

# pH值和光照强度对颤藻生长及产嗅特征的影响

朱厚亚, 刘波, 张凌云, 赵莉, 张德明  
(深圳市水务<集团>有限公司, 广东深圳 518031)

**摘要:** 以分离自深圳市某水源水水库的颤藻为研究对象,探究其在不同pH值和光照强度条件下的生长及产嗅特征。试验结果表明,在不同pH值和光照强度条件下,该颤藻胞外和胞内土臭素(GSM)的产量显著高于2-甲基异莰醇(2-MIB)。颤藻对pH值的适应范围较宽,在pH值为6~9范围内均能够生长,且在弱酸性或弱碱性条件下生长状态最好,更易产生和释放GSM以及2-MIB。光照对颤藻向胞外释放异味物质有一定促进作用,最适宜颤藻生长的光照强度为3 000 lx,太弱或太强的光照对其生长产生抑制作用。

**关键词:** 颤藻; pH值; 光照强度; 土臭素; 2-甲基异莰醇

**中图分类号:** TU991 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2019)07-0077-05

## Effects of pH and Light Intensity on Growth and Odorous Compounds Production Characteristics of *Oscillatoria*

ZHU Hou-ya, LIU Bo, ZHANG Ling-yun, ZHAO Li, ZHANG De-ming  
(Shenzhen Water Affairs <Group> Co. Ltd., Shenzhen 518031, China)

**Abstract:** The growth and odorous compounds production characteristics of the *Oscillatoria* isolated from a source water reservoir in Shenzhen under different pH and light intensity were investigated. The results indicated that the intracellular and extracellular geosmin (GSM) production of the *Oscillatoria* was significantly higher than that of 2-MIB under different pH and light intensity. *Oscillatoria* had a wide adaptive range of pH, which could grow in the pH range of 6-9. The most suitable condition for the growth of *Oscillatoria* was weak acid or alkali solution, which could help *Oscillatoria* produce and release more GSM and 2-MIB. Besides, light could improve the extracellular odorous substances production of *Oscillatoria*. The most suitable light intensity for growth of *Oscillatoria* was 3 000 lx. However, too strong or too weak light would inhibit the growth of *Oscillatoria*.

**Key words:** *Oscillatoria*; pH; light intensity; geosmin; 2-MIB

蓝藻是一类原核生物,又称蓝细菌或放氧细菌,能够进行光合作用,且是以光合自养为主要生长方式的生物类群。蓝藻对环境的适应能力很强,在温暖和有机物含量较高的水体中较多,是常见的富营养化水体的优势种群,而且在条件适宜其生长时易形成水华。目前,蓝藻水华在海洋、湖泊和水库等水环境中频繁暴发,严重影响了生态系统的结构与功能,而且蓝藻水华的发生常会引起水质嗅味问题。

近年来,我国水体异味问题频繁发生,如江苏太湖、湖北东湖、安徽巢湖和塘西河等都发生了不同程度的异味问题<sup>[1-2]</sup>。蓝藻代谢产生的嗅味物质是引起水体异味的主要生物来源之一,其中2-甲基异莰醇(2-MIB)和土臭素(GSM)是最常见的嗅味物质,也是引起饮用水土霉味的主要物质<sup>[3]</sup>。

2014年4月深圳市某水源水水库蓝藻暴发导致了饮用水嗅味问题,笔者选取当时的优势藻种颤

藻作为研究对象,探讨环境因子对其生长及产嗅味物质的影响。影响藻类生长、繁殖和异味物质产生的环境因子主要包括温度、光照强度、pH值、营养盐和降水等<sup>[4-5]</sup>,本试验以pH值和光照强度为基础,探究pH值和光照强度对颤藻生长及产异味物质的影响,旨在为水体嗅味问题的预防、控制及去除奠定基础。

## 1 试验材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料主要包括光照培养箱、离心机、锥形瓶、移液枪、BG-11培养基、醋酸纤维素滤膜、1 mol/L的HCl或NaOH溶液、顶空固相微萃取-气相色谱/质谱联用仪。

试验所用藻种取自深圳市某水源水水库,并经分离纯化获得,对所分离的藻依据其形态特征进行种类鉴定。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 试验步骤

将处于对数生长期的藻液在4 000 r/min的转速下离心5 min,去除上清液,收集藻细胞。用无菌BG-11培养基洗涤3~4次收集的藻细胞,以去除藻丝表面可能吸附的异味化合物。然后将该藻细胞接种于不同pH值梯度的BG-11培养基中,初始藻细胞密度为 $4.1 \times 10^5$  cells/L,pH值用1 mol/L的HCl或NaOH溶液调节。试验在28℃、12 h光照和12 h黑暗条件下培养。不同光照强度梯度试验的操作方法与pH值试验相同,所有操作均在无菌条件下进行。

#### 1.2.2 颤藻生长的测定

采用藻细胞计数法测定颤藻的生物量,样品摇匀后取0.1 mL置于计数框内,在光学显微镜下计数,每个样品计数3次,每次不少于40个视野,藻细胞数不低于200个,根据公式(1)计算浮游藻类丰度。

$$N = \frac{A \times V \times n}{A_c \times V_a \times V_d} \quad (1)$$

式中: $N$ 为浮游藻类丰度,cells/L; $A$ 为计数框面积,mm<sup>2</sup>; $A_c$ 为计数面积,mm<sup>2</sup>; $V$ 为浓缩后体积,mL; $V_a$ 为计数框的容量,mL; $V_d$ 为采样体积,L; $n$ 为计数所得浮游植物数目,cells。

#### 1.2.3 测试异味化合物样品的前处理

采用顶空固相微萃取-气相色谱/质谱法

(HSSPME-GC/MS)进行分析,摇匀待测藻样品,取10 mL溶液放于20 mL顶空萃取瓶中,进行3~4次反复冻融处理,测定结果为总异味物质浓度。采用0.45 μm醋酸纤维膜过滤摇匀的藻液,测定结果为胞外异味物质浓度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 形态学鉴定

分析结果表明,藻体是由单个细胞构成的单条藻丝,不分枝,无鞘;细胞呈圆柱形,顶端细胞钝圆,具帽状结构;横壁处不收缢,能颤动;许多藻丝组成皮膜状或束块状的漂浮群体,单根藻丝呈绿色,群体呈蓝绿色(见图1)。根据上述形态特征,可初步判定该藻株属于颤藻属的种类,以下表示为颤藻(*Oscillatoria*)。

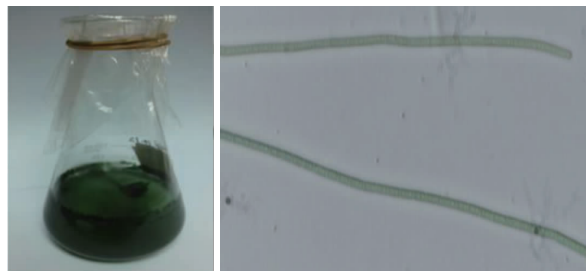


图1 颤藻的形态

Fig. 1 Morphology of *Oscillatoria*

### 2.2 异味化合物分析

藻类样品和异味化合物标准物经顶空固相微萃取后进行色谱分析,测试结果表明藻类样品中含有2-MIB和GSM两种异味化合物。

### 2.3 pH值对颤藻生长的影响

颤藻在不同pH值条件下的生长情况如图2所示。可知,当pH值为4时,颤藻无法生长;当pH值为5时,藻细胞生长受到严重抑制,藻细胞数均值显著低于其他试验组;当pH值为6和8时,颤藻生长状态较好,细胞数均值高于其他组,且与其他试验组之间存在显著差异( $P < 0.05$ )。从图2还可以看出,不同pH值条件下的藻细胞生长周期存在差异,当pH值为7时,该藻的调整期、对数期、稳定期和衰亡期4个阶段明显;而在pH值为6、8和9条件下,试验期间该藻一直处于生长期。综上所述,该颤藻在强酸性条件下生长受到严重抑制,基本无法生长;在强碱性条件下生长受到轻微的抑制;在中性条件下各生长阶段明显;在偏弱酸性或弱碱性条件下生长状态最好。

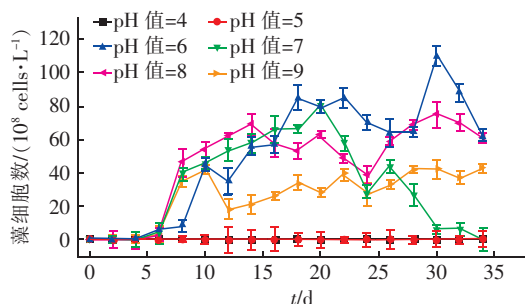


图2 不同pH值条件下颤藻的生长特征曲线

Fig. 2 Growth curves of *Oscillatoria* under different pH

## 2.4 光照强度对颤藻生长的影响

不同光照强度下颤藻的生长情况见图3。可知,不同光照强度条件下,该颤藻的平均藻细胞数随着光照强度的增强呈先增大后减小的趋势,且最大均值在光照强度为3 000 lx处,在该试验条件下的藻细胞数与其他试验组的差异极显著( $P < 0.01$ ),该颤藻在试验期间一直处于生长阶段,而其他光照条件下颤藻的调整期、对数期、稳定期以及衰亡期4个生长阶段明显。因此,确定3 000 lx光照强度最适宜该颤藻的生长。当光照强度为1 000~2 000 lx时,颤藻的生长状态相似,藻细胞数均值相近,不存在显著性差异( $P > 0.05$ )。比较1 000、1 500、2 000以及6 000 lx条件下的藻细胞数,虽然6 000 lx光照强度下的藻细胞数均值略显优势,但4组试验之间并不存在显著差异( $P > 0.05$ )。

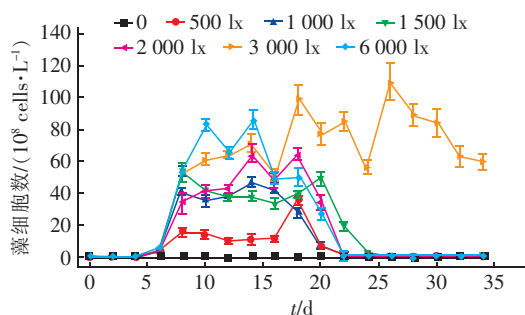


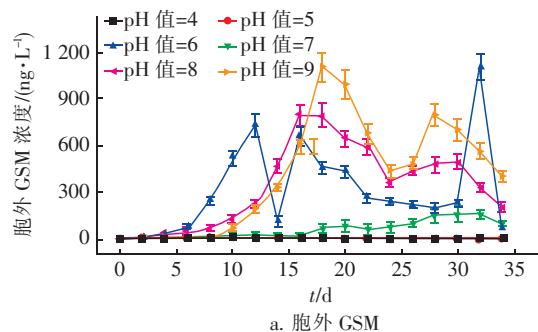
图3 不同光照强度条件下颤藻的生长特征曲线

Fig. 3 Growth curves of *Oscillatoria* under different light intensities

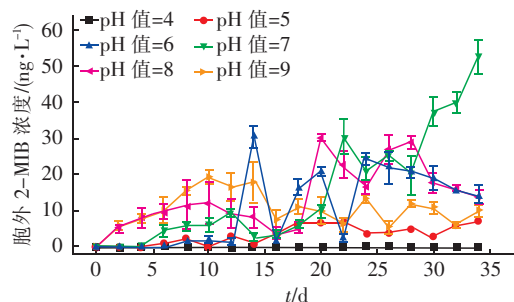
## 2.5 pH值对颤藻产异味化合物的影响

在不同pH值条件下,颤藻胞外2-MIB和GSM浓度的变化如图4所示。可知,该颤藻产生的主要异味物质为GSM,2-MIB的产量较低,且不同pH值条件下2-MIB的浓度差别不大,说明pH值对该颤藻产生和释放2-MIB的影响不明显,而对GSM

的影响显著。在强酸(pH值为4)条件下,藻细胞无法存活,GSM和2-MIB产量均为零;当pH值为5时,藻细胞的生长受到抑制,胞外GSM的浓度为零,尽管存在2-MIB但浓度很低。方差分析表明,当pH值为7时,GSM胞外产量均值最低,且与其他试验组的差异极显著( $P < 0.01$ );当pH值为9时,GSM胞外产量均值最高;当pH值为6和8时,GSM胞外产量均值相近。另外,pH值为6、8、9条件下的GSM胞外产量差异不显著( $P > 0.05$ ),且在上述3种条件下,颤藻在接种后第2天就开始向胞外释放GSM,试验期间胞外GSM的浓度较高。而在中性(pH值为7)条件下,接种后第6天才开始向胞外释放GSM,而且试验期间胞外GSM的浓度较低。综上所述,颤藻在偏弱酸性或者偏弱碱性条件下更容易产生GSM。



a. 胞外 GSM



b. 胞外 2-MIB

图4 不同pH值条件下颤藻胞外异味物质产量的变化

Fig. 4 Variations of extracellular odorous substances production by *Oscillatoria* under different pH

颤藻胞外和胞内的GSM、2-MIB浓度情况表明,在中性(pH值为7)条件下,颤藻胞内的GSM和2-MIB产量显著大于胞外的,只有在稳定生长末期及衰亡期胞外的产量才较高,说明在中性条件下异味物质主要存在于藻细胞内。在偏弱酸性(pH值为6)或弱碱性(pH值为8和9)条件下,胞外和胞内的GSM、2-MIB的产量差别不大,说明偏弱酸性



或弱碱性条件能促进异味物质的释放。

## 2.6 光照强度对颤藻产异味化合物的影响

图5为颤藻在不同光照强度条件下胞外 GSM 和 2-MIB 产量的变化。可知,颤藻在不同光照强度下主要产生的异味物质为 GSM, 2-MIB 的产量较低。当光照强度为零时,藻细胞无法生长,两种异味物质的浓度均为零。方差分析表明,各组试验之间胞外 GSM 产量的差异不显著( $P > 0.05$ ),本试验中光照强度为 2 000 lx 时,胞外 GSM 的均值最低。在光照强度为 1 000 和 6 000 lx 条件下,胞外 GSM 的产量峰值比其他试验组高,而且光照强度为 6 000 lx 时,在接种第 2 天就开始向胞外释放异味物质,光照强度为 1 000 lx 时在接种第 4 天开始向胞外释放异味物质。

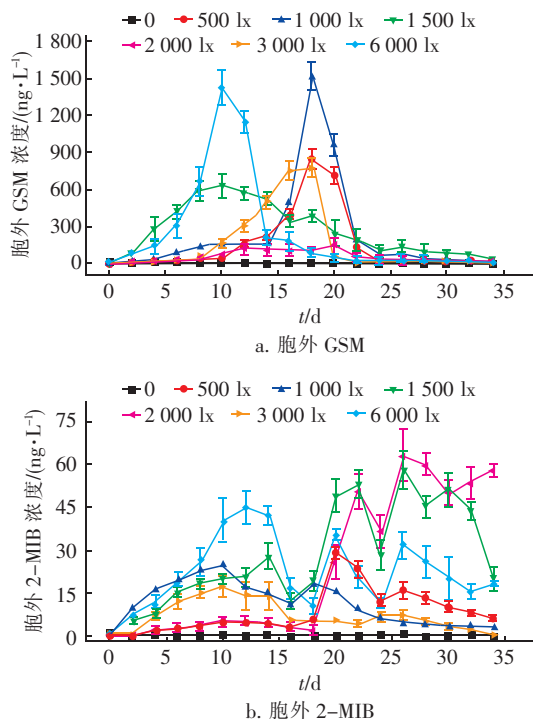


图5 不同光照强度条件下颤藻胞外异味物质产量的变化  
Fig. 5 Variations of extracellular odorous substances production by *Oscillatoria* under different light intensities

从图5(b)可以看出,在 1 500 lx 光照强度下,胞外 2-MIB 产量均值高于其他试验组,且在该试验条件下 2-MIB 的产量与 500、1 000、3 000 lx 光照强度条件下的差异极显著( $P < 0.01$ )。综上,颤藻在不同光照强度下胞外和胞内的 GSM、2-MIB 的产量差别不显著,说明光照能促进异味化合物向胞外释放。

## 2.7 讨论

### 2.7.1 pH 值对颤藻生长及产臭味物质的影响

pH 值是影响藻类生长及代谢的重要环境因子之一。本试验中在 pH 值为 4、5 条件下颤藻的生长受到严重抑制,说明强酸性条件不适宜其生长;当 pH 值为 6~9 时,颤藻均能生长,表明适宜该颤藻生长的 pH 值范围较宽。中性条件下,颤藻的调整期、对数期、稳定期和衰亡期 4 个阶段明显,弱酸性或弱碱性条件下生长状态最好,强酸性或强碱性条件下生长受到不同程度的抑制。pH 值对颤藻产生和释放 GSM 以及 2-MIB 的影响表明,在不同 pH 值条件下,该颤藻主要产生 GSM,而 2-MIB 的产量较低,并且不同 pH 值条件下颤藻产生和释放异味物质的时间不同。pH 值对 GSM 产量的影响显著高于 2-MIB,且弱酸性或弱碱性条件更易促进 GSM 和 2-MIB 的产生和释放。

### 2.7.2 光照强度对颤藻生长及产臭味物质的影响

藻类主要利用光能自养,光合作用对其生长发挥着至关重要的作用,而光照强度直接影响藻的光合作用<sup>[6]</sup>。本试验结果说明,在低光照强度条件下藻细胞数均值随光照强度的增大而增加,当达到最大值时,继续增加光照强度,颤藻的生长受到抑制,说明太弱或太强的光照对颤藻的生长有抑制作用。在试验条件下,适宜颤藻生长的光照强度为 3 000 lx,其藻细胞数与其他组差异极显著( $P < 0.01$ )。光照强度对 GSM 和 2-MIB 产量的影响与 pH 值的类似,在不同光照强度下,该颤藻产生和释放的 GSM 显著高于 2-MIB,且光照强度对异味物质的产生和释放时间有影响,1 000、1 500 和 6 000 lx 的光照条件更有利于 GSM 和 2-MIB 的产生和释放。不同光照强度条件下,胞外和胞内 GSM、2-MIB 的浓度无显著差别,说明光照能促进异味物质的释放。

## 3 结论

形态特征鉴定表明,从水库水源水中分离出的藻株属于颤藻属,可同时产生 GSM 和 2-MIB 两种异味物质,但 GSM 的产量较高,而 2-MIB 的产量较低。该颤藻在弱酸性或弱碱性条件下生长状态良好,且更易产生和释放 GSM 和 2-MIB。最适宜该颤藻生长的光照强度为 3 000 lx,太弱或太强的光照对其生长有抑制作用,光照对异味物质的释放有一定的促进作用。

(下转第 85 页)