

紫外线对铜绿微囊藻的抑制效果及特性研究

郭美婷¹, 胡洪营¹, 陈健², 刘小彬²

(1. 清华大学环境科学与工程系, 北京 100084; 2. 福建新大陆环保科技有限公司, 福州 350015)

摘要:采用紫外平行光仪辐照方法, 研究紫外线对“水华”蓝藻中常见的铜绿微囊藻生长的抑制效果, 并探讨紫外线对藻沉降性能、叶绿素、藻胆蛋白的影响, 以及藻生长光照条件对紫外线抑藻效果的影响。结果表明, 紫外线对铜绿微囊藻的生长具有显著抑制作用, 150 mJ/cm² 紫外剂量下, 藻细胞个数被控制于初始水平, 藻生长受抑制, 如增加紫外剂量, 藻细胞个数逐渐降低, 藻渐渐衰亡。紫外线辐照加快藻细胞沉降速率, 初始浓度 4.52×10^6 个/mL 的藻样经 500 mJ/cm² 紫外线照射, 静置 2 d 后的沉降率为 14.4%, 高于对照样(1.5%)。叶绿素与藻胆体在经受紫外线辐照后均受破坏, 150 mJ/cm² 和 300 mJ/cm² 紫外辐照藻样并培养 9 d 后, 叶绿素含量分别下降为原来的 43.6% 和 26.4%; 藻胆蛋白特征吸收峰下降明显。经紫外线照射后, 优先进入黑暗环境有利于抑制藻复活, 提高抑藻效果。

关键词:紫外线; 抑制; 铜绿微囊藻; 叶绿素; 藻胆蛋白

中图分类号: X173 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)06-1608-06

Inhibitory Effects of Ultraviolet Irradiation on the Growth of *Microcystis aeruginosa*

GUO Mei-ting¹, HU Hong-ying¹, CHEN Jian², LIU Xiao-bin²

(1. ESPC State Key Joint Laboratory, Department of Environmental Science & Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. Fujian Newland EnTech Co. Ltd., Fuzhou 350015, China)

Abstract: The inhibitory effects of ultraviolet (UV) irradiation on the growth of *Microcystis aeruginosa* was investigated, using the UV collimated beam apparatus. The experimental results indicated that, UV light had a high inhibitory effect on the growth of *Microcystis aeruginosa*. With UV dose of 150 mJ/cm², the number of algal cells was controlled at the initial level. Under higher UV dose irradiation, the number of algal cells decreased greatly. Through UV irradiation treatment, sedimentation rate of algae was speeded. Under the UV irradiation of 500 mJ/cm², the sedimentation rate of algae with initial concentration of 4.52×10^6 cells/mL increased to 14.4% from 1.5% after 2 days incubation. Chlorophyll and phycobilisome were destroyed to a certain extent after UV irradiation. With the UV irradiation of 150 mJ/cm² and 300 mJ/cm², the concentration of chlorophyll decreased to 43.6% and 26.4%, respectively. The characteristic absorption peak of phycobilisome was lowered obviously. After UV irradiation treatment, culturing the algae in the darkness first can maintain the inhibitory effect.

Key words: UV; inhibition; *Microcystis aeruginosa*; chlorophyll; phycobilisome

藻类暴发性生长导致景观水体水质恶化, 部分饮用水源受污染。此问题已成为亟待解决的环境问题。探索防治藻污染的高效实用技术十分紧迫。针对水中藻污染问题, 多数水厂采用投加化学药剂, 如氯、高锰酸钾、硫酸铜、臭氧等。但是投加氯、高锰酸钾或硫酸铜等药剂容易带来二次污染; 而应用臭氧除藻所需投资和运行费用较高^[1]。近年来, 由于紫外线技术具有无须添加任何化学药品、无二次污染、高效率、清洁、低成本等优点^[2-3], 越来越受关注。现代紫外线技术对微生物的高效杀灭作用已得到全世界的公认, 广泛应用于水消毒中^[4]。但将紫外线技术应用于藻类生长的控制还比较有限。

目前国内外在紫外线抑藻领域的研究, 多肯定了紫外线对藻的抑制效应^[5-10], 但在所需紫外剂量的确定上及紫外线是否表现出即刻致死效应的结论

上存在差异。而抑藻紫外剂量阈值是一个重要工程参数, 关乎抑藻成本及效果。为此, 本研究将以蓝藻中常见的铜绿微囊藻作为实验藻种, 分析紫外线对铜绿微囊藻生长的抑制效应, 确定生长抑制阈值, 并对紫外线对铜绿微囊藻沉降性能、叶绿素含量及藻胆蛋白的影响进行分析, 以期紫外线技术抑藻控藻的实际应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

铜绿微囊藻: 购于中国科学院武汉水生生物研究所淡水藻种库 (FACHB)。

收稿日期: 2010-07-06; 修订日期: 2010-09-08

作者简介: 郭美婷(1982~), 女, 博士, 主要研究方向为污水再生利用, E-mail: gmt00@mails.tsinghua.edu.cn

1.2 实验方法

1.2.1 藻细胞培养及计数

采用 BG11 培养基培养铜绿微囊藻. 培养条件如下:温度 24 ~ 26℃, 光强 2 000 lx, 光暗时间比为 12 h: 12 h, 手摇 3 ~ 5 次/d.

据彭卫民等^[11]的研究, 藻细胞干重与悬浮液的吸光度具有良好的线性关系. 本研究以藻的悬浮液吸光值作为藻的生物量(藻浓度)的度量标准.

对藻液进行紫外可见分光光度计全波长扫描, 发现铜绿微囊藻的吸收光谱在波长 685 nm 处出现最强吸收峰(如图 1), 因此确认铜绿微囊藻的最大吸收波长为 685 nm.

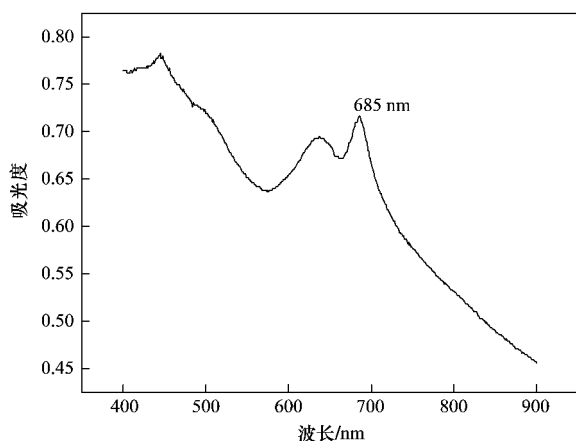


图 1 铜绿微囊藻的全波长扫描

Fig. 1 Full-wave scan diagram of *M. aeruginosa*

取一定浓度的新鲜藻液, 通过稀释配成不同浓度藻液, 采用显微镜计数法进行藻细胞个数计数, 制作最大吸收波长处的吸光值与藻生物量的关系曲线, 如图 2 所示.

由图 2 可以看出, 用显微镜计数表示的铜绿微囊藻藻细胞浓度与藻液在 685 nm 处的吸光值在 0.04 ~ 0.9 范围内呈良好的线性关系, 线性拟合后 R^2 达到 0.999. 因此, 后期实验铜绿微囊藻藻细胞浓度均以藻液在 685 nm 处的吸光值换算而得.

1.2.2 紫外线抑藻实验

以铜绿微囊藻作为受试藻种, 将 40 mL 藻液置于直径为 90 mm 的灭菌培养皿中, 将培养皿置于紫外线平行光束仪(见图 3)正下方, 磁力搅拌器的上面. 用紫外光强计(1400-A)测定到达样品表面的 UV-C 紫外线强度, 根据实验所需紫外剂量确定紫外辐照时间.

进行紫外线辐照实验时, 先启动搅拌器, 使水样

混合 10 s 后, 再打开遮光板, 使水样接受设计时间的紫外线辐照. 紫外线辐照时间用遮光板控制. 受紫外线辐照处理后的藻样在适宜的培养条件下继续培养并计数, 研究紫外线辐照对铜绿微囊藻的抑制作用.

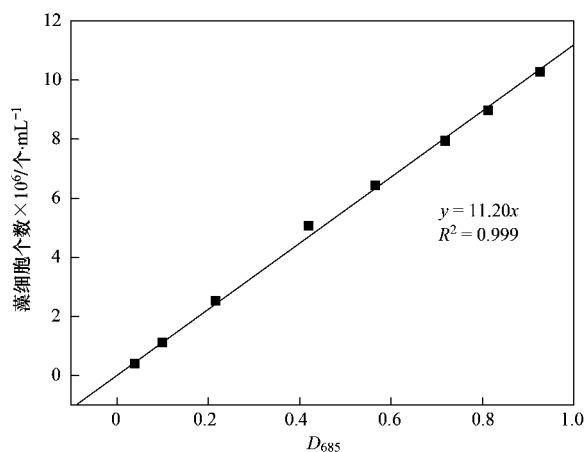


图 2 铜绿微囊藻细胞浓度与吸光度关系

Fig. 2 Relationship between cell concentration and absorbance of *M. aeruginosa*

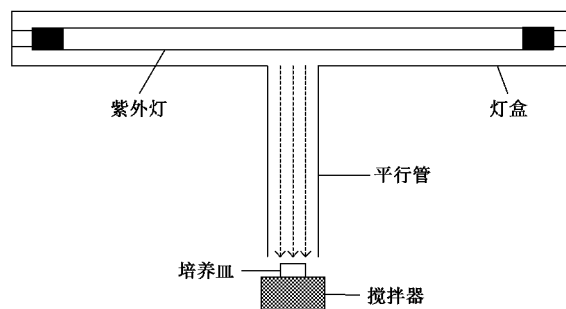


图 3 紫外平行光束仪结构示意图

Fig. 3 Schematic diagram of UV collimated beam apparatus

1.2.3 紫外线对铜绿微囊藻沉降性的影响研究

为突出显示紫外线照射对铜绿微囊藻沉降性的影响, 本研究选取较高的紫外线剂量进行分析. 取同等浓度藻样 40 mL 分别于 0、500、2 000 mJ/cm² 紫外线剂量下进行辐照处理, 测定吸光值. 将紫外线辐照处理的藻液倒入 50 mL 试管中, 静置 48 h 后取表面藻液测定吸光值, 计算沉降率 (sedimentation ratio, SR):

$$SR(\%) = \left(1 - \frac{N_t}{N_0}\right) \times 100\%$$

式中 N_t : t 时刻取样测定的藻密度, N_0 : 紫外线辐照后静置前的初始藻密度.

1.2.4 紫外线对铜绿微囊藻叶绿素含量的影响

取等浓度藻样分别于 0、150、300 mJ/cm^2 紫外剂量下辐照处理,后于培养箱中培养 9 d,测定第 1、2、4、7、9 d 叶绿素含量.叶绿素测定方法参考文献 [12].

1.2.5 紫外线对铜绿微囊藻藻胆蛋白含量的影响

取等浓度藻样分别于 150 mJ/cm^2 紫外剂量下辐照处理,测定藻样紫外线照射前后 652 nm 和 616 nm 处的吸光值,研究紫外线对铜绿微囊藻藻胆蛋白含量的影响.

2 结果与讨论

2.1 紫外线剂量对铜绿微囊藻生长的影响

藻的生长过程一般包括迟滞期、指数生长期、稳定期和衰亡期.图 4 为铜绿微囊藻的生长曲线.从图 4 可以大致划分出铜绿微囊藻的 4 个生长阶段(初始 $D_{685} = 0.039$):0 ~ 6 d 为迟滞期($D_{685} < 0.085$),6 ~ 33 d 为指数生长期($D_{685} < 2.70$),33 ~ 40 d 为稳定生长期,40 d 后进入衰亡期.在藻类的指数生长期,观察藻液呈深蓝色,进入衰亡期,藻体逐渐死亡并下沉.

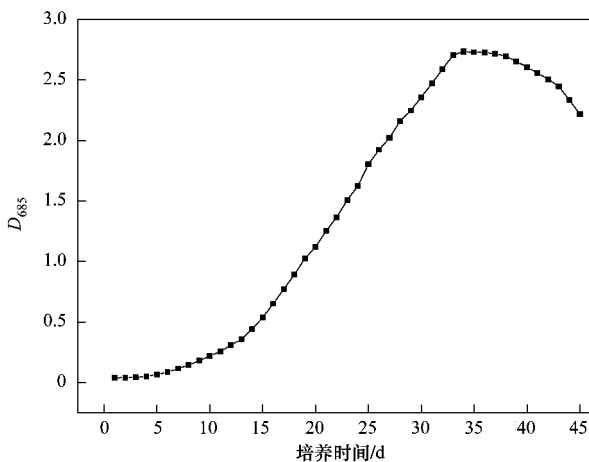


图 4 铜绿微囊藻生长曲线

Fig. 4 Growth curve of *M. aeruginosa*

以初始浓度为 1.96×10^6 个/mL 的铜绿微囊藻作为受试藻种,研究了不同紫外线剂量的辐照对铜绿微囊藻生长的抑制效果,结果如图 5 所示.

可以看出,未经紫外线辐照的对照藻样在培养期间呈对数生长,经紫外线辐照的藻样生长受到不同程度的抑制.照射紫外线剂量越大,照射后藻细胞个数在培养期间增长越慢,培养 14 d 时的藻细胞个数越少.150 mJ/cm^2 紫外剂量辐照后,铜绿微囊藻

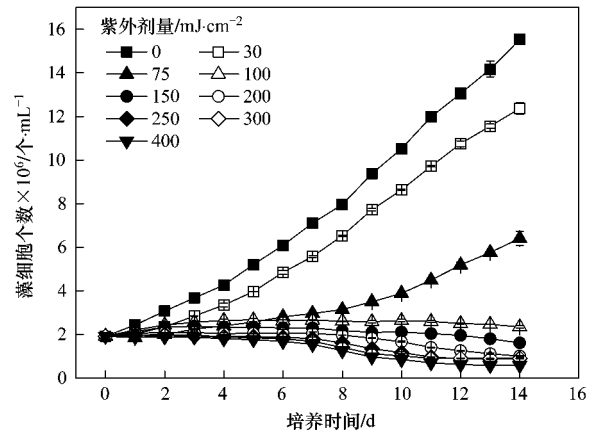


图 5 紫外线剂量对铜绿微囊藻生长的影响

Fig. 5 Effect of UV dose on growth of *M. aeruginosa*

在培养期间没有生长迹象;也即藻细胞群体达到生长和死亡的平衡,藻密度基本维持在初始水平.增加紫外线剂量,藻细胞群体死亡大于生长,表现为藻细胞个数降低,藻细胞渐渐衰亡.这表明,150 mJ/cm^2 的紫外线剂量是本研究条件下抑制铜绿微囊藻生长的阈值剂量.

当紫外线的剂量由 150 mJ/cm^2 增加到 400 mJ/cm^2 时,培养期前 6 d,藻样的生长曲线没有太大变化,藻细胞浓度均维持在初始水平.培养 7 d 后,铜绿微囊藻进入死亡阶段,藻细胞数量逐渐降低.这说明较高的紫外线剂量辐照能完全抑制铜绿微囊藻的生长.

关于抑制铜绿微囊藻的紫外线剂量,不同研究人员得到的结果不同. Otaki 等^[2]研究发现:37 mJ/cm^2 紫外剂量下,7 d 培养期内铜绿微囊藻的生长受到抑制;75 mJ/cm^2 紫外剂量下,紫外线对藻产生致死作用,3 d 后死藻细胞全部沉于底部. Sakai 等^[5]发现,在 600 mJ/cm^2 紫外剂量下,藻的生长受到抑制,7 d 培养期内藻密度逐渐降低.田义等^[8]的研究发现,在强度为 $1710 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 的紫外线下照射 10 min (即紫外线剂量为 $1026 \text{ mJ}/\text{cm}^2$),藻的去除率达到 75.8%,表现出即刻致死效应.抑制铜绿微囊藻紫外线剂量不同研究结果差别较大的原因可能有:紫外线剂量的计算方法不同、藻的培养条件和状态不同等.

2.2 紫外线对藻沉降性能的影响

前期研究中发现,受紫外线辐照藻样相比于未受紫外线辐射藻样更易沉降.本研究定量地分析了一定紫外剂量辐照后铜绿微囊藻的沉降性能,了解紫外线辐照对藻沉降的影响.

初始浓度为 4.52×10^6 个/mL 的中浓度铜绿微囊藻经 0、500、2 000 mJ/cm^2 紫外剂量处理后静置 2d 的沉降率分别为 1.5%、14.4%、49.0%, 这说明紫外线辐照有利于提高藻的沉降性。

如图 6 中自左向右依次为初始浓度为 4.52×10^6 个/mL 的中浓度铜绿微囊藻与浓度为 1.76×10^7 个/mL 的高浓度铜绿微囊藻在 0、500、2 000 mJ/cm^2 紫外剂量下经辐射后培养 2 d 的藻样图。

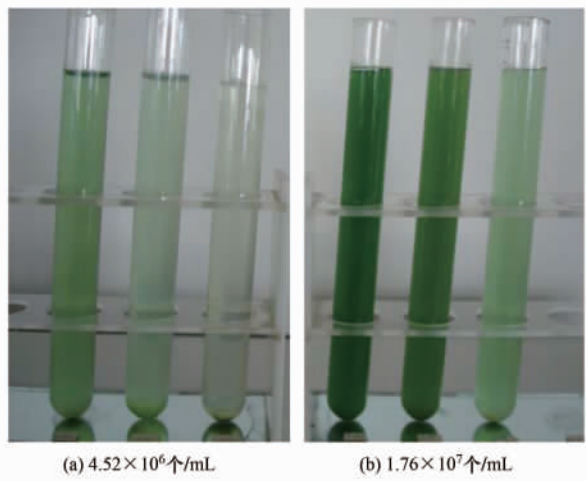


图 6 紫外线辐照对铜绿微囊藻沉降性能的影响

Fig. 6 Effect of UV on settlement performance of *M. aeruginosa*

由图 6 可直观看出, 未经受紫外线照射的藻样基本没有沉降现象; 而经紫外线照射的藻样沉降较明显, 且紫外剂量越大, 沉降现象越显著。这主要可能有 2 方面的因素: 一是紫外线辐照后, 藻气囊结构受破坏, 悬浮性变差, 且未被即刻杀灭的藻可能产生趋利避害倾向, 逃离表面潜到底部; 二是藻液经紫外线辐照后产生各种自由基及活性氧, 损害藻细胞, 降低藻的悬浮性能^[13, 14]。

在实际类静态水体中, 沉降的藻无法在水体中处于一个对生长有利的深度, 沉降后接受的阳光减少, 无法得到足够的能量进行有效的自我修复, 从而进入一种自我生长抑制的恶性循环, 加速藻的死亡。同时, 藻细胞沉降性能的增加有利于提高后期除藻工艺的除藻效果。

2.3 紫外线辐照对铜绿微囊藻叶绿素含量的影响

叶绿素是光系统的重要组成部分, 在光合作用过程中有捕收、传递和转化光能的作用, 而且对多种与光合作用有关的基因的翻译、光系统的装配都有显著的调控作用。藻细胞中叶绿素的含量在一定程度上反映了藻的生长能力^[2, 13]。本研究分析了紫外线对铜绿微囊藻叶绿素含量的影响。

从图 7 可以看出, 未经紫外线辐照的藻样叶绿素含量在培养期间逐渐升高, 从 $1.10 \mu\text{g}/\text{L}$ 增加到 $2.43 \mu\text{g}/\text{L}$ 。经紫外线辐照的藻样叶绿素含量在培养期间逐渐降低; 且紫外线剂量越高, 下降越明显。经 $150 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ 和 $300 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ 辐照的藻样, 在培养 9 d 后叶绿素含量分别下降至原来的 43.6% 和 26.4%。周明等^[15] 和景江^[16] 研究发现: 藻受紫外线照射后, 藻细胞形态发生畸变, 叶绿素含量下降。

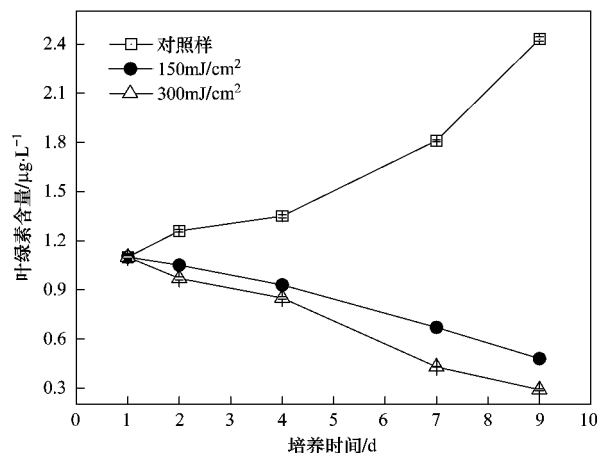


图 7 紫外线对铜绿微囊藻叶绿素含量的影响

Fig. 7 Effect of UV on chlorophyll concentration of *M. aeruginosa*

这一结果与 2.1 节的结论相符合, 说明了紫外线对藻细胞中叶绿素的破坏是紫外线抑制藻生长的重要原因之一。这可能是因为紫外线对铜绿微囊藻细胞中的叶绿素蛋白复合物具有破坏作用, 而叶绿素含量的降低会导致藻光合作用能力的减弱, 从而抑制藻的生长。

2.4 紫外线辐照对铜绿微囊藻藻胆蛋白的影响

藻胆蛋白是存在于某些藻类 (主要是红藻和蓝藻) 的藻胆体中的一类色素复合蛋白^[17]。按光谱特性可把藻胆蛋白分成 4 类: 藻红蛋白 (phycoerythrins, PE)、藻蓝蛋白 (phycocyanins, PC)、藻红蓝蛋白 (phycoerythrocyanins, PEC) 和别藻蓝蛋白 (allophycocyanins, APC)^[13]。藻胆体吸收的能量通过最外层的藻红蛋白 (PE) 传递给藻蓝蛋白 (PC), PC 再将能量传递给别藻蓝蛋白 (APC), 最后通过多肽传递给光系统 II 反应中心的叶绿素^[18]。藻胆蛋白损伤可影响藻细胞光合作用系统的功能。

藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白是铜绿微囊藻主要的 2 种藻胆蛋白, 其可见光吸收峰分别在 616 nm 和 652 nm 处。本研究选择 PC 和 APC 作为考察对象, 通过紫外线对铜绿微囊藻藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白吸收光

谱的影响,反映紫外线对藻胆蛋白的影响。

从图 8 中可以看出,未经紫外线辐照的对照藻样,培养期间 PC 与 APC 吸光值逐渐增加;而经 150 mJ/cm^2 紫外线辐照后的藻样,培养期间 PC 与 APC 吸光值逐渐降低。由图 8 还可发现,经辐照后铜绿微囊藻中 PC 与 PAC 吸光值变化曲线趋势与前期研究中相同紫外剂量辐照下铜绿微囊藻的生长曲线相似。此结果与陆宝平^[19]研究结果相符。这说明紫外线对藻胆体有损伤作用,降低藻胆蛋白含量;而作为光捕捉器的藻胆蛋白含量的降低势必会降低光合系统的光能量,这可能是紫外线抑制藻生长的原因之一。

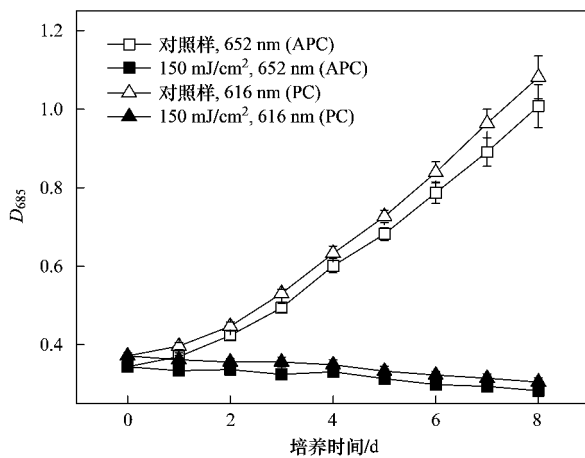


图 8 紫外线对铜绿微囊藻藻蓝蛋白(PC)与别藻蓝蛋白(APC)吸光值的影响

Fig. 8 Effect of UV on PC & APC of *M. aeruginosa*

2.5 光照或黑暗培养环境对紫外线辐照藻细胞的影响

藻培养环境对紫外线辐照藻细胞的影响,将指导紫外线抑藻技术的应用。本研究考察了光照或黑暗培养环境对紫外线辐照铜绿微囊藻细胞的影响。铜绿微囊藻经紫外线辐照后,一组藻样优先进入光照环境 12 h,以 12 h:12 h 光暗比交替培养;另一组藻样优先进入黑暗环境 12 h,以 12 h:12 h 光暗比交替培养,生长曲线比较如图 9 所示。

研究结果发现,藻样经紫外线辐照后,优先进入黑暗环境培养有利于提高抑藻效果。75 mJ/cm^2 紫外辐照并培养 4 d 时,优先进入黑暗环境的藻样藻密度为优先进入光照环境藻样藻密度的 75%,之后基本不再生长,藻密度维持在 3.2×10^6 个/mL 水平;而优先进入光照环境的藻样继续生长,培养 8 d 时藻密度达到 4.5×10^6 个/mL。增加紫外线剂量至

300 mJ/cm^2 ,藻细胞无论在黑暗或光照条件下培养,藻密度均不断下降;但光照条件下藻密度仍略高于黑暗条件下的藻密度。

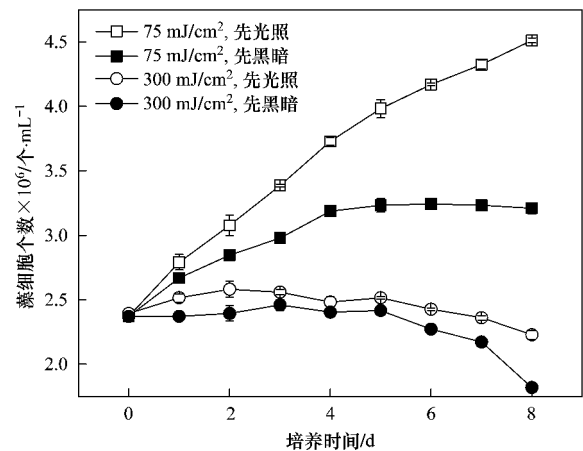


图 9 紫外线辐照后优先进入光照或黑暗环境对藻生长的影响

Fig. 9 Effect of light or dark environment on alga growth after UV irradiation

这可能是因为,由紫外线辐照导致受损的细胞可以通过光合作用得到一定程度的修复。经 75 mJ/cm^2 紫外线辐照的藻样,辐照后即进入光照环境。在光照下藻细胞处于相对较活跃的状态,较易抵抗或修复外界的损伤,从而降低紫外线抑藻效果。

这一研究结果对紫外线抑藻的实际应用具有指导意义,应用紫外线处理含藻水体时,宜于傍晚作业,作业完即进入黑夜环境;或人为将处理后的水样置于黑暗环境,在同等能量消耗情况下抑藻效果更佳。

3 结论

(1) 紫外线对铜绿微囊藻的生长有明显的抑制和杀灭作用,150 mJ/cm^2 紫外线剂量是本研究条件下抑制铜绿微囊藻生长的阈值剂量。高于该剂量时,藻停止生长,甚至渐渐死亡。

(2) 紫外线辐照可提高藻的沉降性能,初始浓度 4.52×10^6 个/mL 的藻样经 500 mJ/cm^2 紫外线剂量照射,静置 2 d 后的沉降率为 14.4%,而对照样的沉降率仅为 1.5%。

(3) 经紫外线辐照,藻细胞中叶绿素含量下降,且紫外剂量越高,下降越明显。150 mJ/cm^2 和 300 mJ/cm^2 紫外剂量下,培养 9 d 后叶绿素含量分别下降为原来的 43.6% 和 26.4%。

(4) 经紫外线辐照,培养期间,作为蓝藻藻胆蛋白重要组成成分的藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白在特征吸

收峰处的吸光值均下降,藻胆体受紫外线破坏。

(5)藻样经紫外线照射处理后,优先进入黑暗环境有利于控制藻的复活,提高紫外线抑藻效果。

参考文献:

- [1] 樊杰,陶涛,张顺,等.紫外线对给水除藻作用的研究[J].工业用水与废水,2005,6(6):17-20.
- [2] Otaki M, Hiroaki F, Ohgaki S, et al. Direct and indirect inactivation of *Microcystis aeruginosa* by UV-radiation [J]. Water Research, 2001, 35 (4):1008-1014.
- [3] 张道勇,赵勇胜,潘响亮.胞外聚合物(EPS)在藻菌生物膜去除污水中Cd的作用[J].环境科学研究,2004,17(5):52-55.
- [4] Oppenheimer J A, Jacangelo J G, Laine J M, et al. Testing the equivalency of ultraviolet light and chlorine for disinfection of wastewater to reclamation standards [J]. Water Environment Research, 1997, 69(1), 14-24.
- [5] Sakai H, Oguma K, Katayama H, et al. Effects of low- or medium-pressure ultraviolet lamp irradiation on *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena variabilis* [J]. Water Research, 2007, 41(1):11-18.
- [6] Meindl U, Lütz C. Effects of UV irradiation on cell development and ultrastructure of the green alga *Microcystis* [J]. Photochemistry and Photobiology B: Biology, 1996, 36(3):285-292.
- [7] Holzinger A, Lütz C. Algae and UV irradiation: effects on ultrastructure and related metabolic functions [J]. Micron, 2006, 37(3):190-207.
- [8] 田义. UV-C 杀藻技术小试研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2004.
- [9] Kováčik J, Bořivoj K, Bačkor M. Physiological responses of *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae) to UV-A and UV-C light [J]. Photochemistry and Photobiology, 2010, 86(3):612-616.
- [10] Remias D, Albert A, Lütz C. Effects of realistically simulated, elevated UV irradiation on photosynthesis and pigment composition of the alpine snow alga *Chlamydomonas nivalis* and the arctic soil alga *Tetracystis* sp. (Chlorophyceae) [J]. Photosynthetica, 2010, 48(2):269-277.
- [11] 彭卫民,唐莉,经莉莉,等.螺旋藻与藻胆蛋白[J].资源开发与利用,2000,16(4):205-209.
- [12] 毕海.紫外辐照技术抑制藻类实验及机理研究[D].北京:清华大学,2002.18-20.
- [13] Nicole G, Darby J. Sensitivity of microorganisms to different wavelength of UV light: implications on modeling of medium pressure UV systems [J]. Water Research, 2000, 34(16):4007-4013.
- [14] Lehtola M J, Miettinen I T, Martikainen P J, et al. Impact of UV disinfection on microbially available phosphorus, organic carbon, and microbial growth in drinking water [J]. Water Research, 2003, 37(5):1064-1070.
- [15] 董金荣,周明,赵开弘.浸没式紫外C技术对念珠藻“水华”的抑制效应[J].武汉理工大学学报,2003,25(10):16-18.
- [16] 景江.紫外线对蓝藻叶绿素降解影响研究[J].成都电子机械高等专科学校学报,2010,13(2):37-39.
- [17] Alexander N G. Phycobiliproteins—a family of valuable, widely used fluorophores [J]. Applied Phycology, 1994, 6(2):105-112.
- [18] Schluchter W M, Alvey R M, Saunée N A, et al. Phycobiliprotein biosynthesis in cyanobacteria: structure and function of enzymes involved in post-translational modification [J]. Experimental Medicine and Biology, 2010, 675(3):211-228.
- [19] 陆宝平.超声除藻应用基础研究[D].南京:东南大学,2007.