

产嗅藻类对东太湖某地原水中嗅味物质 2-MIB 的贡献

邵晨¹, 黎雷^{1*}, 于水利¹, 侯立安¹, 杨帆², 殷祺², 漆晴² (1. 同济大学环境科学与工程学院, 上海 200092; 2. 吴江华衍水务有限公司, 苏州 215220)

摘要: 针对东太湖某水源地区原水中嗅味物质 2-甲基异莰醇(2-MIB)浓度过高问题, 检测并鉴定原水中藻类分布及组成, 考察并建立藻类与 2-MIB 的相关性, 并利用 16SrDNA 基因测序方法对其中两种主要丝状藻类进行鉴定. 结果表明: 两个原水取水口及附近养殖区中 2-MIB 与藻密度呈明显的线性相关($R^2 > 0.85$), 且颤藻目浮丝藻、泽丝藻以及针杆硅藻等占总藻数量的 55% 以上. 值得注意的是, 存在于藻细胞内部的 2-MIB 比例可达 68%, 水处理过程中需考虑胞内 2-MIB 的释放风险. 此外, 对养殖区周围水质数据分析表明采样点中 2-MIB 浓度、藻密度、氨氮浓度均和其与离养殖区距离呈负相关性, 表明该地区取水口附近的水产养殖可能是导致 2-MIB 偏高的主要原因.

关键词: 2-甲基异莰醇; 16SrDNA 测序; 藻源嗅味物质; 胞内胞外; 藻类代谢产物

中图分类号: X524 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2014)09-2328-06

Contribution of algae on the occurrence of odor and taste compound 2-MIB in drinking water source of East Tai Lake. SHAO Chen¹, LI Lei^{1*}, YU Shui-li¹, HOU Li-an¹, YANG Fan², YIN Qi², QI Qing² (1. College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Huayan Water Service Corporation limited, Suzhou 215220, China). *China Environmental Science*, 2014, 34(9): 2328-2333

Abstract: To figure out the reason of severe odor problem in the water source of East Taihulake, the algae species and cell densities, as well as their correlations with 2-MIB concentration were investigated. Two dominated filamentous algae species in the water were identified according to 16S rDNA detection. The result indicated that the algae cell density and the concentration of 2-MIB were of high correlation with $R^2 > 0.85$. Some typical odor compounds producer *Oscillatoriales* (including the identified species *Limnothrix* and *Planktothrix*) and *Synedra* account for over 55% of the total algae cell numbers. In particular, the intracellular 2-MIB account for 68% of its total concentration, indicating the risk of intracellular 2-MIB release during the water treatment. In addition, the density of algae as well as the concentration of 2-MIB and ammonia nitrogen were decreased with the increasing distance between sampling points and the aquaculture zone, suggesting that the high concentration of 2-MIB around the intakes was probably caused by the aquaculture activities.

Key words: 2-MIB; 16SrDNA gene identification; algae related odor and taste compounds; intracellular-extracellular; algae metabolism products

嗅味问题是导致全世界范围饮用水质量遭投诉的最常见也是最主要的问题. 欧美国家开展的相关研究较早, 高达 40% 以上的水厂存在严重的嗅味问题^[1]. 我国在嗅味方面的研究开展较晚, 但近年来我国有关嗅味问题的报道也逐渐增多^[2]. 饮用水的嗅味主要包括土霉味、青草味、鱼腥味等^[3], 其中以能够产生土霉味的 2-甲基异莰醇(2-MIB)为代表性嗅味物质分布较为广泛, 成为很多水厂夏季水质不达标的主要因素. 国内东太湖流域监测数据显示其嗅味物质中 2-MIB 为主要成分, 浓度为其他几种嗅味物质的十几倍甚至几

十倍^[4].

引起饮用水嗅味原因可分为人为因素和天然因素. 其中人为因素主要是向水体中直接倾倒和排放能够产嗅的废水; 而天然因素则是普遍存在于水体中的原因, 主要由水体中如蓝藻、硅藻、放线菌等的代谢产物引起^[5]. 研究表明有超过 40 多种蓝藻可产生 2-MIB, 包括束丝藻、鱼腥藻、

收稿日期: 2013-11-25

基金项目: 国家科技重大专项资助(2012ZX07403-001); 国家自然科学基金(51308398); 中国博士后基金(2013M531215, 2014T70428)

* 责任作者, 讲师, lilei@tongji.edu.cn

颤藻等^[6];也有研究者发现嗅味物质浓度与水中氮、磷等营养元素浓度以及藻类、放线菌密度相关,同时藻类、放线菌相互利用各自代谢产物而生成的次级代谢产物中也包含嗅味物质^[7].藻源嗅味物质对原水水质存在显著影响.本研究针对东太湖某取水口夏季 2-MIB 浓度严重超标的问题,研究了水中主要致嗅藻类的分布及其对 2-MIB 的贡献,利用基因检测方法鉴定优势藻种类,并提出相关对策,以期对水厂出水中 2-MIB 的控制和达标提供一定理论支持.

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

嗅味检测仪器为气相色谱-质谱联用仪(789A-5957c,安捷伦,美国);藻类镜检采用光学显微镜(CX31,奥林巴斯,日本).藻类过滤采用玻璃纤维膜(0.7 μ m,Whatman,英国).

2-甲基异茨醇(2-MIB)标样、内标物 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪(2-Isobutyl-3-methoxypyrazine, IB)标样均为色谱纯,纯度不低于 95%(Sigma,美国),使用前用 Milli-Q 超纯水稀释至所需浓度.甲醇为色谱纯,纯度不低于 90%(Sigma,美国).NaCl、NaOH 和 HCl 为分析纯(国药化学试剂,中国).

1.2 实验方法

1.2.1 样品采集 2013 年 8 月在太湖某水源地水厂取水口 A、取水口 B 以及附近养殖区连续取样,采集水面下 0.5m 处水样,低温保存至实验室进行嗅味物质及藻类检测.

1.2.2 2-MIB 分析测定 嗅味物质通过固相微萃取-气相色谱质谱联用仪(GC-MS)进行测定,结果为水中溶解态与颗粒物吸附态总和.利用顶空固相微萃取 CTC 自动进样器富集水中痕量待测嗅味物质,10mL 样品添加 3g 氯化钠,在 65 $^{\circ}$ C 下同步震荡萃取 30min.GC 条件为载气为高纯氮气(99.999%);压强为 90kPa;柱中流速为 1.45mL/min;不分流进样;柱初始温度为 60 $^{\circ}$ C,保持 3min,以 6 $^{\circ}$ C/min 升温至 150 $^{\circ}$ C,再以 15 $^{\circ}$ C/min 升温至 250 $^{\circ}$ C,保持 3min;进样口温度 250 $^{\circ}$ C.MS 条件为电子轰击源(EI);电子能量为 70eV;离子源温度为 200 $^{\circ}$ C;接口温度为 250 $^{\circ}$ C;离子扫描范围为 m/z 45~500;扫描时间为

5.0~20.27min.采用 SIM 模式时,2-MIB 特征离子为 95,108,保留时间为 12.033min;IB 特征离子为 138,124,保留时间为 11.781.

1.2.3 藻类密度分析及 DNA 测序鉴定 利用浓缩过滤方法收集水中藻细胞进行显微镜下观察藻类计数^[8].具体步骤为,将 250mL 原水经 0.45 μ m 滤膜过滤后,用盖玻片将膜表面藻细胞刮下并溶于 3mL Milli-Q 超纯水中,然后采用血球计数板进行显微镜计数与种类鉴定.将原水藻类经过分离提纯后,取新鲜藻液 50mL,用滤膜将藻类截留后,研磨震荡使其细胞破裂,提取 DNA,通过 16S rDNA 测序方法,利用蓝藻通用引物进行扩增测序,结果与基因库进行比对,鉴定藻种类.

2 结果与讨论

2.1 原水嗅味物质含量

东太湖某水厂每年夏季都存在原水中 2-MIB 浓度过高的问题,以 2013 年夏季的数据(图 1)为例可知,从 7 月中旬起,取水口 A 和 B 及附近养殖区中 2-MIB 浓度开始出现攀升,最高可达 1000ng/L,取水口采样点平均值均超过 100ng/L,养殖区的采样点平均值甚至高达 503.62ng/L,而 2-MIB 的嗅阈值仅仅为 10~15ng/L,且常规水处理工艺对 2-MIB 的去除率非常低^[9],极易导致出水嗅味浓度超标.

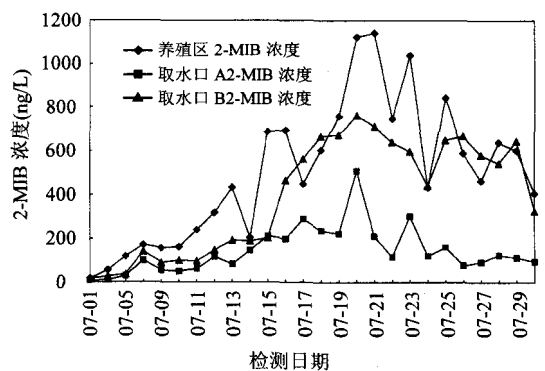


图 1 2013 年 7 月太湖某取水口 A、B 及附近养殖区典型嗅味物质 2-MIB 浓度

Fig.1 Concentration of typical odor compound 2-MIB in two water intakes and a nearby aquaculture area of Tai Lake in July, 2013

2.2 藻种类数量分布与主要藻类基因鉴定

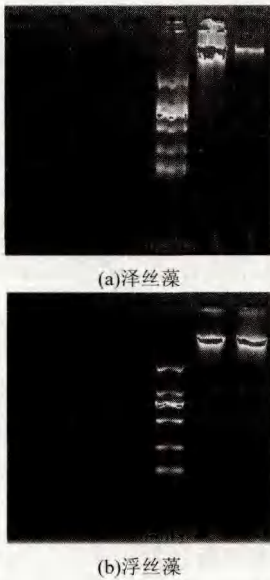


图2 DNA电泳条带
Fig.2 DNA electrophoresis bands

以往关于太湖中藻类的研究报道以微囊藻等为主^[10-11],而本研究结果表明(图2),取水口A、B以及养殖区原水中藻类均以丝状藻和硅藻为主.通过显微镜观察,发现丝状藻主要分为两种.分离提纯后分别提取其DNA,通过琼脂糖电泳测定其碱基长度基本均在5000bp位置(图2).将DNA样品进行测序与现有基因库进行比对,结果发现一种藻类DNA与*Limnothrix* sp.匹配度达100%,另一种与*Planktothrix pseudogardhii*匹配度达99%.可以确定两者均为蓝藻门颤藻目,前者为泽丝藻属,后者为浮丝藻属.有研究表明,浮丝藻能够产生典型臭味物质如2-MIB、土嗅素等^[12-13],同时,其部分种类会分泌藻毒素,包括肝毒性的微囊藻毒素(Microcystins)、海兔毒素(Aplysiatoxin),神经毒性的鱼腥藻毒素-a(Anatoxin-a)以及贝类麻痹性毒素(PSP)^[14-15].因而该种藻类也被认作极为重要的有害蓝藻之一.另有研究表明浮丝藻不仅在富营养型水体中生长,同时在中营养型宽阔浅水水体中也能大量繁殖^[16].东太湖地区湖水平均深度不足3m,湖面宽阔风力较小,从春季进入夏季后,湖水流速下降,

水温稳定在30℃,这些条件均适宜泽丝藻、浮丝藻等对水力冲刷较敏感的丝状蓝藻生长.

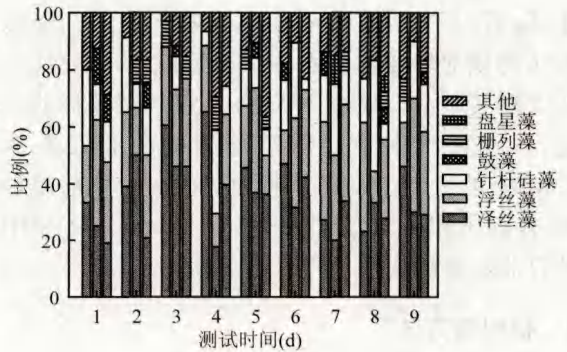


图3 采样点藻种类分布
Fig.3 Distribution of algae species in sampling places

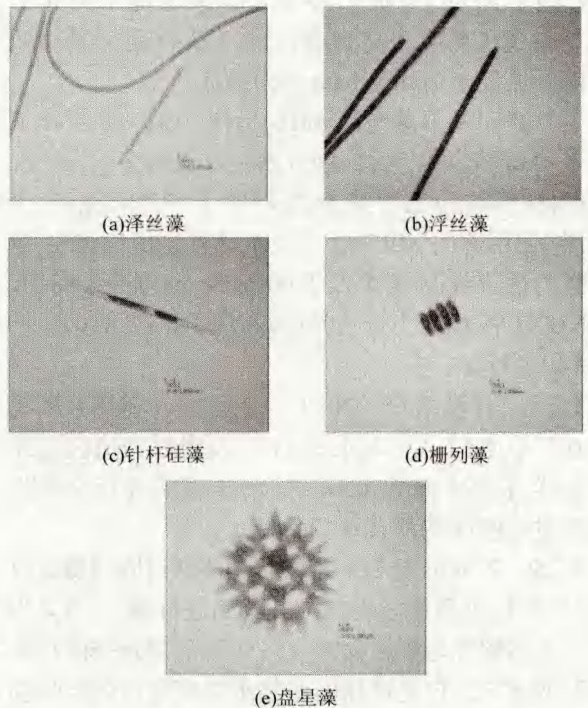


图4 典型藻类显微镜照片
Fig.4 Microscope photos of typical odor producing algae

通过连续监测原水中藻类含量,泽丝藻、浮丝藻与针杆硅藻分别占总藻数量的36.34%、26.28%和15.03%,连续测定9d的监测结果基本一致,表明水体环境适宜上述几种藻类生长,且组成稳定,文献^[17-18]表明颤藻目丝状蓝藻类,如颤藻

属、浮丝藻属等蓝藻会产生大量 2-MIB,单位藻体产生的 2-MIB 浓度可达 0.75pg/cell,童淑珠^[19]报道 *Oscillatoriasp.* 可以产生 2-MIB,吴中兴等^[16]研究发现多种拉氏拟浮丝藻类均能产生典型嗅味物质.而其他典型蓝藻诸如铜绿微囊藻,其单位藻体产生的 2-MIB 浓度仅仅为 5.98×10^{-5} pg/cell^[20].此外,上述 3 处水样中还能观察到其他致嗅藻类诸如栅列藻、盘星藻、鼓藻等,图 4 为水样中代表性藻类镜检图.进一步说明当地原水中存在大量可以释放嗅味物质的蓝藻,在温度、光照适应情况下,会迅速增殖并合成释放嗅味物质进入水体,即水源中的致嗅藻类可能是 2-MIB 的重要来源.

2.3 藻类密度与嗅味物质浓度关系

原水中 2-MIB 浓度较高,平均值为 608.35ng/L,其中养殖区浓度高于取水口 A、B,具体见表 1.

表 1 采样点 2-MIB 浓度(ng/L)

Table 1 Concentration of 2-MIB in sampling places(ng/L)

时间(d)	取水口 A	取水口 B	养殖区
1	354.62	382.67	944.48
2	727.10	586.76	741.37
3	566.75	640.89	809.27
4	355.00	684.00	750.00
5	913.00	585.00	768.00
6	410.74	229.68	501.00

图 5 和表 1 中数据表明 2-MIB 浓度与藻类密度有较强的线性相关性($R^2=0.85$),每个藻细胞对应 2-MIB 浓度为 0.59pg/cell,即当藻细胞浓度达到 16949.15 个/L 时,2-MIB 浓度便可超过国家《生活饮用水卫生标准》(GB5749-2006)^[21]中规定的 10ng/L.因此该地区水中致嗅藻类的存在将极大影响水质安全.同时,结果还表明(图 6),水中氨氮浓度与藻密度相关性明显,且氨氮浓度从养殖区向取水口 A 和 B 方向依次降低,推测主要由鱼虾类水产动物的代谢导致养殖区内较高的氨氮浓度,并逐渐向外围扩散.随着采样点逐渐远离养殖区,水样中藻类密度、2-MIB 浓度呈线性下降(图 7),证明取水口附近的水产养殖可能会导致当地存活大量产嗅藻

类并释放嗅味物质,或者使原本由于当地特殊地理条件情况下生长的大量产嗅藻类在该营养盐条件下大量合成释放嗅味物质.

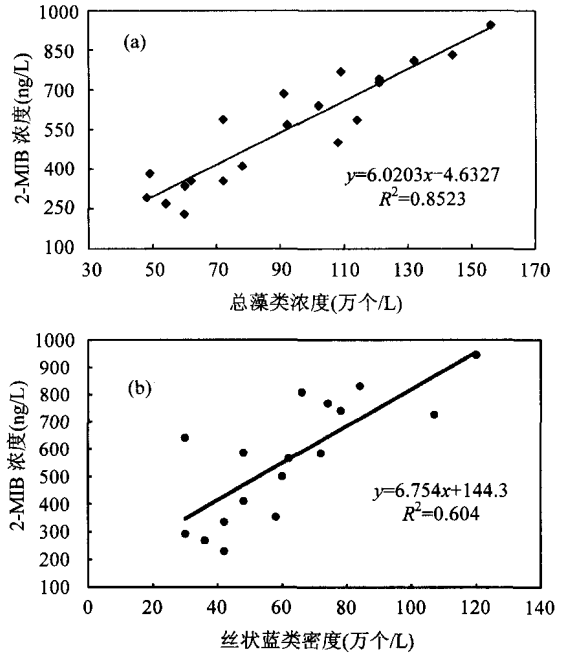


图 5 藻类密度与 2-MIB 浓度相关性

Fig.5 Correlation between the concentration of algae and 2-MIB

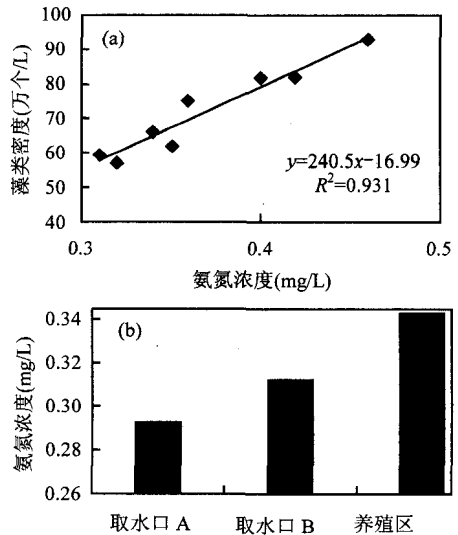


图 6 藻类密度与氨氮浓度关系

Fig.6 Correlation between the concentration of algae and ammonia nitrogen

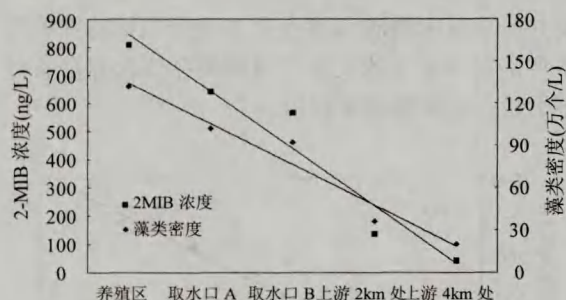


图7 藻类密度与2-MIB浓度随距离变化

Fig.7 Correlation between the concentration of algae and 2-MIB along with distance variation

2.4 臭味物质在藻细胞内外的分布

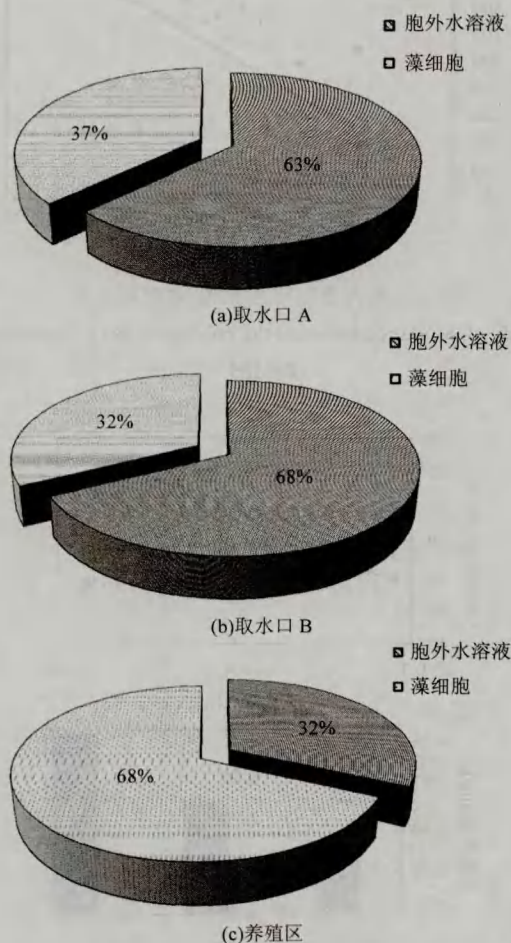


图8 藻细胞、胞外水溶液中2-MIB浓度比例

Fig.8 Proportion of intracellular and extracellular concentration of 2-MIB

为进一步确定原水中藻类对与臭味物质贡献,测定了藻细胞内和胞外水溶液中2-MIB浓度(图8),取水口A和B水样中胞内2-MIB浓度均大于30%。养殖区水样中胞内2-MIB浓度所占比例较取水口处高接近一倍,达到68%,表明取水口处的2-MIB部分由取水口处的藻细胞释放,部分可能来自于养殖区的扩散。综上,藻细胞自身含有大量2-MIB,当藻细胞经预氧化等处理细胞破裂后,其胞内臭味物质会大量进入水溶液,造成溶解性臭味物质浓度升高,因此,实际生产采用预氧化除藻时,应优选氧化剂并优化氧化剂浓度,尽量控制藻细胞的破裂及胞内臭味物质的释放。

3 结语

东太湖某水源地水体富营养化、氨氮浓度升高,同时水深较浅,夏季高温时水体波动较小,致使大量泽丝藻、浮丝藻等致嗅丝状蓝藻的生长,在其生长过程中代谢生成大量2-MIB,导致原水中臭味物质2-MIB浓度严重过量。若想从根源解决该地区原水中的臭味问题,应考虑停止取水口附近的水产养殖,并进一步研究上述几种致嗅藻类的对各种环境条件的响应机制,提出最适宜的技术手段。

参考文献:

- [1] Suffet I H, Corado A, Chou D, et al. AWWA taste and odor survey [J]. Journal of the American Water Works Association, 1996, 88(4):168-180.
- [2] 李勇,陈超,张晓健,等.东江水中典型致嗅物质的调查 [J]. 中国环境科学, 2008,28(11):974-978.
- [3] 刘妍娟,储昭升,金相灿,等.螺旋鱼腥藻土嗅素的产生和分布规律 [J]. 中国环境科学, 2009,29(10):1082-1085.
- [4] 徐盈,黎雯,吴文忠.东湖富营养水体中藻菌异味性次生代谢产物的研究 [J]. 生态学报, 1999,19(2):212-216.
- [5] 马晓燕.土嗅素和二甲基异冰片的控制技术及其机理研究 [D]. 上海:同济大学环境科学与工程学院, 2007.
- [6] Izaguirre G, Taylor W D. Geosmin and MIB events in a new reservoir in southern California [J]. Water Science and Technology, 2007,55(5):9-14.
- [7] Sugiura N, Iwami N, Inamori Y, et al. Significance of attached cyanobacteria relevant to the occurrence of musty odor in lake Kasumigaura [J]. Water Research, 1998,32(12):3549-3554.

- [8] 王 璁, 乔俊莲, 王国强, 等. 浓缩过滤——超声震荡法检测水中藻类 [J]. 中国给水排水, 2008, 24(14): 86-87.
- [9] 马 军, 李学艳, 陈忠林等. 臭氧氧化分解饮用水中嗅味物质 2-甲基异茨醇 [J]. 环境科学, 2006, 27(12): 2483-2487.
- [10] 顾苏莉, 陈 方, 孙将陵. 太湖蓝藻检测及暴发情况分析 [J]. 水资源保护, 2011, 27(3): 28-32.
- [11] 徐 瑶. 富营养化水体微囊藻分子生态研究 [D]. 南京: 南京师范大学, 2011.
- [12] Tsuchiya Y, Matsumoto A. Identification of volatile metabolites produced by blue-green algae [J]. Water Science and Technology, 1988, 20: 149-155.
- [13] Berglund L, Johnsen I J, Ormerod K, et al. Oscillatoria brevis (Kütz) Gom. and some other especially odouriferous benthic Cyanophytes in Norwegian inland waters [J]. Water Science and Technology, 1983, 15: 241-246.
- [14] Sivonen K, Jones G. Cyanobacterial toxins [C]//Bartram J, Chorus I. Toxic Cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. London: E & FN Spon, 1999: 41-111.
- [15] Pomati F, Sacchi S, Rossetti C, et al. The freshwater cyanobacterium *Planktothrix* sp. FP1: molecular identification and detection of paralytic shellfish poisoning toxins [J]. J. Phycol., 2000, 36: 553-562.
- [16] 吴中兴, 余博识, 彭 欣, 等. 中国水华蓝藻的新记录属——拟浮丝藻属 (*Planktothricoides*) [J]. 武汉植物学研究, 2008, 26(5): 461-465.
- [17] Li Zonglai, Peter Hobson, An Wei, et al. Earthy odor compounds production and loss in three cyanobacterial cultures [J]. Water Research, 2012, 46(16): 5165-5173.
- [18] Kevin K, Schradera, Margaret E, et al. Cyanobacteria and earthy/musty compounds found in commercial catfish (*Ictalurus punctatus*) ponds in the Mississippi Delta and Mississippi-Alabama Blackland Prairie [J]. Water Research, 2005, 39(13): 2807-2814.
- [19] 童淑珠. 水源中 2-MIB 与 geosmin 鉴定与氧化之研究 [D]. 台南: 国立成功大学, 2006.
- [20] Li Lei, Gao Naiyun, Deng Yang, et al. Characterization of intracellular and extracellular algae organic matters (AOM) of *Microcystis aeruginosa* and formation of AOM-associated disinfection byproducts and odor and taste compounds [J]. Water Research, 2012, 46(4): 1233-1240.
- [21] GB5749-2006 生活饮用水卫生标准 [S].

作者简介: 邵 晨(1988-), 男, 吉林长春人, 同济大学环境科学与工程学院硕士研究生, 主要从事水处理理论与技术研究。

京津冀有望用上“海电”

据报道, 位于唐山湾、规模为 300 台, 每台单机容量为 4MW 的京津冀地区首个海洋风电项目, 将于 2016 年完成装机和建成调试, 并将于 2017 年初并入电网, 直供京津冀地区使用。

京津冀地区空气污染严重, 发展清洁能源已成为多方共识。海上风电是清洁能源发展的新方向之一。不久前国家发改委制定出台了海上风电价格政策, 此举助推了海上风电项目的发展建设, 进一步优化能源结构, 促进节能减排。那么, 海上风电具备哪些优势, 其发展前景如何, 其他国家又是如何发展的?

摘自中国环境报

2014-08-21