

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第36卷 第10期

Vol.36 No.10

2015

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

基于细颗粒物来源追踪技术的2013年12月上海市严重污染过程中PM_{2.5}的源贡献分析..... 李莉, 安静宇, 严茹莎 (3543)

华北地区乡村站点(曲周)夏季PM_{2.5}中二次无机组分的生成机制与来源解析 陈仕意, 曾立民, 董华斌, 朱彤 (3554)

成都市大气PM_{2.5}中有机磷阻燃剂的污染水平及来源 印红玲, 李世平, 叶芝祥, 杨迎春, 梁金凤, 游俊杰 (3566)

不同生物质燃烧排放多环芳烃及糖醇类化合物的模拟研究 黄帅, 黄欣怡, 吴水平, 胡清华, 陈晓秋 (3573)

北京地区大气消光特征及参数化研究 陈一娜, 赵普生, 何迪, 董璠, 赵秀娟, 张小玲 (3582)

光助芬顿反应催化降解气体中甲苯 郑思灿, 陈天虎, 刘海波, 邹雪华, 朱承驻, 陈冬 (3590)

遗体火化二噁英类排放水平及影响因素 尹文华, 于晓巍, 韩静磊, 冯桂贤, 付建平, 杨艳艳, 鞠勇明, 张素坤 (3596)

我国餐厨废物生化处理设施恶臭排放特征分析 张妍, 王元刚, 卢志强, 韩萌, 商细彬, 曹阳, 张君 (3603)

太湖湖表反照率时空特征及影响因子 曹畅, 李旭辉, 张弥, 刘寿东, 肖薇, 肖启涛, 徐家平 (3611)

基于GOCI影像的太湖水体漫衰减系数遥感反演 王珊珊, 李云梅, 王桥, 吕恒 (3620)

河口盐度梯度下短叶茳苳沼泽湿地土壤孔隙水溶解性甲烷时空特征 杨平, 张子川, 杜威宁, 黄佳芳, 全川 (3633)

石家庄市区土壤水分运移的稳定同位素特征分析 陈同同, 陈辉, 韩璐, 邢星, 付阳阳 (3641)

长寿湖水库垂直剖面不同形态汞的季节变化特征及其影响因素 白薇扬, 张成, 唐振亚, 赵铮, 王定勇 (3649)

三峡库区消落带4种典型植物根际土壤养分与氮素赋存形态 王晓锋, 袁兴中, 刘红, 张磊, 尉建军, 岳俊生 (3662)

湖泊水-沉积物界面DIC和DOC交换通量及耦合关系 王伟颖, 吕昌伟, 何江, 左乐, 颜道浩 (3674)

水体扰动条件下物质在沉积介质中的迁移 李邵龙, 陈道毅 (3683)

城市道路径流的排污特征 武俊良, 任玉芬, 王雪梅, 王效科, 陈利顶, 刘刚才 (3691)

杭州市余杭区典型农村暴雨径流污染特征 段圣辉, 赵钰, 单保庆, 唐文忠, 张文强, 张淑珍, 郎超 (3697)

海水淡化超滤-反渗透工艺沿程溴代消毒副产物变化规律 杨哲, 孙迎雪, 石娜, 胡洪管 (3706)

天然有机物和电解质对水中C₆₀凝聚行为的影响 方华, 荆洁, 于江华, 王钰葶 (3715)

钆改性高岭土原位改良技术控制重污染河道底泥磷释放效果 王虹, 林建伟, 詹艳慧, 章喆, 王笛入 (3720)

污水管网中无机氮类营养盐迁变规律 金鹏康, 焦丁, 任武昂 (3730)

微好氧水解酸化在石化废水预处理中的应用研究 朱晨, 吴昌永, 周岳溪, 伏小勇, 陈学民, 邱延波, 吴晓峰 (3738)

倒置A²/O-MBR组合工艺处理生活污水效能及膜污染特性 王旭东, 马亚斌, 王磊, 杨怡婷, 黄丹曦, 夏四清 (3743)

高氨氮对具有回流的PN-ANAMMOX串联工艺的脱氮影响 李祥, 崔剑虹, 袁砚, 黄勇, 袁怡, 刘忻 (3749)

苯甲酸盐厌氧驯化体系中三氯乙烯的还原脱氯特性 李姜维, 杨晓永, 胡安谊, 于昌平 (3756)

驯化污泥厌氧还原脱氯促进2,4,6-三氯酚矿化及胞外呼吸脱氯途径 宋佳秀, 李玲, 盛凡凡, 郭翠香, 张永明, 李祖元, 王天丽 (3764)

苯酚对厌氧氨氧化污泥脱氮效能长短期影响 杨朋兵, 李祥, 黄勇, 朱亮, 崔剑虹, 徐彬彬 (3771)

连续流好氧颗粒污泥系统处理低COD/N实际生活污水的工艺优化 鲁磊, 信欣, 鲁航, 朱辽东, 谢思建, 武勇 (3778)

FNA对好氧吸磷的长期抑制及污泥吸磷方式转化 马娟, 李璐, 俞小军, 孙雷军, 孙洪伟, 陈永志 (3786)

污水处理厂不同工艺的污泥脱水效能分析及其影响因素研究 刘吉宝, 李亚明, 吕镗, 魏源送, 杨敏, 郁达伟 (3794)

残留过氧化氢对微波-过氧化氢-碱预处理后污泥水解酸化的影响 贾瑞来, 刘吉宝, 魏源送, 才兴 (3801)

大围山典型森林土壤有机氮垂直分布特征 丁咸庆, 马慧静, 朱晓龙, 陈珊, 侯红波, 彭佩钦 (3809)

缙云山不同土地利用方式对土壤活性有机碳、氮组分的影响 祁心, 江长胜, 郝庆菊, 李鉴霖 (3816)

三峡库区典型退耕还林模式土壤养分流失控制 吴东, 黄志霖, 肖文发, 曾立雄 (3825)

坡位与土层对喀斯特原生林土壤微生物生物量与丰度的影响 冯书珍, 苏以荣, 张伟, 陈香碧, 何寻阳 (3832)

不同种植方式对亚热带红壤微生物多样性的影响 沈冰洁, 祝贞科, 袁红朝, 葛体达, 王久荣, 陈明利, 吴晓英, 吴金水 (3839)

有色冶金区土壤-玉米系统汞累积及健康风险 纪小凤, 郑娜, 王洋, 刘强, 张静静 (3845)

改良剂对4种木本植物的铅锌耐性、亚细胞分布和化学形态的影响 陈永华, 张富运, 吴晓英, 梁希, 袁斯文 (3852)

菹草乙酸酯组分抑藻活性物质的分离纯化和鉴定 孙颖颖, 苏振霞, 浦寅芳, 肖辉, 王长海 (3860)

血吸虫病疫区水生生物体内氯苯化合物的污染特征与潜在风险 李昆, 赵高峰, 周怀东, 赵健, 张盼伟, 刘巧娜, 王兴勋, 刘晓茹 (3866)

生物传感细胞ADP1_pWHlux在水环境急性毒性检测中的应用 唐慧, 宋一之, 姜博, 陈光玉, 贾建丽, 张旭, 李广贺 (3872)

虹鳟鱼鳃及肝脏多种CYP1基因表达模式作为生物标志物监测海河水污染状况 高锴, 闫佩, 檀翠玲, 罗彦鹤, 孙静, Maria E. Jönsson, Ingvar Brandt, 唐运平 (3878)

纳米氧化锌对斑马鱼肝脏的毒性效应 刘林, 赵群芬, 金凯星, 朱帅旗, 王小飞, 吕佳昀 (3884)

黄连根茎浸提物对隆线蚤的急性毒性作用 陈亚楠, 袁玲 (3892)

发酵稻壳对亚铁离子和硫离子的吸附-解吸附特性 谢晓梅, 廖敏, 华嘉媛, 陈娜, 张楠, 徐培智, 解开治, 徐昌旭, 刘光荣 (3896)

搅拌棒吸附萃取-气相色谱-质谱联用测定海水中邻苯二甲酸酯 高晨晨, 李锋民, 卢伦, 孙玥 (3906)

COD组分分析的实验条件及结果可靠性分析 李志华, 张银, 韩杏, 余科, 李汝佳 (3913)

养猪废水和污泥中11种兽用抗生素的同时分析技术及其在生物降解过程的应用 丁佳丽, 刘锐, 郑炜, 余卫娟, 叶朝霞, 陈吕军, 张永明 (3918)

土壤微生物产电技术及其潜在应用研究进展 邓欢, 薛洪婧, 姜允斌, 钟文辉 (3926)

《环境科学》征订启事 (3553) 《环境科学》征稿简则 (3589) 信息 (3705, 3755, 3763, 3800)

菹草乙酸乙酯组分抑藻活性物质的分离纯化和鉴定

孙颖颖¹, 苏振霞¹, 浦寅芳¹, 肖辉², 王长海³

(1. 淮海工学院江苏省海洋生物技术重点实验室, 连云港 222005; 2. 江苏省海洋资源开发研究院, 连云港 222000; 3. 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要: 前期研究表明, 菹草乙酸乙酯组分能显著抑制赤潮微藻米氏凯伦藻的生长。在此基础上, 采用硅胶柱层析和硅胶 GF₂₅₄ 薄层层析等方法, 分离纯化菹草乙酸乙酯组分中的抑藻活性物质。进一步应用质谱、核磁共振碳谱和氢谱等技术, 鉴定抑藻活性物质。结果表明, 从菹草乙酸乙酯组分中分离纯化到2种抑藻活性物质。当浓度为 16 μg·mL⁻¹ 时, 它们对米氏凯伦藻表现出一定的抑藻活性。结构鉴定表明, 此2种抑藻活性物质为 Trichodermatides B 和 2-methylheptylisonicotinate。此2种化合物为首次从菹草中分离得到, 也是首次从沉水植物中分离得到。

关键词: 赤潮微藻; 分离; 鉴定; 抑藻活性物质; 菹草

中图分类号: X55 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)10-3860-06 DOI: 10.13227/j.hjxx.2015.10.040

Isolation, Purification and Identification of Antialgal Activity Substances of Ethyl Acetate Extracts from the Submerged Macrophytes *Potamogeton crispus*

SUN Ying-ying¹, SU Zhen-xia¹, PU Yin-fang¹, XIAO Hui², WANG Chang-hai³

(1. Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China; 2. Jiangsu Marine Resources Development Research Institute, Lianyungang 222000, China; 3. College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Previous studies showed that ethyl acetate extracts from the submerged macrophytes *Potamogeton crispus* can significantly inhibit the growth of *Karenia mikimotoi*. Further, two antialgal activity compounds (1-2) were successfully isolated from this submerged macrophytes through a combination of silica gel column chromatography and repeated preparative thin-layer chromatography in this paper. These two antialgal activity compounds exhibited antialgal active against *Karenia mikimotoi*. Furthermore, their structure were identified on the basis of spectroscopic data: one flavonid named Trichodermatides B, and one alkaloid named 2-methylheptylisonicotinate. These two compounds were for the first time isolated from both *Potamogeton crispus* and submerged macrophytes.

Key words: red tide microalgae; isolation; identification; antialgal activity substances; *Potamogeton crispus*

近年来,用于赤潮的预防、控制和减缓(PCM)的技术和方法引起了科学界和相应管理机构的重视^[1,2]。这些技术和方法中,利用植物间化感作用来进行赤潮的预防、控制和减缓表现出显著的应用潜力。借鉴于淡水水华控制的研究成果,研究者们将某些陆地植物应用于赤潮微藻治理的研究。例如,大麦秆浸泡液能显著抑制赤潮微藻的生长^[3],小麦秸秆抑制棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)^[4]、凤眼莲根系及其提取物^[5]和玉米秸秆^[6]抑制塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*),玉米叶显著抑制塔玛亚历山大藻、海洋卡盾藻(*Chattonella marina*)和赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)的生长^[7]。前期研究中,发现菹草乙酸乙酯组分显著抑制了米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)、中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)和塔玛亚历山大藻的生长^[8]。研究表明,菹草中存在黄酮^[9]、生物碱^[10]、长链脂肪酸^[11]、脂肪酸甘油酯、甾体和半日花烷型二萜^[12]等化合

物。目前,已经发现同属光叶眼子菜(*Potamogeton lucens*)中的某些二萜具有抑制羊角月牙藻(*Raphidocelis subcapitata*)的抑藻活性^[11,13]。然而,菹草中抑藻活性物质的分离纯化研究较少^[11,14],并且尚未见其对赤潮微藻生长的抑制作用等研究。

菹草是一种能改善水环境质量,又能稳定水生生态系统,抑制藻类暴发的沉水植物^[15],分布广泛。利用菹草生物防控微藻赤潮,具有安全、价格低廉的特点。菹草抑藻活性物质的分离纯化对于利用其进行赤潮防控就尤为重要。鉴于此,在前期研究基础上,本文以米氏凯伦藻为检测目标,采用硅胶柱层析和硅胶 GF₂₅₄ 薄层层析分离方法,纯化菹草乙酸乙

收稿日期: 2015-04-09; 修订日期: 2015-05-15

基金项目: 江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20140446); 江苏省高校自然科学基金项目(13KJB170001); 连云港市科技攻关工业项目(CG1310); 淮海工学院自然科学基金项目(Z2014006); 江苏省海洋资源开发研究院开放课题项目(JSIMR201314)

作者简介: 孙颖颖(1978~),女,博士,副教授,主要研究方向为海洋生化工程,E-mail: syy-999@163.com

酯组分中的抑藻活性物质。进一步,应用质谱、核磁共振碳谱和氢谱等技术,鉴定出 2 种抑藻活性物质,此 2 种化合物为首次从菹草中分离得到,也是首次从沉水植物中分离得到。本研究揭示了菹草乙酸乙酯组分抑制赤潮微藻的化学基础,为利用菹草生物防控赤潮奠定了良好的实验基础和提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi*) 无菌株由中国海洋大学提供,经进一步分离纯化后由江苏省海洋生物技术重点实验室保存,在 f/2 培养基中培养,培养温度为 $(20 \pm 0.1)^\circ\text{C}$,光照强度 $40 \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$,光暗比为 12:12。

菹草乙酸乙酯组分的制备参考文献[8]。

天然海水经过脱脂棉和 300 目筛绢过滤、煮沸、冷却,pH 值和盐度分别调节至 8.5 和 30 备用(实验所用海水均做如上处理)。

无水甲醇、乙酸乙酯和丙酮为分析纯。

1.2 菹草抑藻活性物质的分离纯化

将菹草乙酸乙酯组分加载于硅胶(200~300目)柱层析上(3 cm×40 cm),氯仿/丙酮/甲酸(15:3:2,体积比)为洗脱剂。洗脱馏分经减压浓缩和硅胶 GF₂₅₄薄层层析检测后,合并收集组分。将这些再分组进行硅胶 GF₂₅₄薄层层析分离(2次),展开剂为氯仿/丙酮/甲酸(18:1:5;15:3:2,体积比),UV₂₅₄下检测。抑藻活性检测后,分析抑藻活性样品纯度^[16]。

1.3 抑藻活性检测

分别加入一定体积的待测溶液(抑藻活性组分和薄层纯样品)到 f/2 培养基中,混合均匀后,接种米氏凯伦藻,培养混合液总体积为 25 mL。米氏凯伦藻接种细胞数量为 $(8\sim 11)\times 10^4\cdot\text{mL}^{-1}$,样品终浓度为 $16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。同时,设定添加相同体积甲醇的对照组(注:甲醇加入体积不超过 0.1 mL),每个培养瓶设定 3 个平行样。培养瓶置于 GXZ-260B 智能型光照培养箱中培养,温度 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照强度 $62 \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$,光暗比为 12:12。每天定时摇动培养瓶两次(08:00 和 16:00,各摇动 1 次),每次摇瓶 2 min,以防止微藻附壁生长。每隔一日从培养瓶中取 5 μL 培养液,用 Lugol's 试剂固定后,计数藻细胞数量的变化。

1.4 化学成分预系统实验

参照化合物常用化学鉴定方法,进行生物碱、

酚酸、脂肪酸、萜类、内酯、鞣酸、有机酸和糖类等 8 种化合物预系统实验。

1.5 光谱测定

样品需进行 HR-ESI-MS,¹H-NMR 和¹³C-NMR 光谱测定。用 Bruker AV III 600 质谱仪测定 NMR (TMS 为标准品),在 LTQ-Obitrap XL 光谱仪进行 HR-ESI-MS 测定。

1.6 数据处理

实验数据采用 SPSS 11.5 软件包进行独立样本检验统计分析, $P < 0.05$ 为显著性差异, $P < 0.01$ 为极显著性差异。

微藻生长抑制率:

$$I = (1 - N/N_0) \times 100\%$$

式中, N 为处理组藻细胞数量 ($\times 10^4\cdot\text{mL}^{-1}$); N_0 为对照组藻细胞数量 ($\times 10^4\cdot\text{mL}^{-1}$)。

2 结果与分析

2.1 菹草抑藻活性物质的分离纯化

菹草乙酸乙酯组分经硅胶柱层析分离,收集到 3 个组分: Y1、Y2 和 Y3。分离过程和抑藻活性检测结果见表 1。结果表明,3 个硅胶柱层析分离组分中,仅组分 Y3 具有抑藻活性。此组分通过硅胶 GF₂₅₄薄层层析分离,氯仿/丙酮/甲酸(18:1:5,体积比)为展开剂,收集到 6 个薄层层析分离组分(Y31、Y32、Y33、Y34、Y35 和 Y36)。经抑藻活性检测,组分 Y31 具有明显的抑藻活性。以氯仿/丙酮/甲酸(15:3:2,体积比)为展开剂,将此组分再次进行硅胶 GF₂₅₄薄层层析分离,制备到 2 个样品 Y311 和 Y312。活性检测表明,此 2 个组分具有抑藻活性。经纯度检测,样品 Y311 和 Y312 纯度已达到薄层纯^[16]。

在前期研究中,浓度为 $16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,乙酸乙酯组分显著抑制了米氏凯伦藻的生长^[8]。因此,设定本文中抑藻活性组分和薄层纯样品的检测终浓度为 $16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。上述结果表明,采用的硅胶柱层析和硅胶 GF₂₅₄薄层层析分离方法,适用于菹草乙酸乙酯组分抑藻活性物质的分离纯化。不过,同时也发现,制备到的抑藻活性物质的得率较低。

由表 2 可以看出,样品 Y311 呈现出黄酮类的阳性反应,样品 Y312 呈现出生物碱类的阳性反应,进一步采用质谱和核磁共振谱确定此 2 种样品的结构。

2.2 菹草抑藻活性物质的结构鉴定

样品 Y311 白色粉末,图 1(a) 为样品 Y311 的

表 1 菹草抑藻活性物质的分离纯化¹⁾Table 1 Isolation and purification of antialgal activity substances from *Potamogeton crispus*

乙酸乙酯组分(2.0 g), 硅胶柱层析(15:3:2, 体积比)						
Y1 ⁻	Y2 ⁻	Y3 ⁺⁺ (0.838 g)				
硅胶 GF ₂₅₄ 薄层层析(18:1:5, 体积比)						
Y31 ⁺⁺ (0.182 g)		Y32 ⁻	Y33 ⁻	Y34 ⁻	Y35 ⁻	Y36 ⁻
硅胶 GF ₂₅₄ 薄层层析(15:3:2, 体积比)						
Y311 ⁺ (0.026 g)		Y312 ⁺ (0.037 g)				

1) “-” 没有抑藻活性, “+” 较弱的抑藻活性(20%~50%), “++” 明显的抑藻活性(≥50%)

表 2 菹草抑藻活性样品的化学成分系统预试验检测结果

Table 2 Results of chemical constituents analysis of two antialgal activity samples isolated from *Potamogeton crispus*

检查种类	检测方法	抑藻活性样品	
		Y311	Y312
生物碱	鞣酸试剂	-	+
	硅钨酸试剂	-	+
	苦味酸试剂	-	+
	碘化铋钾试剂	-	+
酚类	三氯化铁试剂	-	-
	三氯化铁-铁氰化钾试剂	-	-
	重氮化试剂	-	-
鞣质	三氯化铁试剂	-	-
	三氯化铁-铁氰化钾试剂	-	-
	明胶试剂	-	-
有机酸	溴酚蓝试剂	-	-
	溴甲酚绿试剂	-	-
内酯香豆素	异羟污铁试剂	-	-
	重氮化试剂	-	-
	开环-闭环试剂	-	-
黄酮	三氯化铝试剂	+	-
	醋酸镁试剂	+	-
	氢氧化钾试剂	+	-
蒽醌	三氯化铝试剂	-	-
	醋酸镁试剂	-	-
	硼酸试剂	-	-
萜类甙体	香草醛-浓硫酸试剂	-	-

1) “+” 表示阳性反应, “-” 表示阴性反应

质谱和核磁共振谱. 结果表明, 样品 Y311 分子式为 $C_{16}H_{24}O_4$, 白色粉末; ESIMS m/z : 303 $[M + Na]^+$; 1H NMR (600MHz, MeOD) δ_H : 3.94 (1H, m, H-2), 1.78 (1H, m, H-3a), 2.08 (1H, m, H-3b), 2.38 (1H, m, H-4a), 2.48 (1H, m, H-4b), 2.36 (1H, m, H-7a), 2.81 (1H, m, H-7b), 2.82 (1H, m, H-8a), 2.95 (1H, m, H-8b), 5.14 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-9), 2.42 (2H, t, $J = 4.2$ Hz, H-11), 1.45 (2H, m, H-12), 1.26 ~ 1.28 (6H, m, H-13/14/15), 0.85 (3H, t, $J = 7.8$ Hz, 3H). ^{13}C APT (150MHz, MeOD) δ_C : 194.7 (C-1), 70.7 (C-

2), 30.1 (C-3), 21.9 (C-4), 176.1 (C-5), 110.7 (C-6), 31.3 (C-7), 47.9 (C-8), 81.7 (C-9), 207.7 (C-10), 42.3 (C-11), 22.9 (C-12), 28.8 (C-13), 31.1 (C-14), 22.0 (C-15), 14.0 (C-16). 上述数据与文献[9]报道 Trichodermatides B 基本一致, 故将 Y311 鉴定为 Trichodermatides B [图 2(a)]. Trichodermatides B 是一种聚酮类衍生物, 按照表 2 化学成分系统预试验进行测试, 会呈现出黄酮类的阳性反应. 因此, 结构鉴定表明, 表 2 中 Y311 的测试结果是正确的.

样品 Y312 黄色油状物, 样品 Y312 的质谱和核磁共振谱见图 1(b). 其中表明, 样品 Y312 分子式为 $C_{14}H_{21}NO_2$; ESIMS m/z : 258 $[M + Na]^+$; 1H NMR (600MHz, MeOD) δ_H : 0.89 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-7), 0.95 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-8), 1.26 ~ 1.43 (6H, m, H-3/4/5), 1.57 (1H, m, H-2), 3.78 (1H, m, H-2a), 4.21 (1H, m, H-2b), 7.49 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3', 5'), 7.68 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-2', 6'). ^{13}C APT (150MHz, MeOD) δ_C : 68.2 (C-1), 39.7 (C-2), 30.5 (C-3), 29.9 (C-4), 24.8 (C-5), 23.9 (C-6), 12.0 (C-7), 14.2 (C-8), 131.6 (C-2', 6'), 129.5 (C-3', 5'), 132.4 (C-4'), 167.5 (C-7'). 上述数据与文献[10]报道 2-methylheptylisonicotinate 基本一致, 故将 Y312 鉴定为生物碱 2-methylheptylisonicotinate [图 2(b)]. 因此, 进行化学成分系统预试验时, Y312 会呈现出生物碱的阳性反应(表 2).

3 讨论

沉水植物作为水体生态系统中具有重要生态和环境功能的初级生产者^[17], 对水体功能和维持生态平衡有非常重要的作用. 目前, 利用水生植物控制藻类主要集中于沉水植物^[18, 19]. 菹草是眼子菜科 (Potamogetonaceae) 多年生沉水草本植物, 生长快, 耐污性较强, 分布广泛, 是冬春季节沉水植被的优势种. 研究报道, 菹草中存在黄酮^[9]和生物碱^[10]等化

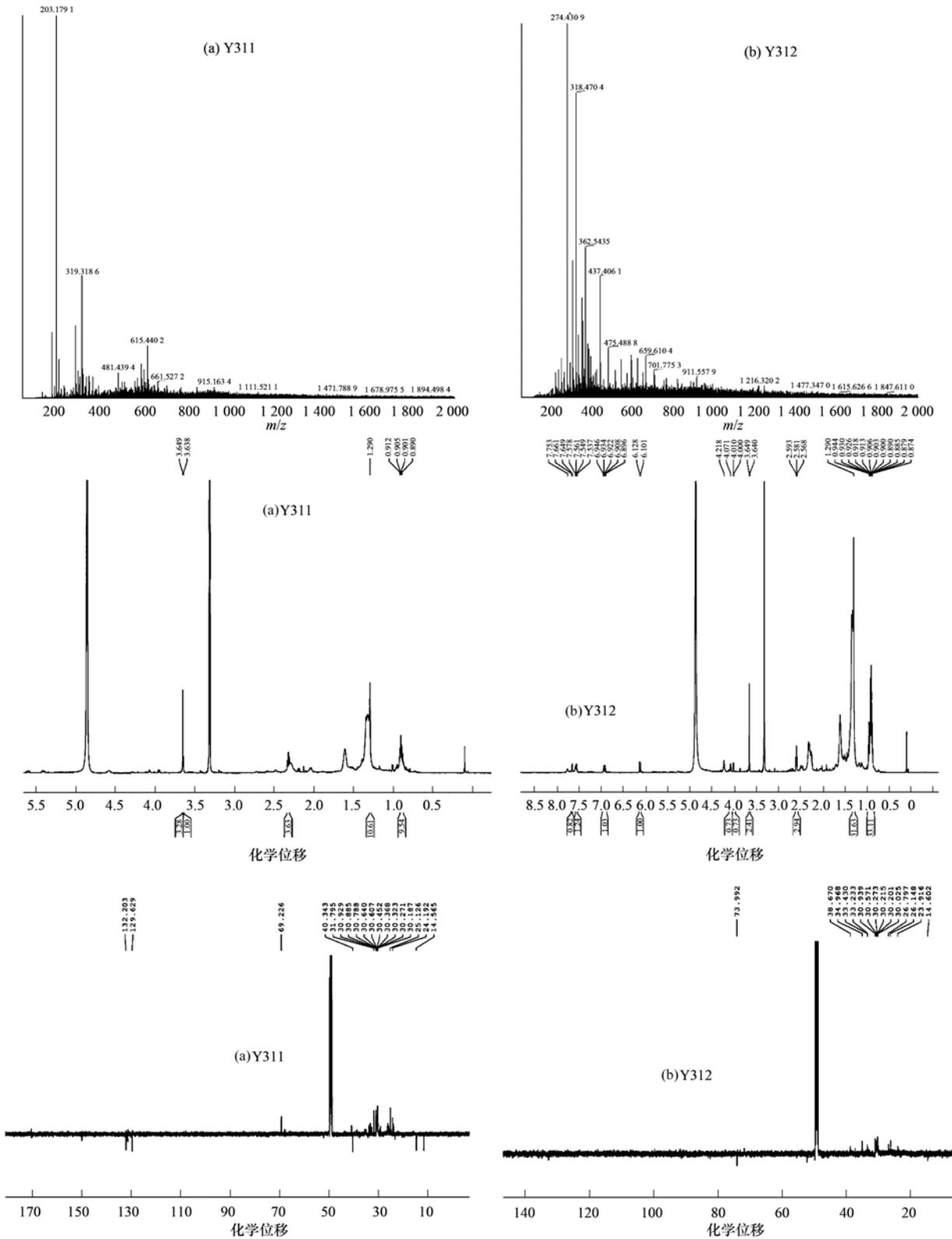


图 1 样品 Y311 和 Y312 的质谱和核磁共振谱图

Fig. 1 HR-ESI-MS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR of two antialgal activity samples

合物. 在本研究中,采用一系列分离方法和光谱技术,分离纯化并鉴定了菹草中的 2 种抑藻活性物质, Trichodermatides B 和 2-methylheptylisonicotinate (表

1、图 1 和图 2). 此 2 种化合物为首次从菹草中分离得到,同时也是首次从沉水植物中分离得到.

Trichodermatides B 是一种聚酮类衍生物,目前,

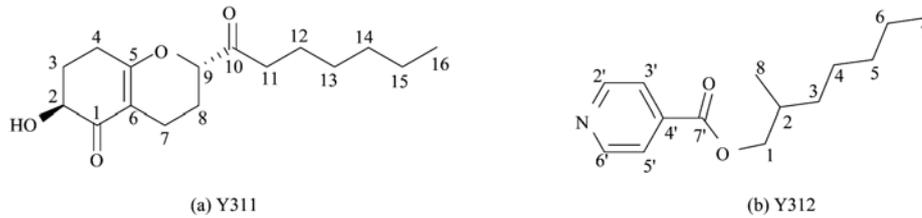


图 2 样品 Y311 和 Y312 的结构

Fig. 2 Structure of two antialgal activity samples

已在海泥真菌 (*Trichoderma reesei*) 中分离得到^[20]. 研究表明,其具有抗肿瘤活性^[20],然而,尚未见其抑藻活性报道. 在本研究中,当浓度为 $16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,*Trichodermatides B* 能抑制米氏凯伦藻的生长(表 1).

目前,已经发现链霉菌^[21]和陆生植物^[22]可产生 2-methylheptylisonicotinate. 研究表明,此化合物具有类似于 2, 6-二氯异烟酸的功能,可以诱导植物产生系统抗性^[21],并且可作为杀菌剂,对猝倒病菌等土壤病菌和细菌有效,但并未见此化合物的抑藻活性研究. 在本研究中,当浓度为 $16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,2-methylheptylisonicotinate 对米氏凯伦藻的生长表现出一定的抑制作用(表 1). 2-methylheptylisonicotinate 是 1 种生物碱,研究表明,菹草中存在生物碱^[10],然而,目前尚未见菹草生物碱的分离及其抑藻活性研究. 在泉生软管藻 (*Hapalosiphon fontinalis*)^[23, 24]、金鱼藻 (*Ceratophyllum demersum*)^[25]、侧生藻 (*Fischerella* sp.)^[26, 27]、伊乐藻 (*Elodea nuttallii*)^[28] 等沉水植物中均发现了生物碱类化合物的存在. 然而,生物碱抑藻活性的研究较少,且主要集中在淡水微藻^[25~28],沉水植物生物碱对赤潮微藻的影响研究则更少.

不过,遗憾的是,由于纯化到的 2 种抑藻活性物质质量较少,未进行抑藻活性物质浓度与其对米氏凯伦藻生长的抑制作用之间关系、对其它赤潮微藻生长的影响以及抑藻活性机制等研究. 在后续工作中,将进行这些研究,为利用菹草抑藻活性物质生物防控微藻赤潮奠定实验基础和提供理论依据.

4 结论

(1) 采用一系列分离方法,从菹草乙酸乙酯组分中分离纯化到 2 种抑藻活性物质,当浓度为 $16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,它们对米氏凯伦藻表现出一定的抑藻活性.

(2) 经鉴定,此 2 种抑藻活性物质分别为

Trichodermatides B 和 2-methylheptylisonicotinate, 此 2 种化合物为首次从菹草中分离得到,同时也是首次从沉水植物中分离得到.

参考文献:

- [1] Anderson D M, Cembella A D, Hallegraeff G M. Progress in understanding harmful algal blooms: paradigm shifts and new technologies for research, monitoring, and management [J]. Annual Review of Marine Science, 2012, **4**: 143-176.
- [2] Tang Y Z, Gobler C J. The green macroalga, *Ulva lactuca*, inhibits the growth of seven common harmful algal bloom species via allelopathy[J]. Harmful Algae, 2011, **10**(5): 480-488.
- [3] Terlizzi D E, Ferrier M D, Armbrester E A, et al. Inhibition of dinoflagellate growth by extracts of barley straw (*Hordeum vulgare*) [J]. Journal of Applied Phycology, 2002, **14**(4): 275-280.
- [4] 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[J]. 海洋环境科学, 2005, **24**(1): 5-8, 31.
- [5] Chen Z L, Yang W D, Liu J S, et al. Allelopathic effects of *Eichhornia crassipes* roots on *Alexandrium tamarense* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2005, **29**(3): 313-317.
- [6] 杨维东, 欧阳好婧, 刘洁生. 玉米秸秆对塔玛亚历山大藻生长的影响及化学基础研究[J]. 环境科学, 2008, **29**(9): 2470-2474.
- [7] 欧阳好婧, 杨维东, 刘洁生. 玉米叶对我国几种典型赤潮藻生长的影响研究[J]. 海洋环境科学, 2009, **28**(4): 383-386.
- [8] 孙颖颖, 王长海. 菹草提取物对 3 种赤潮微藻生长的抑制作用[J]. 可持续发展, 2012, **2**(1): 13-21.
- [9] Ostrofsky M L, Zettler E R. Chemical defences in aquatic plants [J]. Journal of Ecology, 1986, **74**(1): 279-287.
- [10] Les D H, Sheridan D J. Biochemical heterophyly and flavonoid evolution in north American Potamogeton (Potamogetonaceae) [J]. American Journal of Botany, 1990, **77**(4): 453-465.
- [11] Waridel P, Wolfender J L, Lachavanne J B, et al. ent-Labdane glycosides from the aquatic plant *Potamogeton lucens* and analytical evaluation of the lipophilic extract constituents of various *Potamogeton* species [J]. Phytochemistry, 2004, **65**(7): 945-954.
- [12] 叶淼, 刘书婷, 翟文珠, 等. 丽娃河菹草化学成分的研究 [A]. 见: 中国化学会第八届天然有机化学学术研讨会论文集 [C]. 北京: 中国化学会, 2010. 243.
- [13] DellaGreca M, Fiorentino A, Isidori M, et al. Antialgal furano-

- diterpenes from *Potamogeton natans* L. [J]. *Phytochemistry*, 2001, **58**(2): 299-304.
- [14] Waridel P, Wolfender J L, Lachavanne J B, *et al.* Identification of the polar constituents of *Potamogeton* species by HPLC-UV with post-column derivatization, HPLC-MSⁿ and HPLC-NMR, and isolation of a new *ent*-labdane diglycoside [J]. *Phytochemistry*, 2004, **65**(16): 2401-2410.
- [15] 王锦旗, 郑有飞, 王国祥. 菹草种群对湖泊水质空间分布的影响[J]. *环境科学*, 2011, **32**(2): 416-422.
- [16] Nakamura T, Nagayama K, Uchida K, *et al.* Antioxidant activity of phlorotannins isolated from the brown alga *Eisenia bicyclis* [J]. *Fish Science*, 1996, **62**(6): 923-926.
- [17] 薛培英, 李国新, 赵全利. 轮叶黑藻和穗花狐尾藻对铜的吸收机制研究[J]. *环境科学*, 2014, **35**(5): 1878-1883.
- [18] 肖溪, 楼莉萍, 李华, 等. 沉水植物化感作用控藻能力评述[J]. *应用生态学报*, 2009, **20**(3): 705-712.
- [19] 洪喻, 胡洪营. 水生植物化感抑藻作用研究与应用[J]. *科学通报*, 2009, **54**(3): 287-293.
- [20] Sun Y, Tian L, Huang J, *et al.* Trichodermatides A-D, novel polyketides from the marine-derived fungus *Trichoderma reesei* [J]. *Organic Letters*, 2008, **10**(3): 393-396.
- [21] Bordoloi G N, Kumari B, Guha A, *et al.* Potential of a novel antibiotic, 2-methylheptyl isonicotinate, as a biocontrol agent against fusarial wilt of crucifers [J]. *Pest Management Science*, 2002, **58**(3): 297-302.
- [22] Buragohain J, Konwar B K, Bordoloi M J. Isolation of an antimicrobial compound from the tender shoots of *Zanthoxylum oxyphyllum* [J]. *Der Pharmacia Sinica*, 2011, **2**(6): 149-152.
- [23] Moore R E, Cheuk C, Patterson G M L. Hapalindoles; new alkaloids from the blue-green alga *Hapalosiphon fontinalis* [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1984, **106**(21): 6456-6457.
- [24] Moore R E, Cheuk C, Yang X Q G, *et al.* Hapalindoles, antibacterial and antimycotic alkaloids from the cyanophyte *Hapalosiphon fontinalis* [J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 1987, **52**(6): 1036-1043.
- [25] 袁峻峰, 章宗涉. 金鱼藻 (*Ceratophyllum demersum* Kom.) 对藻类的生化干预作用[J]. *生态学报*, 1992, **13**(1): 45-50.
- [26] Doan N T, Rickards R W, Rothschild J M, *et al.* Allelopathic actions of the alkaloid 12-*epi*-hapalindole E isonitrile and calothrixin A from cyanobacteria of the genera *Fischerella* and *Calothrix* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2000, **12**(3-5): 409-416.
- [27] Etchegaray A, Rabello E, Dieckmann R, *et al.* Algicide production by the filamentous cyanobacterium *Fischerella* sp. CENA 19 [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2004, **16**(3): 237-243.
- [28] 王红强, 成水平, 张胜花, 等. 伊乐藻生物碱的 GC-MS 分析及其对铜绿微囊藻的化感作用[J]. *水生生物学报*, 2010, **34**(2): 361-366.

CONTENTS

Source Contribution Analysis of the Fine Particles in Shanghai During a Heavy Haze Episode in December, 2013 Based on the Particulate Matter Source Apportionment Technology	LI Li, AN Jing-yu, YAN Ru-sha (3543)
Transformation Mechanism and Sources of Secondary Inorganic Components in PM _{2.5} at an Agriculture Site (Quzhou) in the North China Plain in Summer	CHEN Shi-yi, ZENG Li-min, DONG Hua-bin, <i>et al.</i> (3554)
Pollution Level and Sources of Organic Phosphorus Esters in Airborne PM _{2.5} in Chengdu City	YIN Hong-ling, LI Shi-ping, YE Zhi-xiang, <i>et al.</i> (3566)
Simulation Study of the Emission of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Sugar Alcohols from Biomass Burning	HUANG Shuai, HUANG Xin-yi, WU Shui-ping, <i>et al.</i> (3573)
Characteristics and Parameterization for Atmospheric Extinction Coefficient in Beijing	CHEN Yi-na, ZHAO Pu-sheng, HE Di, <i>et al.</i> (3582)
Photocatalytic Degradation of Gaseous Toluene by a Photo-Fenton Reaction	ZHENG Si-can, CHEN Tian-hu, LIU Hai-bo, <i>et al.</i> (3590)
Emission of PCDD/Fs from Crematories and Its Influencing Factors	YIN Wen-hua, YU Xiao-wei, HAN Jing-lei, <i>et al.</i> (3596)
Odor Emission Characteristics from Biochemical Treatment Facilities of Kitchen Waste in China	ZHANG Yan, WANG Yuan-gang, LU Zhi-qiang, <i>et al.</i> (3603)
Temporal and Spatial Characteristics of Lake Taihu Surface Albedo and Its Impact Factors	CAO Chang, LI Xu-hui, ZHANG Mi, <i>et al.</i> (3611)
Remote Sensing Inversion of Diffuse Attenuation Coefficient in Lake Taihu Based on the GOCI Images	WANG Shan-shan, LI Yun-mei, WANG Qiao, <i>et al.</i> (3620)
Porewater Dissolved Methane in <i>Cyperus malaccensis</i> Marshes Along Salinity Gradient in the Minjiang River Estuary	YANG Ping, ZHANG Zi-chuan, DU Wei-ning, <i>et al.</i> (3633)
Stable Isotopes Characters of Soil Water Movement in Shijiazhuang City	CHEN Tong-tong, CHEN Hui, HAN Lu, <i>et al.</i> (3641)
Seasonal Variations in Vertical Profile of Hg Species and the Influential Factors in Changshou Reservoir	BAI Wei-yang, ZHANG Cheng, TANG Zhen-ya, <i>et al.</i> (3649)
Nutrient Characteristics and Nitrogen Forms of Rhizosphere Soils Under Four Typical Plants in the Littoral Zone of TGR	WANG Xiao-feng, YUAN Xing-zhong, LIU Hong, <i>et al.</i> (3662)
Exchange Fluxes and Coupling Relationship of Dissolved Inorganic Carbon and Dissolved Organic Carbon Across the Water-Sediment Interface in Lakes	WANG Wei-ying, LÜ Chang-wei, HE Jiang, <i>et al.</i> (3674)
Mass Transport in Porous Sediments During a Turbulent Disturbance	LI Shao-long, CHEN Dao-yi (3683)
Characterization of Pollutant Wash-off in the Urban Stormwater	WU Jun-liang, REN Yu-fen, WANG Xue-mei, <i>et al.</i> (3691)
Research of the Stormwater Runoff and Pollution Characteristics in Rural Area of Yuhang District, Hangzhou	DUAN Sheng-hui, ZHAO Yu, SHAN Bao-qing, <i>et al.</i> (3697)
Formation and Variation of Brominated Disinfection By-products in A Combined Ultrafiltration and Reverse Osmosis Process for Seawater Desalination	YANG Zhe, SUN Ying-xue, SHI Na, <i>et al.</i> (3706)
Effect of Natural Organic Matter and Electrolytes on the Aggregation of C ₆₀ Nanoparticles in Aquatic Systems	FANG Hua, JING Jie, YU Jiang-hua, <i>et al.</i> (3715)
Efficiency of Sediment Amendment with Zirconium-Modified Kaolin Clay to Control Phosphorus Release from Sediments in Heavily Polluted Rivers	WANG Hong, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (3720)
Transformation of Nitrogen Nutrients in the Urban Sewage Pipe Network	JIN Peng-kang, JIAO Ding, REN Wu-ang (3730)
Application of Micro-aerobic Hydrolysis Acidification in the Pretreatment of Petrochemical Wastewater	ZHU Chen, WU Chang-yong, ZHOU Yue-xi, <i>et al.</i> (3738)
Efficacy of A ² /O- <i>MBR</i> Combined Process in Wastewater Treatment and the Characteristics of Membrane Fouling	WANG Xu-dong, MA Ya-bin, WANG Lei, <i>et al.</i> (3743)
Effect of High Ammonium on Nitrogen Removal in an Partial Nitrification-ANAMMOX Process with Reflux System	LI Xiang, CUI Jian-hong, YUAN Yan, <i>et al.</i> (3749)
Reductive Dechlorination of Trichloroethylene by Benzoate-Enriched Anaerobic Cultures	LI Jiang-wei, YANG Xiao-yong, HU An-yi, <i>et al.</i> (3756)
2,4,6-Trichlorophenol Mineralization Promoted by Anaerobic Reductive Dechlorination of Acclimated Sludge and Extracellular Respiration Dechlorination Pathway	SONG Jia-xiu, LI Ling, SHENG Fan-fan, <i>et al.</i> (3764)
Short or Long Term Influence of Phenol on Nitrogen Removal Efficiency of ANAMMOX Sludge	YANG Peng-bing, LI Xiang, HUANG Yong, <i>et al.</i> (3771)
Process Optimization of Aerobic Granular Sludge Continuous-Flow System for the Treatment of Low COD/N Ratio Sewage	LU Lei, XIN Xin, LU Hang, <i>et al.</i> (3778)
Long-Term Inhibition of FNA on Aerobic Phosphate Uptake and Variation of Phosphorus Uptake Properties of the Sludge	MA Juan, LI Lu, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (3786)
Performance and Factors Analysis of Sludge Dewatering in Different Wastewater Treatment Processes	LIU Ji-bao, LI Ya-ming, LÜ Jian, <i>et al.</i> (3794)
Effect of Residual Hydrogen Peroxide on Hydrolysis Acidification of Sludge Pretreated by Microwave -H ₂ O ₂ -Alkaline Process	JIA Rui-lai, LIU Ji-bao, WEI Yuan-song, <i>et al.</i> (3801)
Vertical Distribution Characteristics of Typical Forest Soil Organic Nitrogen in Dawei Mountain	DING Xian-qing, MA Hui-jing, ZHU Xiao-long, <i>et al.</i> (3809)
Effects of Different Land Uses on Soil Active Organic Carbon and Nitrogen Fractions in Jinyun Mountain	QI Xin, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju, <i>et al.</i> (3816)
Control of Soil Nutrient Loss of Typical Reforestation Patterns Along the Three Gorges Reservoir Area	WU Dong, HUANG Zhi-lin, XIAO Wen-fa, <i>et al.</i> (3825)
Effects of Slope Position and Soil Horizon on Soil Microbial Biomass and Abundance in Karst Primary Forest of Southwest China	FENG Shu-zhen, SU Yi-rong, ZHANG Wei, <i>et al.</i> (3832)
Effects of Different Plantation Type on the Abundance and Diversity of Soil Microbes in Subtropical Red Soils	SHEN Bing-jie, ZHU Zhen-ke, YUAN Hong-zhao, <i>et al.</i> (3839)
Accumulation of Mercury in Soil-maize System of Non-ferrous Metals Smelting Area and Its Related Risk Assessment	Ji Xiao-feng, ZHENG Na, WANG Yang, <i>et al.</i> (3845)
Effects of Different Modifier Concentrations on Lead-Zinc Tolerance, Subcellular Distribution and Chemical Forms for Four Kinds of Woody Plants	CHEN Yong-hua, ZHANG Fu-yun, WU Xiao-fu, <i>et al.</i> (3852)
Isolation, Purification and Identification of Antialgal Activity Substances of Ethyl Acetate Extracts from the Submerged Macrophytes <i>Potamogeton crispus</i>	SUN Ying-ying, SU Zhen-xia, PU Yin-fang, <i>et al.</i> (3860)
Distribution Characteristics and Potential Risk of CBs in Aquatic Organisms from Typical Epidemic Areas of Schistosomiasis Prevalence	LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (3866)
Application of Whole-cell Biosensor ADP1_pWHlux for Acute Toxicity Detection in Water Environment	TANG Hui, SONG Yi-zhi, JIANG Bo, <i>et al.</i> (3872)
Application of Rainbow Trout CYP1 Gene Expression Patterns in Gill and Liver for Haihe River Bio-monitoring	GAO Kai, YAN Pei, TAN Cui-ling, <i>et al.</i> (3878)
Toxic Effect of Nano-ZnO in Liver of Zebrafish	LIU Lin, ZHAO Qun-fen, JIN Kai-xing, <i>et al.</i> (3884)
Acute Toxicity of <i>Coptis chinensis</i> Rhizome Extracts to <i>Daphnia carinata</i>	CHEN Ya-nan, YUAN Ling (3892)
Adsorption-desorption Characteristics of Fermented Rice Husk for Ferrous and Sulfur Ions	XIE Xiao-mei, LIAO Min, HUA Jia-yuan, <i>et al.</i> (3896)
Application of Stir Bar Sorptive Extraction and Gas Chromatograph Mass Spectrometer to the Phthalic Acid Esters Analysis in Seawater	GAO Chen-chen, LI Feng-min, LU Lun, <i>et al.</i> (3906)
Experimental Conditions and Reliability Analysis of Results of COD Components	LI Zhi-hua, ZHANG Yin, HAN Xing, <i>et al.</i> (3913)
Method for Simultaneous Determination of 11 Veterinary Antibiotics in Piggery Wastewater and Sludge and Its Application in Biological Treatment	DING Jia-li, LIU Rui, ZHENG Wei, <i>et al.</i> (3918)
Research Progress in Technology of Using Soil Micro-organisms to Generate Electricity and Its Potential Applications	DENG Huan, XUE Hong-jing, JIANG Yun-bin, <i>et al.</i> (3926)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2015年10月15日 第36卷 第10期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 36 No. 10 Oct. 15, 2015

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印刷装订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行人