

稻秆浸泡化学组分变化对抑制球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*) 生长的影响

杨维东, 高 洁, 刘洁生*, 谢小东

(暨南大学生物工程学系, 广州 510632)

摘要: 设置涉及灭菌与否、通气与否和光照与否等的 8 个浸泡条件, 考查和比较了不同条件浸泡下获得的浸出液的抑藻作用和化学成分, 以明确微生物、光照和通气情况对秸秆抑制藻类生长的影响, 揭示秸秆抑藻的化学基础。研究发现, 不同条件浸泡后获得的浸出液的抑藻作用存在很大差别, 浸出液化学成分也有显著不同。即使浸泡条件相同, 随着浸泡时间的延长, 抑藻作用和化学成分也会发生很大变化。未灭菌组、通气组和光照组的抑藻作用并不一定强于相应的灭菌组、不通气组和避光组。提示微生物、光照和通气并非一定能够促进秸秆的抑藻作用, 秸秆中抑藻物质的释放和产生是多个因素综合作用的结果, 单一因素对秸秆抑藻作用的影响要受其他因素的干扰。绝大部分抑藻作用强的浸出液中脂肪酸、酚酸类物质含量比较高, 但有些浸出液抑藻作用强, 但脂肪酸、酚酸类物质含量并不高; 有些浸出液抑藻作用很弱, 但脂肪酸、酚酸类物质含量很高。这些结果提示, 脂肪酸、酚酸类物质在稻秆抑制藻类生长中扮演重要作用。除了脂肪酸和酚酸类物质外, 稻秆自身或稻秆降解过程中还可产生其他可以显著抑制和促进藻类生长的物质。

关键词: 赤潮; 球形棕囊藻; 秸秆; 脂肪酸; 酚酸

文章编号: 1000-0933(2007)12-5184-09 中图分类号: X524, Q945.79 文献标识码: A

Inhibitory Effects on *Phaeocystis globosa* and Chemical Composition of Extracts from Straws under Different Conditions

YANG Wei-Dong, GAO Jie, LIU Jie-Sheng*, XIE Xiao-Dong

Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou 510632, China

Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(12): 5184 ~ 5192.

Abstract: To learn the effects of microorganism, light and aeration action on the inhibition of straws on HABs algae and explore the chemical composition related to the inhibition, eight conditions involved in autoclaved or not, airproof or oraerated, light or dark were set up, and chemical compositions and inhibitory effects of extracts obtained under these eight conditions on the growth of *Phaeocystis globosa* were analyzed. The results showed that the antialgal activities and components of extracts under various conditions were different. Even for the extracts under the same conditions, significantly changes in inhibitory action and components were shown with the development of soakage. The extracts obtained under the not-autoclaved, oraerated and light conditions, respectively had not always higher inhibitory activities than those obtained under the autoclaved, airproof and dark conditions. These suggested that microorganism, light and

基金项目: 国家重点基础研究发展规划 973 资助项目(2001CB409710); 广东省科技计划资助项目(2004B20501007)

收稿日期: 2006-09-04; **修订日期:** 2007-09-18

作者简介: 杨维东(1967~), 男, 甘肃天水人, 博士, 教授, 主要从事功能生物分子与毒理学研究。

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: tywd@jnu.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by the National Basic Research Program of China (No. 2001CB409710) and the Science and Technology Program of Guangdong Province (No. 2004B20501007)

Received date: 2006-09-04; **Accepted date:** 2007-09-18

Biography: YANG Wei-Dong, Ph. D., Professor, mainly engaged in functional molecule and toxicology.

aeration action had important roles in the inhibition of straws, which were responsible for the differences in inhibitory action and components of extracts under the different conditions. However, microorganism, light and aeration action, respectively, did not always facilitate the inhibition. In most extracts with high antialgal activities, the levels in phenols and fatty acids were higher. However, in some cases, the extracts with lower phenols and fatty acids had high antialgal activities, whereas the extracts with weak antialgal activities had high levels of phenols and fatty acids. These indicated that phenols and fatty acids maybe played an important role in the inhibitory effect of straw, and that some algal promoters and algaecides other than phenols and fatty acids, existed in extracts.

Key Words: harmful algal blooms (HAB); straw; *Phaeocystis globosa*; phenol; fatty acid

秸秆抑制藻类生长的机理目前并不清楚,这是限制和影响秸秆大范围运用的瓶颈和主要原因^[1~3]。目前大部分学者认为,大麦秸的抑藻作用可能来源于秸秆中存在的化学物质,但这种物质是秸秆中固有的,还是秸秆在微生物作用下降解所产生的尚有很大争议。Ball 等^[3]发现,新鲜大麦秸的萃取液不会抑制 *Microcystis* 的生长,但降解大麦秸的萃取液却表现出很强的抑制作用,因而提出,微生物降解是大麦秸发挥抑藻作用所必须的。然而,Ridge 等却指出,未经降解的秸秆也有抑藻作用,微生物降解并非必不可少^[4]。秸秆的抑藻作用与单宁有关,降解过程增加通气量和秸秆的适宜切割均可显著增加抑藻效果。由于单宁在弱碱性条件下极易自氧化,因此含有单宁的生物材料的抑藻活性更可能来自氧化酚^[5]。Everall 等^[2]的现场实验指出,秸秆的抑藻作用可能类似“鸡尾酒”,是多种酚酸类物质,特别是氧化酚协同作用的结果,高温、通氧有利于大麦秸浸出抑藻有效成分^[6]。也有人提出醌进一步氧化生成的腐殖酸在阳光下产生的过氧化氢是秸秆抑制藻类生长的主要原因,然而这并不能解释黑暗中秸秆的强抑藻活性。显然,微生物、通气情况和光照对秸秆的抑藻作用有重要影响。

球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa* Scherffel) 是一种常见有害赤潮藻类。高洁等^[7]研究发现,小麦秆、稻秆可有效抑制球形棕囊藻的生长,抑藻活性成分可能是其抑藻的主要原因。本文以球形棕囊藻为材料,设置涉及灭菌与否、通气与否和光照与否等的 8 个浸泡条件,通过不同条件浸泡下获得的浸出液的抑藻作用和化学成分的考生和比较等,分析微生物、光照和通气情况对秸秆抑制藻类生长的影响,探讨秸秆抑藻的化学基础。

1 材料与方法

1.1 材料

将收割后的稻秆剪成 2 cm 长的小段,一部分灭菌、烘干,一部分常温干燥放置,使用前烘干。

实验用球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*) 汕头株由暨南大学吕颂辉博士提供,1997 年 7 月采自饶平海域。置于温度为 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照强度为 4000 lx,光暗比为 12 h:12 h 的光照人工气候培养箱中培养。培养基为盐度 33 的人工海水配成的 f/2 培养基。

2 实验方法

2.1 稻秆浸泡条件

取 10 g 稻草,浸泡于 200 ml 蒸馏水中,浸泡条件分别为:① 无菌、厌氧、光照;② 有菌、厌氧、光照;③ 无菌、有氧、光照;④ 有菌、有氧、光照;⑤ 无菌、厌氧、避光;⑥ 有菌、厌氧、避光;⑦ 无菌、有氧、避光;⑧ 有菌、有氧、避光。温度为 25°C ,光照强度为 4000 lx,光暗比为 12 h:12 h。分 3 批浸泡,浸泡时间分别为 1 个月、3 个月和 6 个月。浸泡结束后,浸出液用滤纸过滤去除稻秆颗粒,0.2 μm 一次性过滤器除掉微生物,放入灭菌烘干的棕色试剂瓶中备用。

2.2 稻秆浸出液抑藻实验

向系列灭菌烘干的三角烧瓶中,分别加入不同条件下浸泡所得的稻秆浸出液 2 ~ 20 ml,加入浸泡液相当于加入稻秆分别为 1、3、5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。蒸馏水补足到 20 ml,加入 20 ml 2 倍浓度的 f/2 培养基(含 0.2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES,调 pH 至 7.0)和 60 ml 浓缩藻细胞悬液,得到 100 ml 细胞密度在 2×10^5 个 L^{-1} 的藻细胞

悬液。光照人工气候箱培养,每组设3个平行。每天取样,采用荧光强度法确定藻细胞密度,计算4 d的平均抑制率。根据不同浓度浸泡液的抑制率,推算出抑制率为80%时加入浸泡液的终浓度,比较不同条件下浸泡所得浸出液的抑藻效果。

$$\text{抑制率}(\%) = (\text{对照组藻密度} - \text{实验组藻密度}) / \text{对照组藻密度} \times 100\%$$

2.3 浸出液总酚含量的测定

总酚含量以槲酸为标准,采用改进的普鲁士兰法测定^[8]。

2.4 浸出液的气相色谱-质谱(GC-MS)分析

稻秆浸出液活性化学成分的测定,参照 Zhu & Mallik^[9]的方法。取稻秆浸出液 80 ml,用 2 mol·L⁻¹ NaOH 溶液调 pH 至 12.0 以上,此时酚酸类物质转化为盐、溶解性增大。碱性抽提液 12000 g 离心 10 min,上清液用 80 ml 正己烷洗涤 3 次,去除酯类杂质。水层用 2 mol·L⁻¹ HCl 调 pH 至 3.0 以上,再用 80 ml 乙酸乙酯洗 4 次。收集乙酸乙酯溶剂层,加入无水 Na₂SO₄粉末干燥。39 °C 旋转蒸发除去乙酸乙酯,加 2 ml 甲醇溶解,玻璃瓶收集、锡纸包裹避光封存。

检测时,N₂气吹干甲醇抽提液,加入 0.5 ml 的 N,O-双(三甲基硅基)三氟乙酰胺(BSTFA)反应 30 min 后待测。色谱检测条件:炉温 50 °C 保持 2 min,程序升温 6 °C·min⁻¹,270 °C 保持 10 min;传输线温度为 250 °C;PTV 进样口初始温度为 44 °C,程序升温 14.5 °C·min⁻¹,到 280 °C 保持 1 min。载气为氦气,载气速率为 1.0 ml·s⁻¹。色谱柱 DB-5:内径 0.25 mm,高度 30 m,涂层厚度 0.25 μm。质谱检测条件:电压为 70 eV,离子源温度 200 °C,采用全扫描方式,扫描范围为 20 ~ 50 amu,溶剂延迟为 4.80 min。检测结果用 NIST 2.0/ EPA/ NIH 质谱标准谱库进行检索,根据正、反检索值的高低及相似性,确定化合物的结构,用面积归一化法计算化合物的相对含量。

3 实验结果

3.1 不同条件下浸泡所得浸出液的抑藻作用

不同条件下浸泡获得的稻秆浸出液对球形棕囊藻细胞生长的影响明显不同。为比较不同条件下浸泡所得浸出液的抑藻效果,根据不同浓度浸出液的抑制率,推算出抑藻率达到80%时浸出液的终浓度(相当于加入稻秆的量),如表1所示。可以看出,1个月浸泡组中,无菌厌氧避光(⑤)和有菌厌氧避光(⑥)组抑藻作用最强;3个月浸泡组中,无菌厌氧光照(①)和无菌厌氧避光(⑤)组抑藻作用最强;6个月浸泡组中有菌厌氧光照(②)和有菌厌氧避光(⑥)组抑藻作用最强;在所有实验组中,有菌厌氧避光(⑥)和无菌有氧避光(⑦)3个月浸泡组抑藻作用最弱,在实验浓度范围内对藻的生长没有抑制作用。

表1 抑藻率达到80%时应加入稻秆浸出液的终浓度(g·L⁻¹)

Table 1 The dose of rice straw extracts when the inhibition ratio was 80%

编号 No.	处理条件 Soakage conditions	浸泡时间(月) Soakage time(month)		
		1	3	6
1	无菌、厌氧、光照 Autoclaved, airproof and light	7.9	5.5	11.2
2	有菌、厌氧、光照 Not-autoclaved, airproof and light	9.0	16.5	4.2
3	无菌、有氧、光照 Autoclaved, oraerated and light	8.3	12.1	11.5
4	有菌、有氧、光照 Not-autoclaved, oraerated and light	9.0	14.2	10.4
5	无菌、厌氧、避光 Autoclaved, airproof and dark	6.1	5.7	11.2
6	有菌、厌氧、避光 Not-autoclaved, airproof and dark	4.1	—	4.1
7	无菌、有氧、避光 Autoclaved, oraerated and dark	15.1	—	14.0
8	有菌、有氧、避光 Not-autoclaved, oraerated and dark	9.2	13.6	11.4

3.2 稻秆浸出液的总酚含量

稻秆浸出液总酚含量结果显示,不同条件下浸泡获得的浸出液总酚含量差异很大,含量在 10 ~ 60 ng·L⁻¹ GA 范围波动。1个月浸泡组中,无菌厌氧避光(⑤)和无菌有氧避光(⑦)组最高;3个月浸泡组中,无菌厌氧

光照(①)和无菌厌氧避光(⑤)组最高;6个月浸泡组中无菌有氧光照组(③)最高。整体上,浸泡6个月组含量较低,而3个月组含量较高,其中,6个月组有菌厌氧光照(②)和无菌有氧避光(⑦)组最少。可以看出,总酚含量与抑藻作用间并无相关性。

3.3 浸出液的气相色谱-质谱(GC-MS)分析

不同条件浸泡1个月、3个月、6个月稻秆浸出液的化学组分及其相对含量如表2~表4所示,表中1~8分别代表8种处理条件(表2)。

表2 不同条件浸泡1个月时获得的稻秆浸出液的化学组分及相对含量
Table 2 Identified components in straw extracts under different soakage conditions for 1 month

类别 Sort	化合物 Components	相对含量 Area (%) Relative content							
		1	2	3	4	5	6	7	8
醇 Alcohols	乙二醇 Ethylene glycol		1.68		0.11	0.35		2.31	
	丙三醇 Propanetriol	0.89	2.75	1.57	0.68	0.70		2.59	0.22
	2-甲基丁醇 2-Methylbutyl alcohol								3.46
	2-羟基丁醇 2-Hydroxybutyl alcohol					0.32	30.10		
	异丙醇 2-Propanol		1.73						
	2-羟基丙醇 2-Hydroxypropanol		1.82						
	3-羟基-2-甲基丙醇 3-Hydroxy-2-methylpropanol		1.77				5.85		0.14
	4-羟基-2-甲基丙醇 4-Hydroxy-2-methylpropanol						17.11		9.85
	3-甲氧基-4-羟基丙醇 3-Methoxy-4-hydroxypropanol						0.25		
	对羟基苯丙醇 4-Hydroxyphenylpropyl alcohol						4.97		
	小计 Subtotal	0.89	9.75	1.57	0.79	1.37	58.28	4.90	13.67
脂肪酸 Fatty acids	2-甲基丙酸 2-Methylpropanoic acid		1.55		3.28		10.77		7.25
	2-甲基丁酸 2-Methylbutyric acid		0.66				0.32		0.91
	3-甲基丁酸 3-Methylbutyric acid				2.48		0.44		
	戊酸 Penanoic acid				1.92		1.87		0.82
	己酸 Caproic acid		7.67		2.93				1.07
	十四酸 Myristic acid		5.19	2.91	5.88	3.03	1.39		1.99
	十六酸 Palmitic acid	2.17	1.11	1.97	7.12	2.27	0.94		1.46
	十六烯酸 Hexadecenoic acid				2.15				
	十八酸 Stearic acid	1.43	2.39	1.10	3.16	1.69	0.74		0.95
	9-十八烯酸 9-Octadecenoic acid				5.08				
	丁二酸 Butanedioic acid	4.02		6.14		4.74	0.07	5.48	
	丁二烯酸 Butanedieneic acid	0.64		0.71		1.48			
	戊二酸 Pentanedioic acid		1.06						
	辛二酸 Octane diacid			1.10	0.90				
	壬二酸 Azelaic acid	1.30	1.06	0.55	1.59	1.29	0.21		1.30
	2-呋喃甲酸 2-Furancarboxylic acid			0.71		0.62		3.17	
	2-呋喃乙酸 2-Furanacetic acid					1.09			
	D-阿拉伯糖酸 D-Arabitic acid			4.01					
	十六酸甘油酯 Hexadecanoic acid glyceride	0.53	1.24	0.71	1.58	1.52	0.39		0.59
	十八酸甘油酯 Stearic acid glyceride		0.66	0.47	0.90	1.21	0.27		0.75
	小计 Subtotal	10.08	22.60	20.38	38.97	18.73	17.41	8.65	17.11
羟基羧酸 Hydroxy Carboxylic acid	2-羟基乙酸 2-Hydroxyacetic acid	10.48		9.36		8.11		2.02	
	5-羟基乙酸 5-Hydroxyacetic acid						0.42		
	2-羟基丙酸 2-Hydroxypropanoic acid	4.50	1.15	4.09				3.17	
	3-羟基丙酸 3-Hydroxypropanoic acid	2.37		3.62		3.14		2.31	
	2,3-二羟基丙酸 2,3-Dihydroxypropanoic acid	1.13		1.26		1.07			

续表

类别 Sort	化合物 Components	相对含量 Area (%) Relative content							
		1	2	3	4	5	6	7	8
酚类 Phenols	3-羟基丁酸 3-Hydroxybutanoic acid		0.98						
	2-羟基-3-甲基丁酸 2-Hydroxy-3-methylbutanoic acid							3.75	1.59
	3-羟基-3-甲基丁酸 3-Hydroxy-3-methylbutanoic acid								0.09
	3,4-二羟基丁酸 3,4-Dihydroxybutanoic acid					0.48			
	2-羟基丁二酸 2-Hydroxybutanedioic acid	3.32		2.60		3.61			
	2-羟基戊酸 2-Hydroxypentanoic acid						0.48		1.72
	5-羟基戊酸 5-Hydroxypentanoic acid		1.86		1.24		0.24		
	2-羟基-3-甲基戊酸 2-Hydroxy-3-methylpentanoic acid						1.16		
	2-羟基-4-甲基戊酸 2-Hydroxy-4-methylpentanoic acid						4.97		
	2-羟基己酸 2-Hydroxycaproic acid							3.46	
	3-羟基己酸 3-Hydroxycaproic acid						0.05		0.52
	3-羟基十四酸 3-Hydroxymyristic acid						0.21		
	5-羟甲基呋喃甲酸 5-Hydroxymethyl furancarboxylic acid					0.88			
	小计 Subtotal	21.79	3.99	20.93	1.24	17.28	7.53	14.70	3.92
	苯酚 Phenyl hydrate				0.11				
	苯甲酸 Benzoic acid	1.79	2.70	3.15	2.60	0.62	0.12	4.03	1.05
	苯乙酸 Phenylacetic acid		6.07		23.39		1.69	1.73	
	苯丙酸 Phenylpropionic acid		4.43						0.32
	邻羟基苯甲酸 2-Hydroxybenzoic acid	1.82		2.60		2.30			
	对羟基苯甲酸 4-Hydroxybenzoic acid	1.90		0.16		6.85	3.02		
	对羟基苯甲醛 <i>p</i> -Hydroxybenzaldehyde	4.59		6.29					
	香草酸 Vanillic acid	1.57		1.97	1.69	8.43			
	香草醛 Vanillin	2.99		2.99		1.28	0.34		
	丁香酸 Syringic acid					0.93			
	对羟基苯乙酸 <i>p</i> -Hydroxyphenylacetic acid		6.87	0.24	0.56		3.76		
	邻羟基苯丙酸 2-Hydroxyphenylpropionic acid						3.06		
	间羟基苯丙酸 3-Hydroxyphenylpropionic acid		6.91		6.21				
	对羟基苯丙酸 <i>p</i> -Hydroxyphenylpropionic acid		3.50						0.48
	3-甲氧基-4-羟基苯丙酸 3-Methoxy-4-hydroxyphenylpropionic acid						0.01		
	<i>p</i> -香豆酸 <i>p</i> -Cinnamic acid	8.74		10.94	0.68	13.84	0.26		0.86
	阿魏酸 Ferulic acid	0.50					0.32		
	小计 Subtotal	23.91	30.50	28.33	35.25	34.24	12.58	5.76	2.71
其他 Other	9-十八碳烯酰胺 9-Octadecenamide								1.18
	长链烷烃和醇 Long-chain alkanes and alcohols	43.33	33.16	28.80	23.72	28.07	4.20	65.99	58.98
总计 Total		100	100	100	100	100	100	100	100

从表 1 可知,1 月处理组中,抑藻作用最弱的是无菌有氧避光组浸出液(⑦),最强的为有菌厌氧避光组和无菌厌氧避光组浸出液(⑤⑥)。对比发现,⑦组中脂肪酸和酚酸类物质含量很低,缺少十六酸、十八酸、壬二酸、*p*-香豆酸、十六酸甘油酯和十八酸甘油酯等成分;与此相反,⑤⑥组中脂肪酸和酚酸类物质含量均比较高,存在十四酸、十六酸、十八酸、壬二酸、香草醛、*p*-香豆酸等物质。浸出液⑥中含有大量醇类化合物,占 58.28%。

3 个月浸泡组中,无菌厌氧光照(①)和无菌厌氧避光组(⑤)抑藻作用最强,有菌厌氧避光(⑥)和无菌有氧避光组(⑦)抑藻作用最弱。从表 3 可看出,①组羟基羧酸类物质含量比较高,包括 5-羟基呋喃甲酸等;⑤组酚酸类物质含量比较高,包括间甲基苯酚、2,5-二叔丁基苯酚、苯乙酸等。⑥和⑦组脂肪酸含量较高,⑦组

酚酸类物质含量也比较高。包括十四酸、十六酸、十八酸、2,6-二叔丁基对甲酚、苯乙酸等。

表 3 不同条件浸泡 3 个月时获得的稻秆浸出液的化学组分及相对含量

Table 3 Identified components in straw extracts under different soakage conditions for 3 month

类别 Sort	化合物 Components	相对含量 Area Relative content(%)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
醇	丙二醇 Ethylene glycol		9.57						
Alcohols	3-羟基-2-甲基丙醇 3-Hydroxy-2-methylpropanol					2.00			
	苯甲醇 Benzyl alcohol					1.30			
	小计 Subtotal		9.57			3.30			
脂肪酸	戊酸 Penanoic acid							1.56	
Fatty acids	己酸 Caproic acid					4.14			
	辛酸 Caprylic acid		0.28						
	十四酸 Myristic acid		7.90	1.99	9.28		4.48	3.65	
	十六酸 Palmitic acid		6.54	4.01	6.33	3.63	2.99	3.65	
	十八酸 Stearic acid		4.35		4.07		2.49	1.56	
	9-十八碳烯酸(油酸) 9-Octadecenoic acid					0.68		2.60	
	丁二酸 Butanedioic acid	1.06							
	2-呋喃甲酸 2-Furancarboxylic acid	2.79				1.78			
	2-呋喃乙酸 2-Furanacetic acid	3.94							
	十六酸甘油酯 Hexadecanoic acid glyceride		1.18		3.84		2.99	2.60	
	十八酸甘油酯 Stearic acid glyceride		1.03				2.49	6.25	
	小计 Subtotal	3.85	21.28	5.99	23.52	8.45	15.43	21.87	
羟基羧酸	3-羟基丙酸 3-Hydroxypropanoic acid	1.01							
Hydroxyl	2-羟基己酸 2-Hydroxycaproic acid	2.62							
Carboxylic acids	2-羟基-3-甲基丁酸 2-Hydroxy-3-methylbutanoic acid	1.06							
	3-羟基癸酸 3-Hydroxycapric acid							1.04	
	5-羟甲基呋喃甲酸 5-Hydroxymethyl furancarboxylic acid	1.42							
	小计 Subtotal	6.11						1.04	
酚类	苯酚 Phenyl hydrate		0.44						
Phenols	间甲基苯酚 m-Cresol					2.03		0.52	
	2,5-二叔丁基苯酚 2,5-Diterbutyl phenol			2.30		1.47			
	2,6-二叔丁基对甲酚 2,6-Diterbutyl hydroxytoluene		1.87					3.13	0.64
	苯甲酸 Benzoic acid		1.14			0.87		1.04	
	对羟基苯甲酸 4-Hydroxybenzoic acid	0.59	0.19						
	香草醛 Vanillin							1.56	
	对羟基苯甲醛 p-Hydroxybenzaldehyde				1.03			1.04	
	苯乙酸 Phenylacetic acid	0.55				4.00		4.69	
	苯丙酸 Phenylpropionic acid		1.11			5.86		2.60	
	对羟基苯丙酸 p-Hydroxyphenylpropionic acid	0.47							
	间羟基苯丙酸 m-Hydroxyphenylpropionic acid							1.04	
	p-香豆酸 p-Cinnamic acid			0.84	6.01		1.49		
	小计 Subtotal	1.61	5.69	3.14	9.53	14.23	1.49	15.63	0.64
其他	乙胺 Ethylamine		0.71						
Others	对羟基苯乙胺 p-Hydroxyphenethylamine			2.43					
	长链烷烃和醇 Long-chain alkanes and alcohols	84.48	68.00	88.44	68.33	72.24	83.08	61.46	99.36
总计 Total		100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

表 4 不同条件浸泡 6 个月时获得的稻秆浸出液的化学组分及相对含量

Table 4 Identified components in straw extracts under different soakage conditions for 6 month

类别 Sort	化合物 Components	相对含量 Area Relative content(%)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
醇	乙二醇 Ethylene glycol				1.89				
Alcohols	丙三醇 Propanetriol			1.33			0.18		0.67
	1-甲基-1,2-丙二醇 1-Methyl-1,2-ethylene glycol	1.18							
	小计 Subtotal	1.18		1.33	1.89		0.18		0.67
脂肪酸	1-氢吲哚乙酸 1-Hydroindoleacetic acid						1.03		
Fatty acids	2-甲基丙酸 2-Methylpropanoic acid		8.54				2.29		
	3-甲基丁酸 3-Methylbutyric acid			1.59					
	戊酸 Penanoic acid						1.10		
	己酸 Caproic acid	1.49	25.78				23.34		0.7
	十四酸 Myristic acid	7.91			11.21	5.60	2.64		10.58
	十六酸 Palmitic acid	4.63		2.97	7.93	3.75	1.83	1.39	5.45
	十八酸 Stearic acid	0.18		1.92	4.03	2.52	1.32		
	戊二酸 Pentanedioic acid		1.48				1.34		
	壬二酸 Azelaic acid	2.01					1.13		
	2-呋喃甲酸 2-Furancarboxylic acid	0.66							
	十六酸甘油酯 Hexadecanoic acid glyceride	2.41			5.04	4.23			
	十八酸甘油酯 Stearic acid glyceride	1.77			3.78	5.13	0.77		
	小计 Subtotal	21.06	35.80	6.48	31.99	21.22	36.79	1.39	16.73
羟基羧酸	3-羟基乙酸 3-Hydroxyacetic acid						0.50		
Hydroxyl	2-羟基丙酸 2-Hydroxypropanoic acid	6.66							0.21
carboxylic	3-羟基丁酸 3-Hydroxybutanoic acid		2.28				0.96		
acids	4-羟基丁酸 4-Hydroxybutanoic acid						1.17		
	5-羟基戊酸 5-Hydroxypenanoic acid						0.25		
	3-羟基癸酸 3-Hydroxycapric acid								0.55
	小计 Subtotal	6.66	2.28				2.88		0.76
酚类	苯酚 Phenyl hydrate	1.02		1.16		0.95			
Phenols	对甲基苯酚 4-Methylphenol		1.17				0.61		
	2,5-二叔丁基苯酚 2,5-Diterbutyl phenol	1.46	1.36	1.85					
	3,5-二甲基苯酚 3,5-Dimethylphenol	0.91				1.78			
	2,6-二叔丁基对甲酚 2,6-Diterbutyl hydroxytoluene				2.64				1.91
	苯甲酸 Benzoic acid	1.19				1.46			
	对羟基苯甲醛 <i>p</i> -Hydroxybenzaldehyde		0.85						0.68
	对羟基苯甲酸 4-Hydroxybenzoic acid								8.14
	香草酸 Vanillic acid								16.22
	苯乙酸 Phenylacetic acid	0.51	5.45			1.41	3.59		0.19
	对羟基苯乙酸 <i>p</i> -Hydroxyphenylacetic acid	0.90					26.37		
	邻羟基苯羟乙酸 <i>m</i> -Hydroxymandelic acid	0.17							
	苯丙酸 Phenylpropionic acid	0.42	3.43			11.68	3.66		0.21
	间羟基苯丙酸 <i>m</i> -Hydroxyphenylpropionic acid					6.78			1.76
	对羟基苯丙酸 <i>p</i> -Hydroxyphenylpropionic acid	22.60					8.36		
	<i>p</i> -香豆酸 <i>p</i> -Cinnamic acid	0.78							1.17
	小计 Subtotal	29.96	12.27	3.02	2.64	24.05	42.59		30.28
其他	9-十八碳烯酰胺 9-Octadecenamide	0.98					1.11		
Others	2-乙基吡啶酮 2-Ethylacridone	5.80				5.48			0.68
	长链烷烃和醇 Long-chain alkanes and alcohols	34.36	49.65	89.17	63.48	49.24	16.45	98.61	50.85
总计 Total		100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

6 个月浸泡组中,有菌厌氧光照(②)和有菌厌氧避光(⑥)抑藻作用最强,无菌有氧避光组(⑦)抑藻作用最弱。对比发现,②和⑥组脂肪酸含量很高,⑥组酚酸类物质也很高,包括十四酸、十六酸、对羟基苯乙酸、对羟基苯丙酸等;⑦组酚类物质含量没有检出,主要由烷烃和少量脂肪酸等组成。

4 讨论

许多研究指出^[1~5],大麦秸的抑藻作用来源于秸秆中自然存在的或者秸秆降解过程中产生的化学物质。但由于现场水体环境的复杂性和不确定性,一直以来,人们对秸秆抑制藻类生长的化学基础看法不同。微生物、通气情况以及光照对秸秆抑藻作用影响的报道也不尽一致,甚至出现很多矛盾的结果。微生物是否为秸秆发挥抑藻作用所必须?通气是否总能增强秸秆的抑藻作用?光照对秸秆的抑藻作用是否会造成影响,目前均不十分清楚。为明确微生物、通气情况和光照对秸秆抑藻作用的影响,阐明秸秆抑藻的化学基础,本文设置 8 个浸泡条件,比较分析了不同条件浸泡下获得的浸出液的抑藻效果和化学成分,并分析了其间的关系。

研究发现,不同条件浸泡后获得的浸出液的抑藻作用存在很大差别,浸出液化学成分也有显著不同。即使浸泡条件相同,随着浸泡时间的延长,抑藻作用和化学成分也会发生很大变化。未灭菌组、通气组和光照组的抑藻作用并不一定强于相应的灭菌组、不通气组和避光组。提示微生物的存在并非一定能够促进浸出液化学物质的释放,光照也不一定有利于稻秆产生强抑藻物质,氧气对秸秆降解释放抑藻物质也因其他条件而异。微生物、光照和氧气对秸秆降解产生抑藻物质具有重要影响,抑藻物质的产生是多个因素综合作用的结果,单一因素对秸秆抑藻作用的影响要受其他因素的干扰。

进一步分析发现,1 个月浸泡组中抑藻作用最强的为有菌厌氧避光组和无菌厌氧避光组浸出液(⑤⑥),浸出液中脂肪酸和酚酸类物质含量比较高。3 个月浸泡组中,无菌厌氧光照(①)和无菌厌氧避光组(⑤)抑藻作用最强。①组羟基羧酸类物质含量比较高,⑤组酚酸类物质含量比较高。6 个月浸泡组中,有菌厌氧光照(②)和有菌厌氧避光(⑥)抑藻作用最强,浸出液中脂肪酸含量均很高,⑥组酚酸类物质也很高。可以看出,抑藻作用最强的浸出液中脂肪酸和(或)酚酸类物质的含量普遍比较高,提示脂肪酸和酚酸类物质在秸秆抑藻作用中扮演重要角色,这与 Everall 等的现场实验结果^[2]类似。Everall 等在现场秸秆抑藻实验中鉴定出多种抑藻活性成分,主要为长链脂肪酸和酚类物质,同时还有一定量的酮类等物质。而许多文献^[10, 11]指出,酚酸类和长链脂肪酸具有较强的抑制藻类生长的作用。

分析还发现,3 月浸泡组中有菌厌氧避光(⑥)和无菌有氧避光组(⑦)抑藻作用很弱,但脂肪酸和酚酸类物质含量并不低,说明浸泡液中可能存在一些可以促进藻类生长的物质,其作用抵消了脂肪酸和酚酸类物质的抑藻效果,从而表现出很低的抑藻效果。这可以部分地解释秸秆抑藻作用的一些负面报道^[6]。秸秆在浸泡过程中受环境因素影响可能会产生一些能够促进藻类生长的物质^[12]。

3 个月浸泡组中,无菌厌氧光照①组虽然抑藻作用很强,但浸出液中脂肪酸和酚酸类物质含量并不高,而羟基羧酸类物质含量很高,包括 5-羟基吡喃甲酸等。同时,实验各组总酚含量与浸出液抑藻作用间并无明显的相关性。说明除了脂肪酸和酚酸类物质外,秸秆中尚存在其他类型的抑藻物质。羟基羧酸可能具有抑制藻类生长的作用。

5 结论

不同条件浸泡下获得的稻秆浸出液的抑藻活性明显不同,其中的化学组分也有显著差别。微生物、光照和氧气对秸秆的抑藻作用有重要影响,抑藻物质的产生是多个因素综合作用的结果,单一因素对抑藻效果的影响要受其他因素的干扰,微生物、光照和氧气并非总是有利于抑藻活性物质的产生和释放。除了脂肪酸和酚酸类物质外,稻秆自身存在或者稻秆降解过程中可产生其他可以显著抑制或促进藻类生长的物质。

References:

- [1] Xu M, Bi Y H, Zhao X F, *et al.* The application of barley straw in controlling of algal bloom. *Acta Hydrobio Sin*, 2002, 26(6): 704—711
- [2] Everall N C, Lees D R. The identification and significance of chemicals released from decomposing barley straw during reservoir algal control. *Water Res*, 1997, 31(3): 614—620

- [3] Ball A S, Williams M, Vincent D, *et al.* Algal growth control by a barley straw extract. *Bioresour Technol*, 2001, 77: 177—181.
- [4] Ridge I, Pillinger J M. Towards understanding the nature of algal inhibitors from barley straw. *Hydrobiologia*, 1996, 340(1-3): 301—305.
- [5] Pillinger J M, Gilmour I, Ridge I. Comparison of antialgal activity of brown-rotted and white-rotted wood and *in situ* analysis of lignin. *J Chem Ecol*, 1995, 21(8): 1113—1125
- [6] Boylan J D, Morris J E. Limited effects of barley straw on algae and zooplankton in a Midwestern pond. *Lake Reservoir Management*, 2003, 19(3): 265—271
- [7] Gao J, Yang W D, Liu J S, *et al.* Studies on wheat straw to inhibit the growth of *Phaeocystis globosa*. *Mar Environm Sci*, 2005, 29(2): 5—8
- [8] Graham, H D. Stabilization of the Prussian blue color in the determination of polyphenols. *J Agric Food Chem*, 1992, 40: 801—80
- [9] Zhu H, Mallik A U. Interactions among *Kalmia* and black spruce: Isolation and identification of phenolic compounds from *Kalmia angustifolia*. *J Chem Ecol*, 1994, 20: 407—421
- [10] Nakai S, Inoue Y, Hosomi M. Algal growth inhibition effects and inducement modes by plant-producing phenols. *Water Res*, 2001, 35(7): 1855—1859.
- [11] Kamaya Y, Kurogi Y, Suzuki K. Acute toxicity of fatty acids to the freshwater green alga *Selenastrum capricornutum*. *Environ Toxicol*, 2003, 18(5): 289—294
- [12] Park M H, Han M S, Ahn C Y, *et al.* Growth inhibition of bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* by rice straw extract. *Let Appl Microbiol*, 2006, 43(3): 307—312.

参考文献:

- [1] 徐敏, 毕永红, 赵先富, 等. 大麦杆在控制水华藻类中的应用(综述). *水生生物学报*, 2002, 26(6): 704~711
- [7] 高洁, 杨维东, 刘洁生, 等. 利用小麦秸控制赤潮生物生长的研究. *海洋环境科学*, 2005, 29(2): 5~8