

台湾海峡悬浮颗粒中的甲藻指示物

——甾醇 ($4\alpha, 23, 24$ -trimethyl- 5α -cholest- 22 -en- 3β -ol)^①

彭兴跃^② 徐立 张祖麟 洪华生

(厦门大学国家教委海洋生态环境开放实验室 厦门 361005)

摘要 检出台湾海峡两个季节的表层水悬浮颗粒样品中的甾醇 $4\alpha, 23, 24$ -trimethyl- 5α -cholest- 22 -en- 3β -ol, 该组分被认为可用来指示甲藻. 分析结果表明: 表层海水悬浮颗粒中该组分含量出现两次最大值, 其规律与甲藻的昼夜垂直移动规律相一致; 该组分在台湾海峡夏季含量比冬季要高, 但仍明显低于同期的厦门附近海域的含量, 这种季节变化及海域差别与所报道的甲藻的情况基本一致.

关键词 台湾海峡, 甾醇, 甲藻, 悬浮颗粒, 生物标志物

中国图书分类号 P 734. 232, Q 178. 53

甲藻与海洋学、渔业关系密切, 特别是某些种类甲藻的过度繁殖会形成赤潮, 对甲藻的指示就显得比较有意义. 作为生物标志物, 甾醇可在一定程度上指示海洋水体或沉积物中有机物质的生物来源, 如在近岸河口区被用来指示陆源有机颗粒、人类污水排放等等^[1-8]. 如果它是某种生物的特征性组分, 那么它就可能成为指示这种生物的特征生物标志物. 甾醇 $4\alpha, 23, 24$ -trimethyl- 5α -cholest- 22 -en- 3β -ol 在甲藻中有较高的含量, 常被认为主要由甲藻提供, 因此可能是一种较好的甲藻指示物^[9, 10]. 这种甾醇指示甲藻的准确性目前正在讨论之中, 国内尚无此方面研究. 作为甲藻的标志物, 这种甾醇首先应被认为是一些甲藻种类的特征组分, 但它是否能很准确地指示甲藻的分布与变化, 还存在一定的争论. 不同的

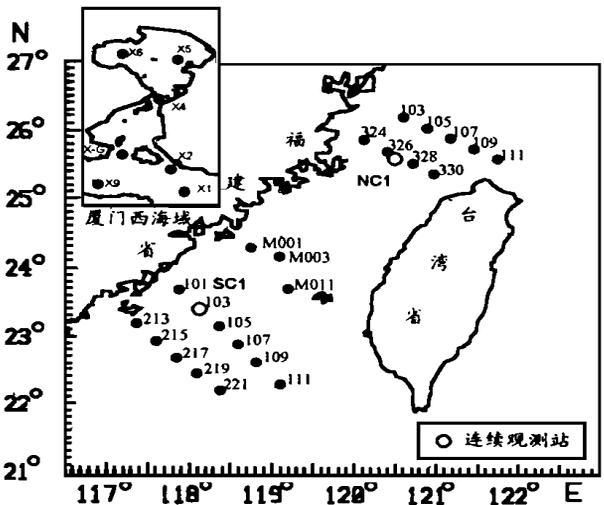


图 1 台湾海峡与厦门西海域调查站位设置

Fig. 1 Sampling stations in Taiwan Strait

① 本文 1997-11-10收到; 国家教委、福建省科委重点科研和国家教委海洋生态环境开放研究实验室资助项目

② 厦门大学生物学系博士后

甲藻指示甾醇可能会出现相互间不一致的情况,这一方面可能由于种类间的差异引起,另一方面也可能是因为它们在一定程度上存在陆源的输入.总之,对于近岸海区利用它来指示甲藻的研究仍然是探索性的.在台湾海峡及厦门附近海域,甲藻的分布及季节变化特征已有不少的数据积累,而这种甲藻指示甾醇如果能在一定程度上指示甲藻,那么它的分布及变化必定不能与甲藻已有的研究结果相去太远.由此,本文将着重介绍该甾醇在台湾海峡的检出及其指示甲藻的情况,并与厦门附近海域进行比较,以探讨该甾醇对甲藻的指示能力.

1 采样及测定

1.1 采样

采样的时间分别为 1994年 8月和 1995年 2月,采样站位见图 1.采水体积为 20~ 40 L.采来的海水立即用氮气压滤,将悬浮颗粒收集在玻璃纤维滤膜(Whatman GF/F 150 mm)上.滤后,将滤膜放入铝箔袋子中,再放入塑料袋中充 N_2 并封紧塑料袋,放入冰柜中,于 -20°C 左右保存,直至样品前处理.

1.2 测定

在进行样品处理以前需将所有与样品有关的用具、器皿进行消除空白的处理.处理的办法是: 500°C 灼烧 2~ 4 h,不能灼烧的有机溶剂萃取或稀硝酸浸泡.处理的对象包括玻璃器皿、铝箔、镊子、剪刀、盖子吸管等.所有有机溶剂均须重蒸以降低空白.

冷冻保存的样品经冷冻干燥后进入样品前处理步骤,具体过程如下:剪碎带有样品的玻璃纤维滤膜装入玻璃离心管(60 mL),加入 30 mL 混合溶剂($n_{\text{CHCl}_3} : n_{\text{MeOH}} = 2 : 1$ 及 $n_{\text{CHCl}_3} : n_{\text{MeOH}} = 1 : 2$ 各 1次),在水浴中超声萃取 30 min,离心分离,将清液移出.合并萃取得到的清液,将清液用 N_2 气吹干,加 5% KOH 的甲醇水溶液(4: 1) 2 mL, 80°C 水浴加热皂化 2 h,加水 1 mL,用混合溶剂(正己烷: 二氯甲烷 = 4: 1) 2 mL 萃取 3次.取有机相, N_2 气吹干,用二氯甲烷溶解,薄层色谱点样,用二氯甲烷展开.展开后用碘晶体升华的碘蒸气显色,刮取甾醇部分(用胆甾醇及豆甾醇作参照).刮取的部分用混合溶剂(正己烷: 乙酸乙酯: 三氯甲烷 = 4: 1: 1) 超声提取.提取液加入内标(胆甾醇,由于内标不是醇类,所以需在薄层分离以后加入,加入内标以前的提取分离步骤由胆甾醇标准品的回收率控制), N_2 气浓缩后加入衍生剂(含 1% TMCS 的 BSTFA, SIGMA [T-6381]) 0.05 mL,充 N_2 气 30秒钟,封紧, 85°C 水浴加热衍生化 50 min,用 N_2 气吹去衍生剂,0.2 mL 正己烷溶解并转移到用于 GC 分析的自动进样瓶中,用 N_2 气浓缩至 0.02~ 0.04 mL,充 N_2 封瓶,GC 进样.(注:薄层板在点样前需用甲醇和三氯甲烷预展开(洗)几次,将顶部 1 cm 的硅胶刮取,以除去杂质.).甾醇的 GC 色谱条件:气相色谱仪为 HP5890 E; GC 毛细管柱为 50 m \times 0.22 mm \times 0.25 μm BPX-5; 载气为 H_2 ; 升温程序为: 60°C 恒温 2 min,然后以 $20^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 180°C ,最后以 $20^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 350°C ; 柱头压用电子压力控制器控制,初始压力为 278 kPa,进样 0.75 min 后以 680 kPa /min 的速率降到 108 kPa,之后保持恒流控制;进样口温度为 280°C ; 检测器温度为 360°C ; 检测器类型为 FID.甾醇的定性采用 GC-MS 定性过的沉积物做标准,其 GC-FID 谱图见图 2, GC-MS 谱图见图 3,其特征离子质荷比为 500(M^+), 388, 367, 359, 283, 271, 229, 215, 69.

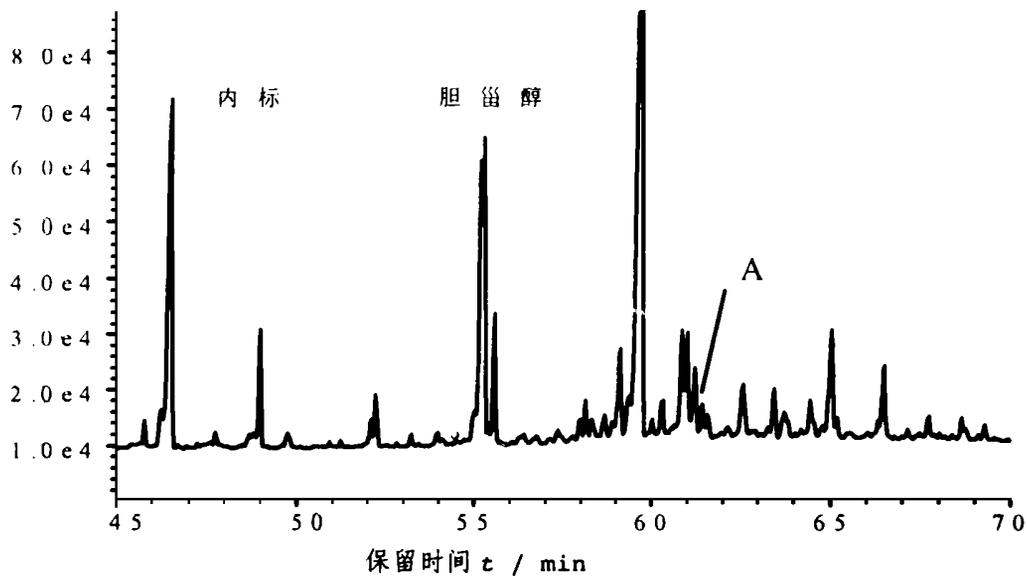


图 2 夏季厦门西海域 X2 站悬浮颗粒样品中甾醇的气相色谱图

A 4 α ,23,24-trimethyl-5 α -cholest-22-en-3 β -ol

Fig. 2 Sterols in suspended particles. (Sample from station X2)

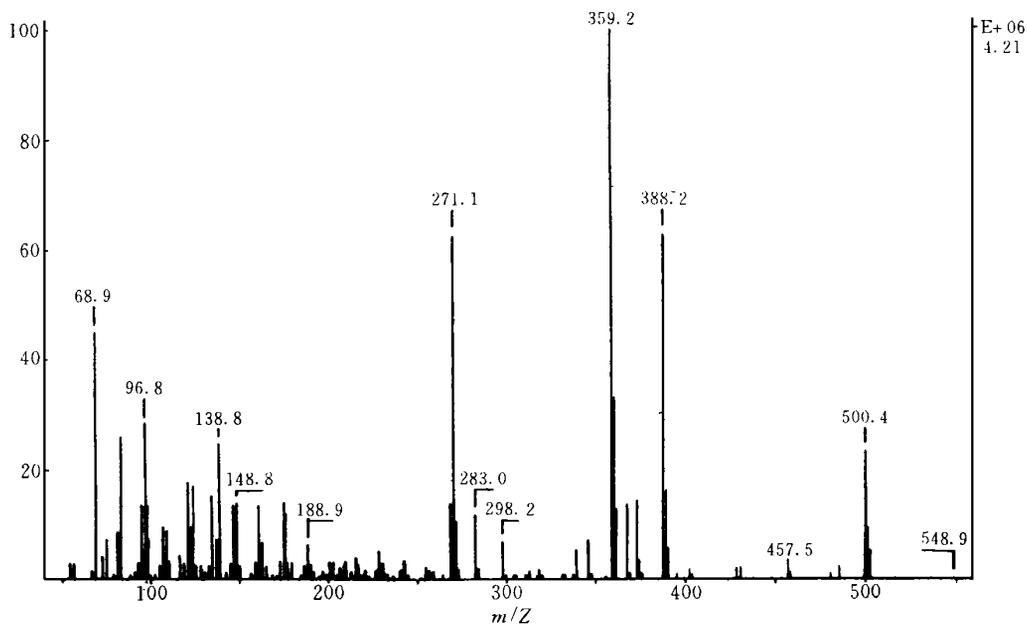


图 3 化合物 A 的质谱

Fig. 3 Mass spectrum of sterol A

2 结果与讨论

2.1 昼夜变化规律

甲藻的昼夜垂直移动有着很特别的地方,它在一个昼夜会上下移动两次,即在 22 00和 14 00上升^[11]. 这样,如果在表层进行昼夜连续观测,则可能在这两个时间内观测到甲藻生物量的高峰,换句话说,如果这种甾醇能指示甲藻,那么它在水中的含量也会在这两个时间附近出现峰值.在台湾海峡北部的夏季定位观测站(NC1)的 24 h中,我们每相隔 3 h采一个表层水悬浮颗粒的样品,这些样品中这种甾醇在水中含量的变化

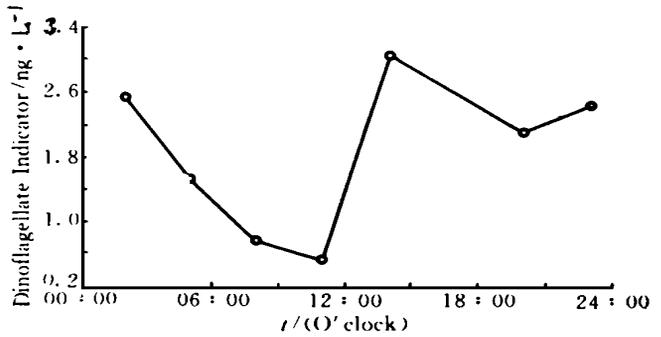


图 4 夏季 NC1 站甾醇 4 α , 23, 24-trimethyl-5 α -cholest-22-en- β -ol 的周日变化

Fig. 4 A diurnal variation of 4 α , 23, 24-trimethyl-5 α -cholest-22-en- β -ol at NC1. (surface water, in summer)

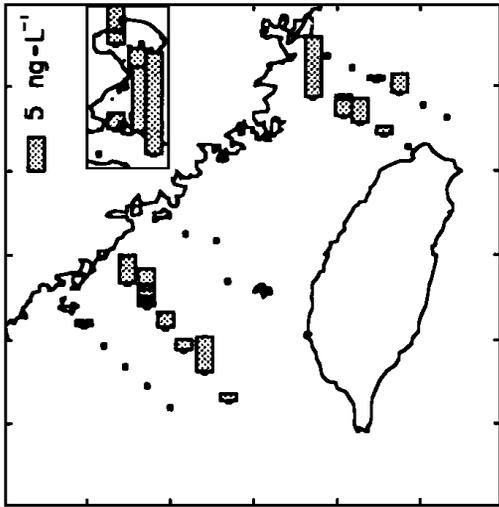


图 5 夏季甾醇 A 的平面分布

单位高度 5 ng \cdot L⁻¹

NC1及 SC2站有一日多次观测数据

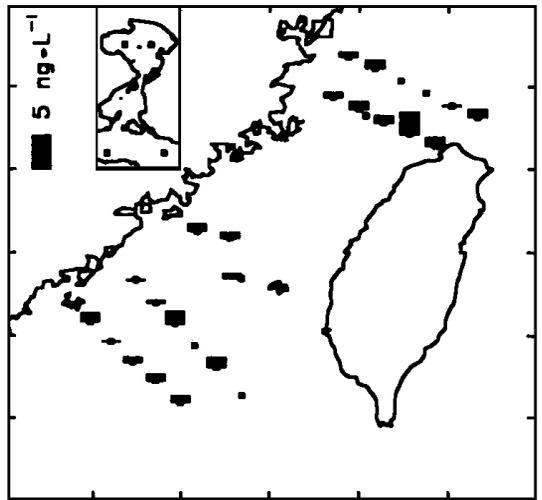


图 6 冬季甾醇 A 的平面分布

单位高度 5 ng \cdot L⁻¹

Fig. 6 The distribution of sterol A in winter

Fig. 5 The distribution of sterol A in summer

见图 4.从图 4中,我们可以看到有一个峰值出现在 14 00,含量有 3 ng/L以上,最低值出现在 12 00,仅 0.6 ng/L左右.另外一个峰值出现在 23 00~ 2 00之间,而另外的一个低值出现在 20 00左右.虽然只有一天连续观测的数据,但这种甾醇在昼夜变化的规律上确实体现出与甲藻特殊昼夜垂直移动的一致性.显然,在定量上,化学成分测定比起去用显微镜去统计单一类别的生物量而言具有其特殊的优势.在图 4中,甲藻指示甾醇的在量上的昼夜变化实际上较为直接地描述了表层水中甲藻生物量的昼夜变化.如果更进一步的研究能建立其甲藻生物量与

该种甾醇的定量关系式,那么这种甾醇含量的变化曲线图被“翻译”为甲藻的生物量变化曲线图是完全可能的.

2.2 季节变化及空间变化

对于甲藻的季节变化及空间分布特征,已有不少的研究报道^[12-15].一般来讲,甲藻在春夏两季数量较多,秋季以后甲藻开始减少.进入冬季以后,甲藻的数量比夏季会少很多,在厦门港,冬季几乎绝迹.图 5,6 是夏季台湾海峡及厦门附近海域和冬季台湾海峡的甲藻甾醇的分布.从图中可以看出,夏季含量范围为 1~5 ng/L 左右,其分布特征为夏季厦门西海域比台湾海峡南部稍高,其中 1 2 号站含量特高;冬季台湾海峡明显低很多,大部分站位都在 1 ng/L 以下.尽管从周日变化的分析中,我们可以看出每日数值都可能有比较大的变化,但纵观两个季节的数据,冬季少夏季多仍然是一个比较明显的季节变化趋势,而这个趋势是符合甲藻的季节变化规律的.

3 结 语

作为生物标志物,甾醇 4 α , 23, 24-trimethyl-5 α -cholest-22-en-3 β -ol 无论从昼夜变化还是从季节变化等不同的时间和空间尺度上,都基本正确反映了甲藻的特征,同已有文献报道的结果相一致.因此,对这种生物标志物进一步研究其定量的指示作用是可取的.由于甾醇作为化学物质具有易于定量的特点,加上它不会因甲藻细胞的破坏消失而消失,即使在沉积物中也可能保存许多年,对这种生物标志物的深入研究在环境科学、生态学上都具有一定的意义.

参 考 文 献

- 1 Saliot A, Laureillard J, Scribe P et al. Evolutionary Trends in the Lipid Biomarker Approach for Investigating the Biogeochemistry of Organic Matter in the Marine Environment. *Marine Chemistry*, 1991, 36 (1-4): 233-248
- 2 Saliot A, Tusseau D. Sterols in interstitial water of marine sediments. *Org. Geochem.*, 1984, 7: 53-59
- 3 Saliot A, Brault M, Boussuge C. The lipid geochemistry of isotopic and biogeochemical markers to the study of the biochemistry of organic matter in a macrotidal estuary, the Loire, France. *Estuarine Coastal Shelf Sci.*, 1988, 27: 645-669
- 4 Kanazawa A, Teshima S I. Sterols of the suspended matters in sea water. *J. Oceanogr. Soc. Jpn*, 1971, 27: 207-212.
- 5 Gagosian R B. Sterols in the western North Atlantic Ocean. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1975, 39: 1443-1454
- 6 Goad L J. The steroids of marine algae and invertebrate animals. in: *Biochemical and biophysical perspectives in marine biology.* (ed. D. C. Malins and J. R. Dargent) Vol. 3, London, New York, San Francisco: Academic Press, 1976
- 7 Lajat M., Denant V, Saliot A. Selected organic matter source indicators in the Changjiang Estuary and Adjacent East China Sea: sterol and fatty acid distributions in surface sediments. In: *Biogeochemical study of the Changjiang Estuary*, Beijing: China Ocean Press, 1990: 688-704
- 8 Kanazawa A, Teshima S I. The occurrence of coprostanol, an indicator of faecal pollution, in sea water and sediments. *Oceanol. Acta*. 1978, 1: 39-44

- 9 De Leeuw J W, Rijpstra W I C, Schenck P. A. Free, esterified and residual bound sterols in Black Sea Unit I sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1983, 47: 455~ 465
- 10 Lajat M, Saliot A. Sterol composition of suspended matter from the Changjiang estuary and adjacent East China Sea. In: *Biogeochemical Study of the Changjiang Estuary*. Beijing: China Ocean Press, 1990: 642~ 666
- 11 郑重, 李少菁, 许振祖. 海洋浮游生物学. 北京: 海洋出版社, 1984: 70~ 97
- 12 周定成, 陈泽厦. 厦门港湾海洋环境综合调查报告(第六章). 台湾海峡, 1988, 7(1): 96~ 102
- 13 洪华生, 丘书院, 阮五崎等. 闽南——台湾浅滩渔场上升流生态系研究. 北京: 科学出版社, 1991
- 14 唐宗福, 刘维坤. 厦门港湾海洋环境综合调查报告(第五章). 台湾海峡, 1988, 7(1): 42
- 15 福建海洋研究所. 台湾海峡中、北部海洋综合调查研究报告. 北京: 科学出版社, 1988: 205~ 304

$4\alpha, 23, 24$ -trimethyl- 5α -cholest- 22 -en- 3β -ol,

— a Dinoflagellate Indicator, in Suspended Particles in Taiwan Strait

Peng Xingyue Xu Li Zhang Zulin Hong Huasheng

(Res. Lab. of SEDC of Marine Ecological Environment, Xiamen Univ., Xiamen 361005)

Abstract Samples of suspended matter in surface sea water collected in August 1994 and in February 1995 in Taiwan Strait were analyzed for sterols by GC. $4\alpha, 23, 24$ -trimethyl- 5α -cholest- 22 -en- 3β -ol, a Dinoflagellate Indicator, was detected. Its content was about $1\sim 5$ ng/L and it was a little higher in summer than that in winter. The diurnal variations of this sterol showed two peaks at about 14:00 and 22:00~ 2:00, respectively. Not only its seasonal changes but also its diurnal variations is unanimous with the other study about dinoflagellate. This result suggests that $4\alpha, 23, 24$ -trimethyl- 5α -cholest- 22 -en- 3β -ol are able to indicate the organic carbon from dinoflagellate.

Key words Taiwan Strait, Sterol, POC, Dinoflagellate, Biomarker