

Gemini1231 双季铵盐选择性抑制赤潮生物生长的实验

王修林¹, 李雁宾^{1,2}, 龚良玉³, 陆金仁¹, 韩秀荣¹, 祝陈坚¹

(1. 中国海洋大学化学化工学院, 青岛 266003; 2. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 青岛 266003; 3. 莱阳农学院理学院, 青岛 266109)

摘要:以甲藻门的东海原甲藻、塔玛亚历山大藻、裸甲藻, 黄藻门的赤潮异弯藻, 硅藻门的中肋骨条藻等典型赤潮生物以及绿藻门的青岛大扁藻和亚心形扁藻 2 种非赤潮生物为研究对象, 探讨了 Gemini1231 双季铵盐类表面活性剂的抑藻活性。结果表明, 该表面活性剂在较低浓度下 ($0.2 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 对东海原甲藻、塔玛亚历山大藻和赤潮异弯藻等赤潮生物的生长表现出了明显的抑制作用。当该双季铵盐的浓度增至 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上时, 对中肋骨条藻的生长也表现出了一定的抑制作用。而在相同浓度范围内, 对裸甲藻和所选用的 2 种非赤潮生物生长的影响不明显, 表现出了抑藻作用的选择性。对各海洋微藻的脂肪酸组成分析表明, 该表面活性剂的选择性抑藻作用与不同海洋微藻生物膜的脂肪酸组成, 尤其是其多不饱和脂肪酸的含量明显相关。

关键词: 赤潮生物; 双季铵盐; 表面活性剂; 抑藻活性; 选择性; 脂肪酸组成

中图分类号: X55 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2006)05-0862-07

Selective Algicidal Activity of Gemini1231 Biquaternary Ammonium Salt

WANG Xiu-lin¹, LI Yan-bin^{1,2}, GONG Liang-yu³, LU Jin-ren¹, HAN Xiu-rong¹, ZHU Chen-jian¹

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 3. School of Science, Laiyang Agricultural College, Qingdao 266109, China)

Abstract: The growth-inhibiting effects of Gemini1231 surfactant on *Prorocentrum donghaiense*, *Alexandrium tamarense*, *Gymnodinium* sp., *Heterosigma akashiwo*, *Skeletonema costatum*, *Platymonas helgolandica* and *Platymonas subcordiformis* were investigated. The results demonstrate that the growth of *P. donghaiense*, *A. tamarense* and *H. akashiwo* was strongly inhibited in medium containing Gemini1231 from 0.2 to $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and the *S. costatum* was also inhibited at concentrations above $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. However, the effects of this surfactant on the growth of *Gymnodinium* sp. and two beneficial green microalgae tested were negligible under the same treatment, indicating the potential for the selective control of red tide organisms. In addition, the analysis of the correlation between the inhibitory effect of the Gemini1231 on the algae tested and fatty acid composition of the algae implied that the differences in the fatty acid composition, especially the proportion of PUFAs, were responsible for the species-specific responses to biquaternary ammonium salt.

Key words: red tide organisms; biquaternary ammonium salt; surfactant; algicidal activity; selective; fatty acid composition

Gemini 表面活性剂是 80 年代以来开发的新型高性能表面活性剂, 其特点是具有多个亲水基和亲油基^[1]。由于其独特的结构特征使其较之传统的单烷基单亲水基阳离子表面活性剂具有更优异的表面活性, 目前已经成为表面活性剂研究的热点^[2]。这类季铵盐对革兰氏阴性菌具有很强的抑制作用^[3], 但对其抑藻活性的研究相对较少。曹西华和俞志明^[4]以及洪爱华等^[5]就单季铵盐类表面活性剂对赤潮生物的灭杀作用做了详细研究。双季铵盐对赤潮生物的灭杀作用研究工作也得到了初步开展^[6]。但上述研究均局限于季铵盐类表面活性剂对 1 种或 2 种赤潮生物的灭杀作用, 目前尚未见关于此类表面活性剂选择性抑藻作用及其机理的相关报道。

Gemini1231 季铵盐是由 2 个氯化十二烷基三甲基铵分子经连接基团连接而成, 与常规 1231 相比, 其临界胶束浓度低 1~3 个数量级, 表面活性大大提高, 具有优良的乳化、渗透以及杀菌性能。鉴于此, 本文着重讨论了 Gemini1231 季铵盐类阳离子表面活性剂对赤潮生物生长的选择性抑制作用, 并对其选择性抑藻机理进行了分析讨论, 以期开发 Gemini

收稿日期: 2005-04-28; 修订日期: 2005-07-06

基金项目: 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2001CB409703, 2002CB714008); 国家科技攻关项目 (2002BA904B06); 国家自然科学基金项目 (40136020, 40376033); 山东省自然科学基金项目 (1.2000E01); 国家教育部博士点基金项目 (20020423006); 教育部重点基金项目 (011110)

作者简介: 王修林 (1960~), 男, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为海洋环境化学, E-mail: xlwang@mail.ouc.edu.cn

表面活性剂在赤潮治理中的应用研究提供一定的理论依据及实践基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所选取的藻种为甲藻门的东海原甲藻(*P. donghaiense*)0201-01(由国家重点基础研究发展规划项目(2001CB409703)组提供)、塔玛亚历山大藻(*A. tamarensis*)、裸甲藻(*Gymnodinium* sp.),黄藻门的赤潮异弯藻(*H. akashiwo*),硅藻门的中肋骨条藻(*S. costatum*)以及绿藻门的青岛大扁藻(*P. helgolandica*)和亚心形扁藻(*P. subcordiforus*)(由中国海洋大学水产学院提供)。藻细胞在 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、3 000 lx 光照和 12h 光暗循环条件下,于不加硅 f/2 培养液中培养(其中中肋骨条藻采用加硅的 f/2 培养液中培养)。

Gemini1231 由河南省道纯化工技术有限公司提供。

1.2 实验方法

(1) Gemini1231 对微藻生长的影响 抑藻实验方法参考文献^[7]进行。首先,将长势良好的选定藻种按一定比例转接于含有 4L 上述 f/2 培养液的 5L 玻璃容器中,置于光照培养架上进行扩大和驯化培养(培养条件同上)。在藻细胞生长的延滞期(细胞密度约为 $10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$)分别将藻液以相同的体积(400mL)转移到已经灭菌处理的三角瓶(500mL)中,将浓度为 $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Gemini1231 母液按不同体积加入上述藻液中以达各设置的浓度梯度(0、0.1、0.2、0.25、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8、1.0、1.5、2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。摇匀后置于光照培养架上培养(培养条件同上),定时取样(约 10mL)。采用 MultisizerTM3 Coulter Counter 计数仪(Beckman Coulter 公司)进行细胞密度计数,绘制各藻类在 Gemini1231 作用下的生长曲线,以探讨该 Gemini 表面活性剂对各种海洋微藻生长的影响。

(2) 海洋微藻脂肪的提取和甲酯化 各海洋微藻培养至指数生长期(培养条件同上)离心收获。藻泥于冷冻干燥仪上(美国 LABCONCO 公司)冷冻干燥后索氏提取法^[8]提取得粗脂。在所提取的粗脂中加入皂化液(0.5mol/L KOH-甲醇)2mL 混匀,80℃ 水浴保温 30min 进行皂化。然后加入 14% 的三氟化硼-甲醇溶液 2mL,80℃ 水浴继续保温 50~60min 甲酯化。冷却后用 4mL 正己烷分 2 次萃取,合并 2 次吸出液,用 N_2 吹至 0.20~0.50mL 待气相分析。

(3) 脂肪酸甲酯的分析 用 GC6890-MS5973N 气质联用仪(美国 Agilent 公司)分析脂肪酸的种类及其含量。色谱柱:HP-5MS 石英毛细管柱,规格 $30\text{m} \times 0.25\text{mm} \times 0.25\mu\text{m}$ 。进样口温度:260℃,进样量 $1\mu\text{L}$,无分流。载气高纯 He,载气流速:1mL/min,程序升温:起始温度 100℃,以 $8^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 150℃ 保持 3min,然后以 $4^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 260℃ 保持 3min。离子化方式:EI(70eV);采集方式:扫描(scan);扫描质量数范围:43~550 u。以质谱库 NIST98 检索结果定性脂肪酸的种类。定量分析采用对各组分峰面积积分,用归一化法计算出脂肪酸组分的质量分数(以占脂肪酸总量的质量分数表示)。

2 结果与讨论

2.1 Gemini1231 对海洋微藻生长的影响

2.1.1 Gemini1231 对甲藻门几种赤潮生物生长的影响

不同浓度的 Gemini1231 对甲藻门的东海原甲藻、塔玛亚历山大藻和裸甲藻 3 种赤潮生物的生长影响如图 1 所示。由图 1 可知,该双季铵盐在较低浓度下(0.2~0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$),对东海原甲藻和塔玛亚历山大藻的生长表现出了明显的抑制作用,并且这种抑制作用随该双季铵盐浓度的增大而逐渐增强。对东海原甲藻而言,该双季铵盐的浓度为 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对该赤潮生物的生长即表现出了明显的抑制作用。在 2d 之内,对其生长的抑制率达到了 60% 以上。在 0.3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的该双季铵盐作用下,1d 后观测发现,该赤潮生物的细胞密度出现下降趋势,藻液由浅黄色变成近无色,继续培养数日也没有观察到藻细胞出现生长趋势,达到了完全抑制该赤潮生物生长的功效。该双季铵盐对塔玛亚历山大藻生长的抑制作用相对于对东海原甲藻生长的抑制作用要弱一些,当其浓度达到 0.3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对塔玛亚历山大藻生长的抑制作用才逐渐明显,但在 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上的该双季铵盐也能完全抑制该赤潮生物的生长。相比较而言,该双季铵盐对裸甲藻生长的抑制作用要弱得多。当该双季铵盐的浓度从 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 逐渐增加至 0.8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对该赤潮生物生长的影响均不明显。当其浓度增加至 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上时,才对该赤潮生物的生长表现出一定的抑制作用。但这种抑制作用也不太显著,甚至随时间的延长,抑制作用有减弱的趋势。以 1.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的该双季铵盐为例,当该双季铵盐对裸甲藻的作用时间从

5d 延长至 10d 时,其对裸甲藻生长的抑制率从 64% 降至 30%。可见,即使属于同一门类的赤潮生物,对 Gemini1231 作用的敏感程度也不尽相同。

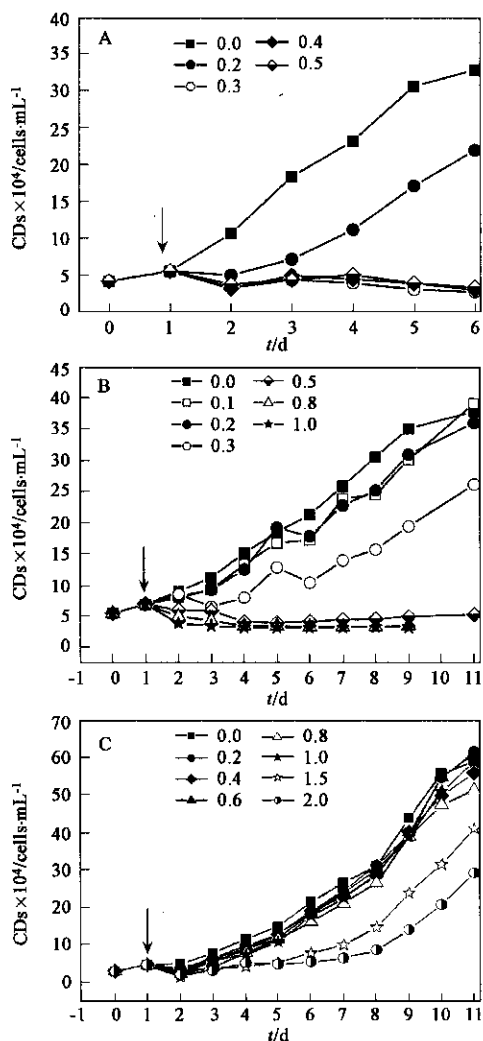


图 1 不同浓度 Gemini1231 作用下东海原甲藻(A), 塔玛亚历山大藻(B)和裸甲藻(C)的生长曲线 (箭头表示不同浓度的季铵盐加入藻液的时间)

Fig.1 Growth curves of *P. donghaiense* (A), *A. tamarensis* (B) and *Gymnodinium* sp. (C) in the presence of Gemini1231

(The arrow in the figures represent time when to algae cultures the biquaternary ammonium salt was added)

2.1.2 Gemini1231 对赤潮异湾藻和中肋骨条藻生长的影响

为了进一步探讨 Gemini1231 对分属不同门类赤潮生物生长影响的异同,我们又以黄藻门的赤潮异湾藻和硅藻门的中肋骨条藻为研究对象,探讨了该双季铵盐对这 2 种典型赤潮生物生长的影响,结果如图 2 所示。由图 2A 可知,当该双季铵盐的浓度达到 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对该赤潮生物的生长即表现出

了明显的抑制作用。2d 之内,抑制率已经接近 60%。当该双季铵盐的浓度达到 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上时,该赤潮生物已经基本不再生长。结果表明,黄藻门的赤潮异湾藻对 Gemini1231 作用的敏感程度与甲藻门的东海原甲藻相仿。由图 2B 可知, $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Gemini1231 对中肋骨条藻的生长表现出了一定的抑制作用, $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Gemini1231 则能显著抑制中肋骨条藻的生长,这种抑制作用在实验前期尤为明显。当该双季铵盐的浓度达到 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,该赤潮生物也不再生长,达到了完全抑制其生长的功效。可见, Gemini1231 对硅藻门的中肋骨条藻生长的抑制作用弱于对甲藻门的东海原甲藻和塔玛亚历山大藻生长的抑制作用,但强于对甲藻门的裸甲藻生长的抑制作用。

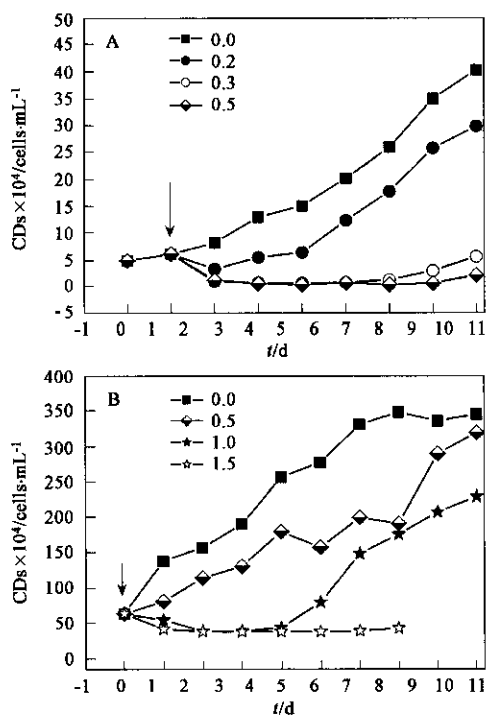


图 2 不同浓度 Gemini1231 作用下赤潮异湾藻(A) 和中肋骨条藻(B)的生长曲线 (箭头表示不同浓度的季铵盐加入藻液的时间)

Fig.2 Growth curves of *H. akashiwo* (A) and *S. costatum* (B) in the presence of Gemini1231 (The arrow in the figures represent time when to algae cultures the biquaternary ammonium salt was added)

2.1.3 Gemini1231 对绿藻门浮游植物生长的影响

实验中同时分析了 Gemini1231 对绿藻门的青岛大扁藻和亚心形扁藻 2 种非赤潮生物生长的影响,结果如图 3 所示。由图可知,当该双季铵盐的浓度低于 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对 2 种绿藻生长的影响均不

明显,对青岛大扁藻而言,即使该双季铵盐的浓度增加到 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,对该绿藻生长的抑制作用也非常微弱.当其浓度增加到 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,在实验前期,对该绿藻的生长开始表现出了较明显的抑制作用,但随时间的延长,藻细胞还能恢复生长. 1.0 、 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Gemini1231 对亚心形扁藻的生长表现出了一定的抑制作用,但这种抑制作用也不能持久.

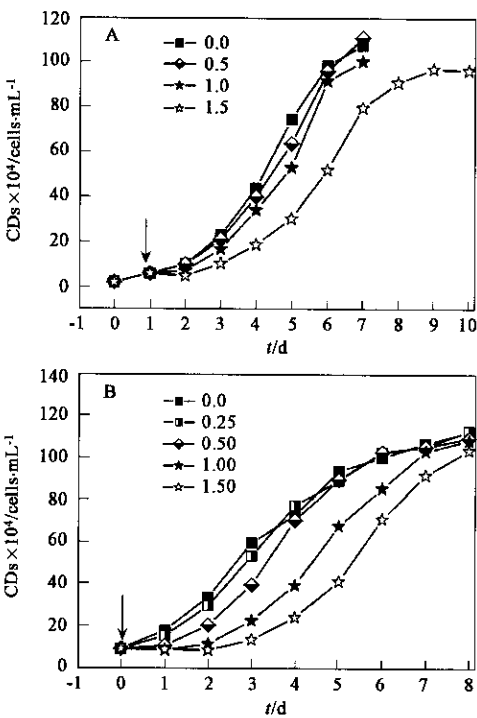


图3 不同浓度 Gemini1231 作用下青岛大扁藻(A)和亚心形扁藻(B)的生长曲线 (箭头表示不同浓度的季铵盐加入藻液的时间)

Fig.3 Growth curves of *P. helgolandica* (A) and *P. subcordiforus* (B) in the presence of Gemini1231 (The arrow in the figures represent time when to algae cultures the biquaternary ammonium salt was added)

综上可知, Gemini1231 在较低浓度下 ($0.3\sim0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),可完全抑制东海原甲藻、塔玛亚历山大藻和赤潮异湾藻等赤潮生物的生长;其浓度达到 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,也可完全抑制中肋骨条藻的生长.曹西华和俞志明^[4]、洪爱华等^[5]以及张珩等^[6]的研究也证实季铵盐类表面活性剂在 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下可以有效去除赤潮异湾藻、海洋原甲藻、球形棕囊藻以及塔玛亚历山大藻等赤潮生物. Ahn^[9]等的研究表明非离子型生物表面活性剂——表面活性素有效抑制蓝藻 (*Microcystis aeruginosa* 和 *Anabaena affinis*)生长的浓度约为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,这要远高于季

铵盐类阳离子表面活性剂所需浓度.曹西华和俞志明^[4]、Wang 等^[7]以及 Ahn 等^[9]认为表面活性剂具有抑藻作用主要是由于其吸附在藻细胞的磷脂双分子膜结构表面,从而引起膜结构的破坏和功能的丧失,进而导致细胞死亡.赤潮生物带有负电荷,所以与其它类型的表面活性剂相比,具有正离子头基的季铵盐类阳离子表面活性剂更容易吸附于赤潮生物的表面,对藻细胞膜的结构和功能造成破坏,这可能是季铵盐类阳离子表面活性剂的抑藻效果强于其它类型表面活性剂的主要原因.而双季铵盐因有2个季铵盐离子的协同作用,其抑藻效果又优于单季铵盐^[6].另外, Gemini1231 对不同门类的海洋微藻生长的抑制效果明显不同,即使对属于同一门类的海洋微藻生长的抑制作用也不尽相同,表现出明显的选择性.

不同海洋微藻的 96h-EC_{50} (96h 生长半抑制浓度)的求算参照 Van 和 Hoekstra^[10]的方法,图4为 96h 时不同浓度 Gemini1231 对不同海洋微藻生长的抑制率曲线,由图可知,随着该双季铵盐浓度的增大,其对不同海洋微藻生长的抑制率基本呈增大的趋势.根据曲线拟合,求得该双季铵盐对延滞期不同海洋微藻的 96h 生长半抑制浓度 96h-EC_{50} 如表1所示.各微藻所对应的 96h-EC_{50} 值进一步证实了该双季铵盐的抑藻作用以及抑藻作用的选择性.

2.2 Gemini1231 抑藻作用特异性机理分析

藻细胞的膜结构是表面活性剂攻击的主要对象^[4, 7, 9],而 Grau 等^[11]认为由于脂类结构的不同会导致表面活性剂对脂双层结构的破坏方式和作用结果不同.因此 Ahn 等^[9]推测是由于微藻生物膜脂肪酸组成的差异使得表面活性素类生物表面活性剂具有选择性抑藻功能,并进一步推测多不饱和脂肪酸 (PUFAs) 含量高的藻细胞受表面活性剂影响相对较弱.但作者没有对其抑藻作用特异性机理作进一步证实.笔者对各海洋微藻的脂肪酸种类及组成进行了初步分析,结果如表1所示.由表1可知,东海原甲藻、塔玛亚历山大藻和裸甲藻虽然同属于甲藻门,它们的脂肪酸组成以及含量也存在一定的差异.其中东海原甲藻和塔玛亚历山大藻的脂肪酸组成较为接近,主要脂肪酸为 $14:0$ 、 $16:0$ 、 $18:0$,多不饱和脂肪酸的含量较低.东海原甲藻的这一特点尤为显著,该海洋微藻仅检测出 $18:3$,含量也只有 1.04% .同属于甲藻门的裸甲藻相对于前2种甲藻则具有较高含量的多不饱和脂肪酸 (24.19%).赤潮异湾藻也富含 $16:0$ 和 $18:0$,其所含有的多不饱和

脂肪酸主要有 18:2, 18:3 和 22:6, 但其含量均不高 (<10%). 硅藻门中肋骨条藻的主要脂肪酸为 14:0、16:0、16:1、16:3、18:0 和 20:5, 都占总脂肪酸含量的 10% 以上. 该海洋微藻脂肪酸组成的特点是有高含量的 16:1, 并且有较高水平的 20:5. 另一个特点是含有较高含量的 16:3 (10.62%), 而其它藻类中不含 16:3 或含量很低, 这与 Dunstan 等^[12]、李荷芳等^[13]以及蒋霞敏等^[14]的研究结果基本一致. 青岛大扁藻和亚心形扁藻的脂肪酸组成较为接近, 其主要的脂肪酸组成为 16:0、18:0 和 18:3. 与中肋骨条藻具有较高含量 C_{16} 不饱和脂肪酸不同, 绿藻具有较高含量的 C_{18} PUFAs, 缺乏 C_{20} 以上的 PUFAs^[8,15]. 可见, 分属不同门类的各种海洋微藻

的脂肪酸组成及其含量明显不同, 即使同属甲藻门的几种海洋微藻的脂肪酸组成及其含量差异也较大. 对比发现甲藻门的东海原甲藻、塔玛亚历山大藻和黄藻门的赤潮异湾藻的多不饱和脂肪酸含量明显低于其它海洋微藻 (<20%), 而绿藻门的两种海洋微藻的多不饱和脂肪酸的含量则较高, 亚心形扁藻的这一特点尤为明显, 其多不饱和脂肪酸的含量接近 45%. 而其余 2 种海洋微藻的多不饱和脂肪酸的含量则居中. 这与不同微藻对 Gemini1231 敏感性强弱顺序 (东海原甲藻, 塔玛亚历山大藻, 赤潮异湾藻 > 中肋骨条藻, 裸甲藻 > 青岛大扁藻, 亚心形扁藻) 大致相反.

进一步对比分析各海洋微藻多不饱和脂肪酸的

表 1 Gemini1231 对实验藻种抑制效果及其与各微藻脂肪酸组成的关系¹⁾

Table 1 The inhibitory effects of Gemini1231 on the marine microalgae tested represented as the EC_{50} values and its relation to the fatty acid composition of the microalgae

脂肪酸种类	藻种						
	东海原甲藻 (<i>P. donghaiense</i>)	塔玛亚历山大藻 (<i>A. tamarense</i>)	裸甲藻 (<i>Gymnodinium</i> sp.)	赤潮异湾藻 (<i>H. akashiwo</i>)	中肋骨条藻 (<i>S. costatum</i>)	青岛大扁藻 (<i>P. helgolandica</i>)	亚心形扁藻 (<i>P. subcordiforus</i>)
12:0	—	0.16	2.72	—	0.14	0.17	0.13
14:0	3.71	3.79	1.09	2.04	14.31	0.72	0.58
15:0	—	—	—	—	0.76	—	—
16:0	55.71	46.29	29.29	49.16	28.09	43.66	34.28
16:1	1.73	—	0.46	—	16.62	—	—
16:2	—	—	—	—	3.92	—	—
16:3	—	—	—	—	10.62	—	3.28
17:0	—	—	—	—	—	—	—
18:0	24.85	20.09	24.28	23.93	12.55	25.24	18.03
18:1	12.96	4.92	16.82	6.78	0.73	1.36	2.18
18:2	—	—	24.19	2.49	0.59	6.15	10.86
18:3	1.04	10.38	—	8.47	—	20.84	26.32
20:0	—	—	1.14	1.23	—	—	—
20:4	—	—	—	—	—	0.4	1.04
20:5	—	5.52	—	0.96	11.66	1.46	3.3
22:0	—	8.85	—	0.59	—	—	—
22:6	—	—	—	4.35	—	—	—
PUFA/%	1.04	15.90	24.19	16.27	26.79	28.85	44.80
96h- EC_{50} /mg·L ⁻¹	0.20	0.30	1.10	0.20	0.65	1.66	1.91

1) “—”表示含量少, 未检出

含量与其对应的 96h- EC_{50} 值间的关系发现, Gemini1231 对不同海洋微藻生长影响的差异与各海洋微藻的多不饱和脂肪酸的含量间存有一定的关联. 将反映该双季铵盐对不同海洋微藻生长的抑制效果大小的 96h- EC_{50} 值和相应藻细胞的多不饱和脂肪酸含量进行线性相关性分析发现, 二者显著相

关 (见图 5). 藻细胞内含有脂肪酸的可皂化脂类大部分在细胞的膜结构和储存颗粒里^[16], 而指数期的藻细胞储存脂肪的含量很少^[17], 所以测定的脂肪酸主要为组成生物膜上脂质的脂肪酸. 这进一步表明 Gemini1231 抑藻作用的特异性与各海洋微藻生物膜的脂肪酸组成相关, 即微藻生物膜的多不饱和脂

肪酸的含量越低,相对应的 96h-EC₅₀ 值越低,抑藻效果越强,反之亦然,这一结果也证明了 Ahn 等^[9]的推测.这可能是因为藻细胞膜的多不饱和脂肪酸的含量越低,其疏水性相对更强,因而其膜脂结构更容易与该双季铵盐类表面活性剂的疏水基团结合而被破坏.

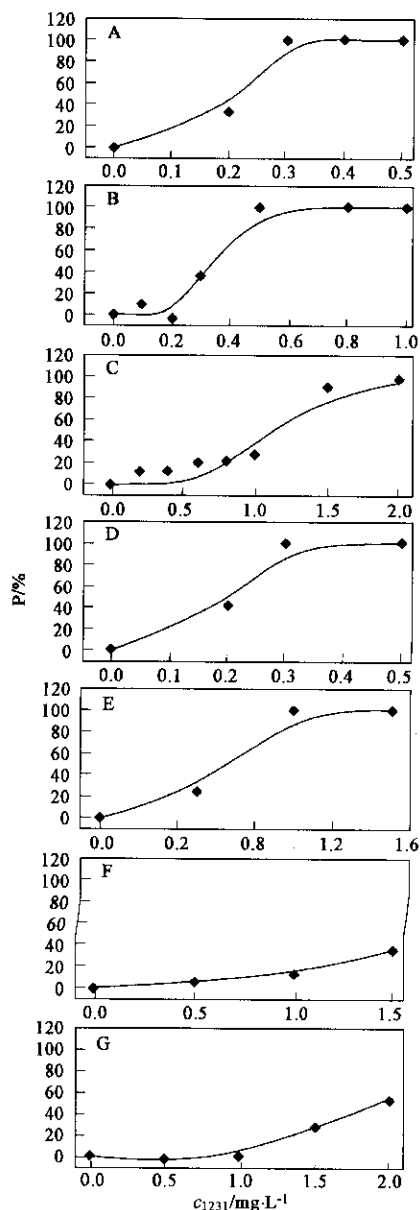


图 4 不同浓度的 Gemini1231 对东海原甲藻(A),塔玛亚历山大藻(B),裸甲藻(C),赤潮异湾藻(D),中肋骨条藻(E),青岛大扁藻(F)以及亚心形扁藻(G)的生长抑制率曲线

Fig. 4 The percent inhibition curve of the marine microalgae in different concentrations of Gemini 1231

3 结论

(1) Gemini1231 在较低浓度下(0.2 ~ 0.5 mg·L⁻¹),对东海原甲藻、塔玛亚历山大藻以及赤潮

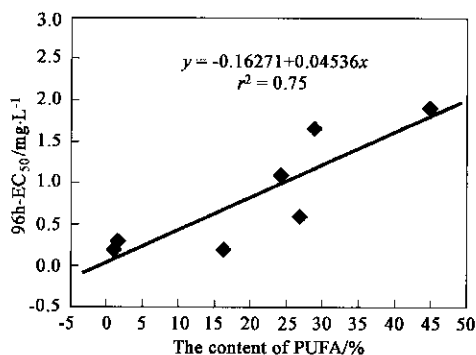


图 5 Gemini1231 对不同海洋微藻抑制效果和各海洋微藻的多不饱和脂肪酸含量的相关性

Fig. 5 Comparison of 96h-EC₅₀ and the content of polyunsaturated fatty acids of the microalgae tested

异湾藻等典型赤潮生物的生长具有明显的抑制效果.浓度增加至 0.5 mg·L⁻¹以上时,对中肋骨条藻的生长也表现出了抑制趋势.但该双季铵盐的浓度增加至 1.0 mg·L⁻¹以上时,才对裸甲藻、青岛大扁藻以及亚心形扁藻的生长表现出一定的抑制作用.对比各藻细胞所对应的 96h-EC₅₀ 值也证明, Gemini1231 对东海原甲藻、塔玛亚历山大藻以及赤潮异湾藻等赤潮生物的毒性远大于对中肋骨条藻和裸甲藻的毒性.而青岛大扁藻和亚心形扁藻 2 种绿藻对该双季铵盐的耐受性则更强.即使该双季铵盐的浓度增至 1.5 mg·L⁻¹时,2 种绿藻还能恢复生长.可见, Gemini1231 的抑藻作用有明显的种属特异性.而这种抑藻作用的种属特异性将使其在赤潮治理中具有更好的应用前景.

(2) 通过对比分析 Gemini1231 对不同海洋微藻生长的抑制效果与各海洋微藻的多不饱和脂肪酸含量间的关系发现,该双季铵盐抑藻作用的特异性与各海洋微藻生物膜的多不饱和脂肪酸的含量明显相关:各海洋微藻的多不饱和脂肪酸的含量越低,该双季铵盐类阳离子表面活性剂对其生长的抑制作用越明显,反之亦然.

参考文献:

- [1] Kristine M L, Pablo G DeDenedetti, Robert K P. A theoretical study of Gemini surfactant phase behavior [J]. Journal of Chemical Physics, 1998, 109(13): 5651 ~ 5658.
- [2] Zana R. Dimeric (Gemini) surfactants: effect of the spacer group on the association behavior in aqueous solution [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2002, 248(2): 203 ~ 220.
- [3] Massi L, Guittard F, Levy R, et al. Preparation and antimicrobial behaviour of Gemini fluorosurfactants [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2003, 38: 519 ~ 523.

- [4] 曹西华, 俞志明. 季铵盐类化合物灭杀赤潮异湾藻的实验研究[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(2): 201~207.
- [5] 洪爱华, 尹平河, 赵玲, 等. 新洁而灭对海洋原甲藻赤潮生物的灭杀与抑制[J]. 海洋环境科学, 2003, 22(2): 64~67.
- [6] 张珩, 刘洁生, 杨维东, 等. 双季铵盐对两种赤潮藻的去除研究[J]. 海洋环境科学, 2003, 22(4): 68~71.
- [7] Wang Xiulin, Gong Liangyu, Liang Shengkang, *et al.* Algicidal activity of rhamnolipid biosurfactants produced by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Harmful algae, 2005, 4(2): 433~443.
- [8] 曹春晖, 孙世春, 麦康森, 等. 30 株海洋绿藻的总脂含量和脂肪酸组成[J]. 青岛海洋大学学报, 2000, 30(3): 428~434.
- [9] Ahn C Y, Joung S H, Jeon J W, *et al.* Selective control of cyanobacteria by surfactin-containing culture broth of *Bacillus subtilis* C1[J]. Biotechnology Letters, 2003, 25(14): 1137~1142.
- [10] Van Ewijk P H, Hoekstra J A. Calculation of the EC_{50} and its confidence interval when subtoxic stimulus is present [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1993, 25(1): 25~32.
- [11] Grau A, Fernández J C G, Peypoux F, *et al.* A study on the interactions of surfactin with phospholipid vesicles [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1999, 1418(2): 307~319.
- [12] Dunstan G A, Volkman J K, Barrett S M, *et al.* Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (*Bacillariophyceae*) [J]. Phytochemistry, 1994, 35(1): 155~161.
- [13] 李荷芳, 周汉秋. 海洋微藻脂肪酸组成的比较研究[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(1): 34~39.
- [14] 蒋霞敏, 郑亦周. 14 种微藻总脂含量和脂肪酸组成研究[J]. 水生生物学报, 2003, 27(3): 243~247.
- [15] Dunstan G A, Volkman J K, Jeffery S W, *et al.* Biochemical composition of microalgae from the green algae classes Chlorophyceae and Prasinophyceae. II. Lipid classes and fatty acids [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1992, 161: 115~134.
- [16] 钱凯先, 邵健忠, 李亚南. 细胞生物化学原理 [M]. 杭州: 浙江出版社, 1999. 26~29.
- [17] Berge J P, Gouygou J P, Dubacq J P, *et al.* Reassessment of lipid composition of the diatom, *Skeletonema costatum* [J]. Phytochemistry, 1995, 39(5): 1017~1021.