

于建光, 常志州, 王 宁, 等. 高效液相色谱法测定秸秆浸提液或腐解液中 12 种酚酸[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(11): 2231-2236.

YU Jian-guang, CHANG Zhi-zhou, WANG Ning, et al. Determination of 12 phenolic acids in straw extract or straw decomposed liquid through high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(11): 2231-2236.

高效液相色谱法测定秸秆浸提液或腐解液中 12 种酚酸

于建光^{1,2}, 常志州¹, 王 宁¹, 石祖梁¹, 卢 信¹, 张传辉¹

(1. 江苏省农业科学院农业资源与环境研究所, 南京 210014; 2. 农业部江苏耕地保育科学观测实验站, 南京 210014)

摘 要:建立了同时测定秸秆浸提液或腐解液中 12 种酚酸物质(没食子酸、原儿茶酸、龙胆酸、对羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、咖啡酸、丁香酸、对香豆酸、阿魏酸、芥子酸、水杨酸)的反相高效液相色谱测定方法。采用 Waters HLB(500 mg, 60 μ m, 6 mL)固相萃取小柱对水溶液中的酚酸物质进行浓缩,以含 0.5%乙酸的乙腈和 0.5%乙酸的水溶液为流动相进行梯度洗脱,选用二极管阵列检测器,30 min 内可对 12 种酚酸物质同时检测,各种酚酸均可达到基线分离。加标回收试验表明,样品中 12 种酚酸类化合物的加标回收率为 79.41%~101.92%,12 种酚酸保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.02%~0.1%和 0.25%~2.26%之间。该方法快速、灵敏、准确,适用于同时测定秸秆浸提液、腐解液、土壤溶液及水溶液中 12 种酚酸物质含量。

关键词:高效液相色谱;秸秆浸提液;秸秆腐解液;酚酸

中图分类号:S153.6 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2016)11-2231-06 doi:10.11654/jaes.2016-0591

Determination of 12 phenolic acids in straw extract or straw decomposed liquid through high performance liquid chromatography

YU Jian-guang^{1,2}, CHANG Zhi-zhou¹, WANG Ning¹, SHI Zu-liang¹, LU Xin¹, ZHANG Chuan-hui¹

(1. Institute of Agricultural Resources and Environment, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Scientific Observing and Experimental Station of Arable Land Conservation(Jiangsu), Ministry of Agriculture, Nanjing 210014, China)

Abstract: A method of reversed phase high performance liquid chromatography was established, which could be used to determine the contents of 12 phenolic acids(gallic acid, protocatechuic acid, gentisic acid, p-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid, vanilla acid, coffee acid, syringic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, sinapic acid, salicylic acid) simultaneously in straw extract or decomposed liquid. Waters HLB(500 mg, 60 μ m, 6 mL) solid-phase extraction cartridges were used to concentrate phenolic acids in aqueous solution. The gradient elution was carried out using acetonitrile solution containing 0.5% acetic acid and 0.5% acetic acid solution as the mobile phase. The diode array detector was used for detection, and the determination of 12 kinds of phenolic acids could be completed simultaneously in 30 minutes. All of phenolic acids could reach the baseline separation. The recovery rate of 12 phenolic acids were between 79.41%~101.92%, and the RSD of retention time and peak area of 12 phenolic acids were between 0.02%~0.1% and 0.25%~2.26%, respectively. This method is rapid, sensitive and accurate, suitable for the simultaneous determination of 12 phenolic acids existed in straw extract, straw decomposed liquid, soil solution and aqueous solution.

Keywords: high performance liquid chromatography; straw extract; straw decomposed liquid; phenolic acids

收稿日期:2016-04-27

基金项目:国家自然科学基金项目(41271308);公益性行业(农业)科研专项(201503136);江苏省自然科学基金项目(BK2011672);江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(12)1002]

作者简介:于建光(1975—),男,山西忻州人,博士,副研究员,研究方向为农田土壤退化与修复。E-mail: yujg@jaas.ac.cn

秸秆还田作为一项有效的秸秆处置措施被广泛采用,报道中大多肯定其良好的环境与生态效应^[1],但其所产生的负面效应如化感效应等也不容忽视^[2]。由秸秆还田所产生的化感效应主要表现为秸秆分解释放的化感物质酚、酸、醛、酮等化合物对作物发芽、出苗及根产生抑制^[3-4],尤其是酚酸类物质在农林生态系统中普遍存在^[5-7],且大多数均有化感效应。本课题组的研究结果表明,小麦秸秆浸提液和腐解液对水稻种子的萌发和幼苗生长发育产生抑制作用,其作用与秸秆含有或腐解产生的酚酸有关^[8],并在随后的酚酸纯品模拟试验中得以确认^[9]。

准确鉴定不同还田条件下土壤和秸秆中的酚酸物质种类并确定其含量有助于正确评估酚酸物质在秸秆化感效应中的作用,进而可有针对性地研发秸秆还田技术和指导秸秆还田工作。不同植物残体化感效应中的酚酸种类不同,如大豆根系分泌物和植株水浸液中有香草酸、香草醛和对羟基苯甲酸等^[10],柑橘园主要为高香草酸^[11],向日葵秸秆中主要为绿原酸^[12],稻草、锯木屑、猪粪腐解释放对羟基苯甲酸、香草酸、香草酸、阿魏酸^[13],小麦秸秆中有阿魏酸、对羟基苯甲酸和苯甲酸^[14-15]。上述报道中涉及的酚酸物质多为1种或几种酚酸,而多种酚酸物质含量测定的报道主要集中于食品和药品^[16-17],如咖啡豆中的6种酚酸类化合物^[18],大麦籽粒中的13种酚酸^[19],向日葵籽中的2种酚酸^[20]等。

由于秸秆中酚酸或秸秆腐解产物中直接起作用的有效组分以水溶态为主^[21],已有报道中涉及酚酸测定的方法不适用于秸秆浸提液和腐解液中酚酸含量测定,如酚酸浓度较高且种类与秸秆中不同^[22],未考虑如何从水相中富集提纯酚酸^[23],从水相中化学萃取但试剂消耗量过大^[24],而用于较全面测定秸秆中酚酸物质尤其是水溶性酚酸含量的方法未有报道。本文拟对秸秆浸提液或腐解液中常见的12种酚酸的测定方法进行开发,以期正确评估酚酸类物质在秸秆还田中的化感效应和在还田技术中引入化感效应调控措施提供方法参考和技术支持。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪 Agilent HPLC1200,真空在线脱气机 G1322A,四元泵 G1311A,柱温箱 G1329A,安捷伦 Eclipse XDB-C18(4.6 mm×250 mm、粒径 5 μm)色谱柱,保护柱为 XDB C18 小柱(4.6 mm×12.5 mm,粒

径 5 μm),标准自动进样器 G1329A,DAD 检测器 G1315D,化学工作站为 ChemStation B04.02。

旋转蒸发器(Buchi Corp.,R-210,真空泵 V-700),固相萃取仪(天津恒奥科技公司,HSE-08),SQP型电子天平(Sartorius Corp.),0.45 μm 有机相一次性针头式过滤器(天津津腾实验设备有限公司)。Eppendorf 移液器,25 mL 棕色容量瓶(Schott Corp.),超纯水由纯水机制备(爱科谱公司)。甲醇、乙酸、乙腈均为色谱纯试剂(Merck Corp.),流动相配制后均经超声处理方可使用。固相萃取小柱分别为 Biotage ABN(200 mg、50 μm、6 mL)、Waters C18(500 mg、79 μm、3 mL)、Waters HLB(500 mg、60 μm、6 mL)。

没食子酸、原儿茶酸、龙胆酸、对羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、咖啡酸、丁香酸、对香豆酸、阿魏酸、芥子酸、水杨酸等12种酚酸标准品均购自 Sigma 公司,除原儿茶酸、绿原酸、香草酸和丁香酸纯度为95%~97%外,其余酚酸纯度均在99%以上。

1.2 色谱条件

流动相为含0.5%乙酸的乙腈和含0.5%乙酸的超纯水,色谱柱:0~25 min 乙腈5%~20%,25~26 min 乙腈20%~5%,26~28 min 乙腈5%,流速为1 mL·min⁻¹,柱温30℃,进样量5 μL;二极管阵列检测器检测260、270、310、325 nm波长的色谱图,以峰面积外标法定量。

1.3 标准溶液的配制

准确称取上述12种酚酸标准品各25 mg,全部置于25 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,得1 mg·mL⁻¹的12种酚酸溶液混合液,将其依次用甲醇溶液稀释得500、250、100、50、20、10、5、1 μg·mL⁻¹系列混合溶液。同时准确称取12种酚酸标准品各25 mg,分别置于25 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,得1 mg·mL⁻¹的单一酚酸溶液,用于液相色谱单峰的鉴别与定性。

1.4 标准物质加标回收率测定

分别准确称取12种酚酸标准品各20 mg置于烧杯中,加两滴甲醇溶解,随后加超纯水定容于2 L容量瓶中,得10 μg·mL⁻¹的12种酚酸混合水溶液;吸取该酚酸混合水溶液100 mL过预先经活化的固相萃取小柱,用10 mL甲醇溶液进行样品收集,将收集液转入旋转蒸发器,40℃下进行旋蒸,旋蒸至干后加2 mL甲醇定容收集并过0.45 μm过滤器后上HPLC测定。通过测定数据计算3种不同固相萃取小柱萃取浓缩后各种酚酸的回收率,小柱均为一次性使用,每种

固相萃取小柱回收试验均重复 3 次。

1.5 秸秆浸提液、腐解液制备及酚酸含量测定

水稻秸秆浸提液和腐解液分别通过下述方法获得:水稻秸秆浸提液 E10,将成熟水稻秸秆与水以 1:10 (质量 g:体积 mL,W/V)在 20℃下浸提 24 h 后静置,上清液先经 4 层纱布过滤、后经 Whatman 滤纸过滤,即为 10%溶液(E10);水稻秸秆腐解液 D10,将水稻秸秆、土壤和纯水以 1:1:10(质量 g:质量 g:体积 mL,W/W/V)20℃振荡混合淹水培养 7 d 后静置,上清液先经 4 层纱布过滤、后经 Whatman 滤纸过滤,即为 10%腐解液(D10)。上述 E10 和 D10 溶液的获得均重复 3 次。

将 E10 或 D10 通过冷冻离心机 1800 r·min⁻¹ 离心 10 min 后过滤,采用与酚酸标准溶液同样的方法通过固相萃取小柱,然后在 40℃下旋蒸浓缩为 2 mL,采用与上述标准酚酸溶液完全相同的方法通过液相色谱仪,根据待测组分的信号,用回归方程计算出样品的实测浓度。

2 结果与讨论

2.1 天然酚酸类化合物测定波长的选择

通过将各酚酸单一组分溶液经过高效液相色谱仪后进行光谱扫描(DAD),确定各酚酸的最大吸收峰,与已有的文献进行对照,并综合考虑各酚酸物质最大吸收峰和溶剂的截止波长,然后分类选择共用的波长,选定结果如表 1。

表 1 12 种酚酸经 HPLC-DAD 测定时采用的紫外波长
Table 1 UV wavelength of 12 kinds of phenolic acids measured by HPLC-DAD

波长编号 Wavelength number	波长 Wavelength/nm	酚酸种类 Phenolic acids
1	260	原儿茶酸、对羟基苯甲酸、香草酸
2	270	没食子酸、丁香酸
3	310	对香豆酸、水杨酸
4	325	龙胆酸、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、芥子酸

2.2 流动相的选择和优化

结合文献报道^[29],发现流动相为 CH₃CN-H₂O 系统时的峰形和选择性比 CH₃OH-H₂O 有明显改善,但峰形仍不理想,加入酸性抑制剂后,分离度明显改善,且峰形变为锐峰,符合分离要求。

采用等度洗脱时,各峰分离不理想,采用梯度洗脱后分离较好,经多次梯度洗脱条件优化,最理想的

洗脱条件为:0~25 min 乙腈 5%~20%,25~26 min 乙腈 20%~5%,26~28 min 乙腈 5%,流速为 1 mL·min⁻¹。

2.3 峰的归属和纯度检查

分别将适量单一酚酸标准溶液加入混合标样中,随即进行分析,通过与加入前的谱图进行对比,将吸光度明显增大的峰认定为该酚酸的峰,并将其谱图与相应的已知标准品谱图进行比较加以印证,逐一确认 12 种酚酸的相应峰位和出峰时间。

2.4 12 种酚酸的工作曲线及检测限

将已逐级稀释配制的 12 种酚酸混合甲醇溶液分别进样 5 μL,记录对应峰面积;以浓度 $x(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 为横坐标,峰面积值 $y(\text{mAU})$ 为纵坐标绘制标准曲线,得到 12 种酚酸物质的线性回归方程、相关系数及线性范围。再分别配制 0.5、0.25、0.1、0.05、0.02、0.01、0.005、0.001 μg·mL⁻¹ 标准酚酸混合溶液,分别获得各溶液的色谱图(图 1),以仪器信噪比确定 12 种酚酸的最低检出限($S/N\geq 3$,表 2)。

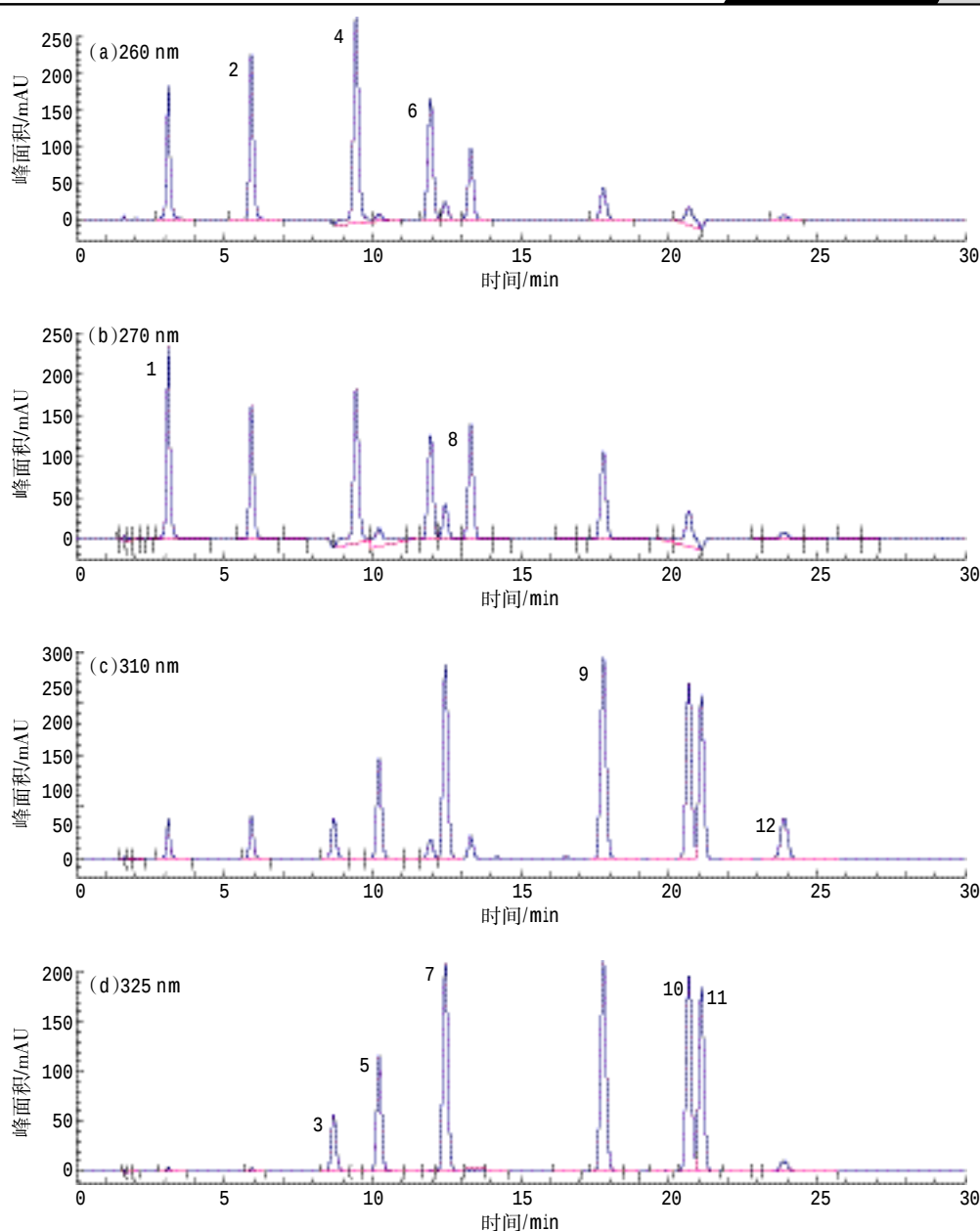
方法精密度测定:将 1 μg·mL⁻¹ 的酚酸混合标准溶液在同一天内连续进样 5 次,获得保留时间和相应的峰面积计算相对标准偏差(RSD),12 种酚酸保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.02%~0.10%和 0.25%~2.26%之间,重现性良好(表 2)。

2.5 12 种酚酸固相萃取回收率测定

3 种固相萃取小柱对 12 种酚酸水溶液的浓缩回收率差异较大,其中 ABN 和 C18 对 6 种酚酸的回收率均不到 60%,而 HLB 对所有 12 种酚酸的回收率为 79.41%~101.92%。这表明 HLB 适用于本研究中所选 12 种酚酸的浓缩回收(表 3)。究其原因认为,不同于传统的硅胶基质固相萃取小柱,HLB 为水浸润型聚合物固相萃取小柱,其所含的 HLB 聚合物表面有亲水性和疏水性基团,非常适合于含水样品中极性与非极性有机化合物的同时提取,因而对水溶液中酚酸进行富集可获得较高的回收率,同时其使用成本也高于另外两种小柱。

2.6 水稻秸秆浸提液和腐解液中 12 种酚酸物质的含量

水稻秸秆在 20℃下经 24 h 浸提后,采用上述测定方法可检测到浸提液中含有 10 种酚酸物质,其含量介于 0.59~28.59 ng·mL⁻¹间(表 4)。水稻秸秆在 20℃下经 7 d 腐解后,采用上述同样方法可检测到腐解液中含有 5 种酚酸物质,其含量介于 1.18~349.48 ng·mL⁻¹间(表 4)。水稻秸秆浸提液中酚酸主要来源于秸秆自身携带的次生代谢产物,而水稻秸秆经 7 d 分解后,秸秆中纤维素和木质素均可降解产生酚酸,因而



1.没食子酸 2.原儿茶酸 3.龙胆酸 4.对羟基苯甲酸 5.绿原酸 6.香草酸 7.咖啡酸 8.丁香酸 9.对香豆酸 10.阿魏酸 11.芥子酸 12.水杨酸
 1. Gallic acid; 2. Protocatechuic acid; 3. Gentisic acid; 4. p-hydroxybenzoic acid; 5. Chlorogenic acid; 6. Vanillic acid; 7. Caffeic acid; 8. Syringic acid;
 9. p-coumaric acid; 10. Ferulic acid; 11. Sinapic acid; 12. Salicylic acid

图1 12种酚酸混合标准样品 HPLC-DAD 色谱分析图

Figure 1 HPLC-DAD chromatogram of a mixture of 12 phenolic acid standards

它们的酚酸种类与含量均不同。

3 结论

(1)采用 Waters HLB 固相萃取小柱对秸秆浸提液或腐解液中的酚酸物质进行富集,经梯度洗脱、二极管阵列检测器 4 个波长检测,30 min 内 12 种酚酸所对应的吸收峰均可达到基线分离。

(2)该方法可快速、灵敏、准确地富集并测定秸秆浸提液、腐解液和土壤溶液中常见 12 种酚酸物质的含量,可为正确评估酚酸类物质在农林地及水体中的化感效应提供技术支持。

参考文献:

[1] Becker M, Asch F, Maskey S L, et al. Effects of transition season man-

表 2 12 种酚酸的保留时间、相对标准偏差、线性方程、相关系数、线性范围及检测限

Table 2 Regression equations, correlation coefficients(*r*), linear ranges and limits of detection of 12 phenolic acids

酚酸 Phenolic acids	保留时间 Retention time/min	保留时间相对 标准偏差 RSD/%	峰面积相对 标准偏差 RSD/%	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	线性范围 Linear range/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	信噪比 Signal noise ratio	检测限 Detection limit/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
没食子酸 Gallic acid	3.117	0.10	0.76	$y=15.247x+19.369$	0.999 8	0.1~1000	3.5	0.01
原儿茶酸 Protocatechuic acid	5.910	0.09	1.40	$y=19.434x-11.081$	0.999 3	0.1~1000	5.2	0.02
龙胆酸 Gentisic acid	8.699	0.09	1.31	$y=5.414\ 2x-6.706\ 4$	0.999 7	0.1~1000	7.4	0.05
对羟基苯甲酸 p-hydroxybenzoic acid	9.416	0.07	2.26	$y=30.991x+44.096$	0.999 8	0.1~1000	13.5	0.02
绿原酸 Chlorogenic acid	10.211	0.05	1.15	$y=11.37x-3.765\ 8$	0.999 7	0.1~1000	4.5	0.02
香草酸 Vanillic acid	11.928	0.06	1.01	$y=17.321+21.03$	0.999 7	0.1~1000	8.2	0.02
咖啡酸 Caffeic acid	12.408	0.07	0.25	$y=20.976x+18.914$	0.999 7	0.1~1000	3.1	0.01
丁香酸 Syringic acid	13.291	0.04	0.40	$y=13.553x+16.045$	0.999 7	0.1~1000	6.2	0.02
对香豆酸 p-coumaric acid	17.730	0.04	0.25	$y=25.851\ 85x-6.977\ 17$	0.999 9	0.1~1000	4.2	0.005
阿魏酸 Ferulic acid	20.639	0.02	0.37	$y=19.528x+93.984$	0.999 7	0.1~1000	4.7	0.01
芥子酸 Sinapic acid	21.077	0.02	1.44	$y=16.352x+119.02$	0.999 1	0.1~1000	4.2	0.01
水杨酸 Salicylic acid	23.834	0.02	1.28	$y=5.704\ 7x-5.343\ 1$	0.999 7	0.1~1000	3.7	0.05

表 3 12 种酚酸样品经 SPE 后 HPLC 测定回收率(%)

Table 3 Spiked recoveries and precisions(RSD) of 12 phenolic acids

酚酸 Phenolic acids	固相萃取小柱 Solid phase extraction column		
	ABN	C18	HLB
没食子酸 Gallic acid	4.19±0.96	5.01±1.17	79.41±1.90
原儿茶酸 Protocatechuic acid	20.51±4.28	12.34±0.10	89.56±2.76
龙胆酸 Gentisic acid	16.44±3.65	7.51±0.26	98.29±2.24
对羟基苯甲酸 p-hydroxybenzoic acid	45.35±10.64	21.18±0.32	101.92±3.82
绿原酸 Chlorogenic acid	40.39±9.05	81.13±1.11	95.90±2.32
香草酸 Vanillic acid	71.88±16.78	54.56±0.56	97.69±3.00
咖啡酸 Caffeic acid	73.09±16.74	80.11±0.47	96.56±2.56
丁香酸 Syringic acid	74.40±17.34	95.10±0.39	96.24±3.02
对香豆酸 p-coumaric acid	87.96±20.41	101.32±1.25	100.15±2.60
阿魏酸 Ferulic acid	87.11±20.46	99.89±1.57	92.06±2.41
芥子酸 Sinapic acid	91.07±22.25	104.58±1.13	95.22±4.89
水杨酸 Salicylic acid	58.21±13.43	20.75±1.21	86.06±1.41

表 4 稻秸浸提液和腐解液中 12 种酚酸含量

Table 4 Content of 12 kinds of phenolic acid in rice straw extract and decomposed liquid

酚酸 Phenolic acids	稻秸浸提液 Rice straw extract(E_{10})/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	稻秸腐解液 Rice straw decomposed liquid(D_{10})/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
没食子酸 Gallic acid	ND	ND
原儿茶酸 Protocatechuic acid	ND	ND
龙胆酸 Gentisic acid	6.63±1.12	5.97±1.79
对羟基苯甲酸 p-hydroxybenzoic acid	9.16±1.25	ND
绿原酸 Chlorogenic acid	4.98±1.15	1.18±0.39
香草酸 Vanillic acid	2.97±1.41	4.06±1.05
咖啡酸 Caffeic acid	0.59±0.43	ND
丁香酸 Syringic acid	26.29±5.20	1.78±0.05
对香豆酸 p-coumaric acid	28.59±11.49	ND
阿魏酸 Ferulic acid	15.41±3.99	ND
芥子酸 sinapic acid	18.92±7.07	ND
水杨酸 salicylic acid	18.37±0.21	349.48±42.42

注:ND 表示未检出。Note:ND indicates not detected.

agement on soil N dynamics and system N balances in rice-wheat rotations of Nepal[J]. Field Crops Research, 2007, 103(2):98-108.

[2] Chou C H. The role of allelopathy in biochemical ecology: Experience from Taiwan[J]. Biologia Plantarum, 1989, 31(6):458-470.

[3] 马瑞霞, 刘秀芬, 袁光林, 等. 小麦根区微生物分解小麦残体产生的化感物质及其生物活性的研究[J]. 生态学报, 1996, 16(6):632-639.
MA Rui-xia, LIU Xiu-fen, YUAN Guang-lin, et al. Study on allelochemicals in the process of decomposition of wheat straw by microogan-

isms and their bioactivity[J]. Acta Ecologica Sinica, 1996, 16(6):632-639.

[4] Hicks S K, Wendt C W, Gannaway J R, et al. Allelopathic effects of wheat straw on cotton germination, emergence, and yield[J]. Crop Science, 1989, 29(4):1057-1061.

[5] 孙海兵, 毛志泉, 朱树华. 环渤海湾地区连作苹果园土壤中酚酸类物质变化[J]. 生态学报, 2011, 31(1):90-97.

SUN Hai-bing, MAO Zhi-quan, ZHU Shu-hua. Changes of phenolic

- acids in the soil of replanted apple orchards surrounding Bohai Gulf[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(1):90-97.
- [6] 李 坤, 郭修武, 郭印山, 等. 葡萄根系腐解物的化感效应及酚酸类化感物质的分离鉴定[J]. *果树学报*, 2011, 28(5):776-781, 943.
LI Kun, GUO Xiu-wu, GUO Yin-shan, et al. Allelopathic effect and identification of phenolic acid class allelochemicals in grape root decomposing products[J]. *Journal of Fruit Science*, 2011, 28(5):776-781, 943.
- [7] You L X, Wang P, Kong C H. The levels of jasmonic acid and salicylic acid in a rice-barnyardgrass coexistence system and their relation to rice allelochemicals[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2011, 39(4/5/6):491-497.
- [8] 于建光, 顾 元, 常志州, 等. 小麦秸秆浸提液和腐解液对水稻的化感效应[J]. *土壤学报*, 2013, 50(2):349-356.
YU Jian-guang, GU Yuan, CHANG Zhi-zhou, et al. Allelopathic effects of wheat straw extract and decomposition liquid on rice[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2013, 50(2):349-356.
- [9] 顾 元, 常志州, 于建光, 等. 外源酚酸对水稻种子和幼苗的化感效应[J]. *江苏农业学报*, 2013, 29(2):240-246.
GU Yuan, CHANG Zhi-zhou, YU Jian-guang, et al. Allelopathic effects of exogenous phenolic acids composted by wheat straw on seed germination and seedling growth of rice[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Science*, 2013, 29(2):240-246.
- [10] 杜英君, 靳月华. 连作大豆植株化感作用的模拟研究[J]. *应用生态学报*, 1999, 10(2):209-212.
DU Ying-jun, JIN Yue-hua. Simulations of allelopathy in continuous cropping of soybean[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1999, 10(2):209-212.
- [11] Burger W P, Small J G C. Allelopathy in citrus orchards[J]. *Scientia Horticulturae*, 1983, 20(4):361-375.
- [12] Hall A B, Blum U, Fites R C. Stress modification of allelopathy of *Helianthus annuus* L. debris on seedling biomass production of *Amaranthus retroflexus* L.[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1983, 9(8):1213-1222.
- [13] 朱 林, 张春兰, 沈其荣, 等. 稻草等有机物料腐解过程中酚酸类化合物的动态变化[J]. *土壤学报*, 2001, 38(4):471-475.
ZHU Lin, ZHANG Chun-lan, SHEN Qi-rong, et al. Phenolic acids in decomposing organic material[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2001, 38(4):471-475.
- [14] 马瑞霞, 冯 怡, 李 莹. 化感物质对枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)在厌氧条件下的生长及反硝化作用的影响[J]. *生态学报*, 2000, 20(3):452-457.
MA Rui-xia, FENG Yi, LI Xuan. Effects of allelochemicals on growth of *Bacillus subtilis* and its denitrification under anaerobic condition[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 20(3):452-457.
- [15] Sampietro D A, Vattuone M A, Isla M I. Plant growth inhibitors isolated from sugarcane (*Saccharum officinarum*) straw[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2006, 163(8):837-846.
- [16] 张 娜, 王国祥, Abacar J D, et al. 超高效液相色谱法分析稻米酚酸化合物组分及其含量[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(9):1718-1726.
ZHANG Na, WANG Guo-xiang, Abacar J D, et al. Determination of phenolic acids in rice by ultra-high performance liquid chromatography[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(9):1718-1726.
- [17] 冯海燕, 杨晓辉, 岳红坤, 等. 高效液相色谱法同时测定款冬花中四种酚酸[J]. *分析科学学报*, 2015, 31(2):281-284.
FENG Hai-yan, YANG Xiao-hui, YUE Hong-kun, et al. Simultaneous determination of four phenolic acids in farfarae flos by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Analytical Science*, 2015, 31(2):281-284.
- [18] 龙文静, 张 盛, 袁 玲, 等. 反相高效液相色谱法同时测定咖啡豆中的6种酚酸类化合物[J]. *色谱*, 2011, 29(5):439-442.
LONG Wen-jing, ZHANG Sheng, YUAN Ling, et al. Simultaneous determination of 6 phenolic acids in coffee beans by reversed-phase performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2011, 29(5):439-442.
- [19] 王祥军, 齐军仓, 贾力群, 等. 反相高效液相色谱法快速测定大麦籽粒中13种酚酸类化合物[J]. *分析试验室*, 2011, 30(11):5-10.
WANG Xiang-jun, QI Jun-cang, JIA Li-qun, et al. Rapid determination of 13 phenolic acids in barley grain by reversed phase high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2011, 30(11):5-10.
- [20] 陈少洲, 吕飞杰, 台建祥. 向日葵籽中酚酸含量的高效液相色谱测定方法研究[J]. *食品科学*, 2003, 24(1):107-110.
CHEN Shao-zhou, LÜ Fei-jie, TAI Jian-xiang. Study on determination of phenolic acid in sunflower seeds by HPLC[J]. *Food Science*, 2003, 24(1):107-110.
- [21] Inderjit, Rawat D S, Foy C L. Multifaceted approach to determine rice straw phytotoxicity[J]. *Botany*, 2004, 82(2):168-176.
- [22] 陈建业, 温鹏飞, 战吉成, 等. 葡萄酒中11种酚酸的反相高效液相色谱测定方法研究[J]. *中国食品学报*, 2006, 6(6):133-138.
CHEN Jian-ye, WEN Peng-fei, ZHAN Ji-cheng, et al. Studies on the determination of 11 phenolic acids in wines by reverse phase high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2006, 6(6):133-138.
- [23] 刘江云, 杨学东, 徐丽珍, 等. 天然酚酸类化合物的反相高效液相色谱分析[J]. *色谱*, 2002, 20(3):245-248.
LIU Jiang-yun, YANG Xue-dong, XU Li-zheng, et al. Studies on the separation and determination of natural phenolic acids by reversed-phase high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2002, 20(3):245-248.
- [24] 阮维斌, 赵紫娟, 薛 健, 等. 高效液相色谱法检测与化感现象相关的5种酚酸[J]. *应用与环境生物学报*, 2001, 7(6):609-612.
RUAN Wei-bin, ZHAO Zi-juan, XUE Jian, et al. Measurement of five allelopathic related phenolic acids by high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2001, 7(6):609-612.