

養殖魚類泥土味之防除—*Geosmin* 之化學檢測

陳景川 · 吳明昌 · 黃文瑛 · 溫惠美

國立屏東農業食品工業科

前 言

引起魚體泥土味之化學物質已知者有 *Geosmin*、2-Methylisoborneol (MIB、Mucidone) (1.2)。其中 *Geosmin* (trans-1, 10-dimethyl-1-trans-9-decanol) 分子式為 $C_{12}H_{22}O$ ，為具有很強泥土味之中性無色油類，構造式如右，藍綠藻中 *Symploca Muscorum*、*Oscillatoria tenuis*、*Lyngbya cf aestuarii*、*Anabaena circinalis*、*Volvox aureus* 及某些放射狀菌類均能產生 *Geosmin* (3. 4. 5)。水中⁽¹⁾、魚體⁽²⁾、泥土⁽⁶⁾、甜菜汁⁽⁷⁾ 中均曾發現過由 *Geosmin* 所引起的泥土味。人類所能感測到之濃度如表 1 所示⁽⁸⁾；2-Methylisoborneol [(1-R-exo)-1.2.7.7-tetramethylbicyclo (2,2,1) heptan-2-ol] 之構造式如右由一些放射狀菌所產生，能引起臭土味之物質，曾在美國、荷蘭、日本之公共給水中發現，人類所能感測到的濃度如表 1 所示。此泥土味物質可以用活性碳來吸附而去除。

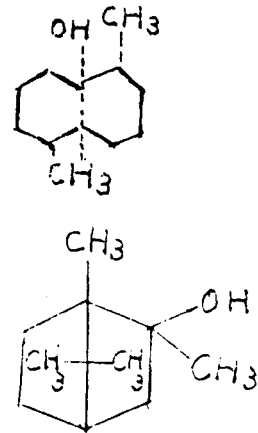


表 1. *Geosmin* 和 MIB 在水和魚之閾值濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$)

Table 1. Threshold odour concentrations ($\mu\text{g}/\text{kg}$) of *geosmin* and MIB in water and fish

	<i>Geosmin</i>	MIB
Water	0.015	0.042
Bream (<i>Abramis brama</i>)	0.90	0.095
Pike (<i>Esox lucius</i>)	0.59	0.085
Pikeperch (<i>Lucioperca lucioperca</i>)	—	0.075
Rainbow trout (<i>Salmo gairdneri</i>)	0.5	0.55

萃取及檢測

1. 從泥土中萃取 Geosmin

將 5 升 (4.5 公斤) 的泥土放入 12 升的三角燒瓶中，上面覆以未含泥土味的水，於 50°C 行真空 (100 mm 壓力) 蒸餾，連續萃取 3 小時。使用正己烷當萃取液，而以冰水來冷卻冷凝器，最後正己烷萃取液以無水硫酸鈉來去除水份，接着過濾、濃縮後以氣體層析質譜儀分析 (6)。質譜儀屬 Consolidated 21-620 cycloidal 型，使用 70V 之離子化電壓，GLC 使用長 150 米，內徑 0.75 毫米之不銹鋼毛細管 (內部披覆含 5% Igegal (0-880 之 Tween 20)，以矽膠膜為分子分離器，管柱分離溫度從 70°C 開始每分鐘上昇 0.5°C 至 170°C 止。爾後保持此溫度至分析結束為止。

2. 從魚體萃取 Geosmin

有適度臭土味之鼓眼魚剝細後置於煮沸的蒸餾水中蒸餾。蒸餾液再以 methylene 萃取出來，爾後使用 GLC 分析 (2)。

3. 由醱酵的培養液中萃取 Geosmin 及 MIB

經培養的培養液以蒸氣來蒸餾，直到 20% 的培養液被蒸餾出來為止。蒸餾液再以 Methylenechloride 分別萃取 3 次 (20, 10, 10%)。接着以暖 and 空氣 (Stream of warm air) 濃縮至 0.5 毫升後即可以 GC 來分析 (6)。GC 廠牌為 Varian Aerograph Series 2100，分離管柱長 1.8 米，內徑 2 毫米的玻璃管，填充物為 10% SP 2310 披覆在 Chromosorb W AW 100/120 mesh，使用離子火焰偵測器。管柱溫度在室溫保持 5 分鐘後以每分鐘上昇 6°C 之速度上升 30 分鐘，氬氣 (攜帶氣體) 每分鐘流速為 30 毫升。

4. 由甜菜汁萃取 Geosmin

每 1000 毫升的根莖菜汁使用 400 毫升的 Freon 113 來萃取，取 200 毫升的萃取液而以無水硫酸鎂來除去水分。接着行迴轉式蒸發器濃縮到 1 毫升左右，比濃縮液使用 15 毫升的戊烷 (內含 8% 的乙醚) 在 3 毫升的 Florisil 管柱上清洗一次，管柱中充填有 15 毫升的戊烷。管柱流出液將其濃縮至 2 微升左右而進行 GLC 分析 (7)。GC 廠牌為 Varian Model 1200 分離管柱長 4 米，內徑 3 毫米的不銹鋼管，填充物為 5% SP-1000 披覆在 Chromosorb W 上。使用離子火焰偵測器，管柱溫度維持在 190°C 的恒溫而每分鐘以 25 毫升氬為攜帶氣體。圖一為樣品經過 Florisil 處理與否的 GC 圖譜，從此圖譜可以充分顯示以 Florisil 處理後之樣品，其干擾可以很顯著的降低。

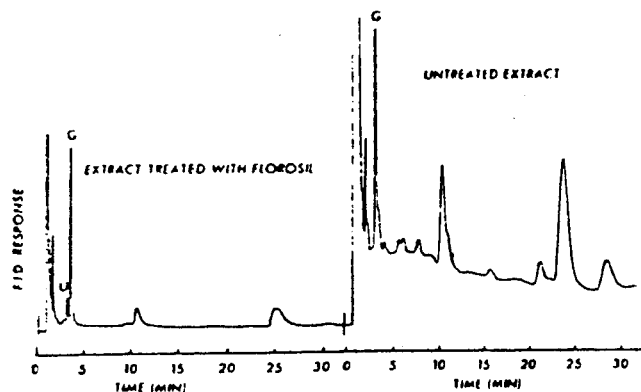


Figure 1. Two adjacent gas chromatograms showing the effect of Florisil adsorption treatment on beet juice extract. G is the symbol for geosmin and U is the symbol for undecanol in the chromatograms.

生產及合成

1. 由 *Streptomyces griseus* LP-16 生產 *Geosmin* (9)

接種一線圈 (loopful) 的 *Streptomyces griseus* LP-16 土壤培養液到含50毫升 Soybean meal N2-aminemedium 的250毫升三角燒瓶中。(Soybean meal: "Central Flow-coated-49," Central soya, Bellevue, ohio, 10g; Commercial glucose-Cerelose, 20g; N-2 Amine A-Humko, Sheffield, Lyndhurst, N.J., 5g; NaCl, 5g; tap Water, 1 liter; PH before Sterillization, 7.5) 經過 28°C 振盪培養24小時後, 將10毫升的培養液接種到與上述相同培養基的三角燒瓶中, 然後再以相同的條件來培養, 如此則每升的培養液大概可產生 6 毫克的 *geosmin*。

2. 由 *Streptomyces* sp CWW3 生產 *Geosmin* 及 MIB (10)

將含有 *Streptomyces* sp CWW3 的土壤接種到含 50 ml yeast-dextrose broth 的250毫升三角燒瓶中, 在 28°C 以迴轉振盪 (200 rpm) 培養24小時後將培養液均分於含 yeast-dextrose broth 的14個250毫升的三角燒瓶中, 經過 28°C 振盪培養24小時後再平均分配於40個含250毫升 Soy-bean 的 2 升三角燒瓶中, 繼續在 28°C 行往覆式振盪培養 5 天, 最後將全部培養液收集一起在常壓下蒸餾至有 2 升的蒸餾液為止。

3. MIB 之合成 (1)

置 1.7 M 甲基鋰之乙醚溶液260毫升於三通的反應三角燒瓶中, 此三角燒瓶先以乾的氮氣吹乾, 並繼續通入氮氣以避免乙醚與空氣接觸, 將溶解60克 d-camphor 之80毫升乙醚一滴滴地加入反應三角燒瓶中, 以磁石攪拌器充分攪拌, 當 Camphor 滴加完全後再繼續攪拌 2 小時, 放置隔夜, 則此溶液將有白色沈澱, 此時加入400克的碎冰並以冰醋酸調整 PH 至6.0, 充分振盪混合待分層後收集乙醚層且以乙醚來多次萃取水層。將所有乙醚層混合並用無水硫酸鈉來去除水分後再去所有乙醚。

將乙醚殘留物置於200毫升乙醇中並加入40% NH₄OH 水溶液100毫升及64% NaOH 水溶液100毫升, 此溶液加熱迴流 8 小時並靜置過夜後加入200毫升的水, 接着用正己烷萃取兩次 (每次100毫升), 然後先以 2-N 的 NaOH 溶液洗正己烷溶液 15 次 (每次 500 毫升), 最後再用水洗 2 次 (每次50 毫升), 此正己烷溶液再以無水硫酸鈉除去水份, 並減壓濃縮去除正己烷, 則可得到 24.87 克左右之 MIB。

REFERENCES

1. N.F. Wood and V.L. Snoeyink, 2-Methylisoborneol, Improved Synthesis and Aquantitative Gas Chromatographic Method for Trace Concentrations Producing Odor in Water, Journal of chromatography, 132 (1977) 405-420.
2. M. Yurkowski and Jo-Anne L. Tabachek, Geosmin and 2-Methylisoborneol Implicated as a Cause of Muddy Odor and Flavor in Commercial Fish from Cedar Lake, Manitoba. Can J. Fish. Aquat. Sci. Vol. 37, 1980.
3. Per-Edvin Persson, The Source of Muddy Odor in Bream (*Abramis brama* from the porvoo Sea Area (Gulf of Finland), J. Fish. Res. Board can., Vol. 36, 1979.
4. Tabachek, J. L., and M. Yurkowski. 1976. Isolation and identification of blue-green algae producing muddy odor metabolites geosmin and 2-methylisoborneol in saline lakes in Manitoba. J. Fish. Res. Board Can. 33: 25-35.
5. Vajadic, A. H. 1968. The isolation and enumeration of actinomycetes from water

- samples. Ontario Wat. Resources.
6. Ron G. Buttery John A. Garibaldi. Geosmin and Methylisoborneol in Garden Soil, J. Agric. Food Chem. Vol. 24. No. 6. 1976.
 7. Lucia D. Tyler Terry E. Acree Richard R. Nelson Robert M Butts, Determination of Geosmin in Beet Juice by Gas chromatography. J. Agric. Food chem. Vol. 26, No. 3, 1978.
 8. Per-Edvin Persson, Sensory Properties and Analysis of Two Muddy Odour Compounds, Geosmin and 2-Methyl-isobornel, in Water and Fish. Water Research Vol 14. pp. 1113-1118.
 9. Nancy N. Gerber an H.A. Lechevalier, Production of Geosmin in Fermentors and Extraction with an Ion-Exchange Resin, Applied and Environmental. Microbiology. Dec. 1977. Vol. 34. No.6: p. 857-858.
 10. Nancy N. Gerber, Microbiological production of Geosmin. Environmetal Protection Technology Series. Epa-67012-74-094 November 1974.