

# 185 nm 紫外光浸入式照射对铜绿微囊藻的去除

刘书宇<sup>1,2</sup>, 敖细勇<sup>1</sup>, 马放<sup>2</sup>, 徐红<sup>1</sup>

(1. 上海大学 环境与化学工程学院, 上海 200444; 2. 哈尔滨工业大学 城市水资源与水环境国家重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150090)

**摘要:** 通过与常规照射方式对比, 研究 185 nm 紫外光浸入铜绿微囊藻溶液中接触式照射对铜绿微囊藻光密度、叶绿素 a、可溶性蛋白及细胞结构的影响, 考察不同初始质量浓度及通入空气量对各指标去除效果的影响。结果表明, 光密度、叶绿素 a 质量浓度、可溶性蛋白质量浓度最终分别下降 87.1%, 99.8% 和 99.7%, 去除效果明显优于常规方式的紫外照射。随着初始值的增加, 叶绿素 a 的去除率, 可溶性蛋白的降解速率减慢。通气量增加, 各指标去除率有所增加, 但差异不显著, 在浸入照射方式下, 氧对紫外光作用的催化效果不明显。185 nm 紫外光使铜绿微囊藻的细胞结构短时间受损, 胞内物质结构及胞外物质均产生显著变化, 藻细胞畸变。185 nm 紫外光在浸入方式下, 短时间可以有效灭活藻细胞, 降低其生理活性及生长速率。浸入式照射的强氧化性使各指标去除效果明显优于常规方式的紫外照射, 并在后续培养中未出现光复活现象。

**关键词:** 铜绿微囊藻; 浸入式照射; 185 nm; 叶绿素 a; 可溶性蛋白

**中图分类号:** X52

**文献标志码:** A

## *Microcystis Aeruginosa* Removal by Immersed 185nm UV Radiation

LIU Shuyi<sup>1, 2</sup>, AO Xiyong<sup>1</sup>, MA Fang<sup>2</sup>, XU Hong<sup>1</sup>

(1. School of Environment and Chemical Engineering, Shanghai University, Shanghai 200444, China; 2. State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

**Abstract:** A wavelength of 185nm UV was utilized to threat *microcystis aeruginosa* by immersing into the solution, optical density, chlorophyll-a, soluble protein and cellular structure variation was investigated through contrasting with conventional radiation pattern. The effect of initial algae concentration and aeration capacity was also studied. The results show that, optical density, chlorophyll-a and soluble protein decrease by 83.9%, 99.5% and 97.0%, which are

much better than those by conventional methods. With the increasing of the initial algae concentration and the aeration capacity, the removal rate of chlorophyll-a and soluble protein decrease, but not evidently. That the catalytic effect of oxygen on algae removal is not evident during the immersion. Scan pictures show that 185 nm damaged *microcystis aeruginosa* cellularity in short time, intracellular and extracellular substance structure changed evidently and algae cell turned to abnormality. Algae growth rate and physiological activity decrease by immersion pattern. Mass of strong oxidized radical acts on the algae cell directly, which removes each item more than conventional UV radiation. And no photo-reactivation phenomena appear in the following cultivation process.

**Key words:** *microcystis aeruginosa*; immersion irradiation; 185nm; chlorophyll-a; soluble protein

蓝藻广泛存在于江河湖泊等淡水水体中, 过度生长的蓝藻对水体质量和人类生产生活产生了巨大影响。铜绿微囊藻(*microcystis aeruginosa*) 以其数量和毒素含量居于优势藻种<sup>[1-2]</sup>, 代谢产物排入水体后对人体和生物造成危害<sup>[3-7]</sup>。传统治理蓝藻水华的方法如投加硫酸铜等除藻剂或絮凝等物理方法, 大多是水华发生后的应急措施, 见效快但可能引起二次污染并加速藻细胞体内藻毒素的释放<sup>[8-9]</sup>, 难以运用于大面积的藻类去除<sup>[10]</sup>。紫外线(UV)作为一种能量较高的短波辐射, C 波段(UV-C, 200~280 nm)较多用于污染物去除研究, 包括水厂消毒及深度处理, 以往研究中, 254 nm 波长使用较多。本实验采用了较少使用的 185 nm 波长紫外光, 因其光子能断裂大多数化学键, 产生的残余物少, 消毒副产物的结构变化少<sup>[11-12]</sup>。通过不同的接触方式对比, 研究 185 nm 紫外光浸入溶液, 对藻类的去除过程与机

收稿日期: 2013-03-18

基金项目: 国家自然科学基金(50809037); 上海市重点学科建设项目(S30109); 城市水环境与水资源国家重点实验室开放课题(HC201323)

第一作者: 刘书宇(1979—), 女, 副研究员, 工学博士, 主要研究方向为水污染防治理论与方法, E-mail: liushuyi@shu.edu.cn

理.因水对其有很强吸收(25℃时的吸收值为 $1.80 \pm 0.01$ ),185 nm 紫外光有效射程大约在 $\delta = 300 \mu\text{m}$ 范围,所以,185 nm 紫外光能在此区域中与水中物质产生强烈的光化学反应而将其快速去除.本课题研究了浸入方式下,185 nm 紫外光对铜绿微囊藻生长过程的影响,探索其在水体生物污染去除中的应用机理,为有害藻类的去除提供创新高效的理论依据和方法.

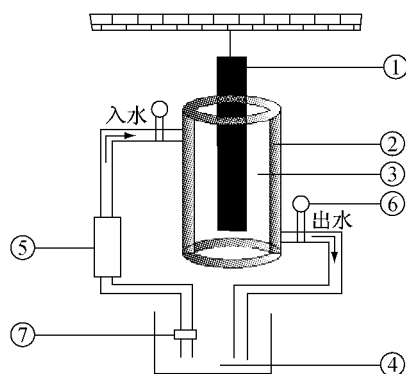
## 1 材料和方法

### 1.1 藻的培养

实验使用的藻种为铜绿微囊藻 905 号标准藻(中国科学院武汉水生生物研究所),BG-11 培养基,pH=7.1.恒温 28℃培养箱(型号 SPX-250B-Z),光照 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ ,光暗比 1:1,手动摇藻 3~5 次 $\cdot \text{d}^{-1}$ ,并随机调换培养瓶位置以减少因光照而造成的误差.待铜绿微囊藻细胞进入对数生长期进行实验.

### 1.2 反应器设计及运行方式

浸入式紫外照射反应器如图 1 所示.



①特制 185 nm 紫外灯管;②隔层;③藻液容器;④循环藻液;  
⑤流量计;⑥阀门;⑦水泵

图 1 浸入式紫外照射反应器

Fig.1 Reactor of immersed UV radiation

运行方式:将紫外灯管浸入藻液容器中进行连续照射,于反应时间 0,10,20,30,60,90,120,150 min 分别取样,与藻液置于隔层中的照射方式进行对比试验,研究对藻细胞的去除过程.考察不同初始值及通气量的影响.容器中藻液通过出水口排除,或进行动态循环照射.

### 1.3 指标测定

光密度:藻液在波长 685 nm 处的吸光度,使用 TU-1901 紫外-可见分光光度计测量.

叶绿素 a 质量浓度 $\rho_1$ <sup>[13]</sup>:用丙酮提取叶绿素 a,以 90%丙酮溶液做空白,分别测定 750,663,645,

630 nm 波长下的吸光度.然后通过公式计算得出叶绿素 a 的质量浓度.

$$\rho_1 = 11.64(A_{663} - A_{750}) - 2.16(A_{645} - A_{750}) + 0.1(A_{630} - A_{750})$$

式中:A 表示不同波长下的吸光度.

可溶性蛋白的质量浓度 $\rho_2$ :采用考马斯亮蓝法测量.

藻细胞扫描:采用 HITACHI SU-1500 钨灯丝扫描电子显微镜观察.

实验设 3 次重复,数据取其平均值进行绘图分析.

## 2 结果与分析

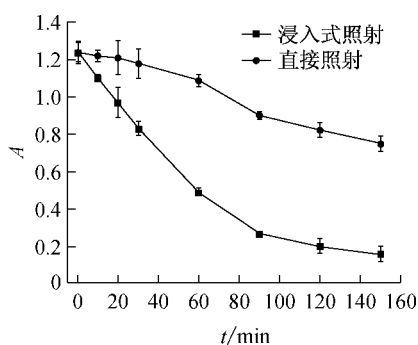
### 2.1 对藻细胞的去除过程

如图 2 所示,在浸入式照射下,藻液光密度、叶绿素 a 的质量浓度、可溶性蛋白质量浓度快速下降.反应 10 min,各指标即下降了 11.3%,27.2%,68.7%;反应 60 min,分别降低了 60.0%,99.1%,86.9%.反应 120 min 时,下降率达到 84.0%,99.5%,97.0%.经过紫外浸入式照射之后,叶绿素 a 已经基本降解,各指标接近去除完全.直接照射下,各指标在 0~60 min 有小幅下降.反应 10 min,分别下降了 1.61%,0.24%,8.84%;反应 60 min,分别下降了 12.1%,1.43%,17.7%,反应 150 min,分别下降了 39.5%,51.8%,34.8%,去除率远低于浸入式照射.浸入式照射过程中,紫外光水分子完全接触作用,使水中快速产生大量强氧化自由基,这些自由基又直接作用于藻细胞,破坏藻细胞光合系统,降解光合色素.藻胆蛋白在 UV 作用下发生分解,破坏蛋白质分子使其变性.藻胆蛋白是一种特殊的捕光色素复合物,其吸收光谱与叶绿素 a 吸收光谱恰好互补.所以,藻胆蛋白的迅速变性和分解本质上控制了藻细胞的进一步生长繁殖<sup>[14]</sup>.

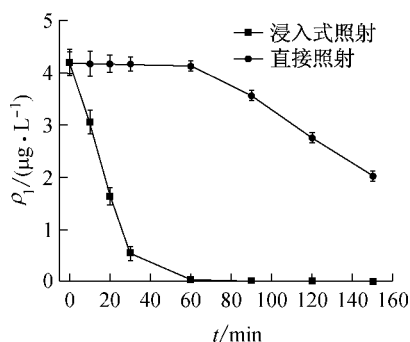
### 2.2 不同初始值对铜绿微囊藻处理效果的影响

图 3 为不同藻液初始值下,光密度、叶绿素 a 的质量浓度、可溶性蛋白的质量浓度的变化过程.随反应时间延长,各指标均明显降低.当叶绿素 a 的初始质量浓度 $\rho_{10}$ 为 $2.05 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,185 nm 紫外光对其降解较快,反应 90 min,叶绿素 a 的质量浓度下降 87.8%,150 min 下降 96.1%.当初始值升高,单位细胞受到的紫外照射强度下降,对较高质量浓度的叶绿素 a 去除率有所下降.可溶性蛋白的降解速率也随着初始质量浓度 $\rho_{20}$ 的增加减慢,但无显著影

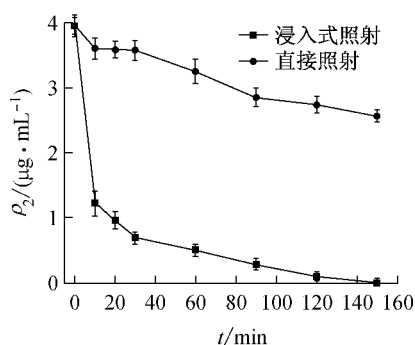
响. 这同样是由于藻细胞吸收的紫外照射相对减少, 使得  $\cdot\text{OH}$  浓度值在反应初期较低. 由于这种失活主要是藻细胞的功能性和生理性损伤, 在浸入接触过程中, 紫外光与水溶液很快产生大量强氧化基团, 这些基团分布在藻细胞周围, 通过光分解和活性物质( $\cdot\text{OH}$ ,  $\cdot\text{H}$ ,  $\cdot\text{O}$ )诱导的氧化作用引起胞内损伤, 使胞内物质短时内降解. 反应初期的降解速率受初始值影响, 随着反应物接触逐渐充分, 相差逐渐减小.



a 光密度去除效果



b 叶绿素 a 去除效果



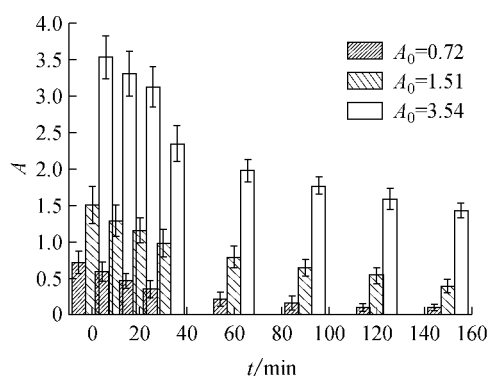
c 可溶性蛋白去除效果

图 2 不同处理方式对光密度、叶绿素 a 及可溶性蛋白去除效果的影响

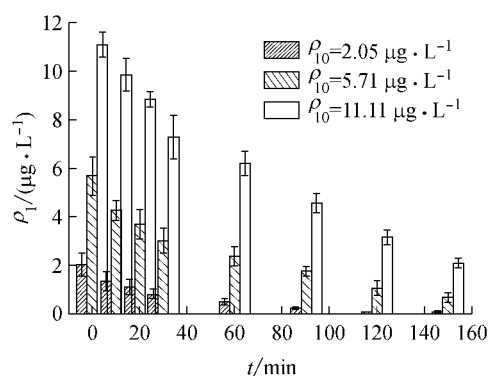
Fig. 2 Optical density, chlorophyll-a and soluble protein variation of immersion type and illumination type

### 2.3 通气量对铜绿微囊藻处理效果的影响

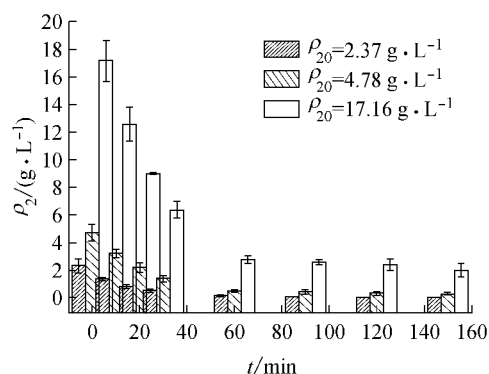
采用通气泵对反应过程进行通气影响实验, 控



a 光密度的变化



b 叶绿素 a 的变化



c 可溶性蛋白的变化

图 3 浸入方式对不同藻液初始值下光密度、叶绿素 a、可溶性蛋白的影响

Fig. 3 Optical density, chlorophyll-a and soluble protein variation by different initial algae concentration of immersion type

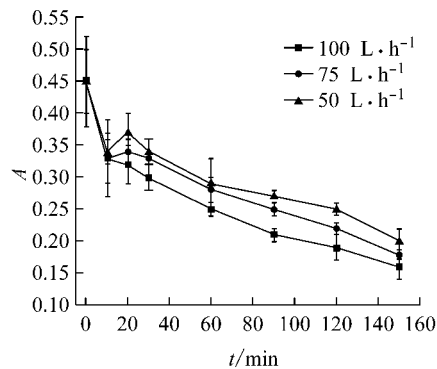
制通气量分别为 50, 75, 100  $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ , 如图 4 所示. 各指标均随时间延长而明显下降. 通气量为 50  $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$  和 75  $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$  时, 光密度在 10~20 min 时段有一定的上升趋势, 是铜绿微囊藻自身对逆境的抵抗性和适应性. 最终光密度分别下降 55.6%, 60.0%, 64.4% (按通气量从小到大, 下同). 反应 10 min, 藻液可溶性蛋白质量浓度分别下降 66.8%, 79.3%, 87.0%. 90 min 时达到 96.2%, 98.6%, 100.0%, 叶绿素 a 质量浓度分别下降 96.1%, 99.4%, 99.6%;

实验结束时,叶绿素 a、可溶性蛋白均完全降解.而且,与对照藻液相比,经紫外照射后的藻液呈淡绿色到白色渐变,将其置于恒温箱中继续培养 7 d,发现 0~20 min 藻液各指标先下降后又小幅回升,藻并未发生沉降;20 min 后藻液各指标均保持持续下降,藻沉降现象严重,并未出现光复活现象.通入空气能够加快 185 nm 紫外光对藻细胞的损伤,分析是由于有  $O_3$  产生,进一步与水分子生成  $O_2$  及  $\cdot OH$ <sup>[14-15]</sup>,而臭氧及  $\cdot OH$  都具有极强的氧化性,尤其是  $\cdot OH$ ,几乎可以氧化分解任何有机物.水中的  $\cdot OH$  增多,

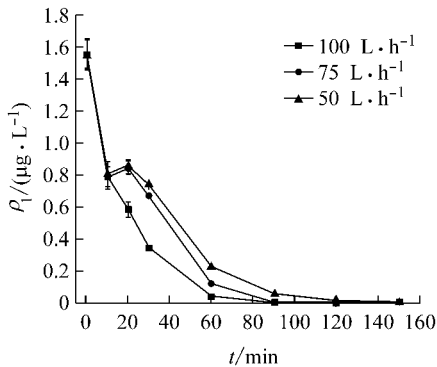
紫外光与  $\cdot OH$  之间的协同作用进一步增强氧化降解率.细胞的正常生理活动受到阻碍,叶绿素 a 和可溶性蛋白等重要物质持续大量下降,对藻细胞去除及灭活较彻底.

## 2.4 藻细胞结构的变化

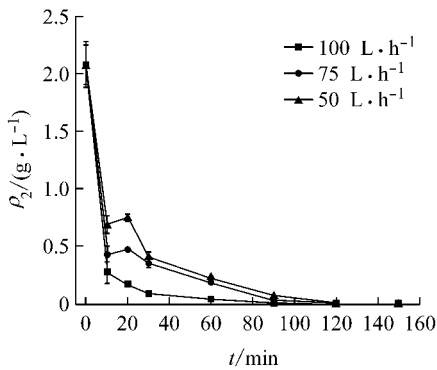
图 5 为 185 nm 紫外光接触照射藻细胞过程中的电子显微镜扫描照片.对照组藻细胞结构完整,质壁结合紧密.照射 10 min 之后细胞稍萎缩,质壁间隙增大,但细胞完整性没有改变.照射 20 min 之后,细胞壁破裂明显,细胞质内颜色变浅.细胞内外均发生变化.首先,通过 185 nm 紫外光接触照射,可直接减少胞外的胶状物质使胞外保护层明显变薄,削弱



a 通气量对光密度去除效果的影响



b 通气量对叶绿素 a 去除效果的影响



c 通气量对可溶性蛋白去除效果的影响

图 4 通气量对光密度、叶绿素 a 及可溶性蛋白去除效果的影响

Fig. 4 Effect of aeration on optical density, chlorophyll-a and soluble protein variation

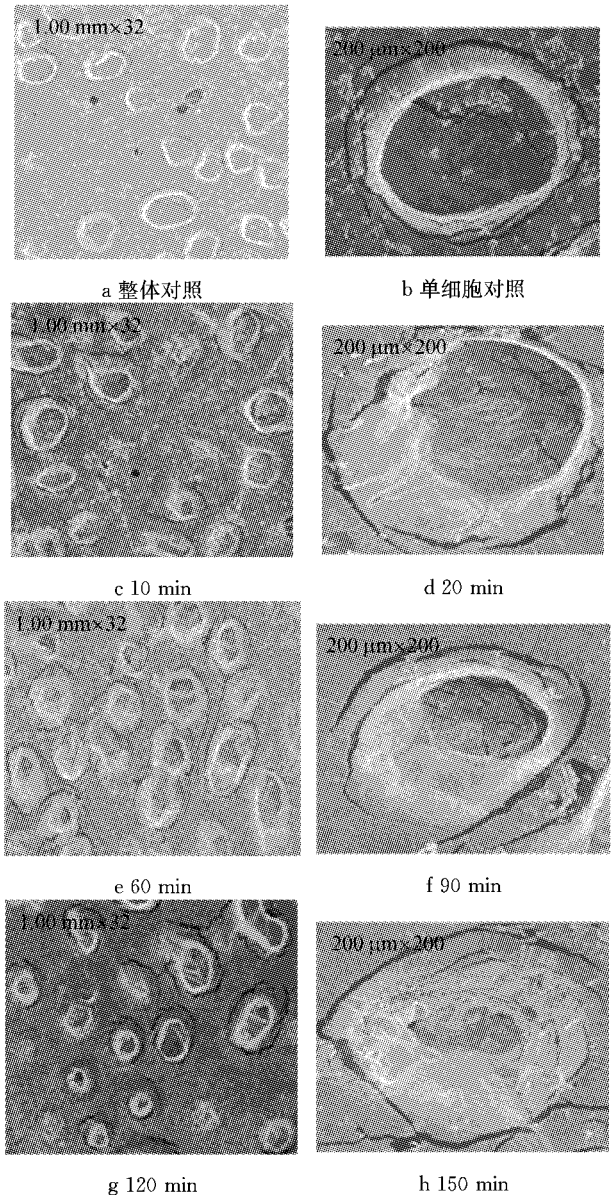


图 5 浸入照射对藻细胞结构的变化

Fig. 5 Change of algae cellularity by immersing UV radiation

其对细胞的保护能力;其次,破坏细胞内结构. 60 min 时的藻细胞质壁间隙相比对照组明显增大,藻细胞变得畸形,细胞质萎缩且颜色进一步变浅;90 min 时藻细胞质壁明显变薄;150 min 时藻细胞几乎被完全破坏,达到去除效果. 这些外部表现,归根到底是由于构成细胞的分子受到损伤. 紫外光对藻细胞中分子的伤害目标主要是影响藻细胞的生长遗传等生命特征的蛋白质、脂肪酸、色素、DNA 等.

### 3 结论

(1)185 nm 紫外光浸入藻液中对藻细胞进行接触照射,光密度、叶绿素 a 质量浓度、可溶性蛋白质质量浓度最终分别下降 87.1%,99.8%和 99.7%,远高于常规距离照射的 39.5%,51.8%和 34.8%,显著提高各指标的去除效果. 浸入式照射因直接与水溶液接触,紫外光与水分子完全接触作用,快速产生的大量强氧化自由基直接作用于藻细胞,导致细胞全面损伤,生长受到明显抑制,降低各指标效果明显优于常规方式的紫外照射.

(2)随着藻液初始质量浓度增加,叶绿素 a 去除率,可溶性蛋白的降解速率减慢. 紫外光与藻液浸入接触过程中,大量强氧化基团的( $\cdot\text{OH}$ ,  $\cdot\text{H}$ ,  $\cdot\text{O}$ )诱导损伤使胞内物质降解. 随着反应时间增加,氧化基团数量增加并在溶液中充分分布,加快了与藻细胞的接触反应,增强了各指标的去除. 随着通气量的增加,各指标的去除率也有所增加,但不显著. 浸入照射方式与常规紫外照射受氧条件的影响相同,即氧的加入能够推动 185 nm 紫外光的降解效能,但在去除率已经较高的情况下,氧的催化效果对去除率贡献不显著.

(3)接触照射过程中,185 nm 紫外光使铜绿微囊藻的细胞结构短时间受损,胞内及胞外物质均产生显著变化,藻细胞变畸形. 20 min 后藻液继续培养没有出现光复活现象. 细胞内代谢在接触照射中会进一步紊乱,细胞过氧化也强于常规照射,胞内化合物的合成、积累受诱导改变,包括毒素等物质的分泌、释放和积累等,甚至基因表达也会受到干扰.

### 参考文献:

- [1] Pan G, Zhang M M, Chen H, et al. Removal of cyanobacterial blooms in Taihu Lake using local soils. I. equilibrium and kinetic screening on the flocculation of *Microcystis Aeruginosa* using commercially available clays and minerals [J]. Environmental Pollution, 2006, 141(2): 195.
- [2] Figueiredo D R, Azeiteiro U M, Esteves S M, et al. Microcystin-producing blooms—a serious global public health issue [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2006, 59(2): 151.
- [3] Zhou L, H Yu, Chen K, et al. Relationship between microcystin in drinking water and colorectal cancer [J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2002, 15(2): 166.
- [4] Falconer I R. Toxic cyanobacterial bloom problems in Australian waters: risks and impacts on human health [J]. Phycologia, 2001, 40(3): 228.
- [5] Ito E, Takai A, Masui H, et al. Comparison of protein phosphatase inhibitory activity and apparent toxicity of microcystins and related compounds [J]. Toxicon, 2001, 40(7): 1017.
- [6] Kujbida P, Hatanaka E, Campa A, et al. Effects of microcystins on human polymorphonuclear leukocytes [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 341(1): 273.
- [7] Mezhoud K, Praseuth D, Marie A. Global quantitative analysis of protein expression and phosphorylation status in the liver of the medaka fish (*Oryzias latipes*) exposed to microcystin-LR I. Balneation study [J]. Aquatic Toxicology, 2008, 86(2): 166.
- [8] 朱光灿,吕锡武.藻毒素在传统净水工艺中的去除特性[J].环境化学,2002,21(6):584.  
ZHU Guangcan, LÜ Xiwu. Removal of microcystins by conventional water treatment processes [J]. Environmental Chemistry, 2002, 21(6): 584.
- [9] Drikas M, Chow W K C, House J, et al. Using coagulation, flocculation and settling to remove toxic cyanobacteria [J]. Journal American Water Works Association, 2001, 93(2): 100.
- [10] 潘纲,张明明,闫海,等.黏土絮凝沉降铜绿微囊藻的动力学及其作用机理[J].环境科学,2003,24(5):1.  
PAN Gang, ZHANG Mingmingk, YAN Hai, et al. Kinetics and mechanism of removing *Microcystis Aeruginosa* using clay flocculation [J]. Environmental Science, 2003, 24(5): 1.
- [11] Sakai H, Oquma 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.
- [12] Ou H, Gao N, Deng Y, et al. Inactivation and degradation of *Microcystis aeruginosa* by UV-C irradiation [J]. Chemosphere, 2011, 85(7): 1192.
- [13] 吕春梅.环境污染微生物学[M].哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2006.  
LÜ Chunmei. Microbiology of environmental pollution [M]. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 2006.
- [14] 郭建伟,高乃云,殷娣娣,等. UV-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 工艺降解微囊藻毒素-LR [J]. 环境科学, 2009, 30(2): 457.  
GUO Jianwei, GAO Naiyun, YIN Didi, et al. Degradation of MC-LR by combination of UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process [J]. Environmental Science, 2009, 30(2): 457.
- [15] 王翠华,李国峰,李杰,等.脉冲放电对铜绿微囊藻灭活效果研究[J].大连理工大学学报,2009,49(1):38.  
WANG Cuihua, LI Guofeng, LI Jie, et al. Study of inactivation effect of *Microcystis aeruginosa* by pulse discharge [J]. Journal of Dalian University of Technology, 2009, 49(1): 38.