

212-216

东湖富营养水体中藻菌异味性
次生代谢产物的研究

X5-24

Q946-8

徐 盈

黎 雯

吴文忠

张甬元

(中国科学院水生生物研究所 武汉 430072)

摘要 以自制的开环吹脱捕捉(OLSA)装置富集东湖营养水体中的藻菌异味性次生代谢产物,并对这些化合物进行鉴定和周年监测(1995-05~1996-04),同时计数水样中的藻、菌生物量。研究发现,东湖水体产生“土霉味”的主要成分为 2-甲基异茨醇(MIB),它来源于席藻和放线菌的次生代谢,其随季节变化的规律为一年有 3 个高峰期,即 1 月、4 月和 9 月;并且,MIB 的浓度与水体富营养化程度以及席藻和放线菌的生物量呈正相关。

关键词 东湖,富营养水体,藻菌,异味性次生代谢产物(OFSM)。

STUDY ON AQUATIC OFF-FLAVORS IN
EUTROPHIC DONGHU LAKE

XU Ying LI Wen WU Wen-Zhong ZHANG Yong-Yuan

(Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430072, China)

Abstract The Donghu Lake, in Hube Province, is selected as a typical eutrophic water for the study. The off-flavor compounds from different locations monthly were indentified and monitored in the years from 1995 to 1996. Meanwhile, the species and biomasses for algae and bacteria were identified and counted. It was found that the principal compound producing earthy-musty odors in the Donghu Lake was 2-methylisobornel (MIB), which came from the secondary metabolites of *P. tenue* and *Actinomyces*. There were three apex periods for MIB occurrences, i.e. January, April and September. Furthermore, their concentrations were directly proportional to the eutrophication levels and the biomasses of *P. tenue* and *Actinomyces*.

Key words eutrophic waters, off-flavors, secondary metabolite, algae, bacteria.

水体异味是当今水环境研究的热点之一。引起水体异味的原因除工业废水污染造成外,水体的富营养化、藻菌过盛生长而分泌产生的次生代谢产物也是产生水体异味的重要原因。

湖北东湖是全国闻名的风景区、工农业和居民生活用水水源,也是重要的渔业养殖基地。近年来,由于

本课题得到中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室基金资助。

吴国樵同志在异味化合物的吹脱捕捉装置加工过程中给予大力协助,谨表谢意。

收稿日期:1997-01-23,修改稿收到日期:1997-05-21。

生活污水大量排入,使水质下降,湖水产生严重土霉味。不仅饮水用户抱怨,渔业经济效益下降,而且影响了该风景区的环境美学价值。

本研究从 5 种典型的土霉味化合物^[1]着手,研究东湖水体异味的主要成分,探讨其来源,为水质管理与水污染控制提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试剂

3 种内标 1-氯代辛烷(C_8);1-氯代癸烷(C_{10});1-氯代十二烷(C_{12})及 5 种标样 布枯叶树脂(Geosmin)、2-甲基异茨醇(MIB)、2-异丙基-3-甲氧基吡嗪(IPMP)、2-异丁基-3-甲氧基吡嗪(IBMP)和 2,3,6-三氯代茴香醚(TCA)均为色谱纯。Geosmin 是日本 WAKO 公司产品,MIB 本实验室自行合成,经 GC、GCMS 和红外光谱多重验证,其纯度达 95% 以上。其余均为日本东京化成工业株式会社产品。内标混合液浓度为 5ng/ μ l,5 种标样的混合液浓度为 4ng/ μ l。丙酮、二氯甲烷为分析纯,并经全玻重蒸。活性碳(色谱纯)为 120 目,在空气流中于 300℃ 活化 24h,NaCl、 Na_2SO_4 均为分析纯,使用前在马福炉中 700℃ 烤 6h。纯水用日本 Millipore 公司的纯水器制备。

1.2 样品的采集

东湖由郭郑湖、筲箕斗湖、后湖、汤林湖、水果湖和牛巢湖等子湖组成,根据其水环境特征,在湖内设立了 3 个采样点。各个采样点的基本情况列于表 1。

表 1 采样点的概况及主要生物营养物质含量(mg/l)^[2]

Table 1 Introduction and environmental situations at sampling locations and concentration of main biotic nutrients

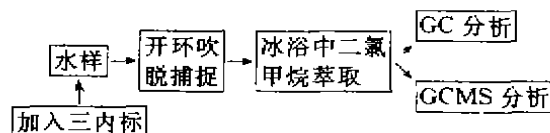
采样点 Sampling location	环境概况 Environmental situation	NH_4^+	NO_2^-	NO_3^-	总 N Total N	PO_4^{3-}	总 P Total P	营养状况 Eutrophic state
I	有大量生活污水排入 ^①	0.649	0.041	0.628	2.314	0.246	0.185	极富营养型 ^①
II	接纳生活污水但湖面较宽阔 ^②	0.103	0.028	0.485	1.439	0.052	0.120	富营养型 ^②
III	水质较清 ^③	0.109	0.014	0.549	1.143	0.013	0.041	中富营养型 ^③

①Larger amount of pollutant water,②Swage water,③Clean water,④Hypertrophic,⑤Eutrophic,⑥Mesotrophic

每月份上、中、下旬在上述 3 个采样点采集水样,为了便于比较,采样深度取同一深层(1m 深)。每次水样盛满在磨口玻璃瓶中,严防有气泡产生。水样一经采集尽快带回实验室进行异味化合物的定性定量分析和藻、菌生物量的计数。

1.3 测定方法和项目

1.3.1 利用开环吹脱捕捉(OLSA)-毛细管 GC 法定性、定量测定湖水中的上述 5 种典型异味次生代谢产物,水样的测定的具体操作步骤与色谱分析条件见文献[3]。测定流程如下:



1.3.2 藻类生物量的计数 取水样 1L,用鲁哥氏碘液固定,沉淀 24h,浓缩至 50ml。计数前先摇匀,然后取 0.1ml 在 0.1ml 计算框内计数(以细胞数计)。

1.3.3 放线菌生物量的计数 将 0.1ml 0.5% 的苯酚溶液加入 10ml 样品液中,充分混匀后,静置 10min 再稀释至所需浓度。将适度稀释的水样注入培养皿中,再加入高氏一号培养基,轻轻摇匀。在培养箱中于 28℃ 培养 14d 后,取出计数放线菌菌落,并算出每毫升湖水中的含菌量。

2 结果与讨论

2.1 自制 OLSA 装置富集异味化合物的有效性评价

国外早期使用的吹脱捕装置为闭环捕捉装置(CLSA)^[2],它严重存在吸附、背景高、回收率低(30%~40%)等缺点。尽管 Hwang^[4]及 Korth^[5]等人报道了通过改变水样离子强度可提高回收率,但仍未解决背景

高及吸附等问题;而 Boren^[6,7]等人提出的用开环捕捉系统(OLSA)也不理想,而且装置成本较高。本文研制的开环捕捉装置,用玻璃管道作为加热气路;纯化空气作为吹脱气体,不仅克服了以上方法所存在的缺点,而且简化了装置,降低了成本。本文通过比较不同材质的加热管道对绝对回收率的影响,最佳萃取条件的选择。离子强度和捕捉时间对回收率的影响。所获得的该方法的准确及精密度列入表 2。由此可见,自制的 OLSA 装置可用于有效富集异味化合物。因此,本文利用此装置研究了东湖水体中的异味化合物。

表 2 水样中 5 种异味化合物的添加回收测定

Table 2 Accuracy and precision for five earthy-musty odorants

异味化合物 Odorants	添加量 Dose level (ng)	理论值 Theoretical value (ng)	实测值 Experi. value (ng)	相对回收率 Relative percent recovery (%)	S. D. (%)
IPMP	20	20	19.8	99.2	4.8
IPMP	20	20	20.6	103	8.4
MIB	20	20	21.2	106	7.5
TCA	20	20	21.6	108	11.6
Geosmin	20	20	23.0	115	10.0

$n \geq 11$

2.2 东湖不同水域中异味化合物的浓度和季节变化

在 1995 年 5 月至 1996 年 4 月期间,通过对东湖 I 站、II 站、III 站水样中以上 5 种异味化合物的鉴定和监测,其分析结果与其水中化合物浓度随月份的变化见图 1。

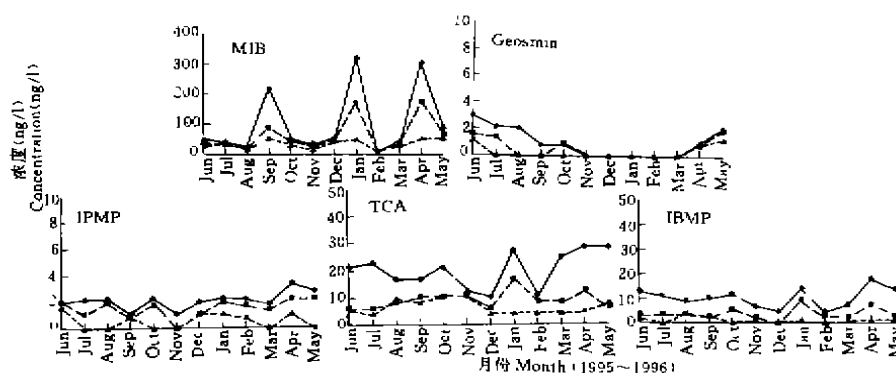


图 1 5 种异味化合物在东湖水域中的分布及季节变化

Fig. 1 Distribution and seasonal variation of five odorants in the Donghu Lake

由图 1 可以看出,5 种异味化合物在东湖各水域的分布有明显的差异,其浓度分布为 I 站 > II 站 > III 站。说明异味浓度与水体的富营养化程度有关,水体的富营养化程度越严重,异味化合物的浓度则越高。5 种异味化合物在水体中的周年浓度变化范围,Geosmin 为 0~3.3ng/l,IPMP 为 0~3.5ng/l,IBMP 为 0~21.9ng/l,TCA 为 0~28.5ng/l,MIB 为 10~317ng/l。可见 MIB 在异味发生的高峰期浓度比其它 4 种异味化合物均高出 10~100 倍,且其高峰期的浓度高出其异味阈值的十几倍^[1],其浓度随季节变化表现出明显的规律性,即在一年内,其浓度变动有 3 个高峰期,4 月、9 月和 1 月份。

2.3 东湖不同水域中与异味发生有关的藻、菌的生物量及其季节变化

不同的异味化合物其产生异味的藻、菌来源是不同的。根据以上研究结果,表3列出能产生MIB次生代谢产物的几种藻和菌。针对表3所提供的MIB有关的藻种和菌种,从1995年5月至1996年4月对东湖水体中的藻、菌生物量结果进行了筛选,发现东湖水体中主要存在3种与异味物质MIB有关的藻和菌,它们分别是:颤藻(*O. curviceps*),席藻(*P. tenue*)和放线菌(*Actinomycetes*)。图2为这3种藻、菌生物量在东湖各采集水域中的分布和季节变动情况。如图2所示,颤藻在东湖水体中的生物量较低,其范围为 $0 \sim 2.88 \times 10^3$ 个/L(个/L代表每升水中所含细胞数),且其分布及周年季节变动无明显规律;而席藻和放线

表3 产生水体的“土霉味”的藻和菌

Table 3 Species of algae and bacteria producing earthy-musty odorants

种 类 Species	异味代谢产物 Odorous metabolites	参考文献 References
鱼腥藻 <i>Anabaena vestnarii</i>	Geosmin, MIB	[9]
<i>Anabaena cryptovagante</i>	MIB	[9]
颤藻 <i>Oscillatoria brevis</i>	Geosmin, MIB	[8]
<i>Oscillatoria curviceps</i>	MIB	[8,9]
<i>Oscillatoria tenue</i>	Geosmin, MIB	[8,9]
席藻 <i>Phormidium tenue</i>	MIB	[9]
放线菌 <i>Actinomycetes</i>	Geosmin, MIB	[10]

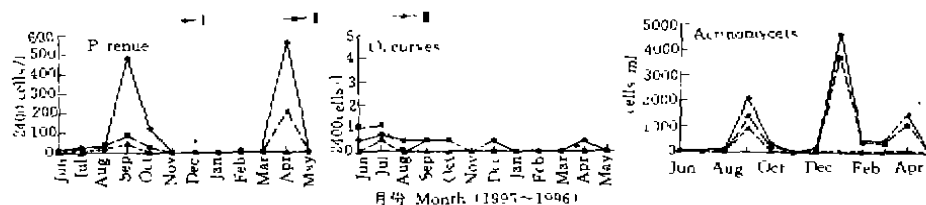


图2 东湖水体中与MIB发生有关的藻、菌生物量及季节变动的相关性

Fig. 2 Relationship between seasonal variation and biomass of algae and bacteria producing MIB in the Donghu Lake

菌的生物量较高,其范围分别为 $0.5 \times 10^4 \sim 1.35 \times 10^5$ 个/L和 $7 \times 10^3 \sim 4.6 \times 10^5$ 个/L,且其分布及周年季节变动均有明显的规律性,它们在东湖各水域中的分布与MIB是一致的,即I站>站I>站II>站III。通过对I站水域中席藻、放线菌及MIB的周年变化进行综合分析(见图3),发现藻、菌的季节变动与MIB的浓度变化具有很好的一致性。由此可以推断,东湖水体中的MIB异味与席藻和放线菌的次生代谢呈正相关,在4月份和9月份的MIB高峰是由席藻和放线菌共同产生的,而1月份的MIB高峰则是由放线菌单纯所致。

3 结论

本研究表明:

(1)自制的OLSA装置可用于有效富集水体中的异味化合物。

(2)东湖水体产生土霉味的主要原因是由于MIB的存在,它来自于席藻和放线菌的次生代谢。

(3)东湖水体中MIB的发生在一年内有3个高峰

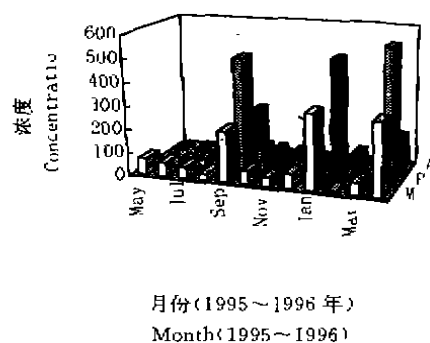


图3 东湖I号采样点MIB浓度与席藻、放线菌生物量的相关性

Fig. 3 Relationship between seasonal variation of MIB (ng/L) (M) concentration and biomass of *P. tenue* (2400 cells/L) (P) and *Actinomycetes* (10 cells/ml) (A) at No. 1 sampling location of the Donghu Lake

期,即 4 月份、9 月份和 1 月份。在高峰期 MIB 的浓度高达 320ng/l,超过其嗅觉域值 10 倍以上。

(4)水体富营养化程度与异味化合物浓度呈正相关,在富营养化严重的水域(I 号采样点),其异味化合物的浓度明显高于其它水域(II 号和 III 号采样点)。

参 考 文 献

- 1 刘建康. 东湖生态学研究(二). 北京: 科学出版社, 1990. 50~2
- 2 Krasner S W and Hwang C J. A standard method for quantification of earthy-musty odorants in water, sediments, and algal cultures. *Wat. Sci. Tech.* 1983, **15**: 127~138
- 3 黎雯, 徐盈, 吴文忠, 等. 水体中异味性化合物定量测定的一种有效方法. 分析测试技术与仪器. 1998, **4**(2): 84~90
- 4 Hwang C J and Krasner S W. Determination of subnanogram per liter levels of earthy-musty odorants in water by the salted loop stripping method. *Environ. Sci. Technol.* 1984, **18**: 535~539
- 5 Korth W and Bowne K. New standards for the determination of Geosmin and MIB in water by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Wat. Res.* 1991, **25**(3): 319~324
- 6 Born H and Grimvall A. Modified Stripping technique of the analysis of trace organics in water. *J. Chromatography*. 1982, **252**: 139~146
- 7 Boren H and Grimvall A. Optimization of the open stripping system for the analysis of trace organic in water. *J. Chromatogr.* 1985, **348**: 67~78
- 8 Persson P E. Odorous algal cultures in culture collections. *Wat. Sci. Tech.* , 1988, **20**(8/9): 211~213
- 9 Slater G P and Blok V. Volatile compounds of cyanophyceae. *Wat. Sci. Tech.* , 1983, **16**(7): 181~190
- 10 Yagi M M and Kajino U. Odor troubles in the Lake Biwa. *Wat. Sci. Tech.* , 1983, **15**(6/7): 311~321