

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20231228002

微囊藻毒素的检测和脱除方法研究进展

戴 宵, 廖芊穗, 黎晓阳*

(南昌大学食品学院, 南昌 330031)

摘 要: 近年来, 由于富营养化, 全球有害蓝藻水华的发生率持续上升, 形成水华的蓝藻会释放出多种毒素。微囊藻毒素是有害蓝藻产生的常见毒素, 具有肝毒性、肾毒性、神经毒性、生殖毒性等多种毒性, 严重威胁人类和生态系统健康。微囊藻毒素在水中非常稳定, 难以通过传统水处理工艺去除。因此, 寻求经济有效的微囊藻毒素检测和脱除方法至关重要。本文综述了定量检测和去除微囊藻毒素的方法, 包括物理法、化学法和生物法, 并分析总结了这 3 类方法用于检测和脱除微囊藻毒素的优势与局限性, 总结了不同方法脱除微囊藻毒素的机理, 重点介绍了绿色高效的光催化与安全有效的生物方法脱除微囊藻毒素, 最后基于当前的研究结果, 对未来微囊藻毒素脱除研究方向进行了展望, 为解决环境中微囊藻毒素的污染问题提供思路。

关键词: 蓝藻水华; 微囊藻毒素; 检测方法; 脱除方法

Research progress on detection and removal methods of microcystins

DAI Xiao, LIAO Qian-Sui, LI Xiao-Yang*

(College of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

ABSTRACT: In recent years, due to eutrophication, cyanobacteria bloom has become a serious environmental problem worldwide. Microcystins is a common toxin produced by cyanobacteria. It has hepatotoxicity, nephrotoxicity, neurotoxicity, and reproductive toxicity, which significantly threatens human and ecosystem health. Microcystins is very stable in water and difficult to remove through traditional water treatment processes. Therefore, it is important to find an economical and effective method for microcystins detection and removal. This paper reviewed the detection and removal methods of microcystins, including physical methods, chemical methods and biological methods; summarized the advantages, limitations, and the possible mechanism of these methods, with emphasis on green and efficient photocatalysis and safe and effective biological methods for microcystins removal. Finally, the future research direction of microcystins removal is prospected to provide ideas for solving the problem of microcystins pollution in the environment.

KEY WORDS: cyanobacteria bloom; microcystins; detection method; removal method

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFF1102800)、国家自然科学基金项目(22308143)、江西省杰出青年基金项目(20232ACB215008)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFF1102800), the National Natural Science Foundation of China (22308143), and the Jiangxi Provincial Natural Science Foundation (20232ACB215008)

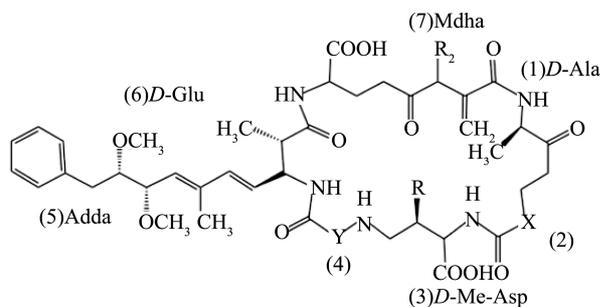
***通信作者:** 黎晓阳, 博士, 教授, 主要研究方向为食品安全阻控、生物-化学催化。E-mail: xyli@ncu.edu.cn

***Corresponding author:** LI Xiao-Yang, Ph.D, Professor, College of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330031, China. E-mail: xyli@ncu.edu.cn

0 引言

近年来,随着工业与经济的飞速发展,农业、工业和城市污水处理不当引发的水体富营养化成为了环境污染的重要问题^[1]。水体富营养化会导致水质恶化、浮游植物藻类大量繁殖形成水华。当蓝藻在大型湖泊或河流中形成水华时,蓝藻产生的蓝藻毒素会随着自然生态系统和资源的利用而迁移,随着生物链传递,最终在人体积累,严重危害人类健康^[2]。微囊藻毒素(microcystins, MCs)是由蓝藻水华中微囊藻属、浮丝藻属、鱼腥藻属等产生的毒素,是最常见的蓝藻毒素,具有肝毒性、肾毒性、神经毒性、生殖毒性等多种毒性^[3]。当 MCs 进入人体,会被血液吸收,接着被运送到各种器官后,随着浓度的积累会导致慢性中毒,出现恶心、头晕、呕吐等症状,对水生态安全和人类健康构成严重威胁^[4-5]。

MCs 的分子量在 800~1100 Da 之间,是一种环状七肽肝毒($D\text{-Ala}^1\text{-X}^2\text{-D-MeAsp}^3\text{-Y}^4\text{-Adda}^5\text{-D-Glu}^6\text{-Mdha}^7$),根据可变氨基酸的不同,有数十种异构体。其中 X 和 Y 是可变的 L-氨基酸, D-Me-Asp 代表 D-β-甲基天冬氨酸, Adda 是 (2S,3S,8S,9S)-3-氨基-9-甲氧基-2,6,8-三甲基-10-苯基癸-4,6-二烯酸,也是表达 MCs 毒性的必须基团^[6]。Mdha 是 N-甲基脱氨丙氨酸(图 1)^[7]。最普遍、含量最高、毒性较大的 3 种异构体分别为微囊藻毒素-LR (microcystin-LR, MC-LR)、微囊藻毒素-RR (microcystin-RR, MC-RR)和微囊藻毒素-YR (microcystin-YR, MC-YR) (L、R 和 Y 分别表示化学结构中的亮氨酸、精氨酸和酪氨酸)。其中,MC-LR 毒性最强。在 2010 年世界卫生组织将 MC-LR 列入 2B 类致癌物清单^[8]。由于 MCs 的环状结构具有强稳定性、难挥发、耐酸碱与高温,不能被常见的一些蛋白质或多肽水解酶降解,在去离子水中可保持稳定状态长达 27 d^[9-11]。



注: X 和 Y 代表可变氨基酸; R 和 R₂=H/CH₃。

图 1 微囊藻毒素一般结构式

Fig.1 Microcystins structural formula

近年来,随着蓝藻水华的频繁爆发,中国的许多湖泊和水域遭受了 MCs 的污染。从 2000 年到 2016 年,中国沿海地区发生了 1194 次有害藻华,平均每年约 70 次^[12]。中国水产养殖产量的淡水养殖产量占总养殖产量的比例高

达 50%^[13]。MCs 是水生动(淡水鱼、虾等)和微藻源新型食品中的一种重要危害因子。例如,在微藻(钝顶螺旋藻、雨生红球藻、蛋白核小球藻、莱茵衣藻等)接种培养时,若藻种不纯、混有其他种类藻株,生长能力较强的杂藻会与目标藻株争夺营养,大量繁殖并产生 MCs^[14-15]。MCs 是一种环状七肽物质,具有间隔双键,在水中非常稳定,难以通过传统水处理工艺去除。MCs 在微藻源食品中具有重大的残留风险^[16]。MCs 的检测和脱除对保障水产品食用安全与人们健康具有重要意义,因此本文综述了 MCs 的主要检测和脱除方法,包括物理法、化学法和生物法,总结了各方法的特点和局限性,分析了 MCs 检测和脱除技术的未来研究方向。

1 微囊藻毒素检测方法

目前国内外检测 MCs 的方法主要包括生物学检测法、物理化学检测法和生物化学检测法。

1.1 生物检测法

传统的生物检测法主要利用 MCs 的毒性,通过小鼠腹腔注射或口服样品、测试小鼠毒害程度,间接推算出 MCs 含量。这种以实验模型为基础的评估方法的优点是程序相对简单、阈值不高,但灵敏度较低,得到的结果与小鼠的品系有关,无法准确量化,此外用动物做实验还会受到道德伦理约束。除了传统的使用动物对毒素毒性进行检测,也有利用细胞和植物来进行毒性实验研究。

1.2 物理化学检测法

根据 GB/T 20466—2006《水中微囊藻毒素的测定》,高效液相色谱法是测定水中 MCs 的主要方法。该方法具有准确度和灵敏度高、重现性好以及可同时分析不同 MCs 的异构体等优点。由于 MCs 在自然界中通常含量极低,且存在多种干扰物质,因此采用高效液相色谱法测定 MCs 前一般需要使用固相萃取柱萃取后富集。检测常用设备包括高效液相色谱-二极管阵列检测器(high performance liquid chromatography-diode array detector, HPLC-DAD)、高效液相色谱-电化学检测器(high performance liquid chromatography-electrochemical detector, HPLC-ED)和高效液相色谱-紫外检测器(high performance liquid chromatography-ultraviolet detector, HPLC-UV)。

液相色谱-质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)是一种复杂的技术,用于检测环境中 MC 的各种变体。LC-MS 通过液相色谱对 MCs 进行分离,用质谱作为检测器进行检测。根据准确的分子量及结构信息,可以确定毒素类型及含量。李献刚等^[17]采用 C₁₈ 固相萃取小柱富集浓缩,液相色谱-四极杆串联质谱法定性定量地检测 8 种 MCs。该方法检测水中的 8 种 MCs 检出限为 0.01~0.6 μg/L,

在 0.25~62.5 $\mu\text{g/L}$ 的线性范围中, 线性相关系数大于 0.99。

LC-MS 与其他色谱检测技术相比具有更高的选择性和灵敏度, 但 LC-MS 的局限性是需要经过专门培训的人员才能操作。此外, 为了分析和解释 LC-MS 结果, 需要更多时间进行分析。

1.3 生物化学检测法

生物化学检测法主要包括酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)和蛋白磷酸酶抑制法(protein phosphatase inhibition assay, PPIA)。ELISA 是一种简单、有效和快速的方法, 只需少量样本, 且灵敏度很高。但其缺点是特异性低、毒素识别能力差、容易产生假阳性反应。近年来, 通过开发新型抗 MCs 的纳米抗体可以提高 ELISA 对 MCs 的识别能力和灵敏度^[18]。蛋白磷酸酶抑制测定法的原理是 MCs 具有蛋白磷酸酶和多功能性酶抑制活性, 通过测定待测样品对酶活性的抑制程度检测 MCs^[19]。PPIA 可在短时间内处理大量样本, 但是这种方法特异性不强、在检测过程中易受其他对蛋白磷酸酶有干扰的物质的影响, 此外这种方法也不能鉴定 MC 的同分异构体, 只能检测抑制蛋白磷酸酶活性的总 MC 量。MC 不同检测方法的比较如表 1 所示。

表 1 现有微囊藻毒素检测方法比较

Table 1 Comparison of existing detection methods for microcystins

检测方法	优点	缺点
生物检测法	操作简单、阈值不高	灵敏度较低、无法准确量化、不能区分藻毒素
高效液相色谱法	准确度高、灵敏度高、重现性好	样品需要预处理和富集、易受干扰
液相色谱-质谱法	快速、灵敏、准确	仪器昂贵、操作复杂
酶联免疫吸附法	简单、快速、可处理多个样本	特异性低、容易出现假阳性
蛋白酶磷酸抑制法	可处理大量样本	只能检测抑制蛋白磷酸酶活性的总 MC 量

2 微囊藻毒素去除方法研究进展

2.1 物理脱除法

2.1.1 吸附法

物理吸附法是将 MCs 吸附到多孔固体材料中, 进而通过分离材料去除毒素, 是一种经济有效且效率较高的 MCs 脱除方法。YAN 等^[20]的研究表明, 在一定条件下, 四氧化三铁与壳聚糖按照一定比例化合形成的复合材料对 MC-LR 具有良好的吸附性。

碳纳米管也常用作 MCs 的吸附剂。相较于传统吸附剂粘土、高岭石和滑石等, 碳纳米管具有更高的吸附效率。

相比于粘土, 外径范围为 2~10 nm 的碳纳米管可以吸附更多的 MC-RR 和 MC-LR, 该吸附量约为粘土的 4~5 倍, 是一种具有良好应用前景的去除饮用水中 MCs 的新吸附剂^[21]。

2.1.2 膜过滤法

膜过滤法是通过离子交换膜或有机聚合物膜去除 MCs 的方法。按孔径大小, 主要分为微滤膜、超滤膜和纳滤膜。FIONAH 等^[22]的实验将酶与膜结合去除 MC-LR, MCs 降解酶(microcystinase, MlrA)由大肠杆菌表达, 然后通过组氨酸标签纯化, 该酶可以将环状 MC-LR 线性化。由 95%聚砜和 5%磺化聚醚醚酮制成的复合膜用于过滤环状和线性化的 MC-LR 溶液。实验结果表明, MlrA 成功地实现了 MC-LR 的线性化, 而膜过滤测试显示, 97%的环状 MC-LR 和几乎所有线性化的 MC-LR 均被截留, 吸附是其主要的截留机制, 此外甲醇可用于剥离膜上残留的 MC-LR 以使其再生。然而由于膜的制备成本高昂, 限制了其大规模应用。

2.1.3 超声法

超声法具有操作方便、反应条件温和、处理时间短等优点, 是一种脱除 MCs 的环保技术。将超声技术与其他技术联用, 可以极大提高 MCs 的去除效率。例如, HE 等^[23]研究表明, 通过 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CNTs}$ 、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 凝固处理后, 超声 20 min 可去除 94.4%的蓝藻细胞, 去除效率与单独超声处理相比提高了 3.8 倍。

2.2 化学脱除方法

2.2.1 传统氧化方法

一些常规氧化剂可用于去除 MCs, 包括氯化试剂(Cl_2 、 ClO_2)、高锰酸钾(KMnO_4)、臭氧(O_3)等。其中采用氯化试剂去除 MCs 的效率主要取决于有效氯和足够的余氯, 余氯包括游离性余氯和化合性余氯, 化合性余氯是指水中氯与氨的化合物, 游离性余氯是指水中 OCl^+ 、 HOCl 、 Cl_2 等^[24]。FENG 等^[25]使用次氯酸钠溶液(活性氯含量>5.2%)制备游离氯储备溶液, 用于氧化从龙湖中收集的作为饮用水的天然水(lake Longhu water, LLW)和超纯水(Milli-Q, MQ)(对照实验)中的 MC-LR, 对 MC-LR 氯化过程中的去除效率、转化途径和转化产物进行了研究。使用的氯剂量在(4.0~8.0) mg/L 范围内时, 测定的 MC-LR 氯化反应的二级速率常数在 MQ 中为(21.3~31.9) $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$, 高于在 LLW 中的二级速率常数(9.06~17.7) $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$, 这是由于 LLW 的水基质的氯衰变速度更快。此外, 在这两个水域中鉴定出 11 种 MC-LR 的转化产物, 通过对其转化途径的研究发现 Adda 共轭二烯部分和苯环, 以及双键 Mdma 部分(N-甲基脱氢丙氨酸)是 MC-LR 的易被攻击部位。

高锰酸钾作为一种强氧化剂, 它可以通过破坏多肽的环状结构, 从而去除 MCs。KIM 等^[26]发现 MC-LR 与 KMnO_4 反应的二级速率常数(pH 7.2 和 21°C)为(386.2±0.4) $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$, 活化能为(21.2±0.9) kJ/mol。研究发现, 当初始浓

度为 10 nmol/L, 采用 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 的 KMnO_4 处理 MC-RR 的降解效率可达 94%。

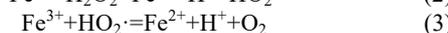
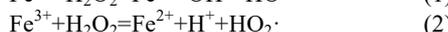
臭氧能高效去除 MCs。其中, 臭氧浓度是影响消毒效果的关键因素。臭氧降解有机污染物有两种可能的机制。第一种途径为臭氧分子直接攻击 MCs 分子, 对降解有机污染物具有选择性, 但是反应速率相对较慢; 第二种途径是利用臭氧分解形成的自由基间接攻击 MCs 分子, 这些自由基可能参与电子转移、吸氢反应或自由基加成等过程, 选择性低, 但可降解甚至矿化大多数有机污染物^[27]。MIAO 等^[28]研究了用不同剂量臭氧降解 MC-RR 和 MC-LR, 提出了可能的降解的机制: Adda 部分的共轭二烯结构易受到羟基自由基($\cdot\text{OH}$)攻击生成二羟基化产物, 该二羟基化产物的 Adda 部分的 4-5 和/或 6-7 键进一步裂解成醛或酮肽残基, 最后残基被氧化成相应的羧酸。

虽然在实际应用中, 采用臭氧和氯可以降解大多数藻类毒素, 使湖水达到水质标准。但在氯化过程中, 氧化/消毒过程对藻类毒素母体结构的转化可能形成有毒副产物。氯可以与水中溶解的有机物质(dissolved organic matter, DOM)反应产生有毒的消毒副产物(disinfection byproducts, DBP)。氯化过程中形成的公认的 DBP 是三卤甲烷和卤代乙酸^[29]。这些 DBPs 可能会诱导细胞毒性和遗传毒性增加。

为了避免 MCs 在被氧化后产生有毒副产物, 未来的研究需要优化氧化/消毒工艺, 使其不仅可以满足水质标准, 而且还可以有效降低毒性。

2.2.2 芬顿氧化法

芬顿(Fenton)方法因具有经济有效、去除效率高等优点, 被广泛应用于消除 MCs。芬顿氧化法常用二价铁离子催化过氧化氢(H_2O_2)氧化机污染物, Fenton 试剂($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$)通过破坏有机物的结构, 进而氧化和降解有机物, 反应路径如式(1)~(3)^[30]。



PARK 等^[31]考察了芬顿反应中 $\text{Fe}(\text{II})/\text{H}_2\text{O}_2$ 对 MC-LR 的去除效率, 研究表明, 在 $\text{Fe}(\text{II})$ 和 5 mg/L 的 H_2O_2 作用下反应 30 min, MC-LR 的去除率为 80%, 虽然芬顿反应可以把有机污染物最终降解为二氧化碳和水, 是一种绿色环保的毒素去除方法, 但由于芬顿反应需要在酸性 pH ($\text{pH} < 3$) 下进行, 高剂量的试剂的添加和酸性溶液的昂贵后处理阻碍了芬顿法在处理水中 MCs 的应用。

2.2.3 光催化法

常规化学氧化法的优点是成本低、操作简单和高效, 但同时具有对环境影响较大、可能对非靶生物造成损害、导致耐药基因发展、造成二次污染等缺点。与其他化学氧化技术相比, 光催化降解有机污染物具有反应条件绿色温和、降解效率高等优势。近年来, 光催化降解藻毒素得到了广泛关注, 是非常具有前景的 MCs 去除方法^[32]。研究表

明, MCs 的侧链 Adda 上具有对紫外光敏感的共轭双键结构, 该共轭双键在紫外光的照射下可能会发生断裂或构型的改变, 使藻毒素发生降解或转化。紫外线(140~400 nm)是最常用的光源, 但存在有灯泡寿命短、能耗高、汞处理问题棘手等缺点^[33]。MENEZES 等^[34]使用无污染、能耗低的紫外线(365 nm)发光二极管照射下 TiO_2 涂覆的玻璃珠光催化降解 MCs, 该二极管成本低, 寿命长(并能够活化 TiO_2), 可以有效去除铜绿微囊藻 PCC7813 和 4 种 MCs 类似物 (MC-LR、-LY、-LW、-LF)。研究发现, 对于所有 MCs 类似物, 在紫外线处理的第 5 d, 细胞内和细胞外 MCs 的浓度分别降低了 100%和 92%。近年来, 通过开发新型光催化剂, 光驱动 MCs 降解技术的光子响应范围被扩展到可见光区域(400~800 nm)。通过将光催化 MCs 的降解条件转变为在自然太阳光(290~800 nm)下进行, 可以进一步降低光催化法的应用成本。

半导体是 MCs 光降解的一种重要光催化剂, 例如, 二氧化钛(TiO_2)因其优异的光催化能力被视为理想的灭藻剂。然而, TiO_2 宽带隙, 只能通过仅占太阳光谱 5%的紫外线照射进行光激发, 可见光利用率低^[35]。通过离子掺杂可以改善可见光的吸收性能和光催化活性。WEI 等^[36]通过水热法合成了氟掺杂的二氧化钛(F-TiO_2), 提高其在太阳光下的光催化能力。氟掺杂后, F-TiO_2 中锐钛矿的结晶度明显增强。当用量为 0.75 g/L 时, F-TiO_2 的抗藻活性最好, 在太阳照射下 8 h, F-TiO_2 对藻类细胞的去除率在 97.5%。在光催化蓝藻和 MCs 脱出的过程中, 含氟 TiO_2 氧化蓝藻的细胞壁和细胞膜, 同时高效降解代谢产物和 MC-LR。光催化反应过程中活性氧的贡献为空穴(h^+) $\cdot\text{OH}$ $\cdot\text{O}_2^-$ 。

电子-空穴对的快速复合速率和光电子寿命短是制约 MCs 去除中的重要原因。因此, 研究者们广泛研究了多种改性方法, 以克服其固有的缺陷并增强光催化性能。其中, 构建异质结是最常用的方法^[37]。异质结由多个半导体形成, 这些半导体通过静电相互作用、范德华力或化学键紧密结合。异质结不仅可以促进电子的迁移, 还可以抑制电子的复合、具有可调的能带结构, 扩大了光吸收范围。FAN 等^[38]以金属-有机骨架材料(metal organic frameworks, MOFs)为模板、以 Ag 和 AgCl 复合物为光催化剂, 构建了一种 $\text{Ag/AgCl@g-C}_3\text{N}_4@\text{UIO-66}(\text{NH}_2)$ 异质结光催化剂, 应用在可见光下去除铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)。研究表明, 该纳米复合材料不仅可以提供大量的活性位点, 而且具有优异的可见光能量利用率和有效转移载流子的能力, 与传统光催化剂相比, 提高了蓝藻的去除效率(在 180 min 内降解率为 99.9%)。WU 等^[39]研究了 p-n 光催化剂异质结 $\text{Ag/Ag}_2\text{O-BiVO}_4$ 对 MCs-RR 的去除效率。研究表明, 初始浓度为 3 mg/L 的 MC-RR 在 2 mg 的 $\text{Ag/Ag}_2\text{O-BiVO}_4$ 处理下降解效率为 82%。 Bi_2WO_6 作为一种新型半导体光催化剂, 具有较窄的带隙宽度和特殊的层状结构, 因而显示出良好的

可见光催化性能。研究表明,将 Bi_2WO_6 复合适量异种半导体,能提高光生电子-空穴的分离效率^[40]。倪利晓等^[41]通过水热法制备具有可见光响应性的 $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Bi}_2\text{WO}_6$ 复合光催化剂,结果表明 Bi_2WO_6 与 Fe_2O_3 复合后拓宽了可见光吸收范围,同时有效抑制了光生电子和空穴的结合几率。在 $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Bi}_2\text{WO}_6$ 催化剂投加量为 0.05 g, pH 为 3.7, MC-LR 初始质量浓度为 1 mg/L 时降解速率最高,反应的准一级动力学常数达到 0.031 min^{-1} 。FAN 等^[42]制备了一种自漂浮 $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{LaFeO}_3$ (ALFO)光催化水凝胶,用于高效去除微囊藻和降解 MC-LR。该水凝胶将 ALFO 光催化剂和中空玻璃微球掺杂其中,通过冻融法制备而成。实验结果表明,该水凝胶能够在水表面浮动,并且对微囊藻及毒素有优异的光催化灭活效果。此外,它还具有良好的机械强度和弹性,在实际应用可以重复使用。

2.3 生物脱除方法

MCs 的生物脱除方法是指利用酶或微生物降解毒素。藻毒素由于其化学结构的稳定性,不易被真核生物和细菌肽酶分解,却能被天然水体中的某些特殊细菌降解,通过改变侧链 Adda 的结构或打开环状结构降低其毒性。目前,已发现多种微生物可以降解 MCs, 研究者们已经从富营养化的湖泊、池塘和河流中发现了能够降解 MCs 的本土细菌。这些菌株包括鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas* sp)、新鞘氨醇菌属(*Novosphingobium* sp)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas* sp)、芽孢杆菌属(*Bacillus* sp)和真菌^[43]。生物降解法具有环境无害、特异性强等优点,是一种重要的 MCs 去除方法。1994 年, JONES 等^[44]发现了鞘氨醇单胞菌属 ACM-3962 (*Sphingomonas* sp. ACM-3962)能够以 MCs 为维持自身生长的唯一碳和氮来源,并降解 MCs。随后,越来越多具有降解 MCs 能力的细菌菌株被发现。VALERIA 等^[45]从圣罗克水库(阿根廷科尔多瓦)分离出具有降解 MCs-RR 的菌株鞘氨醇单胞菌属 CBA4 (*Sphingomonas* sp. CBA4),可以在 36 h 内完全降解初始浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 MC-RR。LE 等^[46]分离出了 *Paucibacter* 菌株(*Paucibacter aquatile* DH15),该菌对铜绿微囊藻有杀藻活性,并具有降解 MCs 的能力。DH15 ($2.1 \times 10^4 \text{ CFU}/\text{mL}$)对铜绿微囊藻($2 \times 10^6 \text{ 细胞}/\text{mL}$)的杀藻活性为 94.9%, DH15 在 72 h 后对 MCs (1.6 mg/L)的降解率高达 62.5%。大多数生物学研究主要集中在筛选水生温带环境细菌来控制 and 降解有害蓝藻和 MCs 的能力。BENEGAS 等^[47]评价了南极细菌抑制铜绿假微囊藻 BCPUSP232 增殖和降解 MC-LR 的能力,初步测试了 76 种细菌菌株的无细胞提取物的抗菌活性,发现了未鉴定菌株 62、菌株 ES7 和北极冷单胞菌(*Psychromonas arctica*)能够有效地裂解铜绿微囊藻。节杆菌(*Arthrobacter* sp) 443 和未鉴定菌株 383 对 MC-LR 的降解效率最高,分别为 24.87%和 23.85%。

在实际水环境中使用游离菌株处理 MC-LR 受到了操作稳定性低、难以回收和再利用等限制,通过固定化微生物可以克服这些问题。WU 等^[48]通过将 *Sphingopyxis* sp. YF1 共价固定在壳聚糖接枝的 Fe_3O_4 磁性颗粒上,合成复合材料,可高效可持续地降解 MC-LR ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CTS}/\text{Sphingopyxis}$ sp. YF1)。 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CTS}/\text{Sphingopyxis}$ sp. YF1 在 pH 为 6.0~9.0 和温度为 25~35 $^\circ\text{C}$ 的条件下,具有强耐受性和良好降解性能,且 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CTS}/\text{Sphingopyxis}$ sp. YF1 具有优异重复使用性能,可以通过外加磁场实现回收。在第 6 个循环中 MCs 的降解率达到 1.50 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$ 。

在富营养化湖泊和水库中,已经鉴定出一些可以有效降解 MCs 的细菌菌株。然而,它们的降解效率相对较低,在 MCs 含量高的水域中应用潜力有限。通过使用基因工程菌株和异源表达酶,可以大大提高 MCs 的生物降解效率。BOURNE 等^[49]初步鉴定了鞘氨醇单胞菌属 ACM-3962 (*Sphingomonas* sp. ACM-3962)生物降解 MC-LR 的基因簇和酶途径。研究表明,鞘氨醇单胞菌属的 4 种基因 *mlrA*、*mlrB*、*mlrC* 和 *mlrD* 分别编码的 MCs 酶(MlrA)、MlrB、MlrC 和转运蛋白(MlrD)参与了 MC-LR 的降解反应,并研究了其降解 MC-LR 的机制。*mlrA* 基因编码的 MlrA 酶切割了 MC-LR 的 Adda-Arg 肽键处,将 MC-LR 转化为线性化的 MC-LR。由 *mlrB* 基因编码的 MlrB 酶水解 Ala-Leu 键,将线性化的 MC-LR 转化为四肽,*mlrC* 基因编码的 MlrC 酶将四肽分解成更小的肽和氨基酸,MC 及其降解产物的转运被认为是通过 *mlrD* 基因促进的。YANG 等^[50]从富营养化太湖中成功分离到一种具有高效降解 MCs 能力的细菌 *Sphingopyxis* sp. YF1。通过整合质谱和多组学分析,并结合部分基因和蛋白质的功能验证,确定了 MC-LR 的完整降解途径,MC-LR 依次降解为线性化的 MC-LR、四肽、Adda、苯乙酸,最后转化为 CO_2 。

作为 MCs 线性化的主要酶,微囊藻毒素酶(MlrA)对于 MCs 的生物降解途径的发现和在水处理中的实际应用非常重要。MlrA 可将环状 MC-LR 降解为线型 MC-LR,线型 MC-LR 的毒性与环状 MC-LR 相比低 160 倍,通过将 MlrA 异源表达可以提高酶产量和提高 MCs 降解率^[51-52]。WANG 等^[53]通过构建重组菌,在异源宿主中克隆并表达 *Novosphingobium* sp. THN1 的 *mlrA* 基因。采用完整的重组体和重组体的无细胞提取物降解 MC-RR。结果表明,完整的重组体比细胞提取物能够更快地降解 MC-RR,降解速率为 9.22 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$ 。

在这些研究中,重组细胞或细胞提取物间接显示出 MlrA 的高效 MCs 降解活性,但并未通过纯化测试纯 MlrA 酶活性。LIU 等^[54]通过在大肠杆菌 K12TB1 中过表达后纯化蛋白,获得 90%以上纯度的 MlrA,所制备的 MlrA 在高温和碱性条件下表现出较高的稳定性。MlrA 可以有效降解 MCs 并抑制铜绿微囊藻的生长。MlrA 通过降低铜绿微囊

藻的光合能力和细胞内 MCs 含量抑制微囊藻生长, 同时也具有降解细胞外 MCs 的能力。CAI 等^[55]发现了一株新型 MCs 降解菌株 *Sphingopyxis* sp.YF1, 并鉴定了菌株中与 MC-LR 降解有关的重要基因 *microcystinase*, 测定了在不同 MC-LR 浓度、pH 和 *microcystinase* 浓度下, *microcystinase* 对 MC-LR

降解速率的影响。研究发现, 在 30°C、pH 为 7、MC-LR 初始浓度为 20 μg/mL 和 *microcystinase* 浓度为 400 μg/mL 的最佳条件下, MC-LR 的降解速率为 1.0 μg/(mL·min)。MCs 降解产物为线性化的 MC-LR, 其对蛋白磷酸酶 2A 的抑制活性远低于 MC-LR。MC 不同脱除方法的比较如表 2 所示。

表 2 MC 不同脱除方法的比较
Table 2 Comparison of different MC removal methods

	方法	优势	劣势
物理方法	吸附法 膜过滤 超声	方法简单、条件温和 对毒素脱除效果好	成本高, 能耗大; 容易造成二次污染
化学方法	芬顿反应 氧化法 光催化	经济有效、去除效率高 成本低	可能对非靶生物造成损害; 可能形成有毒副产物
生物方法	微生物 生物酶	生物酶对毒素的特异性催化, 对环境无影响且安全性高	耗时时间长、效率低; 生物酶对环境耐受能力差

3 总结与展望

MCs 的检测方法多种多样, 生物法实验简单但灵敏度低, 物理化学检测法灵敏度高但需要昂贵的仪器, 生化检测所需时间少, 可以检测大量样本但特异性低。MCs 毒性强、危害大、分布广, 去除 MCs 及建立有效的检测 MCs 的方法是当前的研究热点。MCs 的去除方法包括物理法、化学法和生物法, 这些方法虽然能有效脱除 MCs, 但在实际应用中具有一定局限性。例如物理法(膜过滤法和超声法)成本较高, 生物法效率较低、处理时间长, 化学氧化法可能会造成二次污染。光催化法因其成本低、环境友好等优点, 是一种具有广阔应用前景的 MCs 处理技术, 但光催化法的效率受到水质的影响。蓝藻水华导致藻细胞过多而阻碍光线折射入水体。基于光催化去除 MCs 的机理, 光催化在光照不足的情况下无法有效消除高浓度的 MCs。考虑到现有的脱除 MCs 的方法的局限性, 建议在以下几个方面开展深入持续研究:

(1)使用绿色、高效、无毒的天然材料代替化学试剂或光催化剂。此外, 探索如何应用天然材料降解 MCs 及其降解机理也至关重要。

(2)发挥不同方法的优势, 构建物理方法、化学方法、生物方法偶联脱除 MCs 新技术, 例如将吸附法与生物降解结合, 芬顿法与光催化结合, 光催化与生物方法结合等。

(3) MCs 的降解产物毒性需要进一步研究。降解产物的毒性对水生生态系统的安全至关重要, 为确保水生环境和人类健康, 须建立评价体系来评估降解产物的毒性。

(4) MCs 去除技术的经济性与生态安全性也需要考虑, 保证 MCs 去除过程中的成本和二次污染尽可能低。

参考文献

- [1] AHMED SF, KUMAR PS, KABIR M, *et al.* Threats, challenges and sustainable conservation strategies for freshwater biodiversity [J]. *Environ Res*, 2022, 214: 113808.
- [2] MUTOTI MI, EDOKPAYI J, MUTILENI N, *et al.* Cyanotoxins in groundwater; occurrence, potential sources, health impacts and knowledge gap for public health [J]. *Toxicol*, 2023, 226: 107077.
- [3] WA S, JIAO Y, RAO Z. Selective removal of common cyanotoxins: A review [J]. *Environ Sci Pollut R*, 2021, 28: 28865–28875.
- [4] SHI L, DU X, LIU H, *et al.* Update on the adverse effects of microcystins on the liver [J]. *Environ Res*, 2021, 195: 110890.
- [5] TAN K, SUN Y, ZHANG H, *et al.* Effects of harmful algal blooms on the physiological, immunity and resistance to environmental stress of bivalves: Special focus on paralytic shellfish poisoning and diarrhetic shellfish poisoning [J]. *Aquaculture*, 2023, 563: 739000.
- [6] ZHAN M, HONG Y. Recent advances in technologies for removal of microcystins in water: A review [J]. *Curr Pollut Rep*, 2022, 8(2): 113–127.
- [7] 张紫馨, 王寅初, 刘钦弘, 等. 微囊藻毒素生物学功能的研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2023, 18(2): 128–140.
ZHANG ZX, WANG YC, LIU QH, *et al.* Research progress on biological functions of microcystins [J]. *Chin J Biol Toxicol*, 2023, 18(2): 128–140.
- [8] 罗青, 袁冠湘, 刘桂华. 农作物中微囊藻毒素的富集、危害及食用风险研究进展[J]. *中国公共卫生*, 2023, 39(8): 1078–1082.
LUO Q, YUAN GX, LIU GH. Research progress of microcystin enrichment, harm and edible risk in crops [J]. *Chin J Public Health*, 2023, 39(8): 1078–1082.
- [9] 邱雨, 马增岭, 张子怡, 等. 水生生态系统中微囊藻毒素的分布及其生态毒理效应研究进展[J]. *应用生态报*, 2023, 34(1): 277–288.
QIU Y, MA ZL, ZHANG ZY, *et al.* Research progress of microcystins

- distribution and ecotoxicological effects in aquatic ecosystems [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2023, 34(1): 277–288.
- [10] WANG Y, TIBBETTS SM, MCGINN PJ. Microalgae as sources of high-quality protein for human food and protein supplements [J]. *Foods*, 2021, 10(12): 3002.
- [11] BLEAKLEY S, HAYES M. Functional and bioactive properties of protein extracts generated from *Spirulina platensis* and *Isochrysisgalbana* T-Iso [J]. *Appl Sci*, 2021, 11(9): 3964.
- [12] CHENG Y. Effects and mechanism of Cl^- and pH on organic matter removal in salt-containing wastewater treatment by advanced oxidation processes [J]. *Chin J Environ Eng*, 2021, 15.5: 1487–1499.
- [13] GARLO CK, TARY N. Aquaculture: The missing contributor in the food security agenda [J]. *Glob Food Secur*, 2022, 32: 100620.
- [14] SUN S, TANG Q, XU H, *et al.* A comprehensive review on the photocatalytic inactivation of *Microcystis aeruginosa*: Performance, development, and mechanisms [J]. *Chemosphere*, 2023, 312: 137239.
- [15] QIN S, WANG K, GAO F, *et al.* Biotechnologies for bulk production of microalgal biomass: From mass cultivation to dried biomass acquisition [J]. *Biotechnol Biol Biop*, 2023, 16(1): 131.
- [16] LI J, LI R, LI J. Current research scenario for microcystins biodegradation—a review on fundamental knowledge, application prospects and challenges [J]. *Sci Total Environ*, 2017, 595: 615–632.
- [17] 李献刚, 李芳, 贾汶静, 等. 三通道自动固相萃取-高效液相色谱四极杆串联质谱法检测水中 8 种痕量微囊藻毒素[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(2): 540–545.
- LI XG, LI F, JIA WJ, *et al.* Detection of 8 trace microcystin in water by three-channel automatic solid phase extraction and high performance liquid chromatography with quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qua*, 21, 12(2): 540–545.
- [18] 耿建暖. 酶联免疫法及其在食品中的应用研究进展[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2021, (19): 40–44.
- GENG JN. Research progress of enzyme-linked immunoassay and its application in food [J]. *Heilongjiang Anim Husb Vet Sci*, 2021, (19): 40–44.
- [19] 林勇澍, 刘金钊, 田永静, 等. 总微囊藻毒素免疫检测及其预处理方法研究[J]. *环境科学学报*, 2023, 43(8): 473–479.
- LIN YS, LIU JC, TIAN YJ, *et al.* Immunoassay of total microcystin toxin and its pretreatment method [J]. *Chin J Environ Sci*, 2023, 43(8): 473–479.
- [20] YAN H, GONG A, HE H, *et al.* Adsorption of microcystins by carbon nanotubes [J]. *Chemosphere*, 2006, 62(1): 142–148.
- [21] 闫海, 李贤良, 孙建新. 粘土矿物和碳纳米管对微囊藻毒素的吸附[J]. *环境科学*, 2004, (S1): 92–94.
- YAN H, LI XL, SUN JX. Adsorption of microcystin by clay minerals and carbon nanotubes [J]. *Environ Sci*, 2004, (S1): 92–94.
- [22] FIONAH A, HACKETT C, ALJEWARI H, *et al.* Microcystin-LR removal from water via enzymatic linearization and ultrafiltration [J]. *Toxins*, 2022, 14(4): 231.
- [23] HE Y, WU P, LI G, *et al.* Optimization on preparation of Fe_3O_4 /chitosan as potential matrix material for the removal of microcystin-LR and its evaluation of adsorption properties [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 156: 1574–1583.
- [24] HUANG K, MACKAY AA. Microcystin-LR degradation kinetics during chlorination: Role of water quality conditions [J]. *Water Res*, 2020, 185: 116305.
- [25] FENG J, LI X, MANZI HP, *et al.* Chlorination of microcystin-LR in natural water: Kinetics, transformation products, and genotoxicity [J]. *J Environ Manage*, 2023, 338: 117774.
- [26] KIM MS, LEE HJ, LEE KM, *et al.* Oxidation of microcystins by permanganate: pH and temperature-dependent kinetics, effect of DOM characteristics, and oxidation mechanism revisited [J]. *Environ sci Technol*, 2018, 52(12): 7054–7063.
- [27] SCHREIDAH CM, RATNAYAKE K, SENARATH K, *et al.* Microcystins: Biogenesis, toxicity, analysis, and control [J]. *Che Res Toxicol*, 2020, 33(9): 2225–2246.
- [28] MIAO H, QIN F, TAO G, *et al.* Detoxification and degradation of microcystin-LR and-RR by ozonation [J]. *Chemosphere*, 2010, 79(4): 355–361.
- [29] DONG H, AZIZ MT, RICHARDSON SD. Transformation of algal toxins during the oxidation/disinfection processes of drinking water: From structure to toxicity [J]. *Environ Sci Technol*, 2023, 57(35): 12944–12957.
- [30] ZHAI Q, SONG L, JI X, *et al.* Research progress of advanced oxidation technology for the removal of *Microcystis aeruginosa*: A review [J]. *Environ Sci Pollut R*, 2022, 29(27): 40449–40461.
- [31] PARK JA, YANG B, PARK C, *et al.* Oxidation of microcystin-LR by the Fenton process: Kinetics, degradation intermediates, water quality and toxicity assessment [J]. *Chem Eng J*, 2017, 309: 339–348.
- [32] XIE G, HU X, DU Y, *et al.* Light-driven breakdown of microcystin-LR in water: A critical review [J]. *Chem Eng J*, 2021, 417: 129244.
- [33] ZUO W, LIANG L, YE F, *et al.* Construction of visible light driven silver sulfide/graphitic carbon nitride p-n heterojunction for improving photocatalytic disinfection [J]. *Chemosphere*, 2021, 283: 131167.
- [34] MENEZES I, CAPELO-NETO J, PESTANA CJ, *et al.* Comparison of UV-A photolytic and UV/TiO₂ photocatalytic effects on *Microcystis aeruginosa* PCC7813 and four microcystin analogues: A pilot scale study [J]. *J Environ Manage*, 2021, 298: 113519.
- [35] GELDASA FT, KEBEDE MA, SHURA MW, *et al.* Experimental and computational study of metal oxide nanoparticles for the photocatalytic degradation of organic pollutants: A review [J]. *RSC Adv*, 2023, 13(27): 18404–18442.
- [36] WEI X, ZHU H, XIONG J, *et al.* Anti-algal activity of a fluorine-doped titanium oxide photocatalyst against *Microcystis aeruginosa* and its photocatalytic degradation [J]. *New J Chem*, 2021, 45(37): 17483–17492.
- [37] WANG Z, LIN Z, SHEN S, *et al.* Advances in designing heterojunction photocatalytic materials [J]. *Chin J Catal*, 2021, 42(5): 710–730.
- [38] FAN G, ZHAN J, LUO J, *et al.* Fabrication of heterostructured Ag/AgCl@g-C₃N₄@UIO-66(NH₂) nanocomposite for efficient photocatalytic inactivation of *Microcystis aeruginosa* under visible light [J]. *J Hazard Mater*, 2021, 404: 124062.

- [39] WU C, FANG Y, TIRUSEW AH, *et al.* Photochemical oxidation mechanism of microcystin-RR by p-n heterojunction Ag/Ag₂O-BiVO₄ [J]. *Chin J Catal*, 2017, 38(2): 192–198.
- [40] 冯妍, 吴青松, 张国英, 等. 可见光响应型 Bi₂WO₆ 光催化剂[J]. *化学进展*, 2012, 24(11): 2124–2131.
- FENG Y, WU QS, ZHANG GY, *et al.* Visible light responsive Bi₂WO₆ photocatalyst [J]. *Adv Chem*, 2012, 24(11): 2124–2131.
- [41] 倪利晓, 刘旭阳, 陈春明. Fe₂O₃/Bi₂WO₃对微囊藻毒素的光催化降解研究[J]. *环境科技*, 2018, 31(1): 21–25, 66.
- NI LX, LIU XY, CHEN CM. Photocatalytic degradation of microcystin by Fe₂O₃/Bi₂WO₃ [J]. *Environ Sci Technol*, 2018, 31(1): 21–25, 66.
- [42] FAN G, CHEN Z, GU S, *et al.* Self-floating photocatalytic hydrogel for efficient removal of *Microcystis aeruginosa* and degradation of microcystins-LR [J]. *Chemosphere*, 2021, 284: 131283.
- [43] HE Q, WANG W, XU Q, *et al.* Microcystins in water: Detection, microbial degradation strategies, and mechanisms [J]. *Int J Env Res Pub Health*, 2022, 19(20): 13175.
- [44] JONES GJ, BOURNE DG, BLAKELEY RL, *et al.* Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by aquatic bacteria [J]. *Nat Toxins*, 1994, 2(4): 228–235.
- [45] VALERIA AM, RICARDO EJ, STEPHAN P, *et al.* Degradation of microcystin-RR by *Sphingomonas* sp. CBA4 isolated from san roque reservoir (Córdoba-Argentina) [J]. *Biodegradation*, 2006, 17: 447–455.
- [46] LE V, KO SR, KANG M, *et al.* Algicide capacity of *Paucibacter aquatile* DH15 on *Microcystis aeruginosa* by attachment and non-attachment effects [J]. *Environ Pollut*, 2022, 302: 119079.
- [47] BENEGAS GRS, BERNAL SPF, OLIVEIRA VM, *et al.* Antimicrobial activity against *Microcystis aeruginosa* and degradation of microcystin-LR by bacteria isolated from Antarctica [J]. *Environ Sci Pollut R*, 2021, 28(37): 52381–52391.
- [48] WU P, LI G, HE Y, *et al.* High-efficient and sustainable biodegradation of microcystin-LR using *Sphingopyxis* sp. YF1 immobilized Fe₃O₄@chitosan [J]. *Colloid Surfaces B*, 2020, 185: 110633.
- [49] BOURNE DG, RIDDLES P, JONES GJ, *et al.* Characterisation of a gene cluster involved in bacterial degradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR [J]. *Environ Toxicol*, 2001, 16(6): 523–534.
- [50] YANG F, HUANG F, FENG H, *et al.* A complete route for biodegradation of potentially carcinogenic cyanotoxin microcystin-LR in a novel indigenous bacterium [J]. *Water Res*, 2020, 174: 115638.
- [51] XU Q, MA H, ZHANG H, *et al.* Purification and activity of the first recombinant enzyme for biodegrading hepatotoxin by *Sphingopyxis* sp. USTB-05 [J]. *Algal Res*, 2020, 47: 101863.
- [52] LIU T, KUROGO N, KODATO M, *et al.* MlrA, an essential enzyme for microcystins and nodularin on first step biodegradation in microcystin-degrading bacteria [J]. *Chem Res Toxicol*, 2024. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.3c00341
- [53] WANG R, LI J, JIANG Y, *et al.* Heterologous expression of mlrA gene originated from *Novosphingobium* sp. THN1 to degrade microcystin-RR and identify the first step involved in degradation pathway [J]. *Chemosphere*, 2017, 184: 159–167.
- [54] LIU H, GUO X, LIU L, *et al.* Simultaneous microcystin degradation and *Microcystis aeruginosa* inhibition with the single enzyme microcystinase A [J]. *Environ Sci Technol*, 2020, 54(14): 8811–8820.
- [55] CAI D, WEI J, HUANG F, *et al.* The detoxification activities and mechanisms of microcystinase towards MC-LR [J]. *Ecotox Environ Saf*, 2022, 236: 113436.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



戴 宵, 硕士研究生, 主要研究方向为毒素降解与酶催化。

E-mail: daixiao0219@163.com



黎晓阳, 博士, 教授, 主要研究方向为食品安全阻控、生物-化学催化。

E-mail: xyli@ncu.edu.cn