

两种黄海潮间带海绵的元素与氨基酸成分分析

赵权宇, 邓麦村, 曲传宇, 虞星炬, 金美芳, 张卫

(中国科学院大连化学物理研究所 海洋生物产品工程组 辽宁 大连 116023)

摘要:应用能量色散 X 射线荧光光谱 (EDXRF) 分析了黄海潮间带繁茂膜海绵 (*Hymeniacidon perleve*) 和肾指海绵 (*Reniochalina* sp.) 的无机元素, 其中硅是两种海绵中最多的无机元素。繁茂膜海绵较肾指海绵的锌含量高, 参照文献数据推测这可能是该属海绵的特性。测定了 2 种海绵的含水量, 有机碳、氮、氢元素和氨基酸在海绵干质量中的比例。分析了繁茂膜海绵在 2002 年 8 月到 11 月中主要无机元素的变化, 发现繁茂膜海绵中的硅含量在降低。繁茂膜海绵的氨基酸总量远高于肾指海绵, 2 种海绵中含量较高的氨基酸是甘氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、亮氨酸、缬氨酸、赖氨酸等。元素与氨基酸分析将对海绵细胞培养基开发有帮助。

关键词: 海绵; 元素; 氨基酸; 黄海

中图分类号: Q517 Q956 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2004)03-0027-05

海绵是最低等的无脊椎动物, 是地球生命起源与进化中独立的分支。海洋生物, 特别是海绵活性物质研究与开发已经引起国际上的广泛关注^[1]。另外, 海绵是滤食性动物, 每千克海绵每天可以过滤 24 000 L 水^[2]。因此, 某些海绵具有富集痕量金属离子及有机污染物的能力, 可以作为检测环境的生物标志。

Hansen 等^[3]发现面包软海绵 (*Halichondria panicea* Palls) 可以富集铜、锌、镉等离子。在污染海域中生活的寄居蟹皮海绵 (*Suberites domuncula*) 体内富集的镉离子是未污染海域的 15~24 倍, 但锌离子几乎不变^[4,5]。Wiens 等^[6]研究的一种钵海绵 (*Geodia cydonium*) 可以富集多氯联苯。Philp 等^[7]认为丛体细芽海绵 (*Microciona prolifera*) 有富集镉离子的能力。

Vinogradov^[8]对海洋生物(包括海绵)的元素化学组成做了系统的总结, 其后的研究不多。Araujo 等^[9]分析并比较了 19 种东大西洋寻常海绵的元素组成。Shinagawa 等^[10]对 6 种海绵的游离氨基酸与甜菜碱类化合物做了分析, 并研究了这些化合物在体内渗透压调节中的作用。目前, 包括海绵在内的海洋无脊椎动物的细胞培养还不成熟, 培养基的设计是其中的一个重要问题^[11]。元素分析用于微生物培养基的开发^[12]也可以为海绵细胞的培养基设计借鉴。

中国海域海绵活性物质的研究较多集中在南海,

黄、渤海海绵的研究较少^[11]。由于海绵是非经济海洋无脊椎动物, 对中国海域海绵的元素与氨基酸分析还未见报道。作者对黄海潮间带繁茂膜海绵 (*Hymeniacidon perleve*) 和肾指海绵 (*Reniochalina* sp.) 的元素及总氨基酸组成进行研究, 希望能够为海绵细胞培养的营养学研究提供参考。

1 实验材料与方法

1.1 海绵的采集与保存

2001 年 8 月, 2002 年 8~12 月在与大连毗邻的黄海潮间带采集繁茂膜海绵及肾指海绵。采回后立即用水清洗, 去除表面污泥、碎石、牡蛎壳等, 冰箱中 -20 ℃ 冷冻保存。肾指海绵为深褐色, 质地较硬, 表面有粘液; 繁茂膜海绵为黄色, 多孔, 质地较软。2 种海

收稿日期: 2003-03-25 修回日期: 2003-05-26

基金项目: 国家海洋“863”高科技研究发展计划项目(2001AA620404) 中国科学院“百人计划”和大连化学物理研究所“知识创新工程”项目资助

作者简介: 赵权宇(1974-), 男, 博士研究生, 研究方向: 海洋生物技术; 张卫, 通讯作者, E-mail: weizhang@dicp.ac.cn

绵均由中国科学院海洋研究所李锦和鉴定。

1.2 海绵含水比率测定

新鲜海绵样品去除表面水分及污物,冷冻后称重并记录,再冷冻干燥 24 h,称量干燥后的海绵质量。由去除的水分和海绵鲜质量计算得到海绵含水比率。

1.3 几种有机元素氮、碳、氢的测定

取 2001 年 8 月采集的 2 种海绵,冷冻干燥后研磨,元素分析仪测定氮、碳、氢等元素在海绵干重有机部分中的比例。

1.4 无机元素测定

新鲜海绵焙烧后,全谱直读等离子体发射光谱定性分析海绵中的无机元素(美国 TJA 公司产 ISIR 型)。

分别取 2001 年 8 月采集的繁茂膜海绵与肾指海绵及 2002 年 8~11 月间每月采集的繁茂膜海绵,冷冻干燥后研磨,用能量色散 X 射线荧光光谱 EDXRF (Magix601,Phillips)测定其中的无机元素。

1.5 总氨基酸分析

2001 年 8 月采集的两种海绵,冷冻干燥后研磨。6 mol/L HCl 在 110 °C 水解 18 h,日立公司 835-50 型氨基酸自动分析仪分析海绵中的氨基酸;肾指海绵和繁茂膜海绵的样品浓度分别为 4.48 g/L,5.58 g/L;进样量 0.05 mL。

1.6 海水分析

2002 年 8~11 月,每个月各采集有海绵生活的海域海水样品一次,在国家海洋局海洋环境保护研究所分析其中的化学需氧量,硅酸盐、镉、铅、铜、锌及总磷、总氮。

2 结果与讨论

美国弗洛里达海滨掘海绵 (*Dysidea carneva*) 和丛体细芽海绵 (*Microciona prolifera*) 的含水量都在 85% 左右^[7],大阪湾附近 6 种海绵的含水量在 76.5%~84.3%^[10]。作者测定的繁茂膜海绵 (*Hymeniacidon perleve*) 和肾指海绵 (*Reniochalina* sp.) 含水量分别为 88% 和 87%。

两种海绵有机氮、碳及氢元素在海绵干重有机部分中的比例见图 1。繁茂膜海绵的有机碳、氮、氢元素的含量都超过肾指海绵。

无机元素定性分析表明,两种海绵中都含有如下元素:铝、硼、钡、钙、铜、铁、钾、镁、锰、钼、钠、磷、硅、

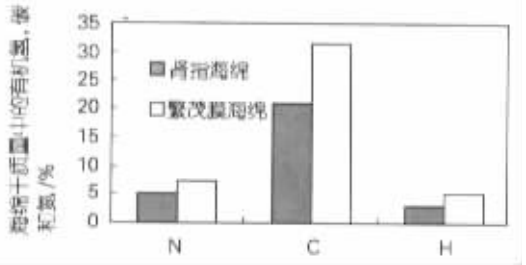


图 1 海绵氮、碳及氢元素在海绵干质量有机部分的组成

Fig.1 Nitrogen, Carbon and Hydrogen in organic part of sponges in dry mass

钛、锌。EDXRF 的分析结果见图 2。在两种海绵中,硅都是含量最高的无机元素。含量较高的元素还有氯、钠、硫、钙、钾、镁、铝、溴、铁、磷等。元素定性分析及 EDXRF 分析均未发现镉元素。海水的分析结果见表 1,海水中的重金属元素未见超标。

海绵的生长过程受很多因素影响,对潮间带海绵的研究并不多。8 月海水的温度较高,海绵的生长较好,12 月温度降低,海绵大规模减少。季节与海水温度显然会对海绵的生长有明显影响。作者对这段时间内,海绵元素组成与海水的变化做初步考察,探讨其中的变化规律。

2002 年 8~11 月,2 种海绵中的主要元素变化见图 3。硅是寻常海绵骨针的重要成分,海绵 *Pellina semitubulosa* 的硅含量与海水温度存在线性关系,而且从 10 月到翌年 2 月存在硅含量的明显降低^[13]。作者测定的 2002 年 8~11 月海绵生殖区海水中硅酸盐浓度及繁茂膜海绵中二氧化硅的变化见图 4,可见同样存在海绵硅含量的降低,而 11 月的增加可能与海水中硅酸盐含量的增加有关。肾指海绵与繁茂膜海绵中的锌元素差别较大,Araujo 等^[9]分析的 6 块 *Hymeniacidon perlevis* 海绵中的锌较其它海绵高,该海绵与繁茂膜海绵同属膜海绵属,由此可以推测该属海绵可能具有富集锌的能力。

肾指海绵与繁茂膜海绵的总氨基酸组成见表 2。由于进行了酸解,海绵中的色氨酸无法分析。这 2 种海绵中的氨基酸种类相差不大,但繁茂膜海绵的氨基酸总量远高于肾指海绵,含量较高的氨基酸是甘氨酸 (Gly),谷氨酰胺 (Glu),天冬酰胺 (Asp),亮氨酸 (Leu),缬氨酸 (Val) 赖氨酸 (Lys) 等。

作者测定的肾指海绵与繁茂膜海绵的必需氨基

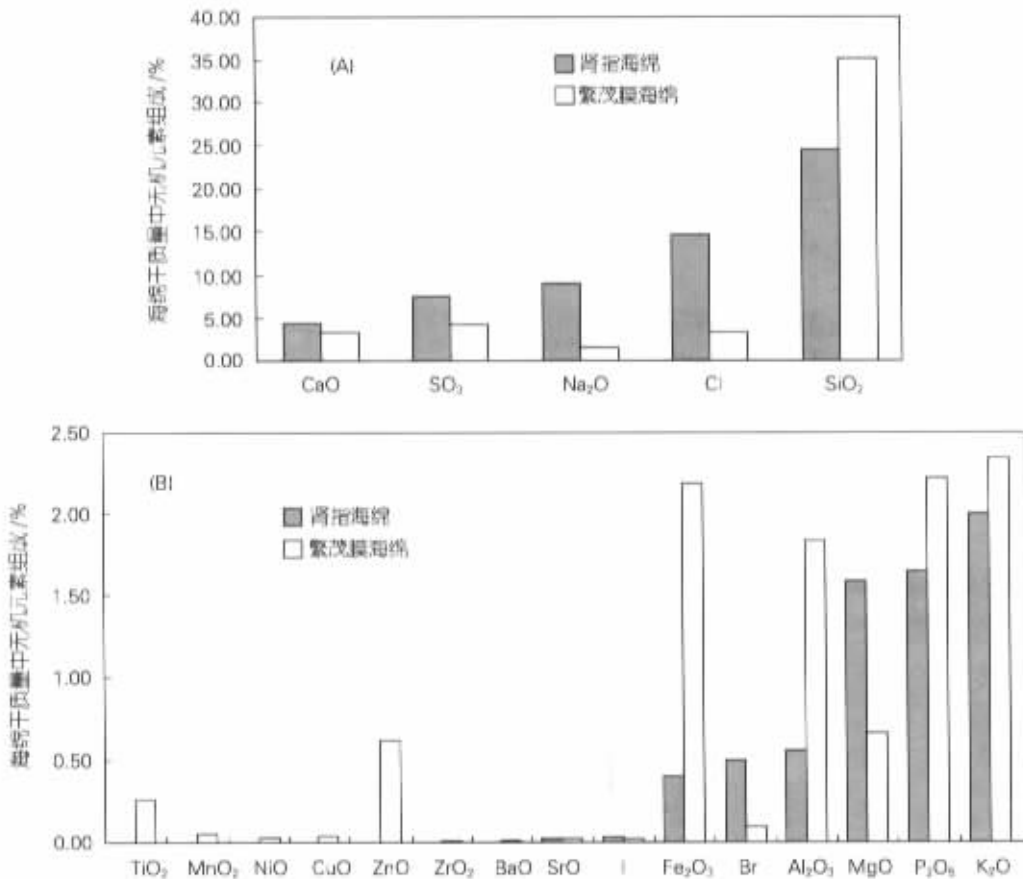


图 2 繁茂膜海绵与肾指海绵中的无机元素

Fig.2 Components of inorganic elements in *Hymeniacidon perlewer* and *Reniochalina* sp.

表 1 海绵生长海域的海水分析(μg/L)

Tab.1 Seawater analysis where sponge lives(μg/L)

月份	化学需氧量	总氮	总磷	锌离子	镉离子	铅离子	铜离子	硅酸盐离子
8	470.0	164.7	40.3	9.2	0.10	2.0	3.7	463.3
9	690.0	265.5	27.2	11.6	0.07	1.3	0.9	459.3
10	660.0	584.0	43.6	5.7	0.07	0.2	1.5	412.6
11	2 100.0	781.4	34.7	5.8	0.09	1.4	4.9	620.0
12	900.0	463.8	79.3	4.5	0.07	0.6	0.2	365.9

酸(苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸等)含量分别为 0.296 和 0.327,马英杰等^[14]研究的海胆、贻贝、虾蛄等 12 种黄、渤海海产无脊椎动物的必需氨基酸含量在 0.285 ~ 0.402 间,同样说明,海洋无脊椎动物的必需氨基酸总量与总氨基酸的比值稳定在一定范围内。肾指海绵与繁茂膜海绵的支/芳值,即(缬氨酸 + 亮氨酸 + 异亮氨酸) / (苯丙氨酸 + 酪氨酸),分别为 1.81 和 1.97,同样介于这些海洋无脊椎动物的支/芳值的范围内(1.61 ~ 2.82)。

氨酸),分别为 1.81 和 1.97,同样介于这些海洋无脊椎动物的支/芳值的范围内(1.61 ~ 2.82)。

3 结语

首次对中国黄海海域繁茂膜海绵及肾指海绵的元素组成、含水率、有机碳、有机氢、有机氮元素等做了分析。通过 EDXRF 分析,硅是 2 种海绵中含量最高

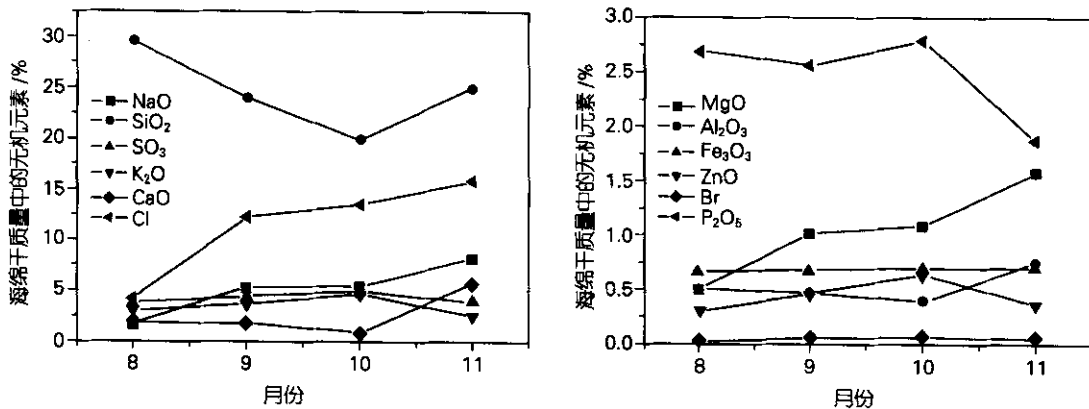


图3 2002年8~12月繁茂膜海绵中几种元素的变化

Fig.3 Changes of inorganic elements in *Hymeniacidon perleve* from October to December in 2002

表2 肾指海绵和繁茂膜海绵氨基酸组成

Tab.2 Components of total amino acids in *Hymeniacidon perlever* and *Reniochalina* sp.

氨基酸	肾指海绵		繁茂膜海绵		氨基酸	肾指海绵		繁茂膜海绵	
	($\mu\text{mol/g}$)	(%)	($\mu\text{mol/g}$)	(%)		($\mu\text{mol/g}$)	(%)	($\mu\text{mol/g}$)	(%)
牛磺酸 Tau	13.643	0.17	18.753	0.23	异亮氨酸 Ile	63.875	0.84	113.290	1.49
天冬氨酸 Asp	176.929	2.35	243.419	3.24	亮氨酸 Leo	104.304	1.37	177.441	2.33
苏氨酸 Thr	90.196	1.07	133.247	1.58	酪氨酸 Tyr	55.946	1.01	70.366	1.28
丝氨酸 Ser	90.214	0.95	145.785	1.53	苯丙氨酸 Phe	52.536	0.87	95.677	1.58
谷氨酸 Glu	179.321	2.64	286.280	4.21	鸟氨酸 Orn	2.929	0.04	3.247	0.04
脯氨酸 Pro	90.429	1.04	108.430	1.25	赖氨酸 Lys	77.429	1.13	128.538	1.88
甘氨酸 Gly	415.554	3.12	572.796	4.30	组氨酸 His	23.554	0.37	36.968	0.57
丙氨酸 Ala	119.696	1.07	176.516	1.57	精氨酸 Arg	92.250	1.61	133.634	2.33
胱氨酸 Cys	22.446	0.54	24.022	0.58	γ -氨基丁酸	7.929	0.08	4.559	0.05
缬氨酸 Val	101.286	1.19	153.398	1.80	乙醇胺	2.411	0.04	5.269	0.08
甲硫氨酸 Met	24.982	0.37	47.591	0.71	氨基酸总量		21.83		32.58
3-甲基组氨酸	-	-	1.935	0.03					

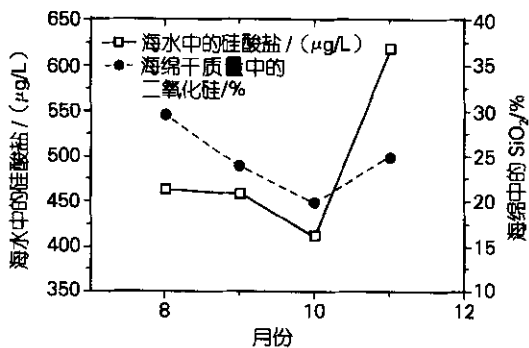


图4 海水硅酸盐浓度及繁茂膜海绵中SiO₂的含量

Fig.4 Silicate in seawater and SiO₂ in *Hymeniacidon perleve* in dry mass

的无机元素,而且从2002年8月到11月,海绵中的硅含量在降低。繁茂膜海绵较肾指海绵的锌含量高,参照文献数据推测这可能是该属海绵的特性。繁茂膜海绵的氨基酸总量远高于肾指海绵,2种海绵中含量较高的氨基酸是甘氨酸,谷氨酸,天冬氨酸,亮氨酸,缬氨酸,赖氨酸等,它们可能会对海绵细胞离体培养有重要影响。

参考文献:

[1] Murray H G M, Blunt J W, Dumdei E J, et al. The discovery and development of marine compounds with pharmaceutical potential[J]. *J Biotechnol*, 1999, 70: 15-25.

- [2] Vogel S. Current - induced flow through living sponges in nature[J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1977, 74:2 069 - 2 071.
- [3] Hansen I V, Weeks J M, Depledge M H. Accumulation of Copper, Zinc, Cadmium and Chromium by the marine sponge *halichondria panicea pallas* and the implications for biomonitoring[J]. *Mar Pollut Bull*, 1995, 31(1-3): 133 - 138.
- [4] Muller W E G, Batel R, Lacorn M, *et al.* Accumulation of cadmium and zinc in the marine sponge *Suberites domuncula* and its potential consequences on single - strand breaks and on expression of heat - shock protein: a natural field study [J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1998, 167 :127 - 135.
- [5] Wagner C, Steffen R, Koziol C, *et al.* Apoptosis in marine sponges: a biomarker for environmental stress (cadmium and bacteria)[J]. *Mar Biol*, 1998, 131(3): 411 - 421.
- [6] Wiens M, Koziol C, Hassanein H M A, *et al.* Induction of gene expression of the chaperones 14 - 3 - 3 and HSP70 by PCB 118 (2,3',4,4',5 - pentachlorobiphenyl) in the marine sponge *Geodia cydonium*: novel biomarkers for polychlorinated biphenyls[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1998, 165: 247 - 257.
- [7] Philp R B. Cadmium content of the marine sponge micro - ciona prolifera, other sponges, water and sediment from the eastern florida panhandle: possible effects on microciana cell aggregation and potential roles of low pH and low salinity[J]. *Comp Biochem Physiol, Part C: Toxicol Pharmacol*, 1999, 124: 41 - 49.
- [8] Vinogradov A P. The Elementary chemical composition of marine organisms[J]. *Sears Foundation, New Haven Connecticut*, 1953, 176 - 586.
- [9] Araujo M F, Cruz A, Humanes M, *et al.* Elemental composition of demospongiae from the eastern atlantic coastal waters[J]. *Chem Spec Bioavailab*, 1999, 11: 25 - 36.
- [10] Shiagawa A, Suzuki T, Konosu S. The role of free amino acids and betaines in intracellular osmoregulation of marine sponges[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1992, 58(9): 1 717 - 1 722.
- [11] 张晓英, 赵权宇, 薛松, 等. 海绵生物活性物质及海绵细胞离体培养[J]. *生物工程学报*, 2002, 18(1): 10 - 15.
- [12] Spargaren D H. The design of culture media based on the elemental composition of biological material[J]. *J Biotechnol*, 1996, 45: 97 - 102.
- [13] Mercurio M, Corriero G, Scalera L L, *et al.* Silica content and spicule size variations in *pellina semitubulosa* (Porifera: Demospongiae)[J]. *Mar Biol*, 2000, 137: 87 - 92.
- [14] 马英杰, 张志峰, 马爱军, 等. 黄、渤海几种海产无脊椎动物蛋白质与氨基酸含量分析[J]. *海洋科学*, 1996, 20(6) 3 - 10.

Elemental and total amino acid composition of two intertidal sponges in Yellow Sea

ZHAO Quan - yu ,DENG Mai - cun ,QU Chuan - yu ,YU Xing - ju ,JIN Mei - fang ,ZHANG Wei

(Marine Bioproducts Engineering Group, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China)

Received: Mar., 25, 2003

Key words: sponge element amino acid Yellow Sea

Abstract: The inorganic elemental compositions of two marine sponges (*Hymeniacidon perleve* and *Reniochalina* sp.) in the intertidal zone in Yellow Sea (China) were analysed by energy - dispersive X - ray fluorescence spectrometry (EDXRF). Silicon was the highest inorganic element in this sponge. Zinc in *Hymeniacidon perleve* was much higher than that of *Reniochalina* sp. Compared with the data of Araujo (1999, Chemical Speciation and Bioavailability, 11, 25 - 36), it may be the nature of this genus, *Hymeniacidon* sp. The ratio of water in collected sponge; organic elements (carbon, nitrogen and hydrogen) and total amino acid compositions of these sponges in dry weight were also measured. Several inorganic element of *Hymeniacidon perleve* are determined by EDXRF from August to November 2002. At the same time, silicon in sponge was decreased. The total amino acids of *Hymeniacidon* sp. were also higher than that of *Reniochalina* sp. Both kinds of sponge, were rich in glycine, glutamic acid, aspartic acid, leucine, valine and lysine. These information would helpful in medium design of marine sponge cell culture in vitro. (本文编辑 张培新)