

太湖沉积物腐殖酸结构特征及其对产甲烷的影响*

周文杰^{1,2,3}, 王洪伟^{2,3,4}, 赵成^{2,3,4}, 荀凡^{2,3}, 韩雪欣^{2,3,4}, 许妍¹, 邢鹏^{2,3**}

(1: 东南大学土木工程学院, 南京 210018)

(2: 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与流域水安全重点实验室, 南京 210098)

(3: 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室, 南京 210098)

(4: 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 腐殖酸通过与产甲烷过程竞争电子抑制甲烷产生, 是一种湖泊温室气体减排的自然策略。目前关于湖泊不同生境类型中腐殖酸结构特征及其对产甲烷过程的影响还缺乏系统性的认识。本研究旨在系统分析太湖不同区域沉积物中腐殖酸(HA)的结构特征及其对产甲烷的影响。采样区域涵盖东太湖、梅梁湾、湖心区和大浦口, 分别采集表层沉积物进行定量分析。通过傅里叶红外光谱、分光光度法、元素分析、电子转移能力测量以及醌类基团的定量测量, 表征了 HA 的含量、结构特征及氧化还原特性(包括电子接受能力(EAC)和电子供给能力(EDC))。研究表明, 太湖四个区域的 HA 含量及其氧化还原特性存在显著空间差异。草型湖区(如东太湖)沉积物 HA 的含量最高, 而藻型湖区沉积物 HA 的 EAC 最强。相关性分析显示, HA 的 EAC 与沉积物碳氮比呈显著负相关以及与 HA 的芳香缩合度呈显著正相关。为了进一步明确太湖 HA 对产甲烷过程的影响, 本研究在产甲烷菌富集体系中探究不同 EAC 的 HA 对产甲烷过程的影响, 并通过测定甲烷累积量和辅酶 F₄₂₀ 相对活性来监测产甲烷过程。结果表明, 随着 HA 的 EAC 增加, HA 对产甲烷过程的抑制作用越显著, 辅酶 F₄₂₀ 相对活性越低。这一发现表明湖泊 HA 的 EAC 通过抑制产甲烷菌活性, 从而抑制甲烷的产生。未来的研究应进一步关注不同基质对湖泊 HA 形成机制的影响, 以及影响 HA 的 EAC 的关键因素, 以全面理解湖泊 HA 在气候变化调控中的潜在作用。

关键词: 腐殖酸; 电子接受能力; 产甲烷; 太湖; 藻型湖区; 草型湖区

Structural Characteristics of Humic Acid in Sediments of Lake Taihu and Its Influence on Methanogenesis

Zhou Wenjie^{1,2,3}, Wang Hongwei^{2,3,4}, Zhao Cheng^{2,3,4}, Xun Fan^{2,3}, Han Xuexin^{2,3,4}, Xu Yan¹, Xing Peng^{2,3**}

(1: School of Civil Engineering, Southeast University, Nanjing 210018, China)

(2: State Key Laboratory of Lake and Watershed Science for Water Security, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(3: State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy

*2024-10-21 收稿; 2025-03-20 收修改稿。

江苏省自然科学基金项目(BK20220015)和国家自然科学基金项目(92251304)联合资助。

**通讯作者: pxing@niglas.ac.cn

of Sciences, Nanjing 210008, China)

(4: University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Humic acid inhibits methane production by competing with the methanogenic process for electrons and is a natural strategy for reducing greenhouse gas emissions from lakes. Currently, there is still a lack of systematic understanding of the structural characteristics of humic acid in different lake habitat types and its impact on the methanogenesis process. This study aimed to systematically analyze the structural characteristics of humic acid (HA) in sediments from different regions of Lake Taihu and its effects on methanogenesis. The sampling area covers East Taihu Lake, Meiliang Bay, the central lake area and Dapukou, and surface sediments were collected for quantitative analysis. The content, structural characteristics and redox properties of HA (including electron accepting capacity (EAC) and electron donating capacity (EDC)) were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy, spectrophotometry, elemental analysis, electron transfer capacity measurement and quantitative measurement of quinone groups. capability (EDC)). The results showed that there were significant spatial differences in HA content and its redox properties in the four regions of Lake Taihu. The HA content in sediments from grass-type lakes (such as East Taihu Lake) is the highest, while the EAC of HA in sediments from algae-type lakes is the strongest. Correlation analysis showed that the EAC of HA was significantly negatively correlated with the carbon/nitrogen ratio of sediments and significantly positively correlated with the aromatic condensation degree of HA. In order to further clarify the effect of Taihu HA on the methanogenesis process, this study explored the effect of HA from different EAC on the methanogenesis process in a methanogen enrichment system, and monitored the methanogenesis process by measuring the methane accumulation and the relative activity of coenzyme F₄₂₀. The results showed that as the EAC of HA increased, the inhibitory effect of HA on the methanogenesis process became more significant and the relative activity of coenzyme F₄₂₀ became lower. This finding suggests that EAC from lake HA inhibits methane production by suppressing the activity of methanogens. Future studies should further focus on the effects of different matrices on the formation mechanism of lake HA and the key factors affecting the EAC of HA to fully understand the potential role of lake HA in climate change regulation.

Keywords: Humic acid; electron accepting capacity; methane production; Lake Taihu; algal-dominated regions; macrophyte-dominated regions

自工业革命以来，温室效应已导致全球平均气温上升约 1.2 °C^[1]。甲烷(CH₄)在调控全球气候中发挥着至关重要的作用，其 100 年全球变暖潜力(GWP-100)约为二氧化碳(CO₂)的 28 倍^[2]。湖泊是甲烷排放的重要自然来源，尽管其面积仅占全球无冰陆地表面积的 3.7%，但其排放的 CH₄ 约占所有自然生态系统排放总量的 20%^[3,4]。由于 CH₄在大气中的寿命远短于 CO₂，减少 CH₄排放能够在短中期内显著减缓温室效应^[5]。因此，深入了解湖泊 CH₄产生的过程、机制及其对环境变化的响应，对于发挥湖泊在减缓全球变暖中的“制动器”作用至关重要。

腐殖酸(humic acid, HA)作为湖泊沉积物有机质(organic matter, OM)的主要成分，已被提出作为应对全球变暖的一种缓解策略，旨在通过其调控作用减少 CH₄的产生，从而减轻 CH₄对全球气候变化的不利影响^[6]。HA 是由植物、动物和微生物残体形成的复杂有机大分子化合物，含有丰富的羧基(—COOH)、酚羟基(酚—OH)、醇羟基(醇—OH)、甲氧基(—OCH₃)、羰基(C=O)和醌基等含氧官能团，这些含氧官能团通过提供或接受电子、影响氧化还原电位以及促进电子转移路径的形成，显著影响 HA 的电子转移能力以及氧化还原能力^[7]。HA 的基质物质显著影响 HA 的物理化学特征，比如来源于黑土的 HA 烷基碳含量最高，来源于黄棕壤的 HA 羰基碳含量最高，来源于黄潮土的 HA 芳香缩合度最大^[8,9]。但是，对于不同

湖泊类型沉积物形成的 HA，其含量以及结构上的差异可能会显著影响其抑制产 CH₄ 的效果，但目前为止没有系统的研究。已有研究发现，HA 作为环境中的一种末端电子受体，能够竞争流向 CH₄ 的电子，从而抑制 CH₄ 的产生^[10]。尽管这一机制已得到初步验证，HA 对产 CH₄ 过程影响行为受其基质材料的影响仍需深入探讨。

藻型湖泊和草型湖泊这两种典型湖泊生态系统，能够为 HA 的合成提供不同的基质材料以及形成环境。藻型湖泊沉积物中的藻类残体为 HA 的合成提供了高氮含量的基质材料，而在草型湖泊，水生植物残体则为 HA 形成提供了高碳含量的基质材料^[11]。氨基酸是 HA 形成的重要基质材料，太湖不同区域表层沉积物中氨基酸的组成存在显著差异，浮游植物为主的藻型湖泊区域氨基酸占 TOC 和 TN 的比例均高于水生植物为主的草型湖泊区域^[12,13]。我们推测高氮含量的基质材料有利于微生物对 HA 的加工，形成更高芳香缩合度、更多醌类基团以及更强 EAC 的 HA。沉积物中不同来源有机碎屑的分解速度和分解程度存在显著差异，藻类碎屑可以在 4 天内损失物质干重的 50%，水生植物则需要 0.5 到 12 个月^[14]。以水生植物为主的区域可能会因水生植物残体降解周期长，导致沉积物中保存着更多有机质，可以为 HA 的形成提供充足的基质材料。由于高碳含量的基质材料不利于被微生物利用，可能影响 HA 的缩合过程。草型湖泊沉积物中 HA 由于醌类基团和芳香性结构少，其 EAC 较弱可能不利于其对发挥对产 CH₄ 的抑制作用。

太湖是中国第三大淡水湖，面积达 2338 km²，平均深度为 1.9 m^[15]。太湖北部为藻类主导的藻型湖区，东部则为水生植物主导的草型湖区，这两个区域构成了两种不同的天然 HA“孵化器”，为探究不同湖泊生境产生的 HA 对产 CH₄ 过程的影响提供了绝佳的天然实验场所^[16]。此外，近三十年来，太湖富营养化问题日益严重，使其成为 CH₄ 排放的敏感区域^[17]，因此，研究不同湖泊生境下产生的 HA 对 CH₄ 生成的影响变得尤为重要。本研究选择了太湖东太湖作为草型湖区、梅梁湾作为藻型湖区、湖心区作为自然扰动区及大浦口作为人类活动区的表层沉积物中的 HA 作为研究对象。通过定量提取、傅里叶红外光谱、分光光度法、元素分析、介导电化学测量以及醌类基团定量测量等方法，系统分析了不同湖泊生境下 HA 的含量和结构特征及其对沉积物产甲烷菌产 CH₄ 过程的影响，并阐明了不同 EAC 的 HA 对沉积物产甲烷菌产 CH₄ 过程的影响，为深入研究不同类型湖泊沉积物的产 CH₄ 过程提供科学依据。

1 材料与方

1.1 样品采集与理化性质分析

2022 年 7 月在太湖以大型植物为主的草型湖区东太湖(120°22'41.67"N, 30°56'25.00"E)、以藻类为主的藻型湖区梅梁湾(120°8'50.52"N, 31°27'12.69"E)、人类活动频繁的人类活动区大浦口(119°56'50.53"N, 31°19'4.74"E)以及风浪剧烈的自然扰动区湖心区(120°12'3.67"N, 31°14'48.65"E)各选择 3 个点位，使用彼得森采泥器采集表层沉积物(5 cm 以上)，运回实验室后将新鲜沉积物-4℃ 冷藏保存，并将部分沉积物冷冻干燥保存(图 1)。

将冻干沉积物样品研磨后过 200 目筛，采用全自动元素分析仪(EA3000, Euro Vector, Italy)测定沉积物碳、氮元素。通过将研磨后的沉积物样品置于 50 mL 离心管中，加入 1 mol/L HCl，在室温下静置 12 h，以确保无机质充分溶解。待反应结束后，离心，用超纯水反复清洗沉淀，以确保去除残留的酸，得到的沉淀即为沉积物有机质。

沉积物中的易降解有机质与难降解有机质含量通过以下方式测定^[18]。称取 0.5 g 样品置于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 2.5mol/L 的 H₂SO₄ 溶液，在 105 °C 的烘箱中静置 30 min，待样品冷却至室温后，离心，收集并保存上清液。随后，用 20 mL 超纯水清洗沉淀，离心后合并上清液。使用总有机碳分析仪

(Torch, Teledyne Tekmar, USA)测定合并上清液的总有机碳含量为易降解有机质 1(labile organic matter-1, LOM-1, 主要为非纤维素多糖类物质)。将剩余沉淀加入 2 mL 13mol/L H₂SO₄, 于室温下静置过夜。之后将样品置于恒温摇床中振荡水解, 水解完成后加入超纯水稀释酸度至 1 mol/L。在 105 °C 烘箱水解 3 h, 期间每隔 30 min 摇动样品一次。水解结束后, 离心并收集上清液。用 20 mL 超纯水清洗沉淀, 离心后与上清液合并。测定合并上清液总有机碳含量为易降解有机质 2(labile organic matter-2, LOM-2, 主要为纤维素类物质)。最后, 用超纯水将剩余沉淀清洗两次, 置于 60 °C 烘箱烘干, 并测定残留物的总有机碳含量为难降解有机质(refractory organic matter, ROM)。

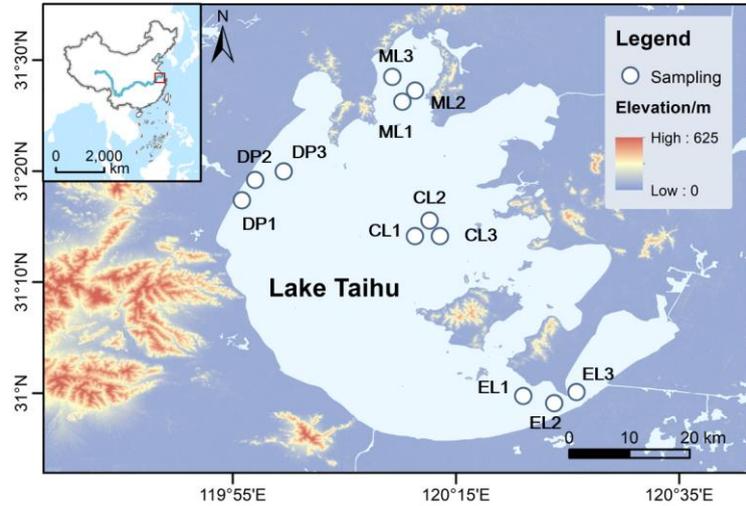


图 1 太湖采样位点图

Fig.1 The sampling sites in Lake Taihu

含水率通过差减法计算得出。精确称量湿沉积物的质量, 记为湿重 W_{wet} 。将湿沉积物样品放入烘箱, 在 105 °C 的恒温下干燥, 待恒重后, 将样品取出放置于干燥器中冷却至室温, 再次称量样品的质量, 记为干重 W_{dry} 。用以下计算公式计算含水率:

$$\text{含水率}(\%) = \frac{W_{wet} - W_{dry}}{W_{wet}} \times 100 \quad (1)$$

1.2 沉积物腐殖酸提取

依照国际腐殖物质协会(IHSS)提供的方法提取 HA, 提取过程如下: 首先, 将沉积物去除杂质, 冷冻干燥后研磨成粉末, 过 200 目筛。然后, 按 1:10 的质量比将沉积物冻干样品与 0.1 mol/L HCl 溶液在室温下充分混合, 用 6 mol/L HCl 将溶液的 pH 调至 1, 混合样品在恒温摇床中震荡 1 小时后静置 12 小时, 待固液分层后去除上清液, 收集沉淀物以进行进一步提取。将收集的沉淀物与 0.1 mol/L NaOH 溶液按质量比 1:10 混合, 溶解后用 1.0 mol/L NaOH 将 pH 调至 7.0, 整个操作在 N₂气氛下进行。随后, 将混合液置于恒温摇床中震荡 15 小时, 震荡结束后静置离心, 收集上清液。将上清液用 6.0 mol/L HCl 酸化至 pH=1.0, 静置 15 小时后离心, 收集粗制 HA 固体。为了进一步提纯, 将粗制 HA 在 N₂条件下用 0.1 mol/L KOH 溶解, 并加入 KCl 使溶液中的 K⁺浓度维持在 3 mol/L。接着, 8000 rpm 离心 10 min 以去除悬浮固体。然后加入 6.0 mol/L HCl 将 pH 再次调至 1.0, 静置 15 小时后离心, 弃去上清液。最后, 将沉淀置于塑料容器中, 加入 0.1 mol/L HCl 与 0.3 mol/L HF(体积比 1:1)的混合溶液, 在恒温摇床中震荡 12 小时后离心。去除上清液后, 用超纯水多次洗涤沉淀物, 直至对洗涤水加入硝酸银溶液后不再出现白色浑

浊，即不再检测出 Cl⁻。最后，将提纯后的 HA 样品冻干，得到纯化的 HA。

1.3 沉积物腐殖酸特征分析

1.3.1 傅里叶红外光谱分析 采用 FT-IR 光谱仪(Nicolet 6700, ThermoFisher Scientific, USA)对 HA 进行 FT-IR 光谱测定。将 0.7 mg 的 HA 与 140 mg 溴化钾研细混合后，放在真空烘箱中于 110 °C 条件下烘干，把混合物压成薄片后，在 1000-4000 cm⁻¹ 波数范围内记录图谱。

1.3.2 紫外分光光度计分析 称取 0.05 g HA，将其溶解在 0.05 mol/L NaHCO₃ 中，并定容至 100 mL，通过 0.45 μm 滤膜过滤去除颗粒物。在正式测量样品之前，用纯水或空白溶液对分光光度计进行基线校正，以消除溶剂的背景干扰。使用紫外分光光度计(UV-1200, MAPADA, China)将过滤后的样品溶液置于 1 cm 光程的石英比色皿中，分别在 465 nm 和 665 nm 两个波长处测量其吸光度。E4/E6 值为物质在 465 nm 和 665 nm 两个波长处的吸光度之比。

1.3.3 电子转移能力测量 本实验采用介导电化学氧化(mediated electrochemical reduction, MEO)和介导电化学还原(mediated electrochemical reduction, MER)的方法对物质的 EDC 和 EAC 进行定量分析。介导电化学测试系统由电化学工作站(CHI600F, 上海辰华, China)和介导反应装置两部分组成。实验在无氧操作手套箱中进行，电极电位恒定设置为 0.61 V(介导氧化)或-0.49 V(介导还原)。首先，通过加料口向反应器中注入 6 mL 缓冲液，启动电化学测试程序并记录电流-时间曲线，稳定后添加 100 μL 10 mM ABTS(介导氧化)或 ZiV(介导还原)作为介导剂。通过梯度加入 10-50 μL 的物质溶液或悬浮液，物质得失电子过程的时间-电流曲线。通过公式(2)和(3)对时间-电流曲线进行积分，定量计算物质的 EDC 和 EAC:

$$EDC = \frac{\int_{t}^{t_{ox}} \frac{I_{ox}}{F} dt}{m} \quad (2)$$

$$EAC = \frac{\int_{t}^{t_{red}} \frac{I_{red}}{F} dt}{m} \quad (3)$$

式中 I_{ox} 为介导氧化电流， I_{red} 为介导还原电流， F 为法拉第常数， $F = 96485 \text{ s A/mol } e^{-}$ 。 m 为每次注入反应体系物质的质量； t 为反应时间，单位为 s^[19]。

通过上述方法分别测定沉积物及其有机质的 EAC，HA 的 EAC 和 EDC。

1.3.4 醌类基团含量测量 将 0.5 g/L 的 HA 溶液分别装入两个血清瓶中，分别调节 pH 至 6.5 和 8.0，并分别加入 Pd-C 和 Pd 催化剂。在 H₂ 环境中曝气 30 min 后，置于恒温摇床中反应 24 小时。取 500 μL 样品通过 0.22 μm 滤膜后，测定还原样品的电子转移数。去除样品中的剩余催化剂后，在空气中曝气 30 min，再次取 500 μL 样品测定氧化样品的电子转移数。随后，将剩余样品在 40 °C 条件下曝 N₂ 30 min，为一轮还原-氧化循环，该循环重复三次。将还原样品与氧化样品的电子转移量之差定义为样品的电子传递能力(electron transfer capability, ETC)。在 N₂-H₂(V=95:5)的厌氧条件下 ETC 的测定。将 100 μL HA 样品与 100 μL 铁氰化钾溶液混合，反应 30 min 后，采用 Ferrozine 法测定 Fe(II)浓度。根据 Fe(II)浓度计算 HA 向 Fe(III)转移的电子数量，并不同实验条件下得到的 HA 的 ETC 分别命名为 $ETC_{pH=6.5/Pd-C}$ 和 $ETC_{pH=8/Pd}$ 。根据 $ETC_{pH=6.5/Pd-C}$ 和 $ETC_{pH=8/Pd}$ 计算出醌类基团(Q)和非醌类基团(NQ)的含量^[20,21]。

$$ETC_{pH=6.5/Pd-C} = ETC_{R_{pH=6.5/Pd-C}} - ETC_{O_{pH=6.5/Pd-C}} \quad (4)$$

$$ETC_{pH=8/Pd} = ETC_{R_{pH=8/Pd}} - ETC_{O_{pH=8/Pd}} \quad (5)$$

$$NQ \text{ 含量} = \frac{ECC_{pH=6.5/Pd-C}}{ECC_{pH=8/Pd}} \times 100\% \quad (6)$$

$$Q \text{ 含量} = \frac{ECC_{pH=8/Pd} - ECC_{pH=6.5/Pd-C}}{ECC_{pH=8/Pd}} \times 100\% \quad (7)$$

式中 $ETC_{R_{pH=6.5/Pd-C}}$ 与 $ETC_{R_{pH=8/Pd}}$ 为 HA 分别在 pH 为 6.5、8 的条件下经过 H_2 还原后的 ETC, $ETC_{O_{pH=6.5/Pd-C}}$ 与 $ETC_{O_{pH=8/Pd}}$ 为 HA 分别在 pH 为 6.5、8 的条件下经过空气氧化后的 ETC, 单位为 $mol e^-$ 。

1.4 腐殖酸的电子接受能力对产 CH_4 过程的影响

1.4.1 制备不同电子接受能力的腐殖酸 首先, 配制浓度为 2 g/L 的 HA 溶液, 分别分装至三个密封的血清瓶中, 并将溶液的 pH 值调节至 8。在每个血清瓶中加入 Pd-C 催化剂, 随后通入 N_2 曝气 30 min, 以排除瓶内空气, 确保无氧环境。接着, 对每瓶溶液分别进行不同时间的氢气(H_2)处理, 具体为通氢气 0 min、3 min 和 10 min, 以逐步还原 HA, 得到具有不同 EAC 的 HA1、HA2、HA3。

处理后, 将溶液置于 150 rpm、25°C 的恒温摇床中反应 24 小时。此后的所有操作均在 N_2 - H_2 (95:5)混合气体的厌氧手套箱内进行, 首先除去 Pd-C 催化剂, 并确保实验过程中无氧暴露。处理后的 HA 样品在遮光条件下保存, 以避免光氧化效应的干扰。最后, 采用介导电化学还原的方法测试 HA1、HA2、HA3 的 EAC, 分别为 $427.36 \pm 3.33 \mu mol e^- g^{-1} C(100.00\%)$ 、 $382.14 \pm 1.64 \mu mol e^- g^{-1} C(89.42\%)$ 和 $301.77 \pm 5.01 \mu mol e^- g^{-1} C(70.61\%)$ 。

1.4.2 富集太湖沉积物产甲烷菌 首先, 将液体培养基倒入平底三角烧瓶中, 并置于电热炉上加热。在加热前, 通入高纯 N_2 (99.99%), 以去除烧瓶内的 O_2 。通过刃天青指示剂的颜色变化来判断无氧状态, 刃天青呈无色时表示培养基已完全达到无氧条件。随后, 将无氧培养基转移至血清瓶中备用, 转移过程需在厌氧环境下(厌氧工作站内)进行。配制好的培养基在 121°C 下高温灭菌 20 min, 灭菌后冷却备用。在超净工作台上, 将经过灭菌处理并冷却的液体培养基按 10%质量分数比例加入 6 g 太湖沉积物, 接种于 60 mL 的液体培养基中, 并密封血清瓶。为了维持严格的厌氧条件, 操作过程中持续通入高纯 N_2 。培养基接种前, 每 5 mL 培养基中加入 0.1 mL 青霉素溶液以及 0.1 mL 无氧 Na_2S (1%) 和 $NaHCO_3$ (5%) 的混合溶液。接种完毕后, 培养基在 37°C 下恒温培养 15 d, 使用连续四次富集法对产甲烷菌进行富集。在培养的指数生长期(通常为 8-10 天, 具体根据 CH_4 产生情况决定), 将第一次富集物的 6%转移至新的无氧培养基中, 重复富集过程 4 次。通过高精度碳同位素分析仪(G2201-I, Picarro, USA)测定培养基上层气相 CH_4 浓度来监测产甲烷菌的富集情况。

1.4.3 腐殖酸的电子接受能力对 CH_4 产量的影响 将 50 mL 血清瓶在 121°C 下灭菌 30 min, 以确保无菌环境。灭菌后, 向每个血清瓶中加入 15 mL 产甲烷菌富集液及 0.4 g 乙酸钠作为底物。实验以添加超纯水为对照组(CK), 分别添加 2.4.1 中制备获得的 HA1、HA2、HA3 作为处理组, 每组均设置三次重复实验。在空白组(CK)中, 向每个血清瓶中添加 5 mL 超纯水作为对照; 在处理组(HA1、HA2、HA3)中, 分别加入 5 mL 浓度为 2 g/L 的 HA1、HA2、HA3 溶液, HA 溶液的 pH 值均调节至 7, 以模拟原位环境。

实验开始前, 将所有血清瓶密封, 并通过通入 N_2 曝气 30 min 以排除氧气, 确保体系在厌氧条件下进行。实验体系设置完成后, 将血清瓶置于恒温摇床中, 在 150 rpm、25°C 的条件下培养, 确保溶液的充分混合和稳定的反应环境。顶空气体中的 CH_4 浓度每 2 天使用 5 mL 注射器抽取 2 mL 棕色顶空瓶中顶空气体取样, 采用高精度碳同位素分析仪(G2201-I, Picarro, USA)测定 CH_4 浓度。每次取完气体后, 需采用高纯 N_2 对顶空瓶顶空气体进行置换, 共 10 天, 取样 5 次。

1.4.4 产甲烷菌辅酶 F₄₂₀ 活性测定 取 10 mL 样品置于冰上冷却, 并在 16000 g、4°C 的条件下离心 30 min。随后, 使用 0.9%的生理盐水在 4°C 下对沉淀样品进行洗涤, 并将样品置于生理盐水中浸泡 30 min 后, 小心移去上清液。接着, 使用蒸馏水洗涤沉淀三次, 并将样品用蒸馏水重新定容至 30 mL。在水浴条件下将样品加热至 95°C, 持续 30 min 以确保完全处理。待样品冷却后, 在 12000 g 条件下离心 20 min, 随后加入 2 倍体积的乙醇, 沉淀反应持续 120 min 以确保完全沉淀。最后, 将样品再次在 12000 g

条件下离心 20 min, 收集上清液, 并在 420 nm 处测定上清液的吸光度, 表征辅酶 F₄₂₀ 的活性。

1.5 统计方法

CH₄效应值以添加组 CH₄产量与对照组 CH₄产量的差值作为分子, 并将对照组 CH₄产量作为分母进行归一化计算得出。区域位点实验数据通过单因素方差分析(ANOVA)检验, 分析在 SPSS 27.0 (IBM, USA) 进行, $p > 0.05$ 表示未达到显著检验水平; $p < 0.05$ 为显著水平。采用 Logistics 方程模型对厌氧产 CH₄动力学进行模拟。此外, 采用 Spearman 相关分析和回归图统计沉积物腐殖酸(HA)结构特征与环境因子之间的相关性, 分析在 Origin 2024 (Origin Lab, USA)进行。用 ArcGIS10.8 (ESRI, USA)绘制太湖采样点位图; 其他图均使用 Origin 2024 (Origin Lab, USA)绘制。

2 结果

2.1 太湖沉积物的特征分析

从表 1 可以得知, 东太湖和湖心区沉积物具有较高的 TOC 含量, 分别为 11.13 ± 1.92 g/kg、 10.78 ± 2.02 g/kg, 其次是梅梁湾沉积物 TOC 为 9.28 ± 0.88 g/kg。大浦口沉积物的 TOC 与 TN 均为全湖范围内的最低观测值, 分别为 7.20 ± 2.68 g/kg 和 0.80 ± 0.29 g/kg。而其余三个区域 TN 没有显著差异, 分别为 1.21 ± 0.26 g/kg(湖心区)、 1.26 ± 0.18 g/kg(东太湖)和 1.22 ± 0.12 g/kg(梅梁湾)。梅梁湾沉积物 C/N 为全湖最低, 为 7.63 ± 0.09 , 其余三个区域 C/N 无显著差异, 分别为 8.97 ± 0.66 g/kg(湖心区)、 9.03 ± 0.25 g/kg(大浦口)和 8.86 ± 0.39 g/kg(东太湖)。

表 1 太湖沉积物特征分析

Table.1 Analysis of sediment characteristics of Lake Taihu

区域	湖区类型	TOC/(g/kg)	TN/(g/kg)	C/N	含水率/%	沉积物 EAC/($\mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{dw}$)
湖心区	自然扰动区	10.78 ± 2.02 a	1.21 ± 0.26 a	8.97 ± 0.66 a	57.74 ± 0.05 a	147.86 ± 8.00 ab
大浦口	人类活动区	7.20 ± 2.68 b	0.80 ± 0.29 b	9.03 ± 0.25 a	61.48 ± 0.68 a	135.56 ± 17.33 ab
东太湖	草型湖区	11.13 ± 1.92 a	1.26 ± 0.18 a	8.86 ± 0.39 a	59.68 ± 4.12 a	175.91 ± 8.23 a
梅梁湾	藻型湖区	9.28 ± 0.88 ab	1.22 ± 0.12 a	7.63 ± 0.09 b	54.24 ± 5.19 a	150.66 ± 30.72 b

1) 不同字母表示采样区域间差异显著($P < 0.05$)

经过分级提取区分沉积物有机质类型结果见图 2a, 多糖类易降解有机质 1(LOM-1)含量全湖无显著差异, 湖心区为 6.86 g/kg, 大浦口为 5.84 g/kg, 东太湖为 6.42 g/kg 以及梅梁湾为 8.36 g/kg。而纤维素类易降解有机质 2(LOM-2)含量由高到低分别是东太湖(20.62 g/kg)、湖心区(18.34 g/kg)、梅梁湾(18.10 g/kg)和大浦口(14.40 g/kg)。难降解有机质(ROM)含量由高到低分别是东太湖(8.32 g/kg)、湖心区(6.78 g/kg)、梅梁湾(6.68 g/kg)和大浦口(4.98 g/kg)。

太湖沉积物 EAC 全湖最高值在东太湖区域, 为 175.91 ± 8.23 $\mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{dw}$, 而梅梁湾沉积物 EAC 显著低于东太湖, 为 150.66 ± 30.72 $\mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{dw}$ (图 2b)。湖心区和大浦口沉积物 EAC 则介于东太湖和梅梁湾之间, 分别为 147.86 ± 8.00 $\mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{dw}$ 和 135.56 ± 17.33 $\mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{dw}$ 。太湖沉积物有机质 EAC 全湖最高值仍是东太湖区域, 为 2.02 ± 0.46 $\mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{dw}$, 湖心区沉积物有机质 EAC 为 1.60 ± 0.21 $\mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{dw}$, 而大浦口和梅梁湾沉积物有机质 EAC 显著低于东太湖, 分别为 1.07 ± 0.49 $\mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{dw}$ 和 1.25 ± 0.13 $\mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{dw}$ 。

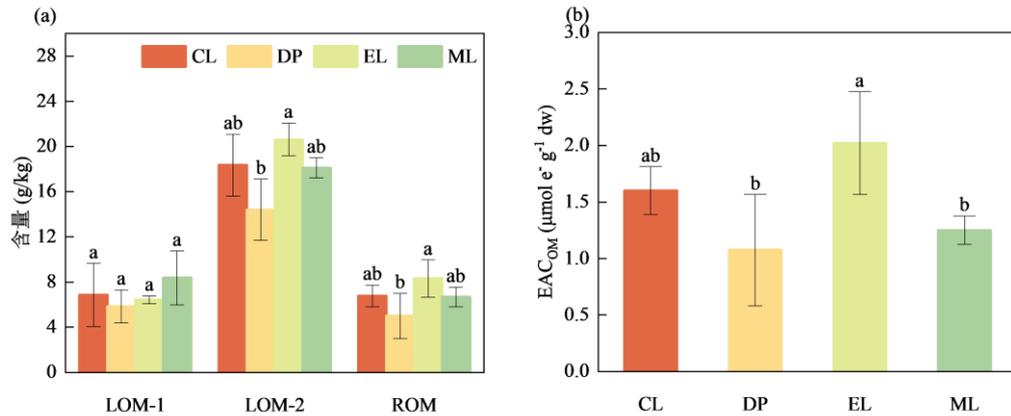


图2 太湖沉积物理化性质，湖心区(CL)、大浦口(DP)、东太湖(EL)和梅梁湾(ML)。(a)易降解有机质1 (LOM-1, 主要为非纤维素多糖类物质)、易降解有机质2(LOM-2, 主要为纤维素类物质)和难降解有机质 (ROM)含量, (b) 有机质的电子接受能力(EAC_{OM})。不同字母表示采样区域间差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 2 Physicochemical properties of sediments in Lake Taihu, The central area of Lake Taihu (CL), Dapukou (DP), East Taihu Lake (EL) and Meiliang Bay (ML) regions (a) total organic matter (TOC), labile organic matter-1 (LOM-1, mainly non-cellulosic polysaccharides), labile organic matter-2 (LOM-2, mainly cellulose) and refractory organic matter (ROM) content and (b) organic matter electron accepting capacity (EAC_{OM}). Different letters indicate significant differences among sampling regions ($P < 0.05$).

2.2 太湖沉积物腐殖酸氧化还原特征及其影响因素

太湖表层 12 个沉积物样点均能通过 IHSS 方法提取得到 HA, 含量结果见图 3a。太湖表层沉积物 HA 的含量变化范围为 0.56-1.01 g/kg, 全湖平均值为 0.78 g/kg。东太湖 HA 含量显著高于太湖其他三个湖区, 含量为 1.01 g/kg, 湖心区 HA, 梅梁湾 HA 与大浦口 HA 含量相近, 分别为 0.56 g/kg, 0.72 g/kg 和 0.71 g/kg。

在结构上, 通过傅里叶红外光谱图(图 3b)可以看出, 太湖四个区域的 HA 在 3330 cm^{-1} (酚羟基 O-H), 2920 cm^{-1} (脂肪族-CH₂), 1365 cm^{-1} -1625 cm^{-1} (芳香环骨架的振动)和 1600 cm^{-1} (羰基 C=O 和芳香族 C=C)处均出现特征峰, 表明四个区域的 HA 在官能团类型上具有较大的相似性。

从表 2 可以得知, 太湖四个区域的 HA 碳含量相对稳定, 均处于 50.50%~51.67%之间, 未表现出显著差异。具体来看, HA 碳含量由高到低依次为东太湖(51.67% ± 0.93%)、湖心区(51.35% ± 0.88)、大浦口(51.16% ± 1.42%)和梅梁湾(50.50% ± 0.95%)。相比之下, HA 氮含量则存在空间差异, 其中湖心区的氮含量为 6.53% ± 0.40%, 大浦口为 6.81% ± 0.43%, 东太湖为 6.28% ± 0.19%, 梅梁湾则最高, 达到 7.05% ± 0.42%。梅梁湾 HA 氮含量显著高于东太湖, 而其他三个区域的氮含量在统计上没有显著差异。四个区域的 HA 碳氮比(C/N)也存在一定差异。湖心区的碳氮比为 7.86 ± 0.30, 大浦口为 7.53 ± 0.66, 东太湖为 8.24 ± 0.14, 梅梁湾的碳氮比为 7.18 ± 0.41。东太湖的碳氮比显著高于梅梁湾, 而湖心区和大浦口的碳氮比处于中间水平, 未表现出显著差异。E4/E6 值方面, 梅梁湾的 HA 的 E4/E6 值最低, 为 4.29 ± 0.11, 显著低于其他区域。湖心区、大浦口和东太湖的 E4/E6 值分别为 4.77 ± 0.10、4.67 ± 0.17 和 4.59 ± 0.23。

表 2 太湖腐殖酸特征分析

Table 2 Characteristic analysis of HA in Taihu Lake

区域	C/%	N/%	C/N	E4/E6 值
湖心区	51.35 ± 0.88 a	6.53 ± 0.40 ab	7.86 ± 0.30 ab	4.77 ± 0.10 a
大浦口	51.16 ± 1.42 a	6.81 ± 0.43 ab	7.53 ± 0.66 ab	4.67 ± 0.17 a
东太湖	51.67 ± 0.93 a	6.28 ± 0.19 b	8.24 ± 0.14 a	4.59 ± 0.23 a
梅梁湾	50.50 ± 0.95 a	7.05 ± 0.42 a	7.18 ± 0.41 b	4.29 ± 0.11 b

1) 不同字母表示采样区域间差异显著($P < 0.05$)

通过介导电化学还原法和介导电化学氧化法测得的太湖 HA 的 EAC 和 EDC 如图 3c 所示。结果表明,太湖沉积物中的 HA 的 EAC($426.05-713.70 \mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{C}$)远高于其 EDC($52.67-122.86 \mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{C}$)。梅梁湾 HA 的 EAC($713.70 \pm 9.97 \mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{C}$)显著高于湖心区($544.02 \pm 38.30 \mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{C}$)。湖心区又显著高于东太湖($452.07 \pm 39.29 \mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{C}$)和大浦口($426.05 \pm 37.49 \mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{C}$)。四个区域 HA 的 EDC 由高到低分别为大浦口($122.86 \pm 23.28 \mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{C}$)、东太湖($91.01 \pm 47.03 \mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{C}$)、梅梁湾($65.50 \pm 18.82 \mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{C}$)和湖心区($52.67 \pm 9.12 \mu\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{C}$),且大浦口 HA 的 EDC 显著高于湖心区和梅梁湾。

从图 3d 结果显示,太湖四个区域的 HA 中,醌类基团(Q)和非醌类基团(NQ)的比例存在显著差异。梅梁湾 HA 的醌类基团占比为 $82.46\% \pm 2.00\%$,为太湖 HA 的最大值,显著高于湖心区($38.33\% \pm 12.58\%$)、大浦口($66.60\% \pm 4.19\%$)和东太湖($29.91\% \pm 9.15\%$)。同时,大浦口 HA 的醌类基团占比显著高于湖心区和东太湖。

沉积物中 HA 仅占有有机质含量的 6%到 11%,其中大浦口为 $11\% \pm 4\%$,东太湖为 $9\% \pm 1\%$,梅梁湾为 $8\% \pm 1\%$ 以及湖心区为 $6\% \pm 1\%$ (图 3e)。而 HA 贡献了沉积物有机质 24%~44%的 EAC,并且梅梁湾显著高于湖心区、大浦口和东太湖,梅梁湾 HA 的 EAC 占其有机质 EAC 的 $44\% \pm 6\%$,紧接着由大到小排列为大浦口($27\% \pm 10\%$)、湖心区($24\% \pm 3\%$)和东太湖($23\% \pm 3\%$)。

如图 4a 所示, Spearman 相关分析显示了影响太湖沉积物 HA 结构特征的环境因子。结果显示,HA 的碳氮比与其含碳量 ($P < 0.05$)及 E4/E6 值($P < 0.05$)呈正相关,而与其含氮量($P < 0.001$)和醌类基团含量 ($P < 0.05$)呈负相关。HA 的醌类基团含量与 HA 的含氮量($P < 0.05$)以及 HA 的 EAC ($P < 0.01$)呈正相关,并与 E4/E6 值($P < 0.001$)和沉积物碳氮比($P < 0.01$)呈显著负相关。HA 的 EAC 还与其 E4/E6 值($P < 0.01$)和沉积物碳氮比($P < 0.01$)呈显著负相关。同时,HA 的 E4/E6 值与沉积物碳氮比($P < 0.05$)呈正相关。此外,沉积物碳氮比与其纤维素类易降解有机质(LOM-2)含量($P < 0.05$)也呈正相关。沉积物的总有机碳含量与总氮含量($P < 0.001$)及难降解有机质(ROM)含量($P < 0.01$)呈显著正相关,而沉积物中的多糖类易降解有机质(LOM-1)含量则与其纤维素类易降解有机质(LOM-2)含量($P < 0.05$)和难降解有机质(ROM)含量($P < 0.01$)呈负相关。同时,回归图表明太湖 HA 的 EAC 与其 E4/E6 值和沉积物的碳氮比具有较好的线性负相关关系(图 4b 和图 4c)。

2.3 不同电子接受能力的腐殖酸对产 CH_4 过程的影响

实验设置如图 5a 所示,该实验设置包括空白组(加入 5 mL 超纯水)和三个处理组(分别加入 5 mL 浓度为 2 g/L 的不同 EAC 的同种 HA 溶液 HA1、HA2、HA3)。每组均含有 15 mL 产甲烷菌富集物和 0.4 g 乙酸钠作为碳源,用于比较不同 HA 的 EAC 对甲烷生成的影响。

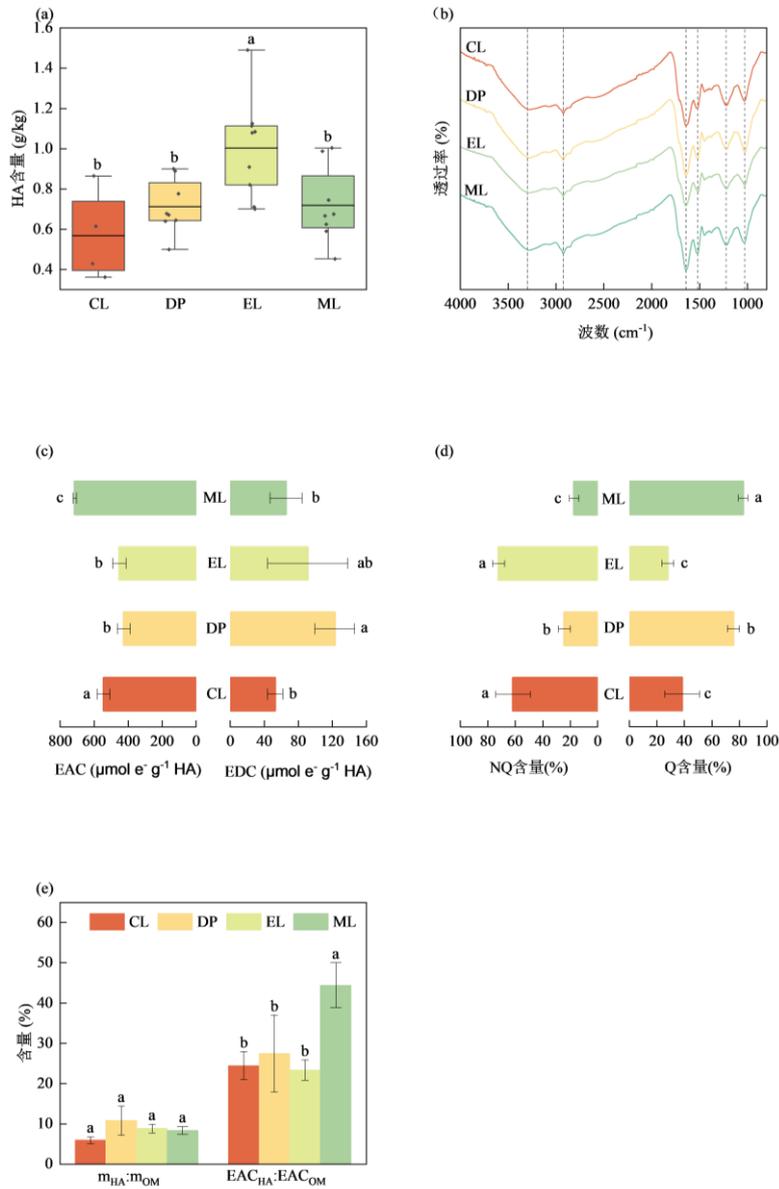


图3 太湖 HA 的理化性质，湖心区(CL)、大浦口(DP)、东太湖(EL)和梅梁湾(ML)。(a)HA 含量 ($m_{\text{HA}}/m_{\text{沉积物}}$)，(b)傅里叶红外光谱，(c)电子接受能力(EAC)和电子供给能力(EDC)，(d)醌类基团(Q)与非醌类基团(NQ)含量、(e)HA 对于沉积物有机质(OM)的含量贡献和电子接受能力(EAC)贡献。不同字母表示采样区域间差异显著($P < 0.05$)

Fig. 3 Physical and chemical properties of humic acid in Taihu Lake, central lake area (CL), Dapukou (DP), East Taihu Lake (EL) and Meiliang Bay (ML). (a) HA content ($m_{\text{HA}}/m_{\text{OM}}$), (b) Fourier transform infrared spectroscopy, (c) electron accepting capacity (EAC) and electron donating capacity (EDC), (d) quinone group (Q) With the content of non-quinone groups (NQ), (e) the contribution of humic acid to the content of sediment organic matter and the contribution of electron accepting capacity (EAC). Different letters indicate significant differences among sampling regions ($P < 0.05$).

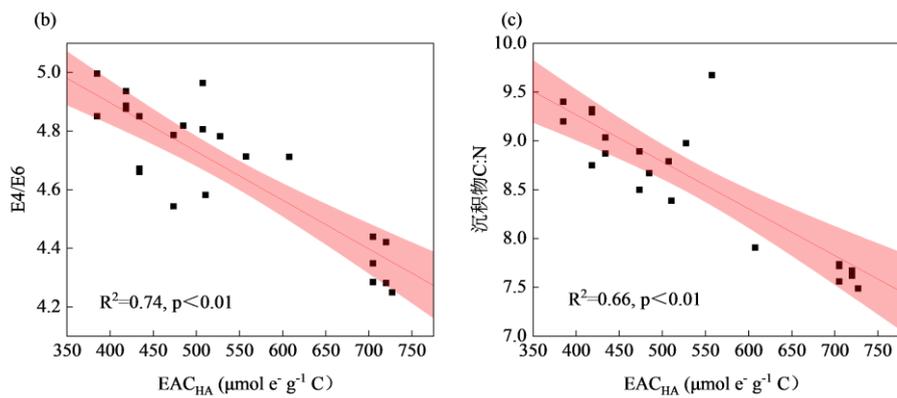
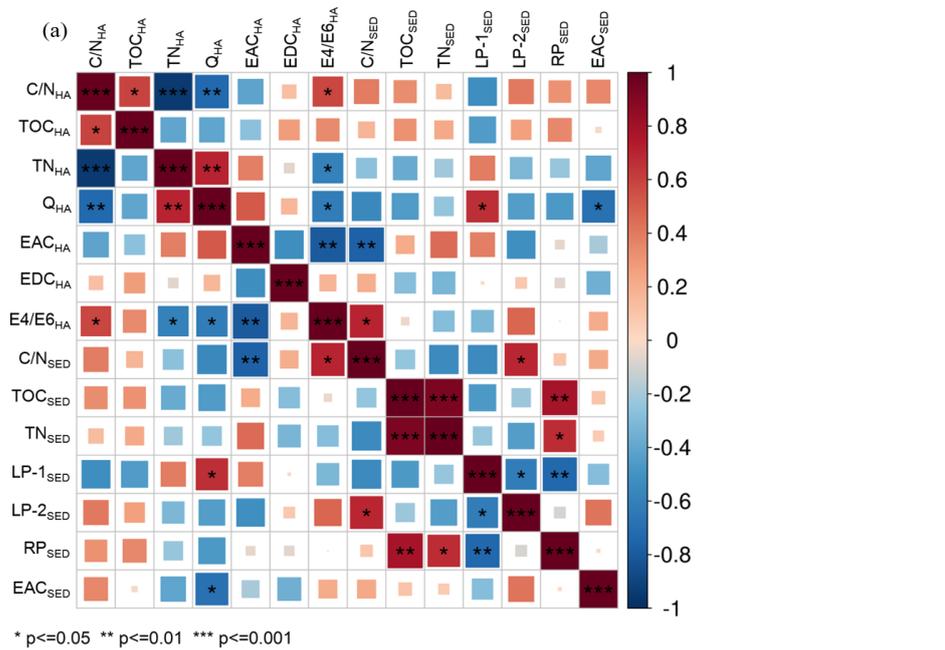


图 4 影响太湖沉积物 HA 结构特征的环境因子分析。(a) Spearman 相关分析, (b) HA 的 EAC 与 HA 的 E4/E6 值的线性回归, (c) HA 的 EAC 与沉积物碳氮比的线性回归

Fig. 4 Analysis of environmental factors affecting the structural characteristics of HA in Taihu Lake sediments. (a) Spearman correlation analysis, (a) Correlation analysis of physical and chemical factors, (b) Linear regression of humic acid EAC and humic acid E4/E6, (c) Humic acid EAC and humic acid E4/E6 Linear regression between humic acid EAC and sediment carbon-nitrogen ratio

实验结果表明, 同种 HA 在三种不同 EAC 水平下均对 CH_4 的产生存在抑制作用。 CH_4 累积浓度如图 5b 所示, HA1、HA2、HA3 组的 CH_4 累积浓度分别为 $72.50 \mu mol L^{-1} L_{菌液}^{-1}$ 、 $86.45 \mu mol L^{-1} L_{菌液}^{-1}$ 和 $108.86 \mu mol L^{-1} L_{菌液}^{-1}$ 。与对照组(CK)($140.51 \mu mol L^{-1} L_{菌液}^{-1}$)相比, CH_4 产量下降了 48.31%、38.35%以及 22.35%(图 5e)。本研究还探讨了 HA 对产甲烷活性的影响。通过检测辅酶 F₄₂₀ 相对含量变化, 初步判断体系中产甲烷菌活性的变化。如图 5c 所示, 将对照组(CK 组)相对活性设为 100%, 处理组的辅酶 F₄₂₀

相对活性分别为 83.63% (HA1)、84.43% (HA2)以及 94.11% (HA3),。

图 5d 散点图矩阵分析了 HA 的 EAC, CH₄ 效应值和辅酶 F₄₂₀ 相对活性的相互关系。结果表明, HA 的 EAC 与 CH₄ 效应值(P<0.001)和辅酶 F₄₂₀ 相对活性(P<0.001)均呈显著负相关关系。

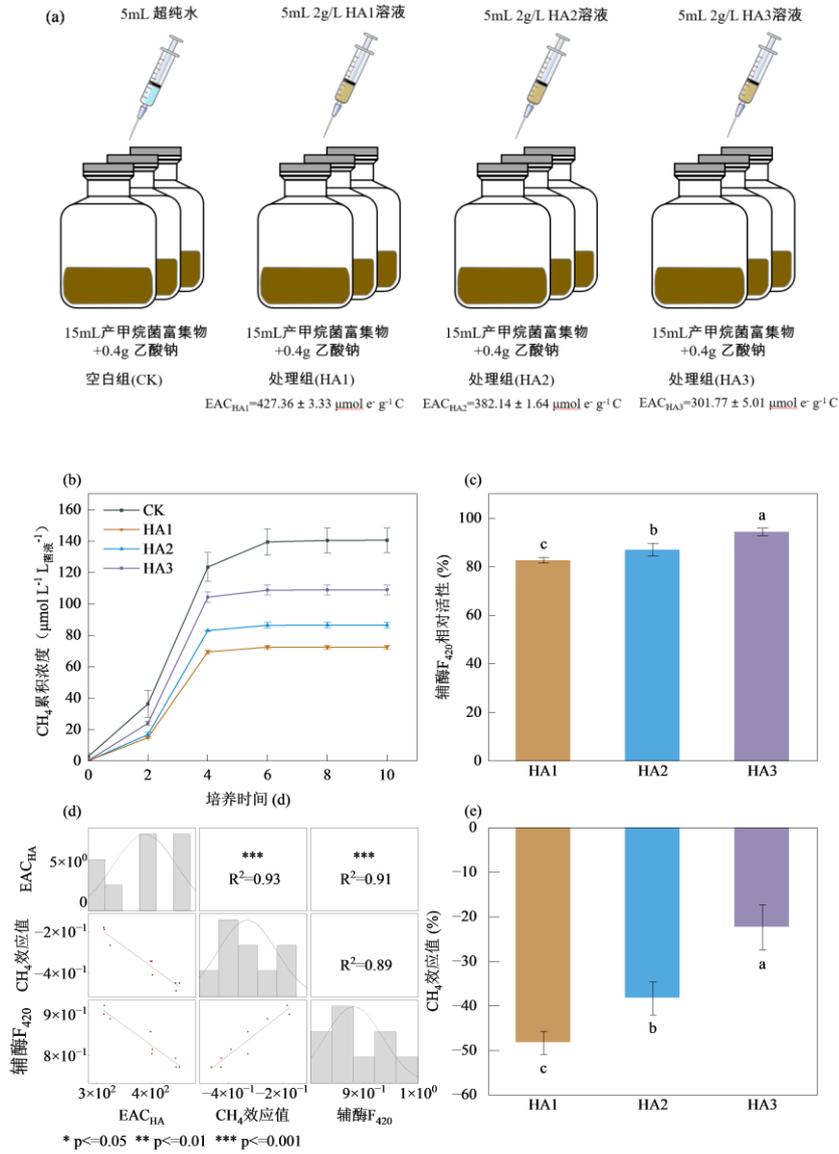


图 5 太湖富集产甲烷菌群体系添加不同 EAC 的 HA 后, (a)实验设置示意图, (b)CH₄ 累积浓度, (c)辅酶 F₄₂₀ 相对活性, (d)HA 的 EAC, CH₄ 效应值和辅酶 F₄₂₀ 相对活性散点图矩阵, (e)CH₄ 效应值

Fig. 5 The methanotroph consortium was incubated with humic acids of various EAC, (a) experimental setup diagram, (b) cumulative concentration of methane, (c) relative activity of Coenzyme F₄₂₀, (d) scatter plot matrix of humic acid EAC, CH₄ effect value and relative activity of Coenzyme F₄₂₀, (e) CH₄ effect value

3 讨论

3.1 湖泊生境对沉积物有机碳性质及腐殖酸含量的影响

太湖沉积物有机质主要来源于内源有机质，草型湖区沉积物中 TOC 含量较高，这与沉水植物较少引发沉积物再悬浮，有机质得以更好保存有关^[22]。富含高碳含量水生植物的草型湖区 TOC 含量显著高于藻型湖区^[23,24]。多糖类易降解有机质(LOM-1)在全湖四个区域中并无显著差异，但纤维素类易降解有机质(LOM-2)和难降解有机质(ROM)的含量草型湖区均显著高于其他三个区域，可以推断不同的湖泊生境下沉积物有机质的组成和含量不同，草型湖区具有更多有机质且主要体现纤维素类易降解有机质(LOM-2)和难降解有机质(ROM)含量上。

HA 是有机物料在腐殖化过程中所形成的一类复杂而又稳定的大分子有机化合物，其组成与结构特征受到基质类型等多种因素的影响^[7]。太湖沉积物中的 HA 含量存在空间差异，东太湖沉积物 HA 含量显著高于湖心区、大浦口和梅梁湾。东太湖水体中存在丰富的水生植物，木质纤维素结构是水生植物的主要组成部分，而木质纤维素结构主要由木质素、纤维素及半纤维素组成^[25]。因此，草型湖区沉积物中纤维素类易降解有机质(LOM-2)和难降解有机质(ROM)的含量显著高于其他区域。多酚学说认为 HA 是由简单的有机化合物(多元酚)和含氮化合物(氨基酸、多肽等)作为基质合成的^[26]。纤维素类易降解有机质(LOM-2)和难降解有机质(ROM)为 HA 的形成提供酚类基质，草型湖区由于具有更多的 HA 基质材料，更加适合 HA 的“孵化”。

3.2 湖泊生境对腐殖酸的电子接受能力的影响

太湖沉积物中的 HA 结构特征既存在共性，也存在空间差异。太湖四个湖区的 HA 傅里叶红外光谱图具有较大的相似性，且这一结果与顾志忙等在土壤中提取并表征的 HA 傅里叶红外光谱图相似，表明四个区域的 HA 在官能团类型上不存在显著差异，四个区域的 HA 均含有丰富的羧基、酚羟基、羟基和醛基等含氧官能团^[27]。HA 的氧化还原特性主要受醌、酚等官能团的影响，尤其是醌类基团，醌类基团是 HA 发挥电子传递功能的重要官能团^[28]。太湖 HA 的醌类基团贡献了 29~82% HA 的 EAC 能力，藻型湖泊沉积物 HA 的醌类基团含量显著高于草型湖泊 HA。

通过相关性分析，我们发现 HA 的 E4/E6 值与其 EAC 呈显著负相关，即 HA 的芳香缩合度与 EAC 呈显著正相关^[29]。HA 的 EAC 还与沉积物碳氮比呈显著负相关。HA 的 EAC 由其结构特征决定，而其结构特征又受基质特性的显著影响^[30]。不同湖泊生境提供的基质物质存在显著差异，藻类残体富含氨基酸和蛋白质，不仅使形成的 HA 氮含量更高，还可能通过刺激相关微生物活性促进 HA 缩合^[31]。因此，藻类残体形成的 HA 具有更多的醌类基团和更高的芳香缩合度，本研究也发现藻型湖区的 HA 具有更高的 EAC。相比之下，水生植物占优势的草型湖区，沉积物 HA 的芳香缩合度和醌类基团含量较低，HA 的 EAC 相对较弱。醌类基团是 HA 参与氧化还原行为的重要官能团。醌类化合物上的取代基位置决定了电子云在分子中的分布，影响电子的迁移通道，进而影响其电子传递效率^[32]。因此，不同湖泊生境由于沉积物中基质的组成及分解缩合程度的差异，导致沉积物 HA 的 EAC、氧化还原能力存在差异。相比草型湖泊，沉积物碳氮比更低的藻型湖泊更适合缩合程度更高、EAC 更高 HA 的“孵化”。

3.3 腐殖酸的电子接受能力通过抑制产甲烷菌活性抑制甲烷的产生

EAC 是 HA 抑制甲烷产生的重要因子，HA 通过其 EAC 与产甲烷菌竞争电子，有效减少流向产 CH_4 途径的电子，从而显著抑制 CH_4 的生成^[33]。具体而言，产甲烷菌依赖铁氧化还原蛋白(Fd)将甲基乙酰辅酶 A(CH_3COSCoA)裂解产生的电子传递给细胞膜上的氢化酶(Ech)，这一过程是 CH_4 生成的重要环节^[10]。HA 可以与 Fd 竞争电子，阻碍电子传递到 Ech，最终降低 CH_4 的生成效率，这种抑制作用在 HA 的 EAC 较高时表现尤为显著^[34]。

此外, 我们研究发现辅酶 F₄₂₀ 的相对活性变化趋势与 CH₄产量的变化趋势一致, 这进一步验证了 HA 对 CH₄生成过程的调控作用。HA 通过直接从乙酸盐中接受电子并阻止乙酸盐转化为 CH₄, 从而导致正常的乙酸盐产 CH₄途径受阻^[35]。同时, HA 可能作为代谢中间物质, 促进其他互养细菌的代谢, 进一步削弱产甲烷菌在电子竞争中的优势, 导致其活性下降^[36]。

因此, 高 EAC 的 HA 能够通过多种机制调控产甲烷过程, 包括与电子传递体竞争、干扰关键代谢途径及调节微生物间的代谢平衡。在厌氧环境下, 高 EAC 的 HA 表现出显著抑制 CH₄生成的潜力, 进一步强调了 EAC 作为 HA 抑制产甲烷活性的重要因子。

藻型湖区沉积物 HA 的 EAC 显著高于草型湖区, 人类活动区以及自然扰动区。尽管藻型湖区因富营养化而加剧了温室气体的释放, 然而, 该区域累积的惰性有机碳——HA, 对湖泊沉积物中产 CH₄途径具有显著的抑制作用, HA 通过竞争电子转移, 能够有效减少 CH₄的生成, 进而降低温室气体的排放。这种现象可能代表了一种自然的负反馈机制, 使得藻类湖区能够在一定程度上缓解富营养化湖区所导致的温室气体排放增加的潜力, 提高藻型湖区沉积物 HA 含量有助于调控湖泊产 CH₄过程。

尽管本研究揭示了太湖 HA 对产 CH₄过程的抑制作用, 但仍有一些关键问题需要进一步探讨。例如, HA 的 EAC 在不同环境条件下的变化机制尚不明确, 不同基质物质如何影响 HA 的形成过程也需深入研究。此外, HA 对产 CH₄抑制作用的长期效应仍需通过进一步的野外实验和模拟研究来验证。未来的研究应继续关注不同类型湖泊中 HA 的形成机制及其氧化还原特性在气候变化中的调控作用。

4 结论

本研究对太湖表层沉积物及其中腐殖酸(HA)进行定量和定性分析, 并通过添加不同电子接受能力(EAC)的 HA, 探讨其对沉积物产甲烷过程的影响, 主要结论如下:

1. 湖区生境对 HA 的含量和氧化还原能力具有显著的塑造作用, 且在含量和 EAC 之间存在不对称性。相关性分析显示, HA 的 EAC 与其芳香缩合度呈正相关, 与沉积物碳氮比呈显著负相关。草型湖区的 HA 含量显著高于藻型湖区, 而 EAC 则显著低于藻型湖区。

2. EAC 是 HA 影响沉积物 CH₄产生的重要因素, 其通过抑制产甲烷菌活性从而减少产甲烷量。藻型湖区 HA 有更强的抑制产甲烷潜力, 因此提高藻型湖区的 HA 含量有助于调控湖泊产甲烷过程, 表明藻型湖区存在 CH₄的负反馈调节潜力。

5 参考文献

- [1] IPCC. Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. 2023. DOI: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.
- [2] Akpasi SO, Akpan JS, Amune UO, Olaseinde AA, Kiambi SL. Methane Advances: Trends and Summary from Selected Studies. *Methane*. 2024; 3(2):276-313. DOI: 10.3390/methane3020016.
- [3] He J, Naik V, Horowitz LW, *et al.* Investigation of the global methane budget over 1980–2017 using GFDL-AM4.1. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 2020, 20(2): 805-827. DOI: 10.5194/acp-20-805-2020.
- [4] Zhou YQ, Xiao QT, Yao XL, *et al.* Accumulation of Terrestrial Dissolved Organic Matter Potentially Enhances Dissolved Methane Levels in Eutrophic Lake Taihu, China. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(18): 10297-10306. DOI: 10.1021/acs.est.8b02163.
- [5] Shindell D, Sadavarte P, Aben I, *et al.* The methane imperative. *Frontiers in Science*, 2024, 2: 1349770. DOI:10.3389/fsci.2024.1349770.

- [6] Valenzuela EI, Cervantes FJ. The role of humic substances in mitigating greenhouse gases emissions: Current knowledge and research gaps. *Science of The Total Environment*, 2021, **750**: 141677. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141677.
- [7] Nardi S, Schiavon M, Francioso O. Chemical Structure and Biological Activity of Humic Substances Define Their Role as Plant Growth Promoters. *Molecules*, 2021, **26**(8): 2256. DOI: 10.3390/molecules26082256.
- [8] Wu WX, Huang CH, Tang ZR, *et al.* Response of electron transfer capacity of humic substances to soil microenvironment. *Environmental Research*, 2022, **213**: 113504. DOI: 10.1016/j.envres.2022.113504.
- [9] Wang XQ, Lyu T, Dong RJ, *et al.* Revealing the link between evolution of electron transfer capacity of humic acid and key enzyme activities during anaerobic digestion. *Journal of Environmental Management*, 2022, **301**: 113914. DOI: 10.1016/j.jenvman.2021.113914.
- [10] Keller JK, Bridgman SD, Takagi KK, *et al.* Microbial organic matter reduction regulates methane and carbon dioxide production across an ombrotrophic-minerotrophic peatland gradient. *Soil Biology and Biochemistry*, 2023, **182**: 109045. DOI: 10.1016/j.soilbio.2023.109045.
- [11] Wen SL, Lu YH, Luo CY, *et al.* Adsorption of humic acids to lake sediments: Compositional fractionation, inhibitory effect of phosphate, and implications for lake eutrophication. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, **433**: 128791. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.128791.
- [12] Yao X, Zhu G, Cai L, *et al.* Geochemical characteristics of amino acids in sediments of Lake Taihu, a large, shallow, eutrophic freshwater lake of China. *Aquatic geochemistry*, 2012, **18**, 263-280
- [13] Chang Y, LI RQ, LI J, *et al.* Mechanism and regulation method of humic acid formation in composting-a review. *China Environmental Science*, 2023,43(10):5291-5302. [常 远,李若琪,李 珺,等.好氧堆肥腐殖酸形成机制及促腐调控技术概述. 中国环境科学, 2023,43(10):5291-5302.]
- [14] Qi C, Fang JQ, Zhang LM, *et al.* Composition and Distribution of Biodegradable Compounds in the Macrophyte Dominated Zone of Lake Taihu. *Environmental Science*, 2019, 40(10): 4505-4512. [祁闯, 方家琪, 张利民等. 太湖草型湖区沉积物中生物易降解物质组成与分布规律. 环境科学, 2019, 40(10): 4505-4512.]
- [15] Liao YS, Lan HJ, Zhang XY, *et al.* Large Methane Emission from the River Inlet Region of Eutrophic Lake: A Case Study of Lake Taihu. *Atmosphere*, 2022, **14**(1): 16. DOI: 10.3390/atmos14010016.
- [16] Zhao ZH, Zhang ML, Tian JM. *et al.* Occurrence and driving forces of different nitrogen forms in the sediments of the grass and algae-type zones of Taihu Lake. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2022, **29**: 30114–30125. DOI: 10.1007/s11356-021-17784-w.
- [17] Yan XC, Xu XG, Ji M, *et al.* Cyanobacteria blooms: A neglected facilitator of CH₄ production in eutrophic lakes. *Science of The Total Environment*, 2019, **651**: 466-474. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.09.197.
- [18] Chen M, Zhang Y Q, Li J X, *et al.* The effects of temperature differences on anaerobic degradation of submerged macrophytes litter in lake sediments. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2020, **40**(8): 3013-3019. [陈默, 张雅庆, 李家轩等. 温度对湖泊沉积物中沉水植物残体厌氧分解的影响. 环境科学学报, 2020, 40(8): 3013-3019.]
- [19] Gorski CA, Klüpfle LE, Voegelin A, *et al.* Redox Properties of Structural Fe in Clay Minerals: 3. Relationships between Smectite Redox and Structural Properties. *Environmental Science & Technology*, 2013, **47**(23): 13477-13485. DOI: 10.1021/es403824x.
- [20] Ratasuk N, Nanny M A. Characterization and Quantification of Reversible Redox Sites in Humic Substances. *Environmental Science & Technology*, 2007, **41**(22): 7844-7850. DOI:10.1021/es071389u.
- [21] Hernández-Montoya V, Alvarez LH, Montes-Morán MA, *et al.* Reduction of quinone and non-quinone redox functional groups in different humic acid samples by *Geobacter sulfurreducens*. *Geoderma*, 2012, **183-184**: 25-31. DOI: 10.1016/j.geoderma.2012.03.007.
- [22] Zhang Y, Zhang Y, Yu T. Contribution Rate of Exogenous Organic Matter in Sediments from Typical Areas of Taihu Lake. *Research of Environmental Sciences*, 2011, **24**(3): 251-258. DOI: 10.13198/j.res.2011.03.15.zhanyg.004. [张远, 张彦, 于涛. 太湖典型湖区沉积

物外源有机质贡献率研究. 环境科学研究, 2011, **24**(03): 251-258.]

[23] Liu C, Shen Q, Gu X, et al. Burial or mineralization: Origins and fates of organic matter in the water-suspended particulate matter-sediment of macrophyte- and algae-dominated areas in Lake Taihu. *Water Research*, 2023, **243**: 120414.

DOI:10.1016/j.watres.2023.120414.

[24] Cheriyan AS, Moushmi KS, Cheriyan E, et al. Sources and degradation of organic matter and its relation to trophic status in the core sediments of a tropical mangrove ecosystem along the Southwest coast of India. *Marine Chemistry*, 2022, **244**: 104137. DOI: 10.1016/j.marchem.2022.104137.

[25] Du YX, Dai JR, Zhang QY, et al. Spectroscopic and Molecular Characterization of Water Soluble Organic Matter from Sediments in the Macrophyte-dominated and Algae-dominated Zones of Taihu Lake. *Environmental Science*, 2022, **43**(8): 4108-4117. DOI: 10.13227/j.hjcx.202112137. [杜瑛珣, 戴家如, 张巧颖等. 太湖草、藻湖区沉积物 WSOM 组成和分子结构分析. 环境科学, 2022, **43**(8): 4108-4117.]

[26] Zavarzina AG, Danchenko NN, Demin VV, et al. Humic Substances: Hypotheses and Reality. *Eurasian Soil Science*, 2021, **54**(12): 1826-1854. DOI: 10.1134/S1064229321120164.

[27] Gu ZM, Wang XR, Gu XY, et al. Characterization of Humic Acid Extracted from Different Soils by Fourier Transform Infrared Spectrometry and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2000, (3): 314-317. [顾志忙, 王晓蓉, 顾雪元等. 傅里叶变换红外光谱和核磁共振法对土壤中腐殖酸的表征. 分析化学, 2000, (3): 314-317.]

[28] Pola L, Movila M, Erro J, et al. Structure of the humic acid-like compounds of raw and hydrothermally treated sewage sludge. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, **242**: 125115. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.125115.

[29] Korak J, McKay G. Critical review of fluorescence and absorbance measurements as surrogates for the molecular weight and aromaticity of dissolved organic matter. *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 2024, **26**, 1663. DOI: 10.1039/d4em00183d.

[30] Xu, Y., Lu, C., Fang, Y. et al. Humic Substances from Sludge Compost with Biochar Addition: An Effective Washing Agent for Arsenic Removal from Contaminated Soil. *Water Air Soil Pollut*, 2024, **235**, 381. <https://doi.org/10.1007/s11270-024-07197-z>

[31] Kulikova NA, Perminova IV. Interactions between Humic Substances and Microorganisms and Their Implications for Nature-like Bioremediation Technologies. *Molecules*, 2021, **26**, 2706. DOI: 10.3390/molecules26092706.

[32] Go, C. Y.; Shin, J.; Choi, M. K.; Jung, I. H.; Kim, K. C. Switchable design of redox-enhanced nonaromatic quinones enabled by conjugation recovery. *Adv. Mater.* 2024, **36**, 2311155. DOI: 10.1002/adma.202311155

[33] Yang Y, Niu B, Yang X, et al. Effects of electron acceptors on CH₄ emission in alpine wetlands. *Mires and Peat*, 2023, **29**(15): 1-14. DOI: 10.19189/MaP.2022.MP.Sc.2000416.

[34] Ferry JG. The chemical biology of methanogenesis. *Planetary and Space Science*, 2010, **58**(14-15): 1775-1783. DOI: 10.1016/j.pss.2010.08.014.

[35] Li J, Hao X, Van Loosdrecht MCM, et al. Effect of humic acids on batch anaerobic digestion of excess sludge. *Water Research*, 2019, **155**: 431-443. DOI: 10.1016/j.watres.2018.12.009.

[36] Azman S, Khadem AF, Plugge CM, et al. Effect of humic acid on anaerobic digestion of cellulose and xylan in completely stirred tank reactors: inhibitory effect, mitigation of the inhibition and the dynamics of the microbial communities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, **101**(2): 889-901. DOI: 10.1007/s00253-016-8010-x.