

正磷酸盐和硝酸盐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: 以分离自深圳市某原水水库的颤藻为研究对象,探究其在不同正磷酸盐和硝酸盐浓度条件下的生长及产嗅情况。试验结果表明,颤藻对正磷酸盐的适应范围较宽,在浓度为0.05~5 mg/L范围内均能生长,且正磷酸盐浓度为0.5 mg/L时最适宜其生长;低硝酸盐浓度(0~1 mg/L)显著抑制颤藻的生长,当浓度较高(10 mg/L和100 mg/L)时,对其生长有明显的促进作用。可以看出,硝酸盐是颤藻生长的决定因子。正磷酸盐和硝酸盐浓度显著影响土臭素(GSM)的产量,而对2-甲基异莰醇(2-MIB)的影响不大,较高的正磷酸盐浓度能够促进GSM的合成,当硝酸盐浓度为1和10 mg/L时,GSM的产量较高。

关键词: 颤藻; 正磷酸盐; 硝酸盐; 嗅味物质

中图分类号: TU991 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2019)17-0050-06

Influence of $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ or $\text{NO}_3^- - \text{N}$ on *Oscillatoria* Growth and Characteristics of Odorous Compounds Production

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

Abstract: A *Oscillatoria* was isolated from a reservoir in Shenzhen, and its growth and characteristics of odorous compounds production under different concentrations of $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ or $\text{NO}_3^- - \text{N}$ were studied. The results indicated that *Oscillatoria* was able to grow in a wide range of $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ from 0.05 mg/L to 5 mg/L, and the optimum growth concentration was 0.5 mg/L. Low concentration of $\text{NO}_3^- - \text{N}$ (0~1 mg/L) significantly inhibited the growth of *Oscillatoria*. However, higher concentration of $\text{NO}_3^- - \text{N}$ (10 mg/L and 100 mg/L) had a significant promoting effect on its growth. It thus concluded that $\text{NO}_3^- - \text{N}$ was a decisive factor for *Oscillatoria* growth. The production of geosmin (GSM) was significantly affected by the concentration of $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ and $\text{NO}_3^- - \text{N}$, while that of 2-MIB was less affected. The higher concentration of $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ could promote the synthesis of GSM, and the production of GSM was significantly higher when $\text{NO}_3^- - \text{N}$ concentration was 1 mg/L or 10 mg/L.

Key words: *Oscillatoria*; $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$; $\text{NO}_3^- - \text{N}$; odorous compounds

蓝藻是一类原核生物,有些类群的蓝藻在生长过程中会产生有毒有害及异味物质。目前,人们对有毒有害的蓝藻开展的研究较多,而对产异味物质

蓝藻的研究相对较少。近年来,我国饮用水臭味事件时有发生,如太湖、巢湖、滇池等地区相继爆发了饮用水臭味事件,臭味问题越来越引起人们的关

注^[1-2]。据报道,能产生嗅味物质的蓝藻有颤藻、鱼腥藻、伪鱼腥藻等,其中颤藻在水体中较常见^[3-4]。

影响蓝藻生长及产嗅的因素很多,如温度、光照、pH值和营养盐等。笔者以颤藻为研究对象,探讨正磷酸盐和硝酸盐对其生长及产嗅特征的影响,该颤藻是2014年深圳市某水库藻类暴发期导致饮用水异味问题的优势藻种。因此,研究该颤藻的生长特性及其产异味物质的能力具有重要意义,一方面补充了颤藻生长特性的基础知识,为研究颤藻产嗅机制奠定理论基础,另一方面可为预防、控制嗅味问题提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

主要涉及的仪器包括:光照培养箱、无氮或无磷培养基、离心机、锥形瓶、醋酸纤维素滤膜(0.45 μm)、顶空固相微萃取-气相色谱/质谱联用仪。试验所用藻种从深圳市某原水水库分离纯化后获得。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

将处于对数生长期的藻液离心5 min(4 000 r/min),去除上清液,收集藻细胞,用无菌水洗涤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。采用无菌水稀释,饥饿培养3 d后接种。氮浓度的梯度设计为0.1、1、10、100 mg/L(用NaNO₃配制);磷浓度的梯度设计为0.005、0.05、0.5、5 mg/L(用K₂HPO₄·3H₂O配制)。每个梯度有3个平行,在12 h光照:12 h黑暗条件下培养,所有操作均在无菌环境下进行。

1.2.2 藻细胞丰度的测定

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。藻细胞丰度按式(1)计算。

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

式中: N 为浮游藻类丰度,cells/L; A 为计数框面积,mm²; A_c 为计数面积,mm²; 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 测定异味物质的前处理

采用顶空固相微萃取-气相色谱/质谱法(HSSPME-GC/MS)进行分析,将待测藻样摇匀,取

10 mL放于20 mL顶空萃取瓶中,经过3~4次反复冻融处理后,测定总异味物质浓度;摇匀的藻液用0.45 μm醋酸纤维膜过滤,取10 mL滤液放于顶空萃取瓶中,测定结果为胞外异味物质浓度。

2 结果与讨论

2.1 正磷酸盐浓度对颤藻生长的影响

在不同正磷酸盐浓度条件下,颤藻的生长情况见图1。可知,正磷酸盐浓度不同时,颤藻的生长趋势不同。当正磷酸盐浓度为0.5和5 mg/L时,颤藻具有明显的对数生长期。当正磷酸盐浓度为5 mg/L时,颤藻的生长受到抑制。这是由于当正磷酸盐浓度为0~5 mg/L时,藻细胞数的均值随着浓度的增加呈现先增大后减小的趋势,最大值出现在浓度为0.5 mg/L时,该浓度下颤藻的生长状态最好,且藻细胞数与其他试验组存在显著性差异($P < 0.0005$),说明正磷酸盐浓度为0.5 mg/L时最适宜该颤藻生长。当正磷酸盐浓度为0.05和5 mg/L时,细胞数均值相近,且细胞数无显著差异($P > 0.05$)。

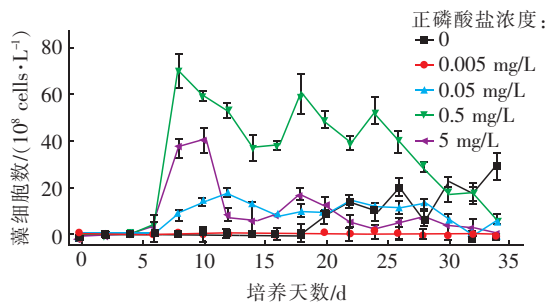


图1 不同正磷酸盐浓度下颤藻的生长特征曲线

Fig. 1 Growth curves of *Oscillatoria* at different PO_4^{3-} concentrations

2.2 硝酸盐浓度对颤藻生长的影响

图2为不同硝酸盐浓度条件下颤藻的生长情况。可知,当硝酸盐浓度为0~100 mg/L时,颤藻的细胞数量随着硝酸盐浓度的升高而增加,并且颤藻的生长趋势在第6天后出现分歧,在低硝酸盐浓度(0~1 mg/L)条件下,颤藻基本停止生长,藻细胞数明显低于硝酸盐浓度较高组,生长周期较短,仅为13 d;当硝酸盐浓度为10 mg/L时,颤藻对数期的持续时间为2 d,稳定生长期持续时间较长,为10 d,具有明显的调整期、对数期、稳定期和衰亡期4个生长阶段。在硝酸盐浓度为100 mg/L条件下,颤藻的对数生长期持续时间较长,为6 d,在生长周期内生物量波动较大,藻细胞峰值为 120×10^8 cells/L。可以

看出,在硝酸盐浓度为0~100 mg/L范围内,藻细胞数均值随着硝酸盐浓度的增加而增大,当硝酸盐浓度为10和100 mg/L时,藻细胞数量与其他试验组均具有显著性差异($P < 0.05$)。当硝酸盐浓度较高(10和100 mg/L)时能够促进颤藻的生长,与正磷酸盐相比硝酸盐对颤藻生长的影响更大。

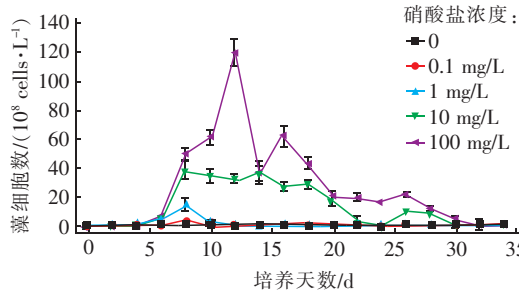


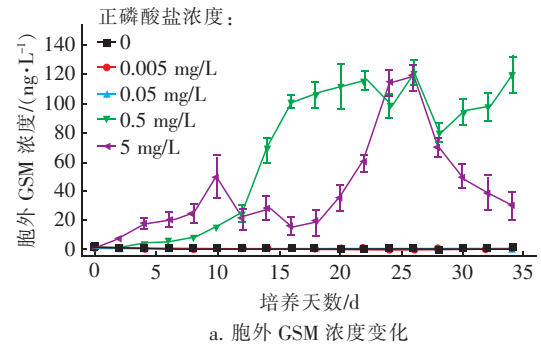
图2 不同硝酸盐浓度条件下颤藻的生长特征曲线

Fig. 2 Growth curves of *Oscillatoria* at different $\text{NO}_3^- - \text{N}$ concentrations

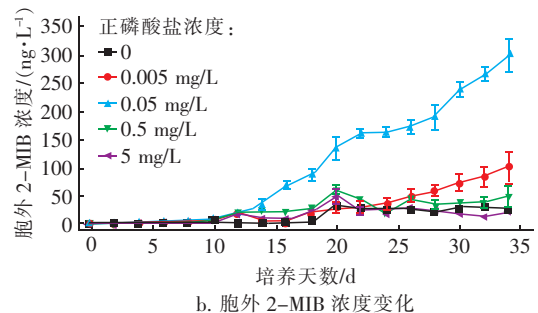
2.3 正磷酸盐浓度对颤藻产异味化合物的影响

不同正磷酸盐浓度条件下,颤藻胞外异味物质的产量情况如图3所示。可知,胞外土臭素(GSM)和2-甲基异莰醇(2-MIB)的产量显著不同,当正磷酸盐浓度为0~0.05 mg/L时,颤藻胞外2-MIB的产量较高,而胞外GSM的产量为零。当正磷酸盐浓度为0.5和5 mg/L时,颤藻同时释放胞外GSM和2-MIB,且GSM的产量较高。颤藻在接种后第2天

开始向胞外释放GSM,而2-MIB是在接种10 d后才开始向胞外释放的。可见,正磷酸盐浓度对颤藻产生和释放异味物质的种类有很大影响。



a. 胞外 GSM 浓度变化



b. 胞外 2-MIB 浓度变化

图3 不同正磷酸盐浓度下颤藻胞外异味物质产量变化

Fig. 3 Variations of extracellular odorous compounds production by *Oscillatoria* at different $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ concentrations

图4为颤藻在不同正磷酸盐浓度条件下胞外和胞内异味物质产量的变化。

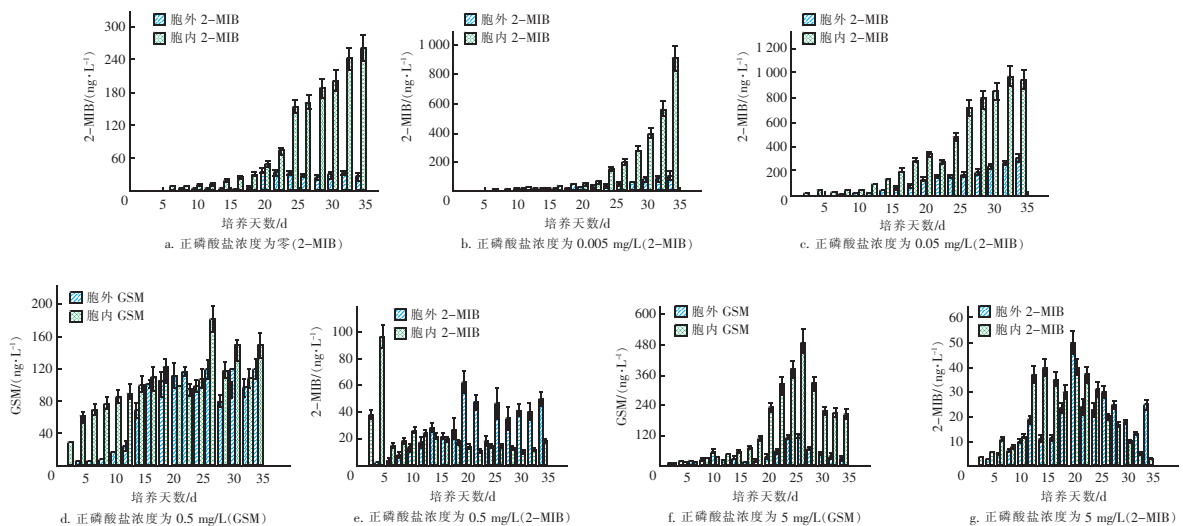


图4 不同正磷酸盐浓度条件下胞外和胞内异味物质产量的变化

Fig. 4 Variations of odorous compounds production of extracellular and intracellular at different $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ concentrations

由图4可知,当正磷酸盐浓度为0~0.05 mg/L时,颤藻能够产生和释放2-MIB,但不产生GSM,且2-MIB胞内浓度远大于胞外浓度,说明在该浓

度范围内2-MIB主要存在于藻细胞内,对2-MIB向胞外释放无促进作用。当正磷酸盐浓度为0.5和5 mg/L时,颤藻同时产生和释放GSM和2-MIB这

两种异味物质,而 GSM 产量显著高于 2-MIB,且 GSM 和 2-MIB 的胞外、胞内产量的差别不显著。综上可知,较高的正磷酸盐浓度能促进 GSM 的合成及 GSM、2-MIB 向胞外的释放。

2.4 硝酸盐浓度对颤藻产异味化合物的影响

不同硝酸盐浓度条件下,颤藻胞外异味物质的产量情况如图 5 所示。

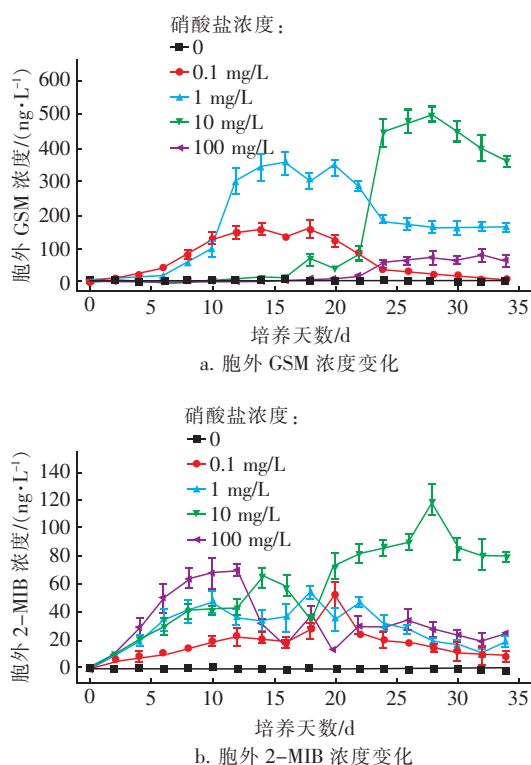


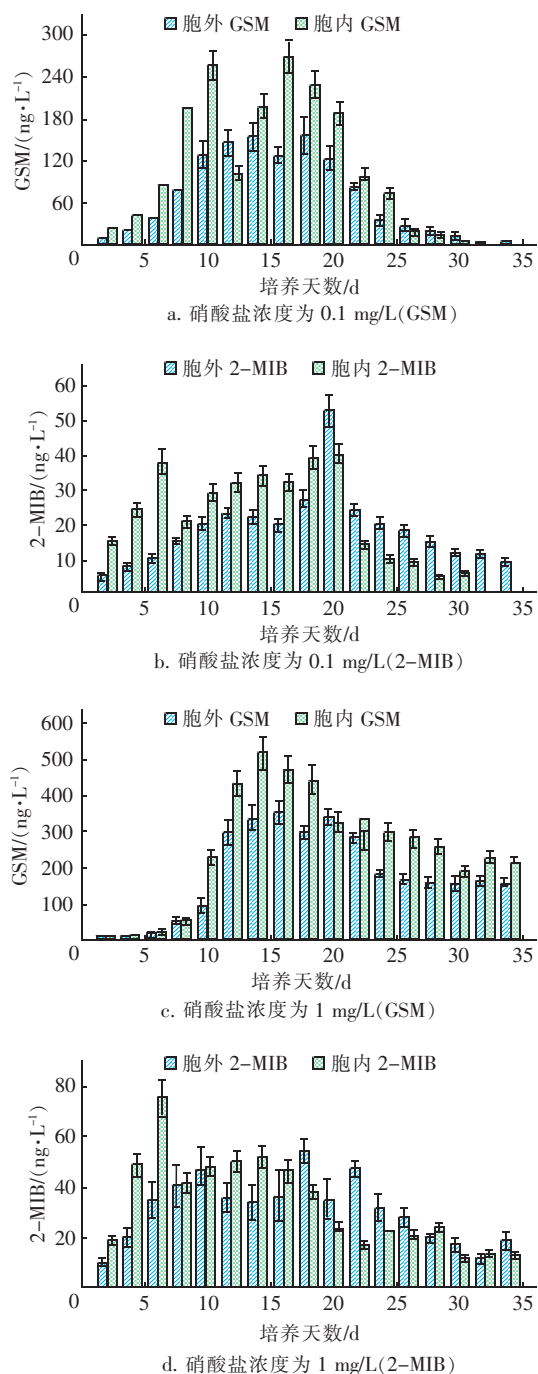
图 5 不同硝酸盐浓度下颤藻胞外异味物质产量变化

Fig. 5 Variations of extracellular odorous compounds production by *Oscillatoria* at different $\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$ concentrations

由图 5 可知,硝酸盐浓度为零时,颤藻不产生和释放 GSM 和 2-MIB。当硝酸盐浓度为 0.1 ~ 100 mg/L 时,GSM 和 2-MIB 在胞外均存在,且 GSM 产量相对较高。当硝酸盐浓度在 0 ~ 100 mg/L 范围内时,胞外 GSM 和 2-MIB 的平均产量都基本呈现先增大后减小的趋势,在硝酸盐浓度为 1 和 10 mg/L 时,GSM 的均值都较大,该浓度条件下胞外 GSM 的产量与其他试验组存在显著差异 ($P < 0.05$)。当硝酸盐浓度为 10 mg/L 时,胞外 2-MIB 的产量最大,且胞外 2-MIB 的产量与其他试验组存在显著差异 ($P < 0.005$)。当硝酸盐浓度为 0.1 和 1 mg/L 时,颤藻在接种后第 2 天就开始向胞外释放 GSM;当硝酸盐浓度为 10 和 100 mg/L 时,颤藻在接种后第 18

天才开始向胞外释放 GSM。胞外 GSM 产量随硝酸盐浓度变化显著,而 2-MIB 的产量变化不明显。综上可知,硝酸盐浓度对颤藻产生和释放 GSM 有明显的影响,对 2-MIB 的影响不大,且过高的硝酸盐浓度 (100 mg/L) 会抑制颤藻产生 GSM 的能力。

图 6 为不同硝酸盐浓度下颤藻胞外和胞内异味物质产量的变化。可以看出,当硝酸盐浓度为 0 ~ 100 mg/L 时,胞外、胞内 GSM 和 2-MIB 的产量差别不大,说明硝酸盐能够促进异味物质向胞外释放。



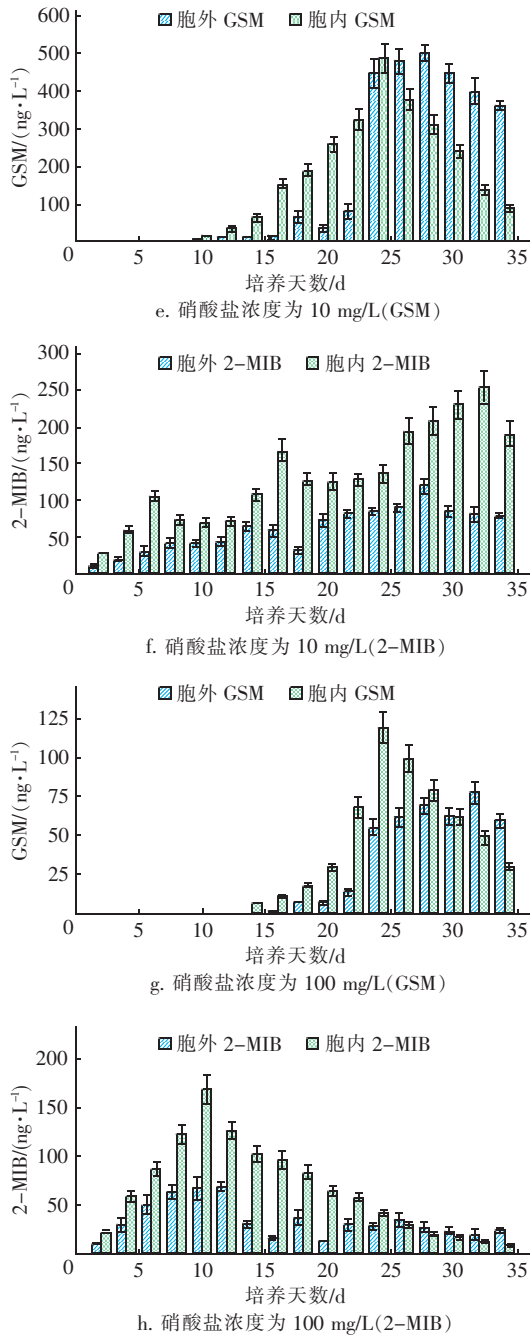


图6 不同硝酸盐浓度条件下颤藻胞外和胞内异味物质产量的变化

Fig.6 Variations of odorous compounds production of *Oscillatoria* extracellular and intracellular at different $\text{NO}_3^- - \text{N}$ concentrations

2.5 讨论

2.5.1 正磷酸盐浓度对颤藻的影响

磷酸盐是藻类生长所需营养盐之一,其在水体中的存在形式多样,其中正磷酸盐是唯一能被藻类吸收利用的磷形态^[5]。本试验表明,正磷酸盐

浓度对颤藻生长及产异味物质种类都有一定的影响。过低或过高的正磷酸盐浓度对颤藻生长有不同程度的抑制作用,最适宜其生长的正磷酸盐浓度为 0.5 mg/L,与其他试验组存在显著差异。正磷酸盐浓度对颤藻产异味物质的种类有显著影响,当浓度较低(0~0.05 mg/L)时,主要产生和释放 2-MIB,不产生 GSM,并且 2-MIB 主要存在于藻细胞内,对 2-MIB 向胞外的释放没有促进作用;当正磷酸盐浓度较高(0.5 和 5 mg/L)时,同时产生和释放 GSM 和 2-MIB 这两种异味物质,而且 GSM 的产量明显高于 2-MIB。可见,正磷酸盐浓度的升高能够促进 GSM 的合成,该结论与 Saadoun 等人的研究结果相一致^[3]。

2.5.2 硝酸盐浓度对颤藻的影响

硝酸盐是影响藻生长的主要因素之一。本试验发现,与正磷酸盐浓度相比,硝酸盐浓度对颤藻的生长影响更大,当硝酸盐浓度在 0~100 mg/L 时,藻细胞数均值随着硝酸盐浓度升高而增大;在硝酸盐浓度为 0~1 mg/L 条件下,藻细胞基本停止生长,说明较高浓度的硝酸盐(10 和 100 mg/L)有利于颤藻的生长。GSM 的产量随着硝酸盐浓度的变化而显著变化,但 2-MIB 的产量随其变化不明显。由此可知,硝酸盐浓度对颤藻产生和释放 GSM 有明显的影

3 结论

形态特征鉴定结果表明,该藻株属于颤藻属的种类,硝酸盐浓度对其生长的影响比正磷酸盐更显著,当硝酸盐浓度较高(10 和 100 mg/L)时,有利于其生长;当正磷酸盐浓度为 0.5 mg/L 时最适宜其生长。硝酸盐和正磷酸盐浓度对 GSM 的产量影响较大,而对 2-MIB 的产量影响不显著,说明该颤藻产生 2-MIB 不受硝酸盐和正磷酸盐浓度的影响。

参考文献:

- [1] 李勇,张晓健,陈超. 我国饮用水中嗅味问题及其研究进展[J]. 环境科学,2009,30(2):583-588.
Li Yong, Zhang Xiaojian, Chen Chao. Review on the tastes and odors compounds in drinking water of China [J]. Environmental Science, 2009, 30(2): 583-588 (in Chinese).
- [2] 周洋,代嫣然,钟非,等. 合肥塘西河异味物质及异味影响因子研究[J]. 湖泊科学,2016,28(2):312-318.
Zhou Yang, Dai Yanran, Zhong Fei, et al. Odor

compounds and the related impact factors in Tangxi River, Hefei [J]. Journal of Lake Sciences, 2016, 28(2): 312–318 (in Chinese).

- [3] Saadoun I M K, Schrader K K, Blevins W T. Environmental and nutritional factors affecting geosmin synthesis by *Anabaena* sp. [J]. Water Res, 2001, 35(5): 1209–1218.
- [4] Schrader K K, Dennis M E. Cyanobacteria and earthy/musty compounds found in commercial catfish (*Ictalurus punctatus*) ponds in the Mississippi Delta and Mississippi-Alabama Blackland Prairie [J]. Water Res, 2005, 39(13): 2807–2814.
- [5] 沈宏. 两种水华蓝藻对磷的生理生化响应及竞争的研究[D]. 武汉:中国科学院水生生物研究所, 2007.
Shen Hong. Studies on Physiological and Biochemical Responses and Competition for Phosphorus in Two Bloom-forming Cyanobacteria [D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 2007 (in

Chinese).



作者简介:朱厚亚(1987–),女,河南商丘人,硕士,助理工程师,主要研究方向为环境因子对藻生长及产嗅特征的影响。

E-mail:houya99@163.com

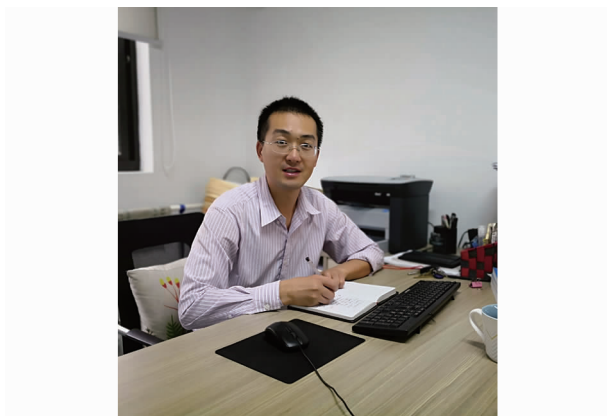
收稿日期:2019-03-23

(上接第36页)

208.

- [12] 郑燕清,周建华. 除磷工艺中厌氧释磷和好氧吸磷的影响因素[J]. 中国市政工程, 2007(1): 48–50.
Zheng Yanqing, Zhou Jianhua. Influence factors of phosphorus release and uptake under aerobic and anaerobic conditions [J]. China Municipal Engineering, 2007(1): 48–50 (in Chinese).
- [13] 高兰,章北平,冯力文,等. 不同碳源浓度下 CIBR 中反硝化与释磷的协同性[J]. 中国给水排水, 2015, 31(1): 87–90.
Gao Lan, Zhang Beiping, Feng Liwen, et al. Synergistic effect of denitrification and phosphorus release in CIBR at different carbon source concentrations [J]. China Water & Wastewater, 2015, 31(1): 87–90 (in Chinese).
- [14] 李茂侨,陈志强,温沁雪. 硝态氮及碳源浓度对 A- AAO 工艺厌氧释磷影响的研究[J]. 环境科学与管理, 2018, 43(2): 107–111.
Li Maoqiao, Chen Zhiqiang, Wen Qinxue. Effects of nitrate nitrogen and carbon source concentration on

anaerobic phosphorus release on A- AAO process [J]. Environmental Science and Management, 2018, 43(2): 107–111 (in Chinese).



作者简介:吕永涛(1980–),男,山东烟台人,博士,副教授,硕士生导师,主要研究方向为污水处理与资源化。

E-mail:hybos2000@126.com

收稿日期:2019-05-29