

中国科学院海洋研究所编辑

海洋科学集刊

STUDIA MARINA SINICA

11

科学出版社

1976 年 12 月

海洋科学集刊

第十一集

中国科学院海洋研究所编辑

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1976年12月第一版 开本：787×1092 1/16

1976年12月第一次印刷 印张：24 1/2 插页：14

印数：0001—2,110 字数：563,000

统一书号：13031·647

本社书号：941·13—17

定价：4.30元

海洋科学集刊 第 11 集

(1976 年 12 月)

目 录

海洋中氮循环的热力学平衡问题·····	顾宏堪 (1)
海带中各种形态氨基酸含量的季节变异·····	纪明侯、蒲淑珠、曹文达、张敬芝 (7)
海水的热力学状态·····	顾宏堪、刘明星 (25)
潮汐分析和预报的准调和分潮方法 II. 短期观测的分析 ·····	方国洪 (33)
分析作用于小桩柱波力的谱方法·····	袁业立 (57)
浅海地转流速的计算·····	缪经榜、顾玉荷 (69)
南海圆筛藻属的五个新种·····	郭玉洁 (77)
中国江蓠属海藻的分类研究·····	张峻甫、夏邦美 (91)
大抓科学实验海带养殖夺高产·····	山东省长岛县钦岛公社小浩大队党支部 (167)
刺参的人工育苗和养殖·····	
·····山东省长岛县砣矶公社后口大队、长岛县水产局、烟台地区水产研究所	(173)
杂色鲍人工育苗的初步研究·····	中国科学院海洋研究所鲍鱼
组、福建省水产科学研究所养殖组、福建省东山县鲍鱼、珍珠贝育苗实验站	(185)
烟台沿岸贻贝的生长·····	中国科学院海洋研究所贝类实验
生态组、烟台地区海水养殖试验场、烟台地区水产研究所、烟台水产学校	(201)
中国近海蛸属(八腕目、头足纲)三新种·····	董正之 (211)
东海放射虫的研究 II. 泡沫虫目、罩笼虫目、稀孔虫目和棒矛虫目·····	
·····	谭智源、张作人 (217)
花冠小月螺形态特征的地理变异·····	楼子康 (315)
中国近海骨螺科的研究 II. 核果螺属 ·····	张福绥 (333)
中国近海凤螺科种类的初步记录·····	马绣同 (355)
鱼类含脂量的样品处理、保藏和分析方法的比较研究·····	
·····	王可玲、李爱杰、黄颂芳、滕文法 (377)
蛤仔提取物抗啮齿动物肿瘤实验·····	中国科学院海洋
研究所药用组、青岛市医药科学研究所、北京生物制品研究所肿瘤免疫组	(389)
研究初报	
青岛潮间带底内蟹类生态及洞穴观察·····	范振刚 (397)
晶体管等电阻接触式测波仪的研制·····	郑大 (407)
重力活塞取样管的结构及其使用·····	张君 (413)

STUDIA MARINA SINICA, No. 11

(December, 1976)

CONTENTS

On the Thermodynamic Equilibrium of Nitrogen Cycle in the Sea.....Gu Hongkan	(6)
Seasonal Variations in the Contents of Various States of Amino Acids in <i>Laminaria japonica</i> Aresch.	
.....Chi Ming-hou, Pu Shuzhu, Cao Wenda and Zhang Jinzhi	(22)
The Thermodynamic State of Sea Water Gu Hongkan and Liu Mingxing	(31)
Quasi-harmonic Constituent Method for Analysis and Prediction of Tides. II. Analysis of Short Period Observations	Fang Guohong (56)
A Spectral Method for Analysis of Ocean Wave Forces on the Small Cylinder Pile	Yuan Yeli (57)
Computation of the Velocity of Geostrophic Flow in Shallow Water	
.....Miao Jingbang and Gu Yuhe	(76)
Five New Species of <i>Coscinodiscus</i> from the South China Sea	
.....Y. C. Kuo	(87)
Studies on Chinese Species of <i>Gracilaria</i>	
.....C. F. Chang and B. M. Xia	(157)
With All-Out Efforts at Scientific Experiments for Higher Yield in Haidai (<i>Laminaria japonica</i> Aresch.) Cultivation	
.....The Party Branch of Xiaohao Production Team, Qindao People's Commune, Changdao County, Shandong Province	(167)
A Study on the Artificial Breeding and Cultivation of <i>Stichopus japonicus</i> Selenka	
.....Houkou Production Team, Touji People's Commune, Changdao County; Bureau of Marine Fisheries, Changdao County; Institute of Marine Fisheries, Yantai District, Shandong Province	(182)
A Preliminary Study on the Artificial Rearing of the Larvae and Juvenile of <i>Haliotis diversicolor</i> Reeve	
.....Institute of Oceanology, Academia Sinica; Fujian Institute of Fishery Science; Laboratory of Abalone and Pearl Oyster Culture, Dongshan, County, Fujian Province	(195)
The Growth of Mussels (<i>Mytilus edulis</i> L.) Along Yantai Coast	
.....Section of Experimental Molluscan Ecology, Institute of Oceanology, Academia Sinica; Marine Cultivation Experimental Station of Yantai District; Fisheries Researches Institute of Yantai District; Yantai School of Fisheries	(210)
On Three New Species of the Genus <i>Octopus</i> (Octopoda, Cephalopoda) from the Chinese Waters	
.....Dong Zhengzhi	(214)
Studies on the Radiolaria of the East China Sea. II. Spumellaria, Nassellaria, Phaeodaria, Sticholonchea	
.....Tan Zhiyuan and Tchang Tso-run	(304)
The Geographical Variation of Morphological Characters of <i>Lunella coronata</i> (Gmelin)	
.....Lou Tze-kong	(329)
Studies on Species of Muricidae off the China Coasts. II. Genus <i>Drupa</i>	
.....Zhang Fusui	(351)
Notes on Chinese Species of the Family Strombidae (Prosobranchiata, Gastropoda)	
.....Ma Siu-tung	(371)
Comparative Studies on the Methods of Preparation and Preservation of Samples and Analytical Methods for Determining Fish Fat Content.....	
.....Wang Keling, Li Aijie, Huang Sungfang and Teng Wenfa	(388)
Inhibitory Effect of the Extract of the Common Clam <i>Venerupis (Amygdala) philippinarum</i> (Adams et Reeve) on the Experimental Tumor in Rodents	
.....Marine Drugs Group, Institute of Oceanology, Academia Sinica; Qingdao Institute of Materia Medica and Medicina; Division of Cancer Research, National Vaccine and Serum Institute, Peking	(396)
Ecology and Burrow Observations on the Crabs of the Infauna of the Intertidal Zone, Qingdao	
.....Fan Zhengang	(403)
A Wave Recorder of the Transistor Equal-Resistance Contact Type...Zheng Dajun	(411)
The Tectonic and Operation of the Piston Core Apparatus	Zhang Junyuan (413)

海洋中氮循环的热力学平衡问题*

顾宏堪

(中国科学院海洋研究所)

海洋中的氮化物, 已知主要以 NO_3^- 、 NO_2^- 、 NH_4^+ 及有机氮的形式存在。它们通过浮游生物及微生物等的作用, 构成了一个循环^[6,8]。

在氮循环中, NH_4^+ 、 NO_2^- 及 NO_3^- 之间可能的转化过程是



NH_3 氧化为 NO_2^- 及后者进一步氧化为 NO_3^- 的反应, 按照热力学的趋势, 可自发进行^[1,6], 并且, 在达到平衡时, 氮基本上已转化为 NO_3^- ^[1,4,6]。这在一些氮的转化实验^[4]及季节循环^[5,7]中, 均已得到证明。

氮的转化实验及海洋中各种形态氮的季节循环, 虽已有不少研究, 但尚缺乏较为完整的资料。

对于自有机氮转化为 NH_4^+ 与进一步转化为 NO_2^- 及 NO_3^- 的速率, 也已有人作过一些研究^[2,3,4]。但是, 都没有很好考虑影响反应速率的各种因素。不同海区所得结果, 自然亦有所不同。

本文的目的, 是讨论海洋中各种氮化物是否处在热力学平衡状态。

一、海洋中氮的季节循环

关于海洋中氮的季节循环, 完整的资料较少, 现仅例举几个海区的循环状况。

英吉利海峡海水中 NO_3^- 、 NO_2^- 及 NH_4^+ 的季节循环, 如图1a所示^[5]。由图中可见, 无机氮最大值在冬季, 最低值在仲夏。冬季无机氮主要以 NO_3^- 形式存在。Cooper 指出^[5], 无机氮含量的降低, 是由于硅藻的春季大繁殖的缘故。

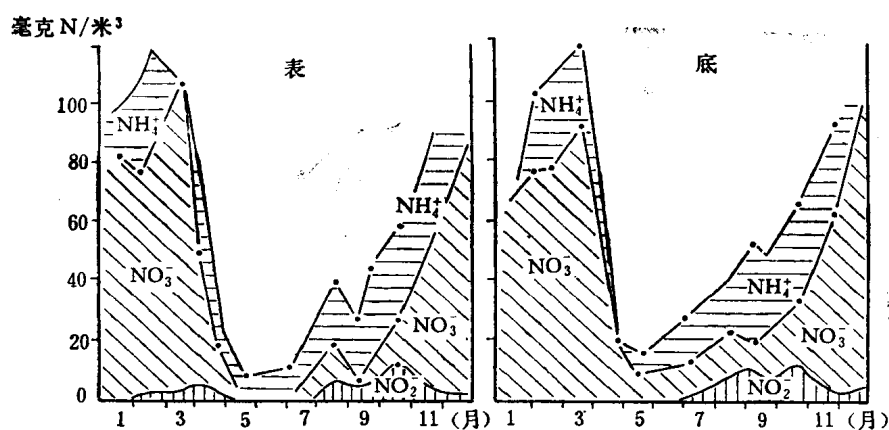


图1a 英吉利海峡 NO_3^- -N、 NO_2^- -N 及 NH_4^+ -N 的季节循环。该站位于 Plymouth 西南 20 英里处。1931 年(根据 Cooper, 1933)。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 362 号; 本文得到郭玉洁同志的帮助并承刘明星同志绘图。

图 1b 表明英吉利海峡中浮游生物量的季节变化^[8]。

美国长岛海峡中部海水中氮化物及浮游植物的季节循环, 见图 2^[7]。无机氮的最大

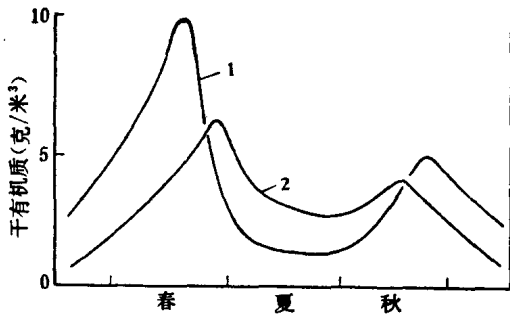


图 1b 英吉利海峡浮游生物量季节变化。离岸 4 英里(根据 Harvey, 1957)。

1. 浮游植物 2. 浮游动物

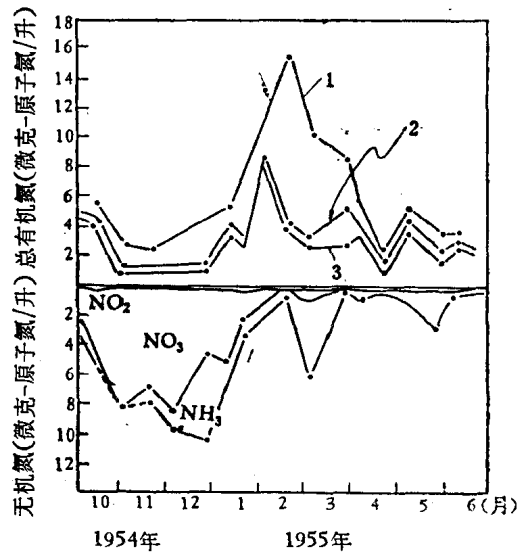


图 2 长岛海峡中部 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、有机氮及浮游植物量等的季节循环(根据 Harris 等, 1959)。

1. 细菌及碎屑, 2. 浮游动物, 3. 浮游植物。

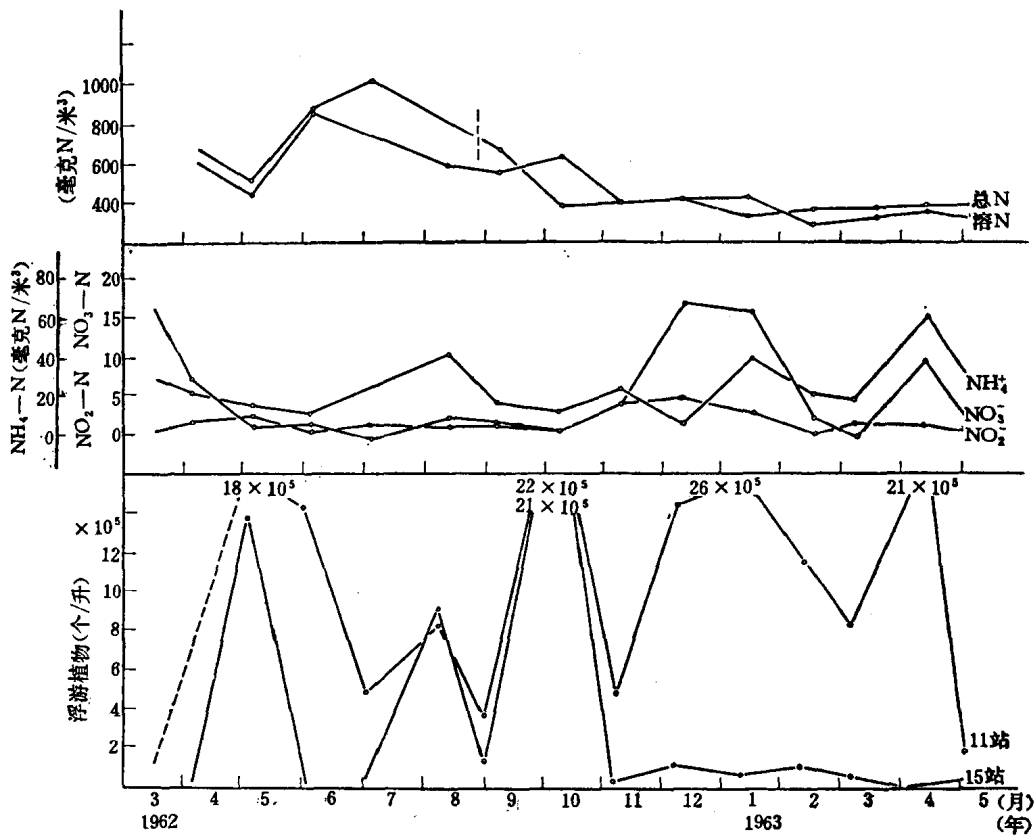
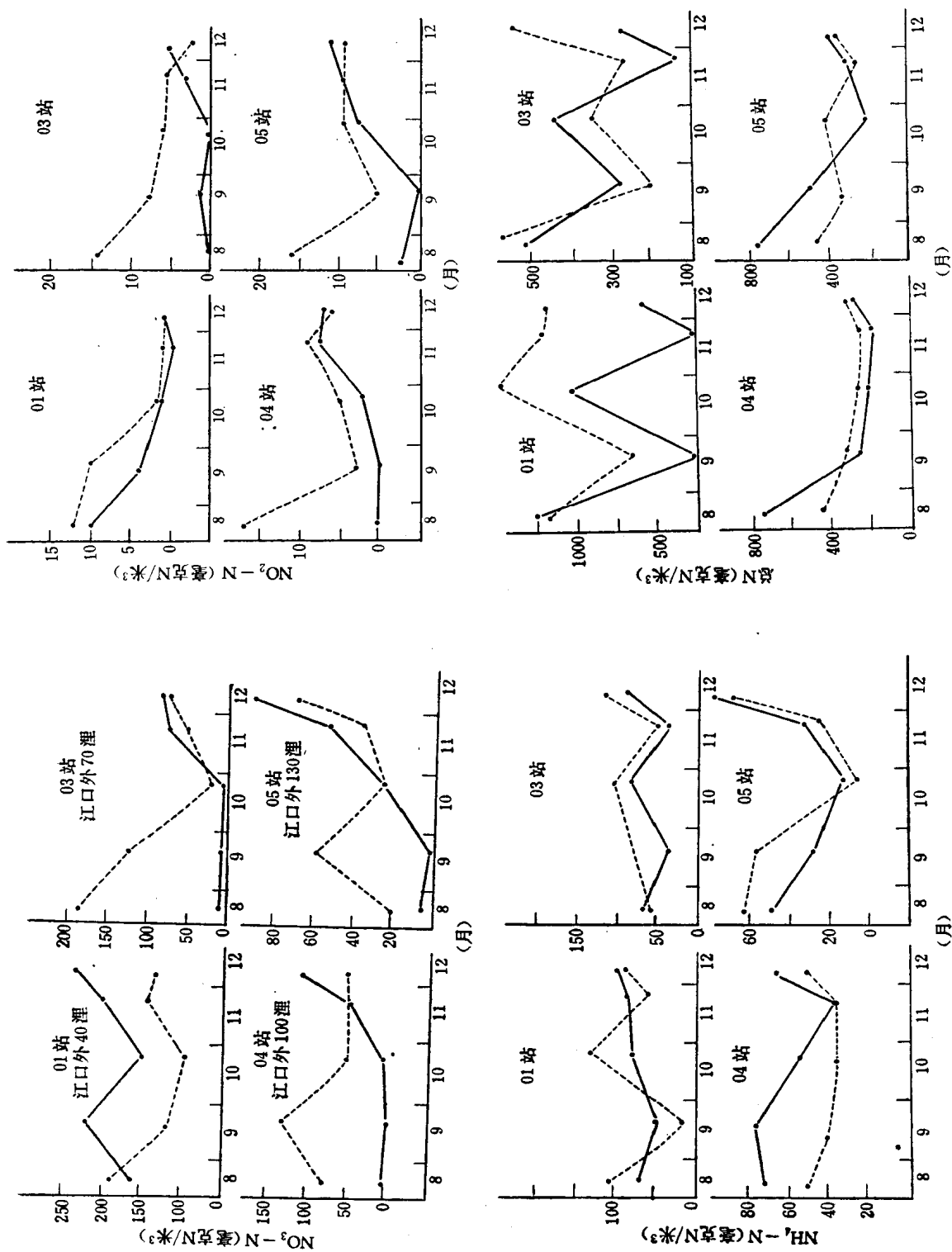


图 3 黄海胶州湾 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、有机氮*及浮游植物量**的季节循环(表层水; 氮为多站平均值)。

[* 根据顾宏堪等的调查研究资料。 ** 根据郭玉洁等的调查资料。]


 图4 东海长江口外 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 及有机氮的月变化*。

[*根据顾宏堪等的调查研究资料。]

值亦在冬季,并且大部转变为 NO_3^- 。Harris 等指出,冬末硅藻的繁殖,使 NO_3^- -N 含量迅速下降。

图 3 表明黄海胶州湾海水中氮化物及浮游植物的季节循环。无机氮冬季最大值并不十分明显,而且也没有充分地转变为 NO_3^- 。无机氮中, NH_4^+ -N 的含量比例是很高的。

图 4 表明东海长江口外海水中氮化物的月变化。无机氮初冬 12 月含量已非常高,但其中 NH_4^+ -N 的含量亦占相当比例,没有充分地转变为 NO_3^- 。

二、海水中氮循环的实验

海水中有有机氮的分解速率和进一步由 NH_4^+ 转化为 NO_2^- 及 NO_3^- 的实验,已有一些记载^[2,3,4]。但由于没有很好考虑有机氮性质、催化剂及温度等影响反应速率的因素,因而不同作者的实验结果是不一致的,只能给出一个粗略的状况。

相对说来, Von Brand 及 Rakestraw 的实验较为完整^[4],其主要结果如图 5 所示。曲线表明了由粒状氮逐步转化为 NO_3^- -N 的过程及大致的时间。

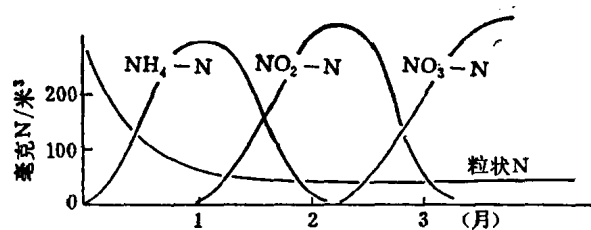
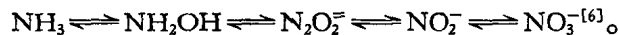


图 5 置于黑暗处海水中的硅藻分解为 NH_4^+ 并进而转化为 NO_2^- 及 NO_3^- 的实验(根据 Von Brand 等, 1937—1942)。

三、讨 论

在海洋氮循环中, NH_4^+ 、 NO_2^- 及 NO_3^- 之间的可能转化过程, Cooper 等指出,是



反应 $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- + \frac{3}{2}\text{O}_2 = \text{H}^+ + \text{NO}_2^- + 2\text{H}_2\text{O}$ 的 $\Delta F^\circ = -59,400$ 卡 (25°C), $\text{NO}_2^- + \frac{1}{2}\text{O}_2 = \text{NO}_3^-$ 的 $\Delta F^\circ = -18,000$ 卡,其自由能都是减小,按照热力学的趋势,反应可自发进行。并且,在达到热力学平衡时,氮将基本上以 NO_3^- 形式存在^[1,6]。

由反应 $\text{NO}_2^- + \frac{1}{2}\text{O}_2 = \text{NO}_3^-$ 及 $\Delta F = -18,000$ 卡,则

$$\Delta F_{298} = -RT \ln \frac{a_{\text{NO}_3^-}}{a_{\text{NO}_2^-} \cdot a_{\text{O}_2}} = -18,000 \text{ 卡,}$$

如 O_2 的活度为 0.2 大气压,则得 $a_{\text{NO}_3^-} = 3.1 \times 10^{12} a_{\text{NO}_2^-}$ 。故设海水中含 NO_3^- -N 10 毫克原子/米³时, NO_2^- -N 的平衡活度将为 3×10^{-12} ,因而在平衡情况下, NO_2^- -N 含量必

然甚微。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 与 $\text{NO}_2\text{-N}$ 平衡,按该反应 $\Delta F = -59,400$ 卡计算, $\text{NH}_4\text{-N}$ 的平衡浓度应更微^[6]。

上述计算结果,与 Von Brand 等海水中氮循环的实验结果^[4] 是一致的(见本文二)。 NH_4^+ 、 NO_2^- 及 NO_3^- 在处于平衡状态时,大部分都转化为 NO_3^- 。其转化是分步进行的。

然而,在海洋中,氮的季节循环表明(见本文一),在 NO_3^- 含量达全年最高的冬季, NO_2^- ,特别是 NH_4^+ ,其含量亦未降到如上所指出的极为微少的程度,有时 NH_4^+ 的含量,甚至还相当高。

不同海区,无机氮的转化程度是不同的。从图中可看出,英吉利海峡及长岛海峡冬季无机氮大部以 NO_3^- 形式存在。但在黄海、东海,这种转化程度是不高的, $\text{NO}_3\text{-N}$ 与 $\text{NH}_4\text{-N}$ 之比相当低。

显然,尤其是黄海、东海,无机氮化物之间,并没有达到热力学平衡状态。

NH_4^+ 、 NO_2^- 与 NO_3^- 之间,没有达到热力学平衡状态,作者认为,主要是海洋生物活动的结果。最终转化为 NO_3^- 的程度有所不同,是由于各海区的生物活动状况不同。当然,在大江河口,大陆水带来的有机氮及 NH_4^+ ,对氮平衡亦有相当大的影响。

Harvey^[8] 指出,无机氮被浮游植物所吸收并转化为有机氮,后者分解时释出 NH_4^+ ,然后又进一步转化为 NO_2^- 及 NO_3^- 。因而这一循环,与浮游植物的繁殖周期及茂盛程度密切相关。当浮游植物繁殖周期很短时, NH_4^+ 来不及转化为 NO_2^- 及 NO_3^- ,此时,将构成 NH_4^+ —浮游植物(有机氮)— NH_4^+ 的直接循环。黄海胶州湾无机氮特别是 NH_4^+ 与浮游植物量的月变化的关系(图 3),即充分表明了这种情形。夏季及其前后, NO_2^- 与 NO_3^- 含量都很低,而 NH_4^+ 含量则基本上成锯齿形变化与浮游植物量的变化相对应。秋季海水垂直对流,使水层中 NO_3^- 自海底得到一定的补充,一方面,浮游植物量较低, NH_4^+ 得以有转化为 NO_3^- 的一定时间,因而秋末 NO_3^- 含量达全年最高,但 NH_4^+ 含量亦仍然很高,说明转化极不完全。随着冬初浮游植物的繁殖, NO_3^- 又耗尽了。当浮游植物繁殖周期较长时,则在浮游植物繁殖时无机氮被消耗,过了繁殖期,有机氮分解释出的 NH_4^+ ,就有充分的时间进一步转化为 NO_2^- 及 NO_3^- 。英吉利海峡及长岛海峡即属于这种情形(图 1 及 2)。这些海峡的浮游植物繁殖周期较长,而无机氮冬季最高值,均主要以 NO_3^- 形式存在。

由此可见,海洋中氮化合物 NH_4^+ 、 NO_2^- 及 NO_3^- 之间,没有达到热力学平衡状态,主要是浮游植物活动的结果,由于这些低等藻类参与了氮的循环过程,并使 NH_4^+ 来不及充分地转化为 NO_3^- 。全年无机氮含量达最高值时, NH_4^+ 转化为 NO_3^- 的程度各海区有所不同,这与各海区浮游植物的季节循环周期的长短有关。浮游植物季变周期长,则 NH_4^+ 转化为 NO_3^- 就比较充分,浮游植物季变周期短,则 NH_4^+ 转化为 NO_3^- 就比较不充分。因 NH_4^+ 转化为 NO_3^- 需要一定时间^[4]。

自然,在生物活动较弱及大陆水影响小的大洋,达到平衡的程度显然要高。正如伟大领袖毛主席指出的:“所谓平衡,就是矛盾的暂时的相对的统一。”“矛盾不断出现,又不断解决,就是事物发展的辩证规律”。生物活动在一定条件下对海洋中的化学反应达到热力学平衡状态的影响,看来是带有普遍性的问题。

参 考 文 献

- [1] Бруевич, С. В., 1954. Нитриты и нитрификация в море. *Тр. Ин-та Океанол. АН СССР* 8:3—17.
- [2] Скопинцев, Б. А., 1938. О скоростях регенерации биогенных элементов (N и P) при бактериальном разложении планктонных организмов. *Микробиология* 7(6):755—765.
- [3] ——— et al., 1940. Исследование регенерации азота и фосфора при разложении отмершего фитопланктона. *Докл. АН СССР* 26(8): 814—817.
- [4] Von Brand, T. and Rakestraw, N. W., 1937—42. Decomposition and regeneration of nitrogenous organic matter in sea water. *Biol. Bull., Woods-Hole* 72:165. 77:285;; 79:231; 81:63; 83:273.
- [5] Cooper, L. H. N., 1933. Chemical constituents of biological importance in the English Channel, November, 1930, to January, 1932. I. Phosphate, silicate, nitrate, nitrite, ammonia. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 18 (2):677—728.
- [6] ———, 1937. The nitrogen cycle in the sea. *Ibid.* 22:183—204.
- [7] Harris, E., 1959. The nitrogen cycle in the Long Island Sound. *Bull. Bingham Oceano. Coll.* 17(1):31—65.
- [8] Harvey, H. W., 1957. The chemistry and fertility of sea water. Cambridge, 234 pp.

ON THE THERMODYNAMIC EQUILIBRIUM OF NITROGEN CYCLE IN THE SEA*

Gu Hongkan

(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

ABSTRACT

A discussion is made on the thermodynamic equilibrium of nitrogen cycle in the sea. Most of the NH_4^+ , NO_2^- and NO_3^- must be converted to NO_3^- at thermodynamic equilibrium state.

The seasonal variations of nitrogen compounds in English channel, Long Island Sound, the Yellow Sea and the East China Sea suggest that the NH_4^+ and NO_2^- are not converted sufficiently to NO_3^- . The system of NH_4^+ , NO_2^- and NO_3^- are not in the thermodynamic equilibrium state, but there is a difference in the degree of conversion. The degree of conversion is low in the Yellow Sea and the East China Sea.

The system of NH_4^+ , NO_2^- and NO_3^- is not in the thermodynamic equilibrium state, mainly due to activity of phytoplankton. The difference in the degree of conversion in NH_4^+ to NO_3^- is related to period of growth of phytoplankton. The NH_4^+ is converted to NO_3^- more sufficiently in the state of long period, as in the English Channel and Long Island Sound. The conversion is not sufficiently in the state of short period, as in the Yellow Sea and the East China Sea.

* Contribution No. 362 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.

海带中各种形态氨基酸含量的季节变异^{* **}

纪明侯 蒲淑珠 曹文达 张敬芝

(中国科学院海洋研究所)

海带在我国作为食品和药用已有悠久的历史。解放后开始有计划地进行了人工养殖,特别从1958年以来,海带产量逐年大幅度增长,现在我国从北方的辽宁省到南方的福建省都有养殖,年产已达相当数量。目前只一部分用作工业原料,而大部分用作食品。海带除含有大量碳水化合物、无机盐外,还含有较多的蛋白质和各种维生素等,为中国人民所喜用的、营养价值较高的副食品。

伟大导师恩格斯指出:“生命是蛋白体的存在方式,……”。海带同陆地植物以及其他藻类一样,蛋白质的代谢对其生长、发育具有决定性的意义。人们对淡水单胞藻已做了大量生物化学研究工作,对于其氮代谢的途径有了较多的了解^[19]。对各种海藻的含氮化合物的研究也做了若干工作^[12,22,25,27,29],但对海带属这样大型藻类的含氮化合物的研究做的还不多。国外过去多从阐明营养价值的角度,对海带属的一般含氮量和氨基酸进行过分析。例如 Mazur 等^[23]用化学分析法测定了海带属中的几种氨基酸含量;Ericson 等^[18]对糖海带(*Laminaria saccharina*)的水解物做过纸上层析定性;Coulson^[17]则对克氏海带(*L. cloustonii*)的水解物用纸上层析法进行了氨基酸定量;Ogino^[24]用纸上层析法粗略地估计了日本产海带的70%乙醇提取物中的氨基酸含量;高木^[9-11]用化学分析法分析了海带水解物中的个别氨基酸含量;Takagi 等^[27]用柱层析法测定了海带的75%乙醇提取物中的游离氨基酸含量。近来,大石等^[6-8]着重研究了日本产海带中的含氮量和70%乙醇可溶游离氨基酸的分布对海带质量的关系。

过去,我们初步测定过我国一年生海带的含氮量季节变化^[2]。随着我国海带养殖事业的蓬勃发展,有必要对我国海带的化学成份,特别是游离状态的和构成蛋白质的氨基酸的种类和含量变异进行深入研究,可能有助于生产部门在探讨海带生长和品质时作参考。为此,我们较系统地研究了我国培育的海带中所含各种形态氨基酸的季节变异。

一、实验材料

实验用材料有1962年和1963年的普通海带(以下简称“海带”)和“海青一号”(以下简称“海一”)两个品种。均系我所植物生态组提供的人工培育的幼苗,放在海中定点系绳垂养的。

“海一”系国内科学工作者经过多年选种、育种,培育出的一个海带新品种^[1]。它与“海

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第364号。

** 本所植物生态组提供海带幼苗,并协助海上管理;水化学组同志们协助分析水样;曾呈奎教授对本文提出了宝贵意见,作者深表感谢。

带”相比较,具有生长较快、生长时期较长、叶片较长较重、柄部较长、较能耐高温的特征。

1962年的材料是春季在青岛栈桥附近海域中培养的,从4月开始每隔半个月采集一次,前后共采集过8次。至7月底海面温度上升至26℃,部分叶片烂掉时,停止采样。

1963年的材料是在青岛贵州路前海养殖的,从2月开始每隔半个月采集一次,采至11月,共采20次;“海一”采至12月,共采21次。8月初因海面温度上升,将两品种都移到青岛太平角,下沉到水面下3—5米处培养。

二、实验方法

1. 取样

每次采“海带”和“海一”各2—4棵,采上后滴去水份,将假根剪去,称取湿重。从叶片尖端到基部切为三等分:上部、中部和基部,立即晒干;若遇阴天,则晾干到一定程度后放烘箱内,在60℃以下烘干。干后再称重量,算出干物质百分比。再分别用研钵磨成粉末,过100目筛孔,取筛下的粉末备分析用。

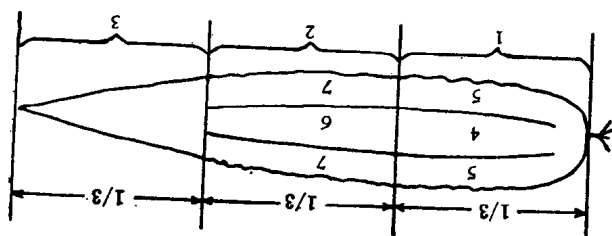


图1 海带叶片的取样

1.基部; 2.中部; 3.上部; 4.基中; 5.基边; 6.中中;
7.中边; 8.5+7.边缘; 9.4+6.中带部。

分析不同部位含氮量和氨基酸含量差异的样品(见图1),即是将中部和基部再纵切三部分,分为中边、中中、基边和基中;上部因叶片薄而窄,故未再分。

1962年材料中,4月份第一次样品因藻体小,未分部位,整个叶片混合分析,其后都分为不同部位。都分析了含氮量和各种形态氨基酸含量。

1963年材料中,2月份两次样品和3月份第一次样品因叶片小,未分部位,混合分析总氮量;其后都剪取基中部,只分析了总氮量;还分析了8月份叶片的不同部位的总氮量,都未做氨基酸分析。

每次采样时(都是上午),同时测量海水温度,并采水样由本研究所水化组协助分析其中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的含量。

2. 试液的制备

(1) 游离氨基酸: 称取2克磨细的干海带样品,放入具磨口塞的锥形瓶中,加入200毫升75%乙醇溶液,以电磁搅拌器间歇搅动提取24小时,用G4烧结玻璃漏斗过滤,滤液于水浴上蒸发至25毫升以下,加蒸馏水冲稀至25毫升。

(2) 结合氨基酸: 将提取游离氨基酸后的残渣置烘箱内,在105℃条件下烘干。称取0.6克装入 $\phi 1$ 厘米的玻璃试管内,加入3毫升6N HCl,稍热以驱除气体,封闭管口,放入105℃烘箱内连续加热水解48小时。放冷后取出,打开管口,将水解物转移至蒸发皿中,蒸干,加入约5—6毫升水,再蒸干,重复三次以除去酸气,加入少许水混合均匀,过滤,冲稀至25毫升。

(3) 总氨基酸: 称取0.2克海藻样品,装入 $\phi 1$ 厘米的玻璃试管内,加入0.6毫升

6NHCl, 以下与(2)同样封管, 水解, 蒸发, 冲稀至 25 毫升。

3. 氨基酸的纸上层析法

①层析步骤:

先于 23×19 厘米杭州新华造纸厂产滤纸上点样, 点样用量为 0.02—0.05 毫升。然后, 以上行法做双向层析。层析溶剂系统^[4]: 第一向沿 19 厘米方向, 溶剂为正丁醇:甲酸:水 (15:3:2); 第二向沿 23 厘米方向, 溶剂为正丁醇:12% 氨水 (13:3)。

先于第一向层析缸中放一培养皿, 中间置一盛 15 毫升第一向溶剂的小烧杯, 将层析滤纸卷成圆筒用尼龙线系好, 竖于培养皿中, 层析缸加盖使饱和 2 小时。然后打开缸顶的橡皮塞, 通过插入的长颈分液漏斗注入 40 毫升第一向溶剂至培养皿中, 迅速加塞。将缸放至 30℃ 恒温箱内进行层析, 至溶剂上升至离纸顶端 0.5 厘米时取出, 晾干。再同样重复层析一次。

然后于第二向层析缸内先放一只盛 15 毫升 12% 氨水的小烧杯和一只盛 15 毫升第二向溶剂的小烧杯。然后将滤纸圆筒放入, 注入第二向层析溶剂, 与第一向层析同样, 层析两次, 晾干, 备做定性和定量。

②氨基酸的定性^[5]:

将层析完毕并经晾干后的滤纸放入盛有显色剂 (1 克吖啶酮溶于 100 毫升乙醇和 10 毫升冰醋酸) 的玻璃舟中浸渍一下, 取出, 晾干至醋酸味不太刺鼻时, 放到 95℃ 烘箱内烘 10—15 分钟, 取出, 浸于底色褪色剂 [100 毫升 20% Na₂CO₃ 溶液中加入 60 克硅酸钠 (Na₂SiO₃·9H₂O), 在水浴上加热搅拌至全溶解] 中待黄色背景褪尽, 此时注意观察各斑点的位置和所显示的颜色, 与标准氨基酸图谱对照, 以确定氨基酸的种类。

③氨基酸定量^[3]:

将层析完毕并经晾干后的滤纸在定量显色前再放入 45℃ 恒温箱内处理 15 分钟, 取出, 于盛有 0.5% 茚三酮的丙酮 (95%) 溶液的玻璃舟中湿润一下, 取出, 待大部分丙酮挥发后, 放入 65℃ 烘箱内烘半小时, 促进显色。取出, 将呈紫红色的各氨基酸斑点剪下, 同时从同一纸空白处剪下同样面积圆纸作为比色的空白。

然后将各斑点剪成小块, 分别放于试管中, 各加入 4 毫升硫酸铜酒精溶液 [0.1% CuSO₄·5H₂O:75% 乙醇 (2:38)], 摇动, 洗脱液呈粉红色。70 分钟后用 72 型分光光度计于 510 毫微米波长测定光密度, 由标准曲线查出各氨基酸的相应含量。方法的准确度为 ±5%。

④脯氨酸定量:

因用双向层析时脯氨酸与酪氨酸易重叠, 分不开来, 我们试用下述单向层析法, 效果良好。

取 23×28.5 厘米新华滤纸, 沿 23 厘米方向在 2 厘米处划一直线, 每隔 3.5 厘米处点一样品, 可点 6 个样品。沿 28.5 厘米方向先以正丁醇:甲酸:水 (15:3:2) 的混合溶剂上行单向层析, 当溶剂前沿到达 17 厘米处时, 取出, 晾干。将滤纸从底部剪去 6.5 厘米, 然后仍按同方向以正丁醇:12% 氨水 (13:3) 的混合溶剂层析, 至顶端时取出, 晾干。

因为脯氨酸用茚三酮法不显色, 我们改用 Hrabětová 和 Tupý 提出的方法^[20]显色。即将晾干的滤纸于盛有吖啶酮试剂 (1 克吖啶酮, 1.5 克醋酸锌, 1 毫升醋酸, 95 毫升异丙醇, 加 5 毫升水混合) 的玻璃舟中湿润显色, 取出, 挂于 80—85℃ 烘箱内烘 30 分钟, 脯氨酸显蓝色, 以约 30℃ 的温水洗去多余的试剂, 纸背景呈白色。剪下脯氨酸斑点, 放入试管中, 加入 3 毫升以水饱和的苯酚, 置黑暗中洗脱, 间歇摇动。15 分钟后用 72 型分光光度计于 610 毫微米波长测定光密度, 由标准曲线查出脯氨酸含量。方法的准确度为 ±2.5%。

4. 总氮量

用半微量 Kjeldahl 定氮法测定。

三、实验结果与讨论

1. 含氮量季节变化

对1962年和1963年分别在青岛栈桥与贵州路前沿海养殖的“海带”和“海一”的基中部测得的含氮量季节变化的结果如表3和图2、3所示。图4、5分别表示1962年在栈桥前海面上以及1963年在贵州路前沿海的水化学因子季节变化。

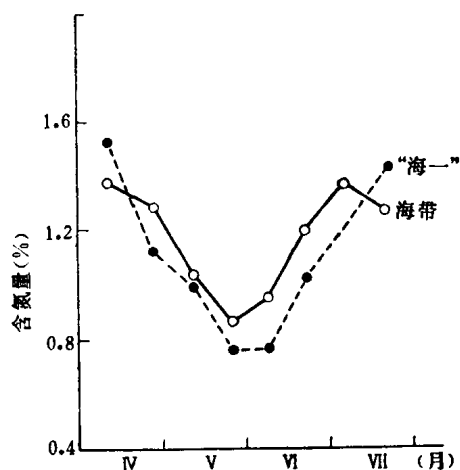


图2 1962年青岛栈桥前沿海养殖的海带和“海一”的含氮量季节变化

1963年的两品种是在贵州路前沿海养殖的,该处因是海带养殖区,经常进行人工施肥,为营养盐类较丰富的“肥区”。图5所示该海区的含氮盐类的分析数值表明, $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量一般地特别是春季较高(与图4相比)。春季2、3月 $\text{NO}_3\text{-N}$ 维持高值20毫克/立方米,至5月中旬渐趋于零; $\text{NH}_4\text{-N}$ 在100毫克/立方米上下(因靠海岸,变化幅度较大); $\text{NO}_2\text{-N}$ 近4毫克/立方米。海带叶片含氮量也比较高,从图3看,在2、3月生长快速期,含氮量高达2.8—3.0%。此时叶片大量吸收海水中的氮以合成细胞原生质的主要组分蛋白质等含氮化合物,加之此时藻体叶片很薄,含氮量相对地大增。至5月底以后含氮量降至1.3%左右时,海水中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 为零, $\text{NH}_4\text{-N}$ 仍在100毫克/立方米左右,藻体迅速地积累褐藻胶、甘露醇、纤维素等碳水化合物^[2],从图7的结果可看到,随着水温上升,藻体中干物质含量(主要是碳水化合物)迅速增高,因而含氮量相对地下降。7月以后,干物质含量基本稳定,含氮量在1.2%左右,呈锯齿

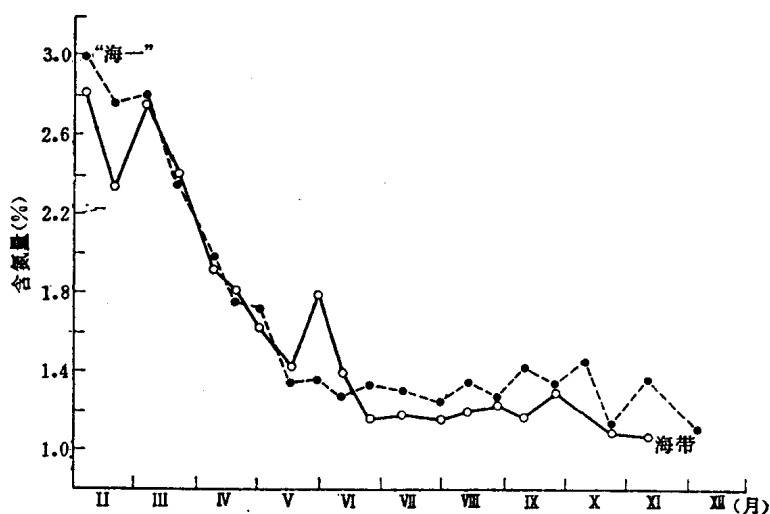


图3 1963年青岛贵州路前沿海养殖的海带和“海一”的含氮量季节变化

状上下变动。8月以后至10、11月，两品种的干物质含量都有逐渐减低趋势。这些变化状况与以前对青岛产海带的分析结果^[2]基本上相似。从8月海面水温上升至20℃以上时，藻体很快就会烂掉。因此，我们将两品种移到青岛外海区的太平角海区，下沉到靠海底温度较低处培养，继续观察含氮量变化。因藻体衰老，有的尖部腐烂丢失。

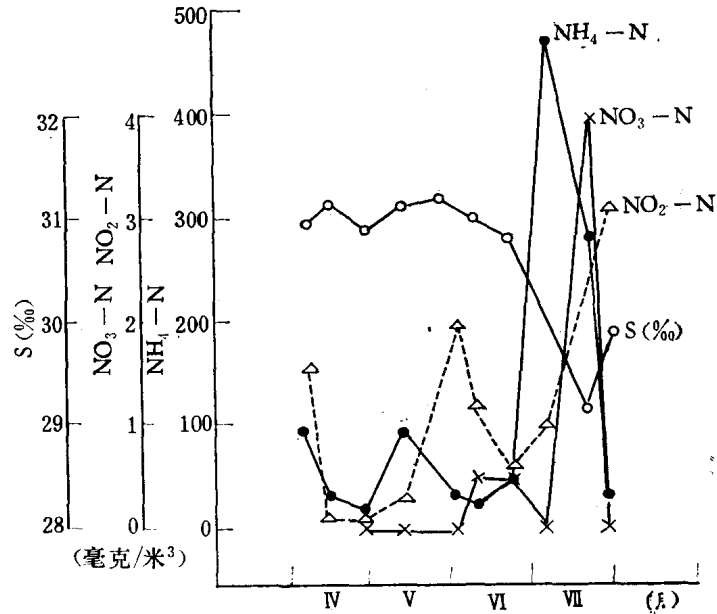


图4 1962年青岛栈桥前沿海的水化学因子的季节变化

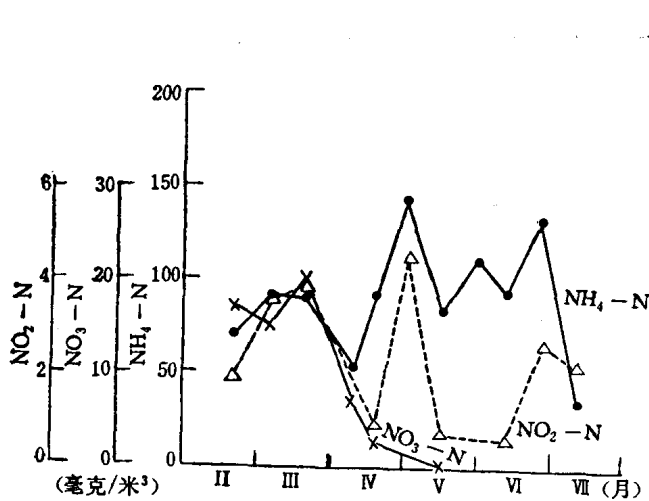


图5 1963年青岛贵州路前沿海的水化学因子的季节变化

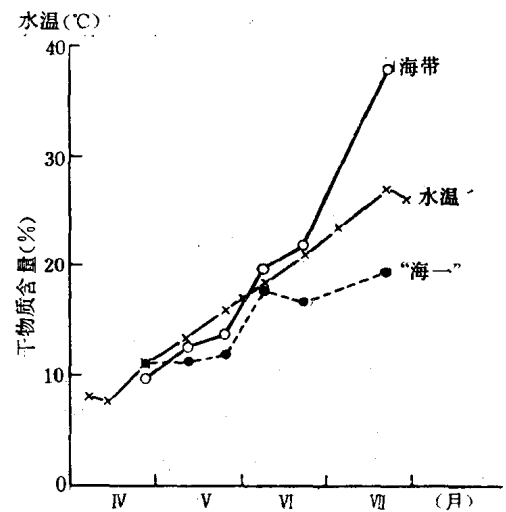


图6 1962年海带和“海一”的干物质含量(%)与水温的季节变化

1962年“海带”和“海一”是在青岛栈桥前沿海养殖的，该处为营养氮盐含量较低的地区，如图4所示，在春季4、5月 $\text{NO}_3\text{-N}$ 为零， $\text{NH}_4\text{-N}$ 除个别点外，大多小于50， $\text{NO}_2\text{-N}$ 小于1.5毫克/立方米。从图2所示，两品种叶片含氮量4月中旬至5月中旬为1—1.5%（从1963年资料看，4月以前更高），5月底至6月初时降至约0.8% 低值，这也同样与积累碳

水化合物等干物质有关,含氮量相对降低(参看图 6,随着水温上升,两品种的干物质含量逐渐上升)。至 6 月底后叶片的含氮量又逐渐上升至 1.4% 左右,这种现象在 1963 年资料中未出现。从图 4 的水化学资料看,6 月底以后 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量骤然增加,同时 S‰ 也下降,这表明当时降雨量较多,有一排污水道遥遥倾向该养殖地点,因此海水中氮量增多。水温继续上升(至 20°C 以上),海带叶片已成熟,可见在这种环境条件下仍能继续吸收大量氮,但只形成和积累游离氨基酸(见图 10、11),未进入蛋白质合成,这是因环境急速变化而带来的特殊情况。

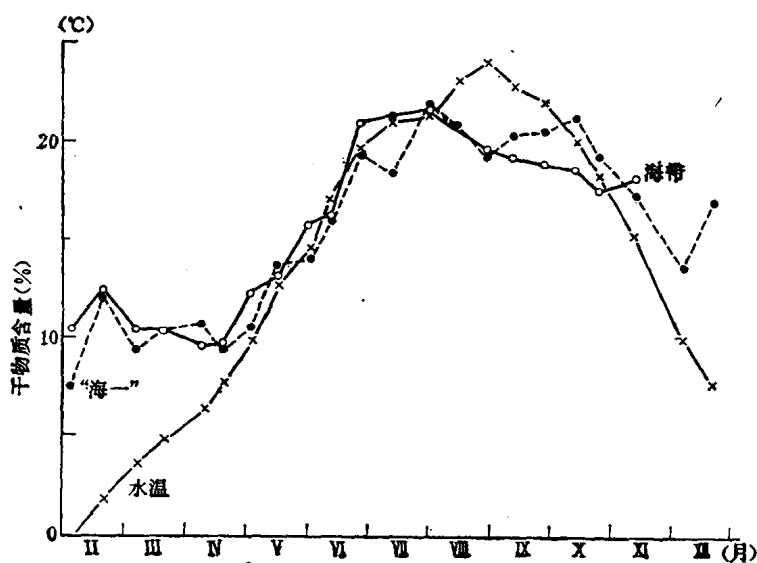


图 7 1963 年海带和“海一”的干物质含量(%)与水温的季节变化

毛主席教导我们:“唯物辩证法认为外因是变化的条件,内因是变化的根据,外因通过内因而起作用。”由于 1962 年养殖区的海水含氮量少,因此藻体中含氮量普遍比 1963 年者为低,1962 年 4 月最高值 1.5%,大约与 1963 年 7 月以后最低值 1.2% 相当。由此可见海水中的含氮量与藻体含氮量确有直接联系。Black^[14] 等在研究英国产海带的化学成份季节变异时也曾指出,海水中氮盐含量与藻体含氮量有直接联系。但 1962 年 4 月中至 5 月中,虽然海水中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 很少,藻体含氮量却仍根据生理需要表现为高值。这表明内因是海藻含氮量变化的根据。Jacobi^[21] 也认为海藻中含氮量的年变化的原因首先是决定于发育生理因素。

从 1962 年 4—7 月资料看,“海带”的含氮量似比“海一”稍高;1963 年则 5 月以前两品种大致相似,5 月以后“海带”似比“海一”稍低。总的看来,两品种的含氮量变化趋势是一致的。

2. 叶片不同部位含氮量分布

靠近海带基部的叶片(即基部)为藻体生长点,叶片较厚,越往尖端,叶片越薄。对 1962 年 5—7 月的“海带”和“海一”的不同部位(按图 1 表示方法取样)的含氮量,以及 1963 年 8 月 28 日采集的两品种的不同部位的含氮量所得分析结果如表 1 所示。

表 1 1962 年和 1963 年海带和“海一”不同部位中的含氮量分布(%,对干藻)

采集日期	含 氮 量									
	海 带					“海 青 一 号”				
	基 中	基 边	中 中	中 边	上 部	基 中	基 边	中 中	中 边	上 部
1962. 5. 25	0.86	0.98	0.98	1.15	1.07	0.75	0.78	1.17	1.70	1.67
6. 8	0.96	1.02	0.82	1.22	0.93	0.76	0.83	0.66	0.82	0.88
6. 22	1.19	1.53	0.94	1.41	1.00	1.03	1.15	1.08	1.28	1.30
7. 21	1.17	1.43	1.10	1.82	1.28	1.44	1.51	1.11	1.89	1.35
1963. 8. 28	1.26	1.19	1.27	1.45	1.45	1.25	1.18	1.25	1.22	1.34

1962 年在栈桥前沿海养殖的“海带”和“海一”的含氮量在生长初期(5 月,可能还在以前)上部>中部>基部;在基部和中部,都是边缘>中带部。到成熟期即从 6 月以后,“海带”的基部含氮量逐渐接近或略高于上部;而“海一”则因成熟较“海带”为晚,故至 7 月下旬,基部才开始比上部增多。

1963 年在贵州路前沿海养殖的“海带”和“海一”的含氮量到 8 月底仍然是上部>基部,边缘>中带部。“海一”的中带部含氮量比较均匀。

Jacobi^[21] 测定了糖海带的不同部位含氮量变化,结果是:由藻体基部向上部减少;从中带部向边缘降低。奥村等^[13]测定过日本产海带不同部位的含氮量,也得到类似 Jacobi 的结论,并且认为藻体尖端呈浅茶色部位的含氮量特别少,而一般说来,海带藻体厚的部位含氮量较多。这同我们的分析结果相反。

可能是因为国外用的海带类是多年生的,藻体上部和基部的碳水化合物含量较均匀,因而当基部即生长部位含氮量增多时,所得测定值亦高;而我们用的一年生海带在 3—5 月时藻体上部很薄,碳水化合物积累尚少,故含氮量相对地较基部为多。到 6、7 月时,如表 2 结果所示,上部的干物质含量有增多(如海带),但仍比其他部位为少;如表 1 所示,上部的含氮量还是不少,有的接近于基部,有的仍比其他部位为多。

表 2 1962 年海带和“海一”不同部位中的干物质含量(%,对干藻)

部 位	1962. 6. 22		1962. 7. 21	
	海 带	“海 一”	海 带	“海 一”
基 中	16.4	20.5	26.4	14.9
基 边	16.8	22.6	29.4	24.2
中 中	12.8	12.5	28.2	29.8
中 边	15.6	20.0	28.1	18.5
上 部	10.5	14.5	22.6	14.1

3. 氨基酸定性

游离氨基酸 用上述定性方法对 1962 年产“海带”和“海一”的游离氨基酸进行定性,只测出 4 种氨基酸:谷氨酸、天门冬氨酸、丙氨酸和脯氨酸。

Takagi^[26] 用纸上层析法从海带的乙醇提取液中除测出上述四种氨基酸外,还测出甘氨酸、苏氨酸、丝氨酸等。大石等^[7,8]最近用氨基酸分析仪从海带中分析出的游离氨基酸有