



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107058462 B

(45)授权公告日 2020.08.11

(21)申请号 201710400043.2

(22)申请日 2017.05.31

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 107058462 A

(43)申请公布日 2017.08.18

(73)专利权人 中国科学院地球化学研究所

地址 550081 贵州省贵阳市观山湖区林城西路99号

(72)发明人 吴沿友 赵丽华 张开艳 饶森

李环 方蕾 吴沿胜 陆叶 苏跃
刘丛强 王世杰

(74)专利代理机构 贵阳中新专利商标事务所
52100

代理人 刘艳

(51)Int.Cl.

C12Q 1/64(2006.01)

C12R 1/89(2006.01)

(56)对比文件

CN 103173520 A,2013.06.26

曹建华等.桂林地区石灰岩表面生物岩溶溶蚀作用研究.《中国岩溶》.1993,第12卷(第1期),全文.

Sultemeyer, D. Carbonic anhydrase in eukaryotic algae:《CANADIAN JOURNAL OF BOTANY-REVUE CANADIENNE DE BOTANIQUE》.1998,第76卷(第6期),第962-972页.

王宝利等.植物吸收环境中金属元素的动力学模型.《地质地球化学》.2002,第30卷(第4期),第53-56页.

审查员 娄菲

权利要求书2页 说明书10页

(54)发明名称

一种定量微藻对橄榄岩生物溶蚀的方法

(57)摘要

本发明公开一种定量微藻对橄榄岩生物溶蚀的方法。测定待测橄榄岩的主量成分,将经过预培养后的待测微藻,培养在添加橄榄岩粉末的剔镁培养液中作为实验组;以在剔镁培养液中添加橄榄岩粉末不添加微藻的处理作为空白组,测定不同培养时间后,两组实验中培养液中镁离子浓度以及藻体的叶绿素a浓度,获取不同培养时间时藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量;计算不同培养时间培养液中藻体吸收利用的来自橄榄岩溶出的镁量以及来自橄榄岩生物溶蚀溶出的且残留或亏缺于培养液中镁离子含量;得到微藻对橄榄岩镁的生物溶蚀的溶出量;再换算成微藻对橄榄岩的生物溶蚀量;计算微藻生物溶蚀累积作用时间;构建微藻对橄榄岩的生物溶蚀量对应的微藻生物溶蚀累积作用时间变化的方程,对方程求导,得到微藻对橄榄岩的生物溶蚀效应方程,将不同培养时间的代入生物溶蚀效应方

程,可获得待测藻体对橄榄岩的生物溶蚀效应以及最大生物溶蚀效应。

1. 一种定量微藻对橄榄岩生物溶蚀的方法,其特征在于:

第一,测定待测橄榄岩的主量成分,计算出橄榄岩中主量中镁与铁的摩尔比 M_{Fe}/M_{Mg} ;

第二,将待测微藻在剔镁培养液中预培养2天后,供随后实验;剔镁培养液是将培养液中镁盐用钠盐代替;

第三,设置在剔镁培养液中添加橄榄岩粉末不添加微藻的处理作为空白组,设置在剔镁培养液中既添加橄榄岩粉末又添加微藻培养的处理组作为实验组;两组实验同时进行;

第四,测定不同培养时间后,两组实验中培养液中镁离子浓度以及对应培养时间的实验组培养液藻体的叶绿素a浓度 CHL_{ai} ;实验组培养液中镁离子浓度记为 C_{Ei} ,空白组培养液中镁离子浓度记为 C_{Ci} ;i为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

第五,测定实验组中初始藻体镁含量,即初始藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{m0} ;

第六,待实验结束后,收获藻体,测定实验组中终期藻体镁含量,即终期藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mT} ;

第七,采用插值法获取不同培养时间i时的实验组中藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mi} ; N_{mi} 的计算采用公式为: $N_{mi} = N_{m0} + \frac{[N_{mT} - N_{m0}]i}{T}$,这里T为实验结束时培养天数;i为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

第八,依据实验组培养液初始叶绿素a浓度值 CHL_{a0} 以及其单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{m0} 、不同培养时间实验组培养液藻体的叶绿素a浓度 CHL_{ai} 及其藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mi} ,计算不同培养时间培养液中藻体吸收利用的来自橄榄岩溶出的镁量 Q_{Ai} ; Q_{Ai} 采用的计算公式为: $Q_{Ai} = N_{mi}CHL_{ai} - N_{m0}CHL_{a0}$; i为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

第九,依据不同培养时间两组实验中培养液中镁离子浓度 C_{Ei} 和 C_{Ci} ,计算不同培养时间下实验组与空白组培养液中镁离子浓度差,即不同培养时间下实验组中来自橄榄岩生物溶蚀溶出的且残留或亏缺于培养液中镁离子含量 Q_{Di} ; Q_{Di} 所采用的计算公式为: $Q_{Di} = C_{Ei} - C_{Ci}$; i为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

第十,依据 Q_{Ai} 和 Q_{Di} 即可得到不同培养时间下实验组微藻对橄榄岩镁的生物溶蚀的溶出量 Q_{Mg-i} ; Q_{Mg-i} 所采用的计算公式为: $Q_{Mg-i} = Q_{Ai} + Q_{Di}$; i为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

第十一,依据 Q_{Mg-i} 可得到不同培养时间下微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} ; M_{Ti} 所采用的计算公式为: $M_{Ti} = Q_{Mg-i} + [M_{Fe}/M_{Mg}]Q_{Mg-i}$; i为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

第十二,依据不同培养时间下实验组的藻体的培养液叶绿素a浓度数据 CHL_{ai} ,构建微藻叶绿素a浓度随培养时间变化的指数增长方程;表达式为: $CHL_{ai} = k e^{bi}$,这里的k和b为拟合常数;

第十三,将微藻叶绿素a浓度 CHL_{ai} 随培养时间变化的指数增长方程对时间积分,获得单位体积培养液微藻生物溶蚀累积作用时间方程 P_{Ti} ;表达式为: $P_{Ti} = \int_0^i CHL_{ai} = C + \frac{k}{b} e^{bi}$,这里的C为不定积分的常数;

第十四,依据单位体积培养液微藻生物溶蚀累积作用时间方程,计算不同培养时间下微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} ; i为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

第十五,依据不同培养时间下微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 以及相应培养时间下微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} ,构建单位体积培养液中不同培养时间微藻对橄榄岩的生物溶蚀

量 M_{Ti} 随对应的微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 变化的方程;单位体积培养液中不同培养时间微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 随对应的微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 变化的方程采用米氏方程 $M_{Ti} = \frac{V_{\max} P_{Ti}}{K_m + P_{Ti}}$ 构建;这里的 K_m 、 V_{\max} 为拟合常数

第十六,对不同培养时间下微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 随对应的微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 变化的方程求导,得到单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的生物溶蚀效应方程;求导得到的单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的生物溶蚀效应方程为: $[M_{Ti}]' = \frac{V_{\max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$;

第十七,将不同培养时间的 P_{Ti} 代入上述生物溶蚀效应方程,即可计算单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的最大生物溶蚀效应 E_{\max} 以及不同培养时间单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的生物溶蚀效应 E_i ;不同培养时间单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的生物溶蚀效应 E_i 的计算方法为:将不同培养时间的 P_{Ti} 代入上述生物溶蚀效应方程 $[M_{Ti}]' = \frac{V_{\max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$ 计算得出,其中,将 $P_{Ti}=0$ 代入方程 $[M_{Ti}]' = \frac{V_{\max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$,求得的 $[M_{Ti}]'$ 值为单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的最大生物溶蚀效应 E_{\max} ,计算公式为 $E_{\max} = \frac{V_{\max}}{K_m}$ 。

一种定量微藻对橄榄岩生物溶蚀的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种定量微藻对橄榄岩生物溶蚀的方法,属于生态环境系统监测、治理与修复领域。

背景技术

[0002] 科学家在阿曼和世界其他地区发现一种岩石可以吸收数量巨大的、令全球气候变暖的二氧化碳。这种岩石叫做“橄榄岩”,正以惊人的速度自然的与二氧化碳反应形成坚固的矿物质。这些主要由表皮岩组成的橄榄岩,形成于地壳并往下延伸20多公里或更深。在阿曼,地理学家已经发现,一旦橄榄岩被暴露于空气中,就会迅速与二氧化碳反应形成像石灰岩或是大理石这类的岩石。

[0003] 人类对化石燃料资源的开采燃烧及其土地开荒,扰动了前农业时期的全球碳循环,随着全球CO₂浓度不断上升的,全球气候变暖,全球碳循环已成为国际科学界关注的热点。地球系统的碳循环影响着全球气候变化,它对世界经济、社会和生态环境等产生了重大影响,大气CO₂浓度升高对世界各国经济的可持续发展和国家安全,等带来严峻挑战。橄榄岩的风化作用造成大气二氧化碳的碳汇,对气候调节起决定性的作用。

[0004] 生物对岩石风化作用主要体现在生物溶蚀过程,生物溶蚀是指矿物、岩石受生物生长及其活动影响而发生溶蚀作用,有物理和化学两种形式的溶蚀。生物通过自身分泌及死后遗体溶出的酸等物质对岩石的溶蚀作用称为生物的化学溶蚀;通过生物生命活动的穿插、剥离等机械活动使矿物分解称为生物物理溶蚀水生植物通过一系列的生命代谢活动对风化碳汇过程起到积极作用。微藻作为地球上最古老、最重要的初级生产力,其生命历程贯穿整个过程,其对橄榄岩的生物溶蚀作用对风化过程具有重要的作用。因此微藻对橄榄岩的生物溶蚀作用定量方法对探究橄榄岩的风化作用及其碳汇具有重要作用。

发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是,提供一种定量微藻对橄榄岩生物溶蚀的方法,为橄榄岩风化碳汇的精确计算提供定量方法,可以补充部分被忽视的“遗失碳汇”,填补碳汇计算的空白。

[0006] 本发明采取以下技术方案:它包括以下步骤:

[0007] 第一,测定待测橄榄岩的主量成分,计算出橄榄岩中主量中镁与铁的摩尔比 M_{Fe}/M_{Mg} ;

[0008] 第二,将待测微藻在剔镁培养液中预培养2天后,供随后实验;剔镁培养液是将培养液中镁盐用钠盐代替;

[0009] 第三,设置在剔镁培养液中添加橄榄岩粉末不添加微藻的处理作为空白组,设置在剔镁培养液中既添加橄榄岩粉末又添加微藻培养的处理组作为实验组;两组实验同时进行;

[0010] 第四,测定不同培养时间后,两组实验中培养液中镁离子浓度以及对应培养时间

的实验组培养液藻体的叶绿素a浓度 CHL_{ai} ;实验组培养液中镁离子浓度记为 C_{Ei} ,空白组培养液中镁离子浓度记为 C_{Ci} ; i 为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

[0011] 第五,测定实验组中初始藻体镁含量,也即初始藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{m0} ;

[0012] 第六,待实验结束后,收获藻体,测定实验组中终期藻体镁含量,也即终期藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mT} ;

[0013] 第七、采用插值法获取不同培养时间 i 时的实验组中藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mi} ,公式为: $N_{mi} = N_{m0} + \frac{[N_{mT}-N_{m0}]i}{T}$,这里 T 为实验结束时培养天数; i 为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

[0014] 第八,依据实验组培养液初始叶绿素a浓度值 CHL_{a0} 以及其单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{m0} 、不同培养时间实验组培养液藻体的叶绿素a浓度 CHL_{ai} 及其藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mi} ,计算不同培养时间培养液中藻体吸收利用的来自橄榄岩溶出的镁量 Q_{Ai} ;计算公式为: $Q_{Ai} = N_{mi}CHL_{ai} - N_{m0}CHL_{a0}$; i 为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

[0015] 第九,依据不同培养时间两组实验中培养液中镁离子浓度 C_{Ei} 和 C_{Ci} ,计算不同培养时间下实验组与空白组培养液中镁离子浓度差,也即不同培养时间下实验组中来自橄榄岩生物溶蚀溶出的且残留或亏缺于培养液中镁离子含量 Q_{Di} ,计算公式为: $Q_{Di} = C_{Ei} - C_{Ci}$;这里 i 为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

[0016] 第十,依据 Q_{Ai} 和 Q_{Di} 即可得到不同培养时间下实验组微藻对橄榄岩镁的生物溶蚀的溶出量 Q_{Mg-i} ,计算公式为: $Q_{Mg-i} = Q_{Ai} + Q_{Di}$;这里 i 为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

[0017] 第十一,依据 Q_{Mg-i} 可得到不同培养时间下微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} ,计算公式为: $M_{Ti} = Q_{Mg-i} + [M_{Fe}/M_{Mg}]Q_{Mg-i}$;这里 i 为培养时间, $0 \leq i \leq 9$;

[0018] 第十二,依据不同培养时间下实验组的藻体的培养液叶绿素a浓度数据 CHL_{ai} ,构建微藻叶绿素a浓度随培养时间变化的指数增长方程;表达式为: $CHL_{ai} = ke^{bi}$,这里的 k 和 b 为拟合常数;

[0019] 第十三,将微藻叶绿素a浓度 CHL_{ai} 随培养时间变化的指数增长方程对时间积分,获得单位体积培养液微藻生物溶蚀累积作用时间方程;表达式为: $P_{Ti} = \int_0^i CHL_{ai} = C + \frac{k}{b}e^{bi}$,这里的 C 为不定积分的常数;

[0020] 第十四,依据单位体积培养液微藻生物溶蚀累积作用时间方程,计算不同培养时间下微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} ;

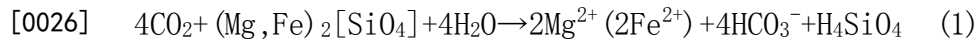
[0021] 第十五,依据不同培养时间下微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 以及相应培养时间下微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} ,用米氏方程 $M_{Ti} = \frac{V_{max} P_{Ti}}{K_m + P_{Ti}}$,构建单位体积培养液中不同培养时间微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 随对应的微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 变化的方程;这里的 K_m 、 V_{max} 为拟合常数;

[0022] 第十六,对不同培养时间下微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 随对应的微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 变化的方程求导,得到单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的生物溶蚀效应方程 $[M_{Ti}]' = \frac{V_{max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$;

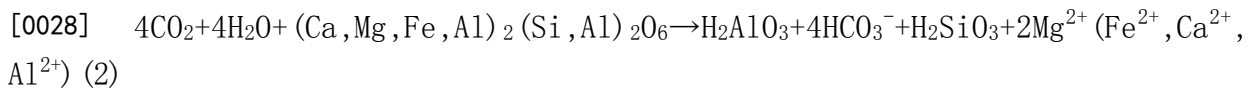
[0023] 第十七,将不同培养时间的 P_{Ti} 代入上述生物溶蚀效应方程 $[M_{Ti}]' = \frac{V_{max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$;得到不同培养时间单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的生物溶蚀效应 E_i ;其中,将 $P_{Ti}=0$ 代入方程 $[M_{Ti}]' = \frac{V_{max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$,求得的 $[M_{Ti}]'$ 值为单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的最大生物溶蚀效应 E_{max} ,计算公式为 $E_{max} = \frac{V_{max}}{K_m}$ 。

[0024] 本发明的基本原理为:

[0025] 橄榄岩属于超基性岩,主要矿物成分为橄榄石和辉石,橄榄石含量可占40%~90%。在水环境中橄榄岩的风化主要分为橄榄石、辉石的风化。橄榄石的风化可表示为:



[0027] 辉石的风化可以表示为:



[0029] 橄榄岩的风化量(F)可由溶出的阳离子含量所表示:

$$[0030] \quad F = Q_{Mg} + Q_{Fe} + Q_R$$

[0031] Q_{Mg} : 镁离子溶出量 (mg/L);

[0032] Q_{Fe} : 铁离子溶出量 (mg/L);

[0033] Q_R : 其他(除镁、铁)阳离子溶出量 (mg/L);

[0034] 橄榄岩中的金属元素主要以镁、铁构成。故镁、铁的溶出量代表着橄榄岩的风化量。则橄榄岩的风化量可表示为:

$$[0035] \quad F = Q_{Mg} + Q_{Fe}$$

[0036] 设置添加橄榄岩粉末不添加微藻的处理作为空白组,设置既添加橄榄岩粉末又添加微藻的处理组作为实验组。实验组中镁离子溶出一部分被藻体吸收,一部分被残留或亏缺在培养液中;此外,在微藻培养过程中pH值较高,所以铁在溶出过程除了一部分被微藻吸收之外,一部分形成沉淀不能溶解在培养液中。对橄榄岩风化产生的铁的量估算较难。

[0037] 橄榄石矿物、辉石矿物中镁、铁等构成一个镁与铁比值的类质同象,镁与铁为类质同象的橄榄石与辉石,由于镁和铁可以互相代替,所以在其风化过程中,其镁离子、铁离子溶出摩尔比与其在矿物中的摩尔比相一致,则橄榄岩的风化量 M_T 可表示为:

$$[0038] \quad M_T = Q_{Mg} + [M_{Fe}/M_{Mg}] Q_{Mg}$$

[0039] M_{Fe}/M_{Mg} : 橄榄岩中铁与镁的摩尔比值。

[0040] 镁溶出后一部分被藻体吸收,一部分被残留在培养液中。不同培养时间藻体吸收利用的来自橄榄岩溶出的镁量 Q_{Ai} 的计算公式为: $Q_{Ai} = N_{mi}CHL_{ai} - N_{m0}CHL_{a0}$,这里 CHL_{a0} 、 N_{m0} 分别为培养液实验初始时叶绿素a浓度值以及其单位质量叶绿素a对应的镁含量; CHL_{ai} 、 N_{mi} 分别为不同培养时间培养液中藻体的叶绿素a浓度及其藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量;不同培养时间下来自橄榄岩生物溶蚀溶出的且残留或亏缺于培养液中镁离子含量 Q_{Di} 的计算公式为: $Q_{Di} = C_{Ei} - C_{Ci}$;这里 C_{Ei} 、 C_{Ci} 分别为不同培养时间实验组和空白组中培养液中镁离子浓度。因此,不同培养时间下实验组微藻对橄榄岩镁的生物溶蚀的溶出量 Q_{Mg-i} (mg/L),则为: $Q_{Mg-i} = Q_{Ai} + Q_{Di}$ 。

[0041] 微藻培养过程中,由于不可能在任意时间下对微藻取样进行单位叶绿素a镁离子

含量 (N_{mi}) 的测定, 所以, 为方便起见, 采用插值法获取不同培养时间 i 时的实验组中藻体单位质量叶绿素 a 对应的镁含量 N_{mi} , 公式为: $N_{mi} = N_{m0} + \frac{[N_{mT} - N_{m0}]i}{T}$, 这里 T 为实验结束时培养天数; 这里 i 为培养时间, $i = 0, 1, 2, 3, 4, \dots; 0 \leq i \leq 9$; N_{m0} 为实验组中初始藻体镁含量, 也即初始藻体单位质量叶绿素 a 对应的镁含量 (mg/mg); N_{mT} 为实验终期藻体单位质量叶绿素 a 对应的镁含量 (mg/mg)。

[0042] 依据 Q_{Mg-i} 可得到不同培养时间下微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} , 计算公式为: $M_{Ti} = Q_{Mg-i} + [M_{Fe}/M_{Mg}]Q_{Mg-i}$; 这里 i 为培养时间, $i = 0, 1, 2, 3, 4, \dots; 0 \leq i \leq 9$ 。

[0043] 由于微藻的生长不同, 微藻对橄榄岩生物溶蚀的累积作用时间是不同的。

[0044] 依据不同培养时间下藻体的培养液叶绿素 a 浓度数据 CHL_{ai} , 构建微藻叶绿素 a 浓度随培养时间变化的指数增长方程; 再将微藻叶绿素 a 浓度 CHL_{ai} 随培养时间变化的指数增长方程对时间积分, 获得单位体积培养液微藻生物溶蚀累积作用时间方程; 依据单位体积培养液微藻生物溶蚀累积作用时间方程, 计算不同培养时间下微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 。

[0045] 由于微藻的生物溶蚀作用大多与酶的作用有关, 因此, 可以借用酶动力学方程来描述微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 与相应培养时间下微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 的关系。鉴于此, 我们选择米氏方程 $M_{Ti} = \frac{V_{max} P_{Ti}}{K_m + P_{Ti}}$ 来构建单位体积培养液中不同培养时间下微藻

对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 随对应的微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 变化的方程 (这里的 K_m 、 V_{max} 为拟合常数), 并对该方程求导, 得到单位时间单位叶绿素 a 含量下的待测藻体对橄榄岩的生物溶蚀效应方程 $[M_{Ti}]' = \frac{V_{max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$; 将不同培养时间的 P_{Ti} 代入上述生物溶蚀效应方程

$[M_{Ti}]' = \frac{V_{max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$; 得到不同培养时间单位时间单位叶绿素 a 含量下的待测藻体对橄榄岩的生物溶蚀效应 E_i ; 其中, 将 $P_{Ti} = 0$ 代入方程 $[M_{Ti}]' = \frac{V_{max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$, 求得的 $[M_{Ti}]'$ 值为单位时间单位

叶绿素 a 含量下的待测藻体对橄榄岩的最大生物溶蚀效应 E_{max} , 计算公式为 $E_{max} = \frac{V_{max}}{K_m}$ 。

[0046] 本发明的优点如下:

[0047] 1) 本发明能定量出微藻对橄榄岩的生物溶蚀作用, 填补了定量微藻对橄榄岩生物溶蚀作用的空白;

[0048] 2) 本发明测定的是单位时间单位叶绿素 a 含量下的微藻对橄榄岩的生物溶蚀效应, 测定的结果具有可比性。

[0049] 3) 本发明所有的测定指标, 均有较成熟的方法, 操作简单, 成本低;

[0050] 4) 本发明在完全相同的实验条件下开展培养实验, 因此, 获取微藻对橄榄岩的生物溶蚀作用的数据可靠。

具体实施方式

[0051] 本发明的实例: 它包括以下步骤:

[0052] 第一步骤, 测定待测橄榄岩的主量成分, 计算出橄榄岩中主量中镁与铁的摩尔比

M_{Fe}/M_{Mg} ;

[0053] 第二步骤,将待测微藻在别镁培养液中预培养2天后,供随后实验;别镁培养液是将培养液中镁盐用钠盐代替;

[0054] 第三步骤,设置在别镁培养液中添加橄榄岩粉末不添加微藻的处理作为空白组,设置在别镁培养液中既添加橄榄岩粉末又添加微藻培养的处理组作为实验组;两组实验同时进行;

[0055] 第四步骤,测定不同培养时间后,两组实验中培养液中镁离子浓度以及对应培养时间的实验组培养液藻体的叶绿素a浓度 CHL_{ai} ;实验组培养液中镁离子浓度记为 C_{Ei} ,空白组培养液中镁离子浓度记为 C_{Ci} ;这里i为培养时间, $i=0,1,2,3,4,---,0 \leq i \leq 9$;

[0056] 第五步骤,测定实验组中初始藻体镁含量,也即初始藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{m0} ;

[0057] 第六步骤,待实验结束后,收获藻体,测定实验组中终期藻体镁含量,也即终期藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mT} ;

[0058] 第七步骤、采用插值法获取不同培养时间i时的实验组中藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mi} ,公式为: $N_{mi} = N_{m0} + \frac{[N_{mT}-N_{m0}]i}{T}$,这里T为实验结束时培养天数;这里i为培养时间, $i=0,1,2,3,4,----,0 \leq i \leq 9$;

[0059] 第八步骤,依据实验组培养液初始叶绿素a浓度值 CHL_{a0} 以及其单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{m0} 、不同培养时间实验组培养液藻体的叶绿素a浓度 CHL_{ai} 及其藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mi} ,计算不同培养时间培养液中藻体吸收利用的来自橄榄岩溶出的镁量 Q_{Ai} ;计算公式为: $Q_{Ai} = N_{mi}CHL_{ai} - N_{m0}CHL_{a0}$;这里i为培养时间, $i=0,1,2,3,4,----,0 \leq i \leq 9$;

[0060] 第九步骤,依据不同培养时间两组实验中培养液中镁离子浓度 C_{Ei} 和 C_{Ci} ,计算不同培养时间下实验组与空白组培养液中镁离子浓度差,也即不同培养时间下实验组中来自橄榄岩生物溶蚀溶出的且残留或亏缺于培养液中镁离子含量 Q_{Di} ,计算公式为: $Q_{Di} = C_{Ei} - C_{Ci}$;这里i为培养时间, $i=0,1,2,3,4,----,0 \leq i \leq 9$;

[0061] 第十步骤,依据 Q_{Ai} 和 Q_{Di} 即可得到不同培养时间下实验组微藻对橄榄岩镁的生物溶蚀的溶出量 Q_{Mg-i} ,计算公式为: $Q_{Mg-i} = Q_{Ai} + Q_{Di}$;这里i为培养时间, $i=0,1,2,3,4,----,0 \leq i \leq 9$;

[0062] 第十一步骤,依据 Q_{Mg-i} 可得到不同培养时间下微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} ,计算公式为: $M_{Ti} = Q_{Mg-i} + [M_{Fe}/M_{Mg}]Q_{Mg-i}$;这里i为培养时间, $i=0,1,2,3,4,----,0 \leq i \leq 9$;

[0063] 第十二步骤,依据不同培养时间下实验组的藻体的培养液叶绿素a浓度数据 CHL_{ai} ,构建微藻叶绿素a浓度随培养时间变化的指数增长方程;

[0064] 第十三步骤,将微藻叶绿素a浓度 CHL_{ai} 随培养时间变化的指数增长方程对时间积分,获得单位体积培养液微藻生物溶蚀累积作用时间方程;

[0065] 第十四步骤,依据单位体积培养液微藻生物溶蚀累积作用时间方程,计算不同培养时间下微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} ;

[0066] 第十五步骤,依据不同培养时间下微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 以及相应培养时间下微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} ,用米氏方程 $M_{Ti} = \frac{V_{max} P_{Ti}}{K_m + P_{Ti}}$,构建单位体积培养液中不同

培养时间微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 随对应的微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 变化的方程;这里的 K_m 、 V_{max} 为拟合常数;

[0067] 第十六步骤,对不同培养时间下微藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 随对应的微藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 变化的方程求导,得到单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的生物溶蚀效应方程 $[M_{Ti}]' = \frac{V_{max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$;

[0068] 第十七步骤,将不同培养时间的 P_{Ti} 代入上述生物溶蚀效应方程 $[M_{Ti}]' = \frac{V_{max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$;

得到不同培养时间单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的生物溶蚀效应 E_i ;

其中,将 $P_{Ti}=0$ 代入方程 $[M_{Ti}]' = \frac{V_{max} K_m}{\{K_m + P_{Ti}\}^2}$,求得的 $[M_{Ti}]'$ 值为单位时间单位叶绿素a含量下的待测藻体对橄榄岩的最大生物溶蚀效应 E_{max} ,计算公式为 $E_{max} = \frac{V_{max}}{K_m}$ 。

[0069] 实施例1:莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀作用

[0070] 实验材料为:莱茵衣藻、橄榄岩粉末(120目—200目)。进行橄榄岩的主量测定(表1),基本培养液采用SE培养基(不添加土壤提取液),剔镁培养液是将培养液中镁盐用钠盐代替;基本培养条件为:光周期L/D:12h/12h;温度25℃;光照强度为 $100\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,pH值6.3(用盐酸和氢氧化钠调节)。

[0071] 表1橄榄岩的主量成分(%)

Sample	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MgO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	MnO	P ₂ O ₅	TiO ₂	LOI	总量
橄榄岩	44.77	5.71	10.46	30.71	4.52	0.89	0.886	0.1445	0.213	0.89	0.95	100.14

[0073] 根据表1计算出镁与铁的摩尔比 $M_{Fe}/M_{Mg}=0.17$

[0074] 实验组:添加2g橄榄岩粉末,添加莱茵衣藻,于200mL剔除镁的SE培养液中培养;

[0075] 空白组:添加2g橄榄岩粉末于200mL剔除镁的SE培养液中;

[0076] 待实验处理0、1、3、5、7天后,测定实验组的培养液中叶绿素a浓度CHL(表2)。测定实验组和空白组的培养液中镁离子浓度(表3)。

[0077] 表2不同培养时间下莱茵衣藻的培养液叶绿素a浓度CHL(毫克/升)

处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
实验组/CHL _{ai}	1.04	1.24	2.19	3.57	4.55

[0079] 表3各处理的培养液中镁离子浓度(毫克/升)

处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
空白组/CC _i	0	0.31	0.37	0.41	0.48
实验组/CE _i	0	0.26	0.26	0.30	0.11

[0081] 测定初始时实验组中的藻体镁的含量和对应的叶绿素a含量,计算出初始时单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{m0} ;测定7d时实验组中的藻体镁的含量和对应的叶绿素a含量 N_{mT} ,采用插值法获取不同培养时间i时的实验组中藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mi} ,见表4。

[0082] 表4单位质量叶绿素a对应的镁含量(毫克/毫克)

处理/时间	0d	7d	1d	3d	5d
-------	----	----	----	----	----

实验组/ N_{mi}	0.330	0.370	0.336	0.347	0.359
---------------	-------	-------	-------	-------	-------

[0084] 依据实验组培养液初始叶绿素a浓度值 CHL_{a0} 以及其单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{m0} 、不同培养时间实验组培养液藻体的叶绿素a浓度 CHL_{ai} 及其藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mi} ,计算不同培养时间培养液中藻体吸收利用的来自橄榄岩溶出的镁量 Q_{Ai} 如表5。

[0085] 表5不同培养时间培养液中藻体吸收利用的来自橄榄岩溶出的镁量 Q_{Ai} (毫克/升)

处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
实验组/ Q_{Ai}	0	0.073	0.417	0.938	1.340

[0087] 依据不同培养时间两组实验中培养液中镁离子浓度 C_{Ei} 和 C_{Ci} (表3),计算不同培养时间下实验组与空白组培养液中镁离子浓度差,也即不同培养时间下实验组中来自橄榄岩生物溶蚀溶出的、残留于培养液中镁离子含量 Q_{Di} (如表6)。

[0088] 表6不同培养时间下实验组中来自橄榄岩生物溶蚀溶出的且残留或亏缺于培养液中镁离子含量 Q_{Di} (毫克/升)

处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
实验组/ Q_{Di}	0	-0.05	-0.11	-0.11	-0.37

[0090] 依据 Q_{Ai} 和 Q_{Di} 即可得到不同培养时间下实验组莱茵衣藻对橄榄岩镁的生物溶蚀的溶出量 Q_{Mg-i} (如表7)

[0091] 表7不同培养时间下实验组莱茵衣藻对橄榄岩镁的生物溶蚀的溶出量 Q_{Mg-i} (毫克/升)

处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
实验组/ Q_{Mg-i}	0	0.023	0.307	0.828	0.970

[0093] 依据 Q_{Mg-i} 可得到不同培养时间下莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 如表8。

[0094] 表8不同培养时间下莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} (毫克/升)

处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
实验组/ M_{Ti}	0	0.027	0.359	0.969	1.135

[0096] 依据不同培养时间下实验组的藻体的培养液叶绿素a浓度数据,构建莱茵衣藻在待测培养条件下的叶绿素a浓度随培养时间*i*变化的指数增长方程 $CHL[i]$ 。将莱茵衣藻增长方程对时间积分,获得单位体积培养液莱茵衣藻生物溶蚀累积作用时间方程 P_{Ti} 。以上结果列于表9。

[0097] 表9单位体积培养液莱茵衣藻的生物溶蚀累积作用时间方程

	$CHL[i]$	P_{Ti}
[0098] 实验组	$CHL[i]=1.0552e^{0.2223i}$ $R^2=0.9828, n=5$	$P_{Ti}=4.747e^{0.2223i}-4.747$

[0099] 依据单位体积培养液莱茵衣藻生物溶蚀累积作用时间方程,计算不同培养时间下莱茵衣藻生物溶蚀累积作用时间(列于表10) P_{Ti} ;

[0100] 表10不同培养时间下莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} (毫克·天/升)

[0101]	处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
	实验组/ P_{Ti}	0	1.182	4.501	9.679	17.755

[0102] 依据不同培养时间下莱茵衣藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 以及相应培养时间下莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} ,用米氏方程 $M_{Ti} = \frac{V_{max} P_{Ti}}{K_m + P_{Ti}}$,构建单位体积培养液中不同培养时间莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 随对应的莱茵衣藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 变化的方程;得到方程: $M_{Ti} = \frac{2.6698 P_{Ti}}{22.0154 + P_{Ti}}$ ($R^2=0.9574$, $n=5$, $P=0.0038$);对该方程求导,得到

单位时间单位叶绿素a含量下的莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀效应方程 $M_{Ti} = \frac{58.7767}{\{22.0154 + P_{Ti}\}^2}$;

将不同培养时间的 P_{Ti} 代入上述方程 $M_{Ti} = \frac{58.7767}{\{22.0154 + P_{Ti}\}^2}$;得到不同培养时间单位时间单位叶绿素a含量下的莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀效应 E_i ,如表11。其中 $i=0$ 时 $P_{Ti}=0$,此时的单位时间单位叶绿素a含量下的莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀效应 E_i 为单位时间单位叶绿素a含量下的莱茵衣藻对橄榄岩的最大生物溶蚀效应 E_{max} 。

[0103] 表11不同培养时间单位时间单位叶绿素a含量下的莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀效应 E_i (单位:mg/L)

[0104]	处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
	实验组/ E_i	0.1213	0.1092	0.0836	0.0585	0.0372

[0105] 从表11可以看出,单位时间单位叶绿素a含量下的莱茵衣藻对橄榄岩的最大生物溶蚀效应 E_{max} 为0.1213mg/L。同时,我们还可以看出,早期生物溶蚀快,随着培养时间的持续,莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀效应逐渐减小。

[0106] 实施例2:蛋白核小球藻对橄榄岩的生物溶蚀作用

[0107] 实验材料为:蛋白核小球藻、橄榄岩粉末(120目—200目)。进行橄榄岩的主量测定(表12),基本培养液采用SE培养基(不添加土壤提取液),剔镁培养液是将培养液中镁盐用钠盐代替;基本培养条件为:光周期L/D:12h/12h;温度25℃;光照强度为 $100\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,pH值6.3(用盐酸和氢氧化钠调节)。

[0108] 表12橄榄岩的主量成分(%)

[0109]	Sample	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MgO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	MnO	P ₂ O ₅	TiO ₂	LOI	总量
	橄榄岩	44.77	5.71	10.46	30.71	4.52	0.89	0.886	0.1445	0.213	0.89	0.95	100.14

[0110] 根据表12计算出镁与铁的摩尔比 $M_{Fe}/M_{Mg}=0.17$

[0111] 实验组:添加2g橄榄岩粉末,添加蛋白核小球藻,于200mL剔除镁的SE培养液中培养;

[0112] 空白组:添加2g橄榄岩粉末于200mL剔除镁的SE培养液中;

[0113] 待实验处理0、1、3、5、7天后,测定实验组的培养液中叶绿素a浓度CHL(表13)。测定实验组和空白组的培养液中镁离子浓度(表14)。

[0114] 表13不同培养时间下蛋白核小球藻的培养液叶绿素a浓度CHL(毫克/升)

[0115]	处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
	实验组/ CHL_{ai}	0.82	1.28	2.03	3.68	4.97

[0116] 表14各处理的培养液中镁离子浓度(毫克/升)

[0117] 处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
空白组/ C_{Ci}	0	0.31	0.37	0.41	0.48
实验组/ C_{Ei}	0	0.30	0.36	0.12	0.11

[0118] 测定初始时实验组中的藻体镁的含量和对应的叶绿素a含量,计算出初始时单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{m0} ;测定7d时实验组中的藻体镁的含量和对应的叶绿素a含量 N_{m7} ,采用插值法获取不同培养时间i时的实验组中藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mi} ,见表15。

[0119] 表15单位质量叶绿素a对应的镁含量(毫克/毫克)

[0120] 处理/时间	0d	7d	1d	3d	5d
实验组/ N_{mi}	0.480	0.320	0.457	0.411	0.366

[0121] 依据实验组培养液初始叶绿素a浓度值 CHL_{a0} 以及其单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{m0} 、不同培养时间实验组培养液藻体的叶绿素a浓度 CHL_{ai} 及其藻体单位质量叶绿素a对应的镁含量 N_{mi} ,计算不同培养时间培养液中藻体吸收利用的来自橄榄岩溶出的镁量 Q_{Ai} 如表16。

[0122] 表16不同培养时间培养液中藻体吸收利用的来自橄榄岩溶出的镁量 Q_{Ai} (毫克/升)

[0123] 处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
实验组/ Q_{Ai}	0	0.191	0.441	0.953	1.197

[0124] 依据不同培养时间两组实验中培养液中镁离子浓度 C_{Ei} 和 C_{Ci} (表13),计算不同培养时间下实验组与空白组培养液中镁离子浓度差,也即不同培养时间下实验组中来自橄榄岩生物溶蚀溶出的且残留或亏缺于培养液中镁离子含量 Q_{Di} (如表17)。

[0125] 表17不同培养时间下实验组中来自橄榄岩生物溶蚀溶出的且残留或亏缺于培养液中镁离子含量 Q_{Di} (毫克/升)

[0126] 处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
实验组/ Q_{Di}	0	-0.01	-0.01	-0.29	-0.37

[0127] 依据 Q_{Ai} 和 Q_{Di} 即可得到不同培养时间下实验组蛋白核小球藻对橄榄岩镁的生物溶蚀的溶出量 Q_{Mg-i} (如表18)

[0128] 表18不同培养时间下实验组蛋白核小球藻对橄榄岩镁的生物溶蚀的溶出量 Q_{Mg-i} (毫克/升)

[0129] 处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
实验组/ Q_{Mg-i}	0	0.181	0.431	0.663	0.827

[0130] 依据 Q_{Mg-i} 可得到不同培养时间下蛋白核小球藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 如表19。

[0131] 表19不同培养时间下蛋白核小球藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} (毫克/升)

[0132] 处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
实验组/ M_{Ti}	0	0.212	0.504	0.776	0.968

[0133] 依据不同培养时间下实验组的蛋白核小球藻的培养液叶绿素a浓度数据,构建蛋白核小球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增长方程 $CHL[i]$ 。将蛋白核小球藻增长方程对时间积分,获得单位体积培养液蛋白核小球藻生物溶蚀累积作用

时间方程 P_{Ti} 。以上结果列于表20。

[0134] 表20单位体积培养液蛋白核小球藻的生物溶蚀累积作用时间方程

	CHL[i]	P_{Ti}
[0135] 实验组	$CHL[i]=0.9177e^{0.2557i}$ $R^2=0.981, n=5$	$P_{Ti}=3.589e^{0.2557i}-3.589$

[0136] 依据单位体积培养液蛋白核小球藻生物溶蚀累积作用时间方程,计算不同培养时间下蛋白核小球藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} (表21);

[0137] 表21不同培养时间下蛋白核小球藻对橄榄岩的生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} (毫克/升)

[0138] 处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
实验组/ P_{Ti}	0	1.046	4.140	9.300	17.905

[0139] 依据不同培养时间下蛋白核小球藻生物溶蚀累积作用时间 P_{Ti} 以及相应培养时间

下蛋白核小球藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} ,用米氏方程 $M_{Ti} = \frac{V_{max} P_{Ti}}{K_m + P_{Ti}}$,构建单位体积培养液中不同培养时间蛋白核小球藻对橄榄岩的生物溶蚀量 M_{Ti} 随对应的蛋白核小球藻生物溶蚀

累积作用时间 P_{Ti} 变化的方程;得到方程: $M_{Ti} = \frac{1.2984 P_{Ti}}{6.2235 + P_{Ti}}$ ($R^2=0.9986, n=5, P<0.0001$);对该

方程求导,得到单位时间单位叶绿素a含量下的蛋白核小球藻对橄榄岩的生物溶蚀效应方

程 $M_{Ti} = \frac{8.0806}{\{6.2235 + P_{Ti}\}^2}$;将不同培养时间的 P_{Ti} 代入上述方程 $M_{Ti} = \frac{8.0806}{\{6.2235 + P_{Ti}\}^2}$;得到不同培养时

间单位时间单位叶绿素a含量下的蛋白核小球藻对橄榄岩的生物溶蚀效应 E_i ,如表22。其中 $i=0$ 时 $P_{Ti}=0$,此时的单位时间单位叶绿素a含量下的蛋白核小球藻对橄榄岩的生物溶蚀效应 E_i 为单位时间单位叶绿素a含量下的蛋白核小球藻对橄榄岩的最大生物溶蚀效应 E_{max} 。

[0140] 表22不同培养时间单位时间单位叶绿素a含量下的蛋白核小球藻对橄榄岩的生物溶蚀效应 E_i (单位:mg/L)

[0141] 处理/时间	0d	1d	3d	5d	7d
实验组/ E_i	0.2086	0.1529	0.0752	0.0335	0.0139

[0142] 从表22可以看出,单位时间单位叶绿素a含量下的蛋白核小球藻对橄榄岩的最大生物溶蚀效应 E_{max} 为0.2086mg/L。同时,我们还可以看出,早期生物溶蚀快,随着培养时间的持续,蛋白核小球藻对橄榄岩的生物溶蚀效应逐渐减小,与莱茵衣藻对橄榄岩的生物溶蚀情况相似。