

铜绿微囊藻细胞内外有机物特性及氯消毒副产物

高乃云, 王 昊, 黎 雷, 张可佳

(同济大学 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092)

摘要: 分析比较了铜绿微囊藻细胞内外溶解性有机碳(DOC)、溶解性有机氮(DON)、藻毒素、嗅味物质 Beta 环柠檬醛等有机物质量浓度以及相对分子质量分布和亲疏水性特征。结果表明, 不同生长时期细胞内有机物含量较细胞外高 3 倍以上(以 DOC 计算)。藻细胞内有机物相对分子质量分布区间主要分成 3 个部分: 小于 1 kD(叶绿素, 胡萝卜素, 藻毒素, 嗅味物质等)、40~800 kD(藻蓝蛋白)、大于 800 kD(核糖体, 蓝藻淀粉等); 细胞外有机物分布主要集中在 1~200 kD 之间(约占 90%), 小分子和大分子物质较少。此外, 亲疏水性分析结果表明, 细胞内外主要有机物均为中性亲水物质, 质量分数分别为 75.9% 和 52.7%。消毒副产物研究表明, 细胞内外有机物三氯甲烷生成潜能分别为 18.24 μg 和 26.72 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ DOC; 细胞内外总氯乙酸总生成潜能分别为 66.98 和 58.56 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ DOC。此外, 细胞内外有机氮/有机碳较普通原水高 3 倍以上, $\rho(\text{DON})/\rho(\text{DOC}) = 0.23$ 。可能造成以有机氮为前体物的含氮消毒副产物的大量生成。同时, 细胞内还大量存在细胞外不存在的致嗅物质 Beta 环柠檬醛等, 藻毒素含量较细胞外也高数倍。

关键词: 铜绿微囊藻; 细胞内外; 亲疏水性; 消毒副产物; 相对分子质量分布

中图分类号: X 703.1

文献标识码: A

Characteristics of Intracellular and Extracellular Organic Components of Microcystic Aeruginosa and Their Byproducts Formation Potential During Chlorination

GAO Naiyun, WANG Hao, LI Lei, ZHANG Kejia
(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: Characteristics of the intracellular and extracellular organic components (dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogenous (DON), the algae toxin, β -cydocal, molecular weight distribution and hydrophilic hydrophobic property) have been investigated. The result indicates that the amount of intracellular organic material is 3~10 times higher than that of the extracellular materia. And the intracellular organic matter mainly has 3 parts: less than 1 kD (chlorophyll, renieratene, algæ toxin, smell material and so on), 40~800 kD (phycocyanin), more than 800 kD (ribosome, starch and so on). The molecular weight of extracellular organic matter mainly concentrates within 1~200 kD (approximately 90%). In addition, the main intracellular and extracellular organic components are both the neutral hydrophilic substances, the percentage of which are 83% and 57%, respectively; The chloroform, chloroacetic formation potential of the intracellular and extracellular organic components are 10.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 15.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ and 57.10 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ and 49.94 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$. Moreover, the proportion of DON and TOC is 1/7, 3 times higher than common water source, which may increase the formation of chlorination byproduct nitrosamine.

Key words: microcystic aeruginosa; intracellular-extracellular; hydrophilic hydrophobic property; chlorination byproducts; molecular weight distribution

随着工业化和国民经济发展, 水体富营养化问题日益严重。我国太湖和滇池常年有大量藻类滋生, 由此产生各类副产物, 特别是藻毒素, 对人类健康产生极大威胁并造成巨大的经济和社会损失^[1-4]。其中铜绿微囊藻(*Microcystic aeruginosa*)最为常见, 其产生的藻毒素(microcystins, MCs)是一类环状多肽类物质且具有很强的肝毒性^[5-7]; 此外, 其细胞内产生的一种嗅味有机物 Beta 环柠檬醛也日益受到关注。

针对藻类产生的藻毒素、嗅味物质等有机污染

收稿日期: 2009-10-31

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划资助项目(2008ZX07421-002, 2008ZX07421-004); 国家“八六三”高技术研究发展计划资助项目(2008AA06A412); 住房和城乡建设部研究开发资助项目(2009-K7-4)

作者简介: 高乃云(1950-), 女, 教授, 博士生导师, 工学博士。主要研究方向为饮用水处理技术。E-mail: gaonaiyun@tongji.edu.cn

物质的去除国内外报道很多^[8-9], 不过大都只局限于纯水配制的标准物质的去除, 对实际水体中可能存在的其他有机污染物对反应的影响研究很少, 对这些有机污染物在藻细胞内外的含量的调查以及细胞内外有机物的特征(如亲疏水性, 相对分子质量分布, 消毒副产物生成潜能等)研究更少. 本文以铜绿微囊藻为代表, 详细分析比较了藻细胞内外溶解性有机碳(DOC)、溶解性有机氮(DON)、藻毒素、嗅味物质 Beta 环柠檬醛等有机物质量浓度、相对分子质量分布和亲疏水特性, 对其氯消毒副产物氯乙酸和三氯甲烷等生成潜能做了比较, 以期对实际生产应用以及科研提供一定的理论指导.

1 材料与方法

1.1 材料

铜绿微囊藻(905)购自中科院水生所, 使用 BG11 培养液, 在光照培养箱中培养, 提取一定量对数生长期的藻水(藻细胞浓度为 $4 \times 10^{10} \text{ L}^{-1}$ 左右)离心取上清液, 然后过 $0.45 \mu\text{m}$ 玻璃纤维膜, 滤出水(即细胞外物质)储存待分析; 被离心的藻细胞用超纯水冲洗稀释到与胞外溶液体积相同, 并采用冻融法 4 次后过 $0.45 \mu\text{m}$ 玻璃纤维膜, 滤出水(即细胞内物质)储备待分析.

亲疏水性分布树脂 Amberlite DAX-8, XAD-4 和 IRA-958(Rohm and Haas), 微囊藻毒素 MC-LR, RR, 三氯甲烷, 氯乙酸, beta 环柠檬醛均为色谱纯(Sigma, USA).

1.2 有机物的分离

水样用 $0.45 \mu\text{m}$ 膜过滤, pH 值调节至 2.0, 通过 DAX-8 树脂吸附柱, 然后用 0.1 M NaOH 洗脱(主要是针对强疏水性有机物); 通过的水样再经 XAD-4 树脂吸附柱吸附, 用 0.1 M NaOH 洗脱(主要针对弱疏水性有机物). 此时, 试验水样中的溶解性有机物被分为亲水性有机物和疏水性有机物. 将经 XAD-4 树脂吸附后的水样 pH 值调至 8.0, 用 IRA-958 树脂吸附, 用 1 M NaOH 和 1M NaCl 混合液洗脱(主要是针对极性亲水性有机物). 通过 IRA-958 树脂的成分主要是中性亲水有机物. 分离样品时需作吸收组分回收, 且回收率达到 80% 以上方可使用^[10]. 样品分离后需将 pH 值调节至 7.0 左右, 进行 DOC, UV₂₅₄ 和相对分子质量分布等的测定.

1.3 分析方法

氨氮, 硝酸盐氮, 亚硝酸盐氮, 藻吸光值采用分

光光度法测量(UV- 2102 PCS, 尤尼柯); 相对分子质量分布采用凝胶色谱仪(LC- 10ATVP, 岛津)测定; 藻细胞计数采用血球计数板, 显微镜计数法(YS100, 尼康)计数; 微囊藻毒素(MC-LR, RR)采用高效液相色谱仪(LG- 2010AHT, 岛津)测定; 浑浊度采用浊度仪(2100N, 哈希)测定; 溶解性有机碳 DOC、溶解性有机氮 DON 采用 TOC 仪(TOC-V_{CPH}, 岛津)测定; 测定三氯甲烷, 氯乙酸生成潜能采用 7 d 培养法, 测试采用气相色谱法(GC2010, 岛津)测定; Beta 环柠檬醛采用气质联用法(GCMS 2010, 岛津)测定.

2 藻细胞内外提取液特征水质参数

采用特征污染物质量浓度/藻浓度(10^9 L^{-1})表示单位藻浓度中的有机物含量, 即下文中所有提到的细胞内外有机物浓度都是以 10^9 L^{-1} 的藻浓度为标准计算. 表 1 列出了藻细胞内外各水质参数.

表 1 藻细胞内外各特征水质参数

Tab. 1 Water parameters of intracellular and extracellular extract solution

参数	细胞外	细胞内
$\rho(\text{DOC})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	1.49	5.01
$\rho(\text{DON})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	—	1.15
pH 值	8.98	6.73
Zeta 电位/ mV	- 3.4	- 17.2
$\rho(\text{叶绿素})/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	—	158.00
$\rho(\text{MC-LR})/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	9.60	35.20
$\rho(\text{Beta 环柠檬醛})/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	—	2.10

由表 1 可以看出, 细胞内有机物质量浓度较细胞外大很多, 特别是在藻类生长初期和对数期, 这种现象更为明显. 说明细胞内物质一旦释放将使水体各污染物指标大幅上升. 通过 Zeta 电位比较说明细胞内物质不易被混凝沉淀去除. 此外细胞破裂还带来了一些细胞外本来没有的有机物如嗅味物质 Beta 环柠檬醛以及极易腐败致臭的藻蓝蛋白等, 使水体的感官指标进一步恶化.

细胞外物质提取液 pH 值相对细胞内物质高很多, 一般混凝剂在该 pH 值条件下无法较好地缩聚形成多核羟基络合物, 这是高藻水不易被混凝沉淀去除的原因之一. 根据铝盐水解过程可知, 在 pH= 4~6 条件下, 聚合氯化铝发生水解缩聚反应, 生成带正电的多核羟基络合物, 在 pH 值为 6 左右时, 以带 5 个正电荷的 $[\text{Al}_3(\text{OH})_3]^{5+}$ 为主要存在形式^[11], 从而有利于中和水中藻细胞和其他有机物的负电性,

消除水化壳, 促进胶体颗粒的混凝. 所以从这个角度看, 藻细胞外物质更难被混凝去除.

3 藻细胞内外有机物特征

3.1 细胞内外有机物相对分子质量分布

细胞内物质呈非常鲜亮的蓝色, 这主要与蓝色的藻蛋白有关, 也是蓝藻名称的由来. 细胞外物质呈淡黄色. 细胞内外有机物相对分子质量分布见图 1.

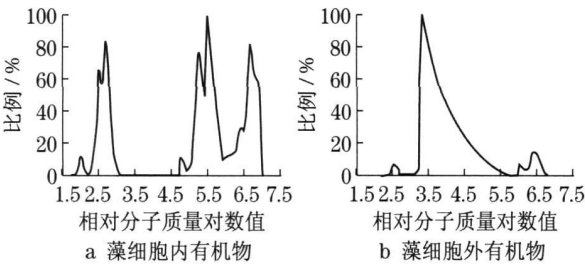


图 1 有机物相对分子质量分布图

Fig. 1 Molecular weight distribution of algae organic compounds

图 1 表明, 藻细胞内有机物相对分子质量分布区间主要分成 3 个部分: 小于 1 kD 的峰面积占 27%, 主要是叶绿素、胡萝卜素、藻毒素、臭味物质等, 40~ 800 kD 的峰面积占 42%, 主要是藻蓝蛋白, 大于 800 kD 的峰面积占 31%, 主要是核糖体, 蓝藻淀粉等; 细胞外有机物分布连续性比较好, 主要集中在 1~ 20 kD 之间的峰面积约占 90%, 小分子和大分子物质较少, 平均较细胞内有机物低.

有研究表明, 随着相对分子质量的减少, 三卤甲烷和卤乙酸等消毒副产物生成潜能有递增的趋势^[12], 单位质量相对分子质量小于 1 kD 的有机物比大于 30 kD 有机物的三卤甲烷生成潜能高 3 倍以上, 卤乙酸也高将近 2 倍. 因此可以推知, 细胞外有机物产生这类消毒副产物相对较多.

而蓝藻蛋白质量占总细胞内有机物质量的 30% 以上, 细胞内有机物含氮量较高, 可能更容易产生含氮消毒副产物, 而且这些高氮有机物为细菌生长和繁殖提供了物质基础, 细菌的大量生长和代谢产物会产生恶臭, 蛋白质分解也将造成氨氮的上升.

3.2 细胞内外有机物亲疏水性特征

细胞内外有机物亲疏水性特征见图 2.

藻细胞内有机物各组分质量比为强疏水: 弱疏水: 极性亲水: 中性亲水= 0.09: 0.05: 0.10: 0.76. 藻细胞外有机物各组分质量比为强疏水: 弱疏水: 极性亲水: 中性亲水= 0.31: 0.06: 0.10:

0.53. 有研究表明, 强疏水性有机物主要成分为腐殖酸(富里酸和胡敏酸), 极性亲水性有机物主要是氨基酸, 小分子烷基羧酸、胺, 以及烷基二羧酸等. 中性亲水性有机物主要是多糖, 小分子的烷基醇、醛、酮等. 图 3 表明, 藻细胞内外主要有机物均为中性亲水性物质, 细胞内外中性亲水性有机物质量分数分别达 75.9% 和 52.7%, 说明藻细胞内部以及分泌的有机物一般以多糖, 蛋白质类物质居多, 符合 3.1 中的实验现象和结论. 而一般水体如黄浦江, 长江等水中有机物疏水性比例较高^[13], 藻细胞产生的这些中性亲水性物质不但不易在混凝沉淀中去除, 且最近研究表明^[14], 中性亲水性物质在上述 4 类物质中最容易导致膜孔堵塞造成膜通量下降, 再次说明细胞内有机物释放后的危害性. 此外, 细胞内外强疏水性组分的嗅味均与未分离之前溶液的嗅味一致, 说明嗅味化合物以疏水性为主, 可以考虑使用活性炭等吸附方式去除.

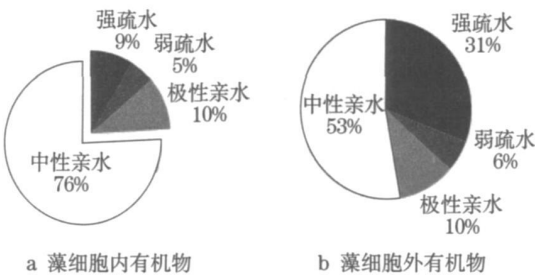


图 2 有机物亲疏水性分布图

Fig. 2 Hydrophilic hydrophobic property of algae related organic compounds

3.3 细胞内外有机物氯消毒副产物生成潜能

以细胞内外亲疏水性各组分为本底物, 研究了这 8 个的氯消毒副产物潜能(如图 3, 4).

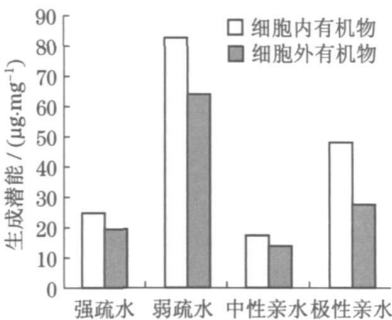


图 3 三氯甲烷生成潜能比较

Fig. 3 Chloroform formation potentials of algae related organic compounds

由于培养液中不存在溴元素, 所以只测定三氯甲烷和氯乙酸生成潜能. 图 3 表明, 单位质量有机物中三氯甲烷生成潜能顺序均为: 弱疏水性> 中性亲

水性> 强疏水性> 极性亲水性, 其中细胞内外弱疏水性有机物三氯甲烷的生成潜能最大, 分别达 64.08 和 82.35 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}\text{DOC}$. 此外, 还可看出, 细胞外各组有机物三氯甲烷生成潜能较细胞内有机物大, 细胞内外总生成潜能分别为 18.24 和 26.72 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}\text{DOC}$. 图 4 表明, 细胞内外有机物二氯乙酸生成潜能最大, 分别为 45.85 和 40.55 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}\text{DOC}$, 细胞内外总氯乙酸生成潜能分别为 66.98 和 58.56 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}\text{DOC}$, 细胞外较细胞内稍高, 且亲疏水性特征与生成潜能之间无明显的相关性. 亲水性有机物生成潜能较小.

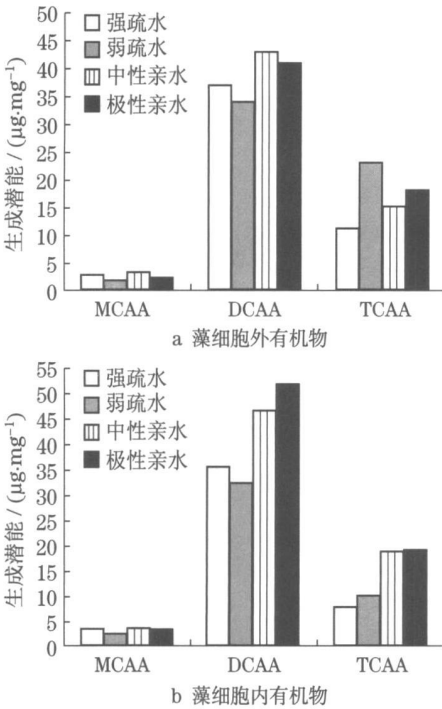


图 4 氯乙酸生成潜能比较

Fig. 4 HAA's formation potentials of algae related organic compounds

为了更好地说明细胞内外有机物的氯消毒风险, 通过三氯甲烷和氯乙酸的单位致癌风险(三氯甲烷, 二氯乙酸和三氯乙酸分别为 0.056×10^{-6} , 2.6×10^{-6} 和 5.5×10^{-6}) 和对应各物质浓度, 利用加权平均值法进行综合评估, 实际有机物致癌风险排序如下: 细胞内亲水> 细胞外亲水 $\approx$ 细胞外疏水> 细胞内疏水.

4 结论

(1) 铜绿微囊藻细胞内有机物含量(DOC)比细胞外高 3 倍以上, 有机碳与有机氮比值也较普通水

体高 3 倍左右.
(2) 藻细胞内有机物相对分子质量分布区间主要分成 3 个部分: 小于 1 kD, 40~ 800 kD 和大于 800 kD; 细胞外有机物分布主要集中在 1~ 200 kD 之间, 小分子和大分子物质较少. 细胞外有机物平均相对分子质量较细胞内小.
(3) 藻细胞内外主要有机物均为中性亲水性物质; 细胞内外强疏水性组分的嗅味均与未分离之前溶液的嗅味一致, 说明嗅味化合物以疏水性为主, 可以考虑使用活性炭等吸附方式去除.
(4) 单位质量不同性质有机物的三氯甲烷生成潜能顺序均为: 弱疏水> 中性亲水> 强疏水> 极性亲水; 细胞外有机物三氯甲烷生成潜能较细胞内有机物大. 氯乙酸生成潜能与亲疏水性没有明显的相关性, 细胞内有机物生成潜能稍大.
(5) 对细胞内外有机物的更深入的分子特性(特别是细胞内) 以及其他消毒副产物(如亚硝胺类等氮消毒副产物) 与分子特性之间的关系还有待进一步研究.

参考文献:

[1] Bandala E R, Martinez D, Martinez E, et al. Degradation of microcystir LR toxin by Fenton and Photor Fenton processes [J]. Toxicon, 2004, 43(7): 829.
[2] 苑宝玲, 陈一萍, 郑雪琴, 等. 高铁 光催化氧化协同去除藻毒素的研究 [J]. 环境科学, 2004, 25(5): 107.
YUAN Baoling, CHEN Yiping, ZHENG Xueqin, et al. Efficiency of microcystir LR Removal by photocatalysis combined with ferrate oxidation [J]. Environmental Science, 2004, 25(5): 107.
[3] Qiao R P, Li N, Qi X H, et al. Degradation of microcystir RR by UV radiation in the presence of hydrogen peroxide [J]. Toxicon, 2005, 45(6): 745.
[4] 左金龙, 崔福义, 刘智晓. 饮用水中蓝藻毒素污染研究进展 [J]. 环境污染治理技术与设备, 2006, 7(3): 8.
ZUO Jinlong, CUI Fuyi, LIU Zhixiao. A review of studies on pollution of cyanobacterial toxins in drinking water [J]. Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control, 2006, 7(3): 8.
[5] 柳丽丽, 钟儒刚, 曾毅. 微囊藻毒素及其毒性研究进展 [J]. 卫生研究, 2006, 35(2): 247.
LIU Lili, ZHONG Rugang, ZENG Yi. Advances in study on microcystins and their toxicology [J]. Journal of Hygiene Research, 2006, 35(2): 247.
[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] Karim M, Daniele P, Simone P D, et al. 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]. Aquat Toxicol, 2008, 86(2): 166.
- [8] 张可佳, 殷娣娣, 高乃云, 等. 水中两种微囊藻毒素的臭氧氧化及其影响因素[J]. 中国环境科学, 2008, 28(10): 877.
ZHANG Kejia, YIN Didi, GAO Naiyun, et al. Effect and influence of two representative microcystins degradation by ozonation in water[J]. China Environmental Science, 2008, 28(10): 877.
- [9] Hoeger S J, Dietrich D R, Hitzfeld B C, et al. Effect of ozonation on the removal of cyanobacterial toxins during drinking water treatment [J]. Environmental Health Perspectives, 2002, 110(11): 1127.
- [10] Carroll T, King S, Gray B A, et al. Fouling of microfiltration membranes by NOM after coagulation treatment [J]. Water Research, 2000, 34: 2861.
- [11] 尤作亮, 张金松, 梁明, 等. 强化混凝提高水厂除藻效果的试验研究[J]. 净水技术, 2003, 22(5): 9.
- YOU Zuoliang, ZHANG Jinsong, LIANG Ming, et al. Study on algae removal by enhanced coagulation[J]. Water Purification Technology, 2003, 22(5): 9.
- [12] Xu B, Gao N Y, Sun X F, et al. Characteristics of organic material in Huangpu River and treatability with the O₃- BAC process[J]. Separation and Purification Technology, 2007, 57: 348.
- [13] 董秉直, 王洪武, 冯晶. 混凝预处理对超滤膜通量的影响[J]. 环境科学, 2008, 29(10): 2783.
DONG Bingzhi, WANG Hongwu, FENG Jing, et al. Influence of coagulation pretreatment on UF membrane flux [J]. Environmental Science, 2008, 29(10): 2783.
- [14] Lee N H, Amy G, Croue J P, et al. Identification and understanding of fouling in low-pressure membrane (MF/UF) filtration by natural organic matter (NOM) [J]. Water Research, 2004, 38: 4511.

(上接第 1313 页)

- [4] Lin C K, Tsai T Y, Liu J C, et al. Enhanced biodegradation of petrochemical wastewater using ozonation and BAC advanced treatment system [J]. Water Research, 2001, 35(3): 699.
- [5] Duan L, Li W, Ding C, et al. Applications of biological enhancement in carbon/sand filter [J]. Chemical and Biochemical and Engineering Quarterly, 2008, 22(3): 377.
- [6] 黄鑫, 高乃云, 赵建夫, 等. UV/氯联合处理含溴溶液中溴酸根的生成[J]. 环境科学, 2007, 28(11): 2526.
HUANG Xin, GAO Naiyun, ZHAO Jianfu, et al. Bromate ions formation in UV/Chlorination processes for bromide containing solutions [J]. Environmental Science, 2007, 28(11): 2526.
- [7] 张可佳, 殷娣娣, 高乃云, 等. 水中两种微囊藻毒素的臭氧氧化及其影响因素[J]. 中国环境科学, 2008, 28(10): 877.
ZHANG Kejia, YIN Didi, GAO Naiyun, et al. Effect and influence of two representative microcystins degradation by ozonation in water[J]. China Environmental Science, 2008, 28(10): 877.
- [8] 谢钦. 高密度澄清池工艺简介[J]. 给水排水, 2006, 32(增刊): 38.
XIA Qin. A brief introduction of densadeg process[J]. Water & Wastewater Engineering, 2006, 32(Suppl): 38.
- [9] 伍海辉, 高乃云, 贺道红, 等. 臭氧活性炭工艺中卤乙酸生成潜能与相对分子质量分布的关系的研究[J]. 环境科学, 2006, 27(10): 2035.
WU Haihui, GAO Naiyun, HE Daohong, et al. Study relationship of HAAs formation potential and organic molecular weight distribution in the process of O₃/BAC[J], 2006, 27(10): 2035.
- [10] Edzwald J K, Becker W C, Wattier K L. Surrogate parameters for monitoring organic matter and THM precursors [J]. J AWWA, 1985, 77(4): 122.
- [11] 贺道红. 臭氧-生物活性炭与微曝气-生物活性炭深度处理效果对比研究[D]. 上海: 同济大学环境科学与工程学院, 2006.
HE Daohong. Contrast study on removal efficiency of Ozonation-BAC process and microaeration-BAC process [D]. Shanghai: Tongji University. Environmental Science and Engineering College, 2006.
- [12] von Gunten U. Ozonation of drinking water: Part I . oxidation kinetics and product formation[J]. Water Research, 2003, 37(7): 1443.
- [13] Cipparone L A, Diehl A C, Speitel G E. Ozonation and BDOC removal: effect on water quality [J]. J AWWA, 1997, 89(2): 84.