

黑暗培养环境下紫外线对压载水中海藻的灭活效果

刘 澈^{1,2}, 刘文君¹

(1. 清华大学 环境学院, 北京 100084; 2. 中国电子工程设计院, 北京 100840)

摘 要: 按照《国际船舶压载水及沉积物控制和管理公约》对岸基测试试验的要求,采用准平行光束仪对8种海藻进行紫外线辐射后黑暗环境培养5 d,研究紫外线对它们的灭活效果。结果表明,紫外线对三角褐指藻、中肋骨条藻、盐生杜氏藻和赤潮异弯藻具有一定的灭活效果,灭活率随着紫外线剂量的增加而提高,在剂量为400 mJ/cm²时灭活率分别为48.5%、86.8%、98.2%和100%;小剂量的紫外线辐射会刺激青岛大扁藻的生长,当剂量>200 mJ/cm²时藻细胞数量开始缓慢减少,在剂量为400 mJ/cm²时灭活率为15.9%;小剂量的紫外线辐射对小新月菱形藻和塔胞藻具有一定的灭活效果,在剂量>300 mJ/cm²时灭活效果开始降低,在剂量为400 mJ/cm²时灭活率分别为42.2%和18.1%;紫外线剂量≤400 mJ/cm²时对利玛原甲藻没有灭活效果。总体来看,紫外线对海藻的灭活效果较差。藻细胞个体大小不是影响紫外线灭活效果的因素,藻的种类、藻细胞壁的有无及其成分的不同可能是造成灭活效果不同的原因。

关键词: 压载水; 海藻; 紫外线; 黑暗培养环境; 灭活效果

中图分类号: TU991 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2014)15-0077-04

Inactivation Efficiency of Marine Microalgae in Ballast Water by UV-C in a Dark Cultivation Environment

LIU Che^{1,2}, LIU Wen-jun¹

(1. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. China Electronics Engineering Design Institute, Beijing 100840, China)

Abstract: According to the base test requirements of *International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments*, the collimated light beam was employed to irradiate eight species of marine microalgae and to investigate the inactivation efficiencies of them by UV-C in a dark cultivation environment. The results showed that UV-C had inactivation efficiency on *Phaeodactylum tricornutum*, *Skeletonema costatum*, *Dunaliella salina* and *Heterosigma akashiwo*. The inactivation rates increased with the increasing of UV-C doses. With the dose of 400 mJ/cm², the inactivation rates were 48.5%, 86.8%, 98.2% and 100% respectively. Low dose of UV-C could stimulate the growth of *Platymonas helgolandica* var. *tsingtaoensis*. When the dose was increased to more than 200 mJ/cm², algal cell numbers started to decrease. When the dose was increased to 400 mJ/cm², the inactivation rate was only 15.9%. However, low dose of UV-C could inactivate *Nitzschia closterium* and *Tetraselmis* sp. When the dose was increased to more than 300 mJ/cm², the inactivation rate began to decrease. When the dose was increased to 400 mJ/cm², the inactivation rates were 42.2% and 18.1% respectively. If

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划重点项目(2006BAC11B05)

the dose less than 400 mJ/cm^2 , UV-C presented low inactivation efficiency of *Prorocentrum lima*. Therefore, the inactivation efficiency of marine microalgae by UV-C were relatively low. In addition, the algal cell size was found not to be one of the factors influencing the UV-C inactivation efficiency. The algal species, the existence and inexistence of the algal cell wall and the different components of algal wall might be the main factors influencing the different inactivation efficiency.

Key words: ballast water; marine microalga; UV-C; dark cultivation environment; inactivation efficiency

压载水生物入侵是海洋的四大危害之一,国际海事组织环境保护委员会专门成立了压载水工作组并制定了《国际船舶压载水及沉积物控制和管理公约》,规定了严格的D-2排放标准,该草案在2004年2月通过,2005年2月开始生效,并于2012年开始强制执行,旨在达成国际上的一致,“通过控制和管理船舶压载水和沉积物来防止、减少和最终消除有害水生物和病原体的传播”。由于紫外线辐射对微生物的高效灭活作用,并且不产生消毒副产物,国际上多采用过滤和紫外线辐射的组合工艺处理压载水。笔者依照《公约》对岸基测试试验的要求,采用准平行光束仪对8种常见的海藻进行紫外线辐射,黑暗环境培养5 d,确定剂量反应关系,研究紫外线对它们的灭活效果及特点。

1 材料与方法

1.1 供试藻种

试验选用4个门的8种海水藻:硅藻门:三角褐指藻、中肋骨条藻和小新月菱形藻;绿藻门:盐生杜氏藻、青岛大扁藻和塔胞藻;甲藻门:利玛原甲藻;有色鞭毛藻门:赤潮异弯藻。藻种由中国科学院海洋研究所海洋生物种质库和中国科学院典型培养物保藏委员会淡水藻种库提供。

1.2 培养方法和条件

藻种培养液采用f/2配方,蒸馏水配制。培养液的配制、藻液的接种和培养均在无菌条件下进行。为了保证藻液的纯度,每天用显微镜观察1次。藻液置于人工气候箱三角瓶内培养,光照和光暗培养温度为 $(22 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,光照强度为 2500 lx ,光暗周期为 $14 \text{ h} : 10 \text{ h}$ 。培养过程中每天用手摇动藻液6次。藻液经紫外线辐射后,静置于生物培养箱黑暗培养,培养温度为 $(22 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。藻种在指数生长期接种。选择生长良好的处于稳定生长期的藻液进行试验。试验时藻液浓度约为 $10^7 \sim 10^8 \text{ cells/L}$ 。

试验装置、紫外线辐射处理试验方法以及藻细

胞灭活率计算方法同文献[1]。

2 结果和讨论

2.1 对3种硅藻的灭活效果

紫外线辐射后黑暗培养5 d对3种硅藻的灭活效果见图1。

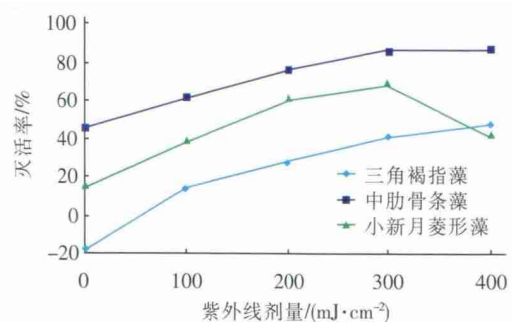


图1 黑暗培养环境下紫外线对3种硅藻的灭活效果

Fig. 1 Inactivation efficiencies of three *Bacillariophyta* by UV-C in dark cultivation environment

三角褐指藻在黑暗环境培养5 d后藻细胞数量增加了17.6%,藻细胞对黑暗环境表现出较强的忍耐能力。经紫外线辐射后黑暗培养5 d,三角褐指藻细胞全部沉积于血球计数板底部,细胞颜色变浅,随着紫外线剂量的增加,细胞形态不完整的数量增多。紫外线辐射后黑暗环境培养对三角褐指藻具有一定的灭活效果,在紫外线剂量分别为100、200、300、 400 mJ/cm^2 时,灭活率分别为13.6%、28.3%、41.2%和48.5%。

小新月菱形藻在黑暗环境培养5 d后藻细胞数量减少了15%,黑暗环境对小新月菱形藻生长有一定的抑制作用。经紫外线辐射后黑暗培养5 d,小新月菱形藻细胞全部沉积于血球计数板底部,细胞颜色变浅,并且随着紫外线剂量的增加,变形的细胞数量增多,细胞内容物缺失更多;当紫外线剂量分别为100、200、 300 mJ/cm^2 时,对其灭活率分别为39.1%、60.9%、70.3%;但随着紫外线剂量进一步增加至 400 mJ/cm^2 ,对小新月菱形藻的灭活效果未

升反降,灭活率为 42.2%。

在黑暗环境培养 5 d 后中肋骨条藻细胞的数量减少了 46.2%,说明黑暗环境对该类藻细胞的生长有较强的抑制作用。中肋骨条藻经紫外线辐射后黑暗培养 5 d,大多数藻细胞沉积于血球计数板底部,细胞颜色变暗,随着紫外线剂量的增加,细胞内容物中出现了更多深褐色的凝块,细胞内容物不完整的数量增加,有的细胞内容物已经完全消失只剩下细胞壁;当紫外线剂量分别为 100、200、300、400 mJ/cm^2 时,对中肋骨条藻的灭活率分别为 62.2%、76.3%、86.3%、86.8%,紫外线辐射后黑暗培养对中肋骨条藻具有较好的灭活效果。

2.2 对 3 种绿藻的灭活效果

紫外线辐射后黑暗培养 5 d 对 3 种绿藻的灭活效果见图 2。

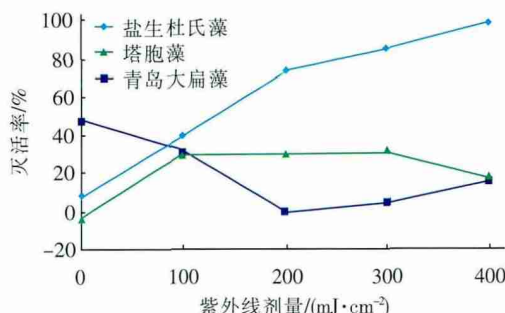


图 2 黑暗培养环境下紫外线对 3 种绿藻的灭活效果

Fig. 2 Inactivation efficiencies of three *Chlorophyta* by UV-C in dark cultivation environment

黑暗环境培养 5 d 后盐生杜氏藻细胞数量减少了 9.3%,黑暗环境对藻细胞生长有一定的抑制作用。盐生杜氏藻经紫外线辐射后黑暗培养 5 d,当紫外线剂量为 100 mJ/cm^2 时,藻细胞不再游动,全部沉积在血球计数板底部,有少量细胞在缓缓蠕动,细胞严重变形,有的藻细胞壁残缺,有的细胞内容物溢出;当剂量为 200 mJ/cm^2 时,藻细胞全部不动,大多数藻细胞的内容物溢出,没有结构完整的细胞。紫外线辐射后黑暗培养 5 d 对盐生杜氏藻具有较好的灭活效果,在紫外线剂量分别为 100、200、300、400 mJ/cm^2 时,灭活率分别为 40.7%、74.1%、85.2% 和 98.2%。

黑暗环境培养 5 d 后塔胞藻细胞数量增加了 3.0%,对黑暗表现出一定的忍耐能力。塔胞藻经紫外线辐射后黑暗培养 5 d,绝大多数的藻细胞沉积在血球计数板底部,有少数藻细胞在缓缓蠕动,有的藻

细胞形态残缺不全、内容物溢出;当紫外线剂量分别为 100、200、300 mJ/cm^2 时,灭活率分别为 30.4%、30.4% 和 30.9%,但当剂量继续增加至 400 mJ/cm^2 时,藻细胞的数量显著增加,灭活效果降低,灭活率仅为 18.1%。

黑暗环境培养 5 d 后青岛大扁藻细胞数量减少了 48%,大多数藻细胞游动缓慢,有少量藻细胞在血球计数板底部蠕动,黑暗环境对青岛大扁藻的生长有很强的抑制作用。青岛大扁藻经紫外线辐射后黑暗培养 5 d,在紫外线剂量为 100 和 200 mJ/cm^2 时,游动的藻细胞数量增多,只有个别藻细胞在血球计数板底部蠕动;在剂量 $\geq 300 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ 时,游动的藻细胞数量又开始减少,有的藻细胞内容物不完整。小剂量的紫外线会刺激青岛大扁藻细胞生长,藻细胞数量随剂量的增加而增多,但是由于黑暗环境对青岛大扁藻细胞生长的抑制作用远大于紫外线辐射对藻细胞生长的促进作用,因此藻细胞数量在 5 d 后还是显著减少了,在剂量为 100 和 200 mJ/cm^2 时的灭活率分别为 32.7% 和 0.8%;在剂量大于 200 mJ/cm^2 时,藻细胞的数量开始缓慢减少,灭活率开始增加,在剂量为 300 和 400 mJ/cm^2 时的灭活率分别为 4.3% 和 15.9%。总体来看,紫外线辐射后黑暗环境培养对青岛大扁藻的灭活效果较差。

2.3 对利玛原甲藻和赤潮异弯藻的灭活效果

黑暗环境培养 5 d 后利玛原甲藻细胞数量增加了 52.8%,利玛原甲藻对黑暗环境表现出很强的忍耐能力。经紫外线辐射后黑暗环境培养 5 d,大多数利玛原甲藻细胞沉积在血球计数板底部,但由于紫外线辐射对藻细胞的灭活作用较弱,藻细胞数量还是有大量增加,在剂量分别为 100、200、300 和 400 mJ/cm^2 时,藻细胞数量分别增加了 33.1%、19.2%、8.8% 和 4.2%,在试验剂量范围内对利玛原甲藻没有灭活效果。

赤潮异弯藻在黑暗环境培养 5 d 后,藻细胞数量减少了 47.5%,黑暗环境对赤潮异弯藻生长有较好的抑制作用。赤潮异弯藻经紫外线辐射后黑暗环境培养 5 d,在紫外线剂量为 100 mJ/cm^2 时藻细胞不能游动,全部沉积于血球计数板底部,其中约有一半数量的藻细胞在缓缓蠕动,细胞变形严重,有些藻细胞的内容物溢出;在剂量为 200 mJ/cm^2 时,大多数的藻细胞内容物溢出;当剂量为 300 和 400 mJ/cm^2 时,在血球计数板上只残留有少量的细胞内容

物。紫外线辐射后黑暗环境培养对赤潮异弯藻具有显著的灭活效果,在以上4种紫外线剂量条件下的灭活率分别为74.9%、88.5%、100%和100%。

2.4 作用效果分析

三角褐指藻有纺锤形、卵形和三叉形3种形态,试验采用的藻种全部呈纺锤形,纺锤形的三角褐指藻细胞缺乏硅质壳,这可能是紫外线对该藻具有较好灭活效果的原因之一。紫外线对盐生杜氏藻和赤潮异弯藻具有显著的灭活效果,可能是由于这两种藻没有细胞壁,只有一层弹性膜,细胞内部的细胞器无细胞壁的保护而直接遭受到紫外线辐射。由此可以推断,细胞壁的有无及其成分的不同可能是造成不同灭活效果的原因。

在3种绿藻中,青岛大扁藻和盐生杜氏藻的个体大小差不多,但紫外线对盐生杜氏藻的灭活率是最高的,对青岛大扁藻的灭活率是最低的,因此,从试验结果可以说明藻细胞个体大小不是影响紫外线灭活效果的因素。

毒物的兴奋效应是指当生物体处于低剂量的辐射和化学药物环境中时,生物体具有一定的抗逆性,表现出对生长的促进作用。UV-B辐射能促进微藻生长的现象在其他研究中有报道^[2,3],但UV-C辐射能促进藻细胞生长的现象未见报道。本试验中小剂量的紫外线辐射能刺激青岛大扁藻细胞的生长,随着剂量的增加,藻细胞数量也增多,当剂量 $>200\text{ mJ/cm}^2$ 时,藻细胞数量开始缓慢减少,对藻细胞生长促进作用开始减弱,并且随着剂量的增加,减弱的幅度也增大。试验中,除去黑暗环境对青岛大扁藻细胞的影响,当紫外线剂量达到 400 mJ/cm^2 时,藻细胞数量可增加32.1%。

在试验中,小剂量的紫外线辐射对小新月菱形藻和塔胞藻有灭活作用,且灭活率随着紫外线剂量的增加而提高,但当剂量 $>300\text{ mJ/cm}^2$ 时藻细胞数量却开始增多,灭活效果降低,这种现象还没有相关文献记载。

总体来看,紫外线辐射对海藻的灭活效果较差,当采用过滤和紫外线组合工艺处理压载水时,不能仅依靠紫外线工艺去除海藻。紫外线和高级氧化技

术联用、紫外线和超声波联用、中压紫外线技术等可能将会成为压载水处理技术的研究热点之一。

3 结论

紫外线辐射后黑暗环境培养5d,对三角褐指藻、中肋骨条藻、盐生杜氏藻和赤潮异弯藻具有一定的灭活效果,灭活率随着紫外线剂量的增加而提高;小剂量的紫外线会刺激青岛大扁藻细胞的生长,藻细胞数量随剂量的增加而增多,但在剂量 $>200\text{ mJ/cm}^2$ 时,藻细胞数量开始缓慢减少;小剂量的紫外线辐射对小新月菱形藻和塔胞藻有灭活效果,但当剂量 $>300\text{ mJ/cm}^2$ 时藻细胞数量却开始增多,灭活效果降低;当紫外线剂量 $\leq 400\text{ mJ/cm}^2$ 时,对利玛原甲藻没有灭活效果。总体来看,紫外线辐射对压载水中海藻的灭活效果较差,藻细胞个体大小不是影响紫外线灭活效果的因素,藻的种类、藻细胞壁的有无及其成分的不同可能是造成不同灭活效果的原因。

参考文献:

- [1] 刘澈. 紫外线法对压载水中淡水藻的灭活效果[J]. 同济大学学报:自然科学版, 2013, 41(9): 1411-1416.
- [2] 刘泳, 王悠, 唐学玺, 等. UV-B辐射对两种海洋微藻生长的影响[J]. 海洋水产研究, 2000, 21(2): 22-26.
- [3] 田继远, 唐学玺, 于娟, 等. 海洋微藻对UV-B辐射的生理生化响应[J]. 海洋科学, 2006, 30(4): 54-58.



作者简介: 刘澈(1971-), 男, 北京人, 博士, 高工, 主要从事水质净化和消毒技术研究。

E-mail: liuche77@163.com

收稿日期: 2014-02-16