{Ca} \cdot M_{CaCO_3}}{M_{Ca}}$$

上述的溶蚀量换算方程中的  $B_{Mg}$  和  $B_{Ca}$  分别为实验所用灰岩镁和钙所占的质量比例;  $M_{MgCO_3}$  和  $M_{CaCO_3}$  分别为碳酸镁和碳酸钙的分子质量;  $M_{Mg}$  和  $M_{Ca}$  分别为镁和钙的分子质量。

[0013] 衣藻对灰岩的生物溶蚀作用测定:

培养材料为: 衣藻。基本培养液采用 SE 培养基(不添加土壤提取液), 基本培养条件为: 光周期 L/D: 12h/12h; 温度 25°C; 光照强度为  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , pH 值 7.0 (用盐酸和氢氧化钠调节)。分别在两组培养液中添加 1g 已测定的钙镁质量比为 90:1 的灰岩粉末(小于 60 目)和不添加灰岩粉末后培养待测衣藻, 再在另一组培养液中只添加同样的这种灰岩粉末 1g 而不添加衣藻。待衣藻培养 0、1、3、5、7、9 天后, 分别测定添加有灰岩粉末的培养液中叶绿素 a 浓度  $CHLa_i$  (表 1)、溶液的镁离子浓度  $CMg_i$  (表 2) 和只添加灰岩粉末的培养液中溶液的镁离子浓度  $CO_i$ , 并用只添加灰岩粉末培养液中溶液的起始镁离子浓度  $CO_0$  和其不同时间的溶液的镁离子浓度  $CO_i$  来归一化校准添加有灰岩粉末且培养有衣藻的对应培养时间的培养液中溶液的镁离子浓度  $CMg_i$ , 得到对应培养时间校准后的添加有灰岩粉末且培养有衣藻的培养液中镁离子浓度  $CTMg_i$  (表 2), 校准公式为  $CTMg_i = CMg_i \cdot CO_0 / CO_i$ 。再将不同培养时间校准后的添加有灰岩粉末且培养有衣藻的培养液中镁离子浓度数据  $CTMg_i$  减去其起始溶液的镁离子浓度  $CTMg_0$ , 得出不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有衣藻的培养液中镁离子浓度的变化值  $\delta CTMg_i$  (表 3)。收获培养 9 天后不添加灰岩粉末培养液中培养的衣藻, 测定其镁含量和叶绿素 a 含量, 并计算单位质量叶绿素 a 对应的镁含量  $CMgPCh1$ 。将不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有衣藻的培养液的叶绿素 a 浓度值  $CHLa_i$  减去其初始的叶绿素 a 浓度值  $CHLa_0$  后乘以单位质量叶绿素 a 对应的镁含量  $CMgPCh1$ , 得到不同培养时间下单位体积培养液衣藻吸收利用的来自灰岩溶出的镁量  $Q_{a_i}$  (表 3)。

表 1 不同培养时间下添加有灰岩粉末培养有衣藻的培养液叶绿素 a 浓度  $CHLa_1$  (微克/升)

培养时间 (T) (天)					
0	1	3	5	7	9
226.0	357.1	667.1	2389.4	4777.1	13693.0

表 2 校准前和校准后添加有灰岩粉末且培养有衣藻的培养液中镁离子浓度 (毫克/升)

时间 (T) (天)	0	1	3	5	7	9
校准前培养液中的镁离子浓度 ( $CMg_1$ )	10.17	10.82	7.71	7.26	7.77	5.36
校准后培养液中的镁离子浓度 ( $CTMg_1$ )	10.17	10.23	9.94	9.45	9.47	6.32

[0014] 将不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有衣藻的培养液中镁离子浓度的变化值  $\delta CTMg_1$  加上对应培养时间下单位体积培养液衣藻吸收利用的来自灰岩溶出的镁量  $Q_{a_1}$ , 获得不同培养时间单位体积培养液衣藻对灰岩镁的溶出量  $Q_1$  (表 3)。

表 3 不同培养时间单位体积培养液中衣藻对灰岩镁的溶出量  $Q_1$  (毫克/升)

培养时间 (T) (天)	1	3	5	7	9
溶液的镁离子浓度的变化值 $\delta CTMg_1$ (毫克/升)	0.06	-0.23	-0.72	-0.70	-3.86
衣藻吸收利用的来自灰岩溶出的镁量 $Q_{a_1}$ (毫克/升)	0.12	0.40	1.96	4.13	12.23
衣藻对灰岩镁的溶出量 $Q_1$ (毫克/升)	0.18	0.17	1.24	3.43	8.37

[0015] 构建衣藻在待测培养条件下的叶绿素 a 浓度随时间 T 变化的指数生长方程, 并对叶绿素 a 浓度  $CHLa_1$  随培养时间 T 变化的方程求导, 获得衣藻生物增长率  $V_{ch}$  方程, 将衣藻生物增长率  $V_{ch}$  方程乘以时间对时间积分, 获得单位体积培养液衣藻生物溶蚀累积作用时间方程 (表 4)。

表 4 单位体积培养液衣藻生物溶蚀累积作用时间方程

叶绿素 a 浓度 ( $CHLa_1$ ) 随培养时间 (T) 的变化方程	生物增长率 ( $V_{ch}$ ) 与培养时间 (T) 的关系方程	单位体积培养液衣藻生物溶蚀累积作用时间方程 ( $PT_1$ )
$CHLa_1 = 159.05 + 139.53e^{0.51T}$ ( $R^2 = 0.999, n=6$ )	$V_{ch} = 71.16e^{0.51T}$	$PT_1 = \int_0^T V_{ch} \cdot T d(T) = 139.53 \cdot e^{0.51T} \left( T - \frac{1}{0.51} \right) + \frac{139.53}{0.51}$

[0016] 根据单位体积培养液衣藻生物溶蚀累积作用时间方程, 计算不同培养时间下单位体积培养液中衣藻生物溶蚀累积作用时间  $PT_1$ , 如表 (5)。

表 5 不同培养时间下单位体积培养液中衣藻生物溶蚀累积作用时间与衣藻对灰岩镁的溶出量

培养时间 (T) (天)	1	3	5	7	9
衣藻生物溶蚀累积作用时间 (PT <sub>i</sub> ) (微克·天/升)	49.24	93.12	5633.6 8	24841.6 8	95090.07
衣藻对灰岩镁的溶出量 Q <sub>i</sub> (毫克/升)	0.18	0.17	1.24	3.43	8.37

[0017] 由表5构建出直线方程： $Q_i = 0.61 + 8.47 \times 10^{-5} PT_i$  ( $R^2 = 0.964$ ,  $P = 0.0029$ ), 对这个方程求导得斜率  $8.47 \times 10^{-5}$  (单位: 毫克/微克·天), 将斜率乘以单位换算因子  $3.6 \times 10^5$ , 进行单位换算, 得到  $E = 30.49$  (单位: 克/克·年), 则为单位时间单位叶绿素 a 含量的衣藻对灰岩的生物溶蚀作用 E。再将单位时间单位叶绿素 a 含量的衣藻对灰岩的生物溶蚀作用 E 乘以溶蚀量换算因子 F。溶蚀量换算因子 F 用下列的溶蚀量换算方程表示:

$$F = \frac{B_{Mg} \cdot M_{MgCO_3}}{M_{Mg}} + \frac{B_{Ca} \cdot M_{CaCO_3}}{M_{Ca}}$$

上述的溶蚀量换算方程中的  $B_{Mg}$  和  $B_{Ca}$  分别为实验所用灰岩镁和钙所占的质量比例;  $M_{MgCO_3}$  和  $M_{CaCO_3}$  分别为碳酸镁和碳酸钙的分子质量;  $M_{Mg}$  和  $M_{Ca}$  分别为镁和钙的分子质量。

[0018] F 为 228.50, 因此, 每年含有 1g 叶绿素 a 含量的衣藻对灰岩的溶蚀量 M 为 6966.97 (单位: 克/克·年), 也即含有 1g 叶绿素 a 含量的衣藻在一年的时间里能够溶蚀 6966.97 克的灰岩。

[0019] 小球藻对灰岩的生物溶蚀作用的测定:

培养材料为: 小球藻。基本培养液采用 SE 培养基 (不添加土壤提取液), 基本培养条件为: 光周期 L/D: 12h/12h; 温度 25°C; 光照强度为  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , pH 值 7.0 (用盐酸和氢氧化钠调节)。分别在两组培养液中添加 1g 已测定的钙镁质量比为 90:1 的灰岩粉末 (小于 60 目) 和不添加灰岩粉末后培养待测小球藻, 再在另一组培养液中只添加同样的这种灰岩粉末 1g 而不添加小球藻。待小球藻培养 0、1、3、5、7、9 天后, 分别测定添加有灰岩粉末的培养液中叶绿素 a 浓度  $CHLa_i$  (表 6)、溶液的镁离子浓度  $CMg_i$  (表 7) 和只添加灰岩粉末的培养液中溶液的镁离子浓度  $CO_i$ , 并用只添加灰岩粉末培养液中的溶液起始的镁离子浓度  $CO_0$  和其不同时间的溶液的镁离子浓度  $CO_i$  来归一化校准添加有灰岩粉末且培养有小球藻的对应培养时间的培养液中溶液的镁离子浓度  $CMg_i$ , 得到对应培养时间校准后的添加有灰岩粉末且培养有小球藻的培养液中  $CTMg_i$  (表 7), 校准公式为  $CTMg_i = CMg_i \cdot CO_0 / CO_i$ 。再将不同培养时间校准后添加有灰岩粉末且培养有小球藻的培养液中镁离子浓度数据  $CTMg_i$  减去其起始的溶液的镁离子浓度  $CTMg_0$ , 得出不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有小球藻的培养液中镁离子浓度的变化值  $\delta CTMg_i$  (表 8)。收获培养 9 天后不添加灰岩粉末培养液中培养的小球藻, 测定其镁含量和叶绿素 a 含量, 并计算单位质量叶绿素 a 对应的镁含量  $CMgPCh1$ 。将不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有小球藻的培养液的叶绿素 a 浓度值  $CHLa_i$  减去其初始的叶绿素 a 浓度值  $CHLa_0$  后乘以单位质量叶绿素 a 对应的镁含量  $CMgPCh1$ , 得到不同



培养时间下单位体积培养液小球藻吸收利用的来自灰岩溶出的镁量  $Q_{a_i}$  (表 8)。

表 6 不同培养时间下添加有灰岩粉末培养有小球藻的培养液叶绿素 a 浓度  $CHLa_1$  (微克/升)

培养时间 (T) (天)					
0	1	3	5	7	9
318.0	642.3	1326.5	4278.1	7924.8	15048.7

表 7 校准前和校准后添加有灰岩粉末且培养有小球藻的培养液中镁离子浓度 (毫克)

培养时间 (T) (天)	0	1	3	5	7	9
校准前培养液中的镁离子浓度 ( $CMg_i$ )	10.13	10.63	7.37	7.15	6.85	5.46
校准后培养液中的镁离子浓度 ( $CTMg_i$ )	10.13	10.05	9.51	9.31	8.34	6.43

[0020] 将不同培养时间下添加有灰岩粉末且培养有小球藻的培养液中镁离子浓度的变化值  $\delta CTMg_i$  加上对应培养时间下单位体积培养液小球藻吸收利用的来自灰岩溶出的镁量  $Q_{a_i}$ , 获得不同培养时间单位体积培养液中小球藻对灰岩镁的溶出量  $Q_i$  (表 8)。

表 8 不同培养时间单位体积培养液中小球藻对灰岩镁的溶出量  $Q_i$  (毫克/升)

培养时间 (T) (天)	1	3	5	7	9
溶液的镁离子浓度的变化值 $\delta CTMg_i$ (毫克/升)	-0.08	-0.63	-0.82	-1.79	-3.70
小球藻吸收利用的来自灰岩溶出的镁量 $Q_{a_i}$ (毫克/升)	0.28	0.86	3.37	6.47	12.52
小球藻对灰岩镁的溶出量 $Q_i$ (毫克/升)	0.20	0.23	2.54	4.67	8.82

[0021] 构建小球藻在待测培养条件下的叶绿素 a 浓度随时间 T 变化的指数生长方程, 并对叶绿素 a 浓度  $CHLa_1$  随培养时间 T 变化的方程求导, 获得小球藻生物增长率  $V_{ch}$  方程, 将小球藻生物增长率  $V_{ch}$  方程乘以时间对时间积分, 获得单位体积培养液小球藻生物溶蚀累积作用时间方程 (表 9)。

表 9 单位体积培养液小球藻生物溶蚀累积作用时间方程

叶绿素 a 浓度 ( $CHLa_1$ ) 随培养时间(T)的变化方程	生物增长率( $V_{ch}$ ) 与培养时间(T)的关系方程	单位体积培养液小球藻生物溶蚀累积作用时间方程 ( $PT_i$ )
$CHLa_1 = -958.66 + 1138.98e^{0.29T}$ $(R^2 = 0.998, n=6)$	$V_{ch} = 330.30e^{0.29T}$	$PT_i = \int_0^T V_{ch} \cdot T d(T) = 1138.98 \cdot e^{0.29T} \left( T - \frac{1}{0.29} \right) + \frac{1138.98}{0.29}$

[0022] 根据单位体积培养液小球藻生物溶蚀累积作用时间方程, 计算不同培养时间下单位体积培养液中小球藻生物溶蚀累积作用时间  $PT_i$ , 如表 (10)。

表 10 不同培养时间下单位体积培养液中小球藻生物溶蚀累积作用时间与小球藻对灰岩镁的溶出量

培养时间 (T) (天)	1	3	5	7	9
小球藻生物溶蚀累积作用 时间 (PT <sub>i</sub> ) (微克·天)	200.8	2708.82	11462.07	34729.1	89918.43
小球藻对灰岩镁的溶出量 Q <sub>i</sub> (毫克/升)	0.20	0.23	2.54	4.67	8.82

[0023] 由表 10 构建出直线方程： $Q_i = 0.66 + 9.48 \times 10^{-5} PT_i$  ( $R^2 = 0.962$ ,  $P = 0.0032$ ), 对这个方程求导得斜率  $9.48 \times 10^{-5}$  (单位: 毫克/微克·天), 将斜率乘以单位换算因子  $3.6 \times 10^5$ , 进行单位换算, 得到  $E = 34.13$  (单位: 克/克·年), 则为单位时间单位叶绿素 a 含量的小球藻对灰岩的生物溶蚀作用 E。再将单位时间单位叶绿素 a 含量的小球藻对灰岩的生物溶蚀作用 E 乘以溶蚀量换算因子 F。溶蚀量换算因子 F 用下列的溶蚀量换算方程表示:

$$F = \frac{B_{Mg} \cdot M_{MgCO_3}}{M_{Mg}} + \frac{B_{Ca} \cdot M_{CaCO_3}}{M_{Ca}}$$

上述的溶蚀量换算方程中的  $B_{Mg}$  和  $B_{Ca}$  分别为实验所用灰岩镁和钙所占的质量比例;  $M_{MgCO_3}$  和  $M_{CaCO_3}$  分别为碳酸镁和碳酸钙的分子质量;  $M_{Mg}$  和  $M_{Ca}$  分别为镁和钙的分子质量。

[0024] F 为 228.50, 因此, 每年含有 1g 叶绿素 a 含量的小球藻对灰岩的溶蚀量 M 为 7798.71 (单位: 克/克·年), 也即含有 1g 叶绿素 a 含量的小球藻在一年的时间里能够溶蚀 7798.71 克的灰岩。

[0025] 应用效果:

综上所述可以看出, 小球藻对灰岩的生物溶蚀作用大于衣藻对灰岩的生物溶蚀作用, 这是因为小球藻的细胞小于衣藻细胞; 同体积的藻体, 小球藻有着较大的表面积, 因此, 具有较大的表面积的小球藻, 接触灰岩的面积大, 导致其生物溶蚀作用也就大。另外, 含有 1g 叶绿素 a 的衣藻在一年的时间里能够溶蚀 6966.97 克的灰岩与含有 1g 叶绿素 a 的小球藻在一年的时间里能够溶蚀 7798.71 克的灰岩的实验结果也符合实际情况, 表明利用本发明获得的微藻对灰岩生物溶蚀作用效应是可信的。