

# 化石中氨基酸的成岩作用

陈水挟 王将克 钟月明 罗红红

(中山大学地球科学系, 广州 510275)

**摘要** 分析了两广地区一些第四纪骨和牙化石的氨基酸含量、外消旋程度,探讨了化石中氨基酸的成岩变化特征,阐述了化石中残留蛋白的降解导致氨基酸外消旋速度的变化,并使其在外消旋反应的后期偏离线性动力学。

**关键词** 化石,氨基酸,成岩作用,外消旋作用

**分类号** P 593

自从 Abelson 发现化石中存在氨基酸以来,已经发表了很多有关地质体中氨基酸研究的文章<sup>[1-3]</sup>。地质体中氨基酸的研究大体上可分为两个阶段,第一阶段主要研究化石中氨基酸的保存状态、含量及组成变化;第二阶段主要研究氨基酸外消旋动力学机理及测年应用。但对于化石中氨基酸的保存状态、含量及组成变化与外消旋动力学的内在联系方面,至今仍未进行深入的研究,化石中氨基酸成岩模式与氨基酸外消旋动力学的定量关系仍未确定。本文分析了两广第四纪一些堆积层中的骨、牙化石的氨基酸组成及外消旋程度等,并试图结合前人的成果,初步探讨化石中氨基酸的成岩模式、外消旋动力学及其与成岩模式的关系。

## 1 样品及实验方法

分析样品为骨和牙化石,主要采集于两广一些第四纪堆积层及广州市南越王墓中的葬品。样品地点包括:广西柳州巨猿洞,时代  $Q_1$ ;广西柳州笔架山,洞内堆积自上而下分 9 层,化石采于第 3 层黄色砂质土中,时代  $Q_2$ ;广西柳州白莲洞,洞内分东西两套堆积,钙板和黄色亚粘土相间成层,东部第 2 层  $^{14}C$  年龄 7 500 a,西部第二层钙板  $^{14}C$  年龄  $(19\ 910 \pm 130)$  a,西部第 10 层  $^{14}C$  年龄  $(37\ 000 \pm 2\ 000)$  a;广西柳州大龙潭贝丘遗址,分上下两层,下层上部螺壳  $^{14}C$  年龄  $(12\ 880 \pm 200)$  a,下层底部螺壳  $^{14}C$  年龄  $(23\ 300 \pm 250)$  a;广东肇庆七星岩 D 洞,自上而下分 4 层,化石采自第 2 层 ( $Q_1$ ) 和第 3 层 ( $Q_2$ ),第 2 层螺壳  $^{14}C$  年龄为  $(2\ 572 \pm 101)$  a;广东阳春独石子洞遗址,化石采自上文化层,螺壳  $^{14}C$  年龄为 11 500 a;广东增城金兰寺遗址,样品为人类骨骼,贝壳  $^{14}C$  年龄为  $(4\ 472 \pm 145)$  a;广州市南越王墓,样品为随葬品骨骼,考古记载为距今 2 300 a。

将化石样品洗净,研成粉末。透析的样品,先将化石粉末用 4 mol/L 盐酸溶解,所得溶液于透析袋中用双蒸水透析。能透过半透膜者称可透馏分;不能透过者分溶液和沉淀两部分,

分别称为可溶馏分和不溶馏分.将这些馏分分别水解、脱盐,得到相应的氨基酸提取物.不进行透析的样品,则直接将化石样品水解,经脱盐后所得氨基酸提取物称总组分.

氨基酸水解及色谱分析方法参见文献 [4].

## 2 结果及讨论

### 2.1 氨基酸的保存状态及组成

本文分析了丙 (Ala)、缬 (Val)、苏 (Thr)、丝 (Ser)、别异亮 (Ail)、异亮 (Ile)、亮 (Leu)、甘 (Gly)、脯 (Pro)、羟脯 (Hyp)、天冬 (Asp)、谷 (Glu)、苯丙 (Phe)、蛋 (Met)、赖 (Lys)、精 (Arg) 和酪氨酸 (Tyr) 等 17 种常见氨基酸的含量及重量百分组成.骨化石氨基酸分析结果如图 1 所示.从图 1 可见,化石中氨基酸组成或多或少保留了胶原蛋白的组成特征.以甘、脯、羟脯、丙、天冬、谷氨酸为主.羟脯氨酸是胶原蛋白的特征氨基酸,在其它类型的蛋白中极少见.

图 1 骨化石氨基酸组成

Fig. 1 Compositions of amino acids in fossil bones

化石残留蛋白的氨基酸组成与现生胶原蛋白的氨基酸组成比较可以发现,化石中残留蛋白中苯丙、谷、天冬相对量增加,如白莲洞西部第四层骨片及连县肢骨,其苯丙氨酸增加了 4~6 倍,天冬氨酸增加了 3~5 倍.甘、丙、羟脯相对量减少,热不稳定的氨基酸如丝、赖、精、

酪氨酸等也迅速减少,化石残留蛋白的组成以甘、丙、脯氨酸为主,这种相对稳定的组成,有人称之为“化石胶原”。

牙化石中残留蛋白的氨基酸组成与骨化石有类似的情况,仍保留了“牙釉蛋白”的特征(图 2)。牙釉蛋白是类似于角蛋白的不溶蛋白,以甘、丝、谷、天冬和亮氨酸为主。由图可见,在  $Q_1 \sim Q_4$  的牙化石中,牙釉层的氨基酸组成特征都比较相似,以甘、亮、丙、脯、谷和天冬氨酸为主,表明氨基酸在釉质层中有较好的保存,但与现生牛牙釉中的氨基酸组成相比,化石中的氨基酸组成发生了一定程度的变化,反映在脯、谷、苯丙和亮氨酸的相对量的增加,而其它氨基酸的相对量则有所下降。

图 2 一些牙化石的氨基酸组成

Fig. 2 Compositions of amino acids in some fossil teeth

为考察化石中蛋白质的降解情况,我们将样品进行了透析,结果表明(表 1),骨化石中的蛋白质已逐渐转化为可溶的物质及小分子量的可透物质,并且,随着化石年龄的增加,可透馏分比例逐渐增大。对不同馏分的氨基酸组成的分析结果表明(图 3),不同透析馏分的氨基酸组成明显不同。相对来说,甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸在各馏分中所占的比例变化不大;可透馏分中天冬氨酸、谷氨酸所占比例明显升高,而脯、羟脯氨酸则明显降低。这些残留蛋白的氨基酸组成与胶原蛋白的氨基酸组成都存在明显的差别。

表 1 骨骼样品中的氨基酸馏分

Tab. 1 Fractions of amino acids in fossil bones

样 品	不溶馏分 (%)	可溶馏分 (%)	可透馏分 (%)	备 注
现代牛骨	97.0	3.0	0	[5]
兽骨 (700 a BP)	89.7	10.3	0	[5]
牛骨 (2 300 a BP)	52.0	31.2	16.8	南越王墓样品
肢骨 (~ 10 000 a BP)	0	77.5	22.5	连县样品
肢骨 (> 15 000 a BP)	0	32.8	67.2	白莲洞样品

## 2.2 氨基酸的外消旋作用

化石中的氨基酸都发生了不同程度的外消旋作用,不同氨基酸的外消旋反应速度不同。

图 3 骨化石中各种透析馏分的氨基酸组成

Fig. 3 Amino acid compositions of various fraction of fossil bones

天冬氨酸的外消旋反应速度最快,而亮氨酸则最慢,骨化石中其它几种氨基酸外消旋速度顺序依化石采集地的不同而有变化,并间于天冬与亮氨酸之间(表 2).

表 2 化石中氨基酸的相对外消旋速度

Tab. 2 Relative speed of amino acid racemization in fossil bones

样 品	相对外消旋速度	样 品	相对外消旋速度
柳州大龙潭骨片	Asp> Phe> Glu> Ala	增城金兰寺骨片	Asp> Phe> Glu> Ala> Leu
柳州甑皮岩骨片	Asp> Glu> Phe> Ala> Leu	阳春独子仔洞骨片	Asp> Glu> Ala> Phe> Leu
柳州白莲洞骨片	Asp> Ala> Phe> Glu> Leu	南越王墓骨片	Asp> Glu> Phe> Ala

同一化石的不同透析馏分中,同种氨基酸的外消旋程度大小也有所不同,如表 3 所示,可透馏分中氨基酸外消旋程度最高,可溶馏分次之,不溶馏分外消旋程度最低,即外消旋程度次序为:可透馏分>可溶馏分>不溶馏分.

表 3 不同馏分氨基酸外消旋程度比较

Tab. 3 Comparison of racemization degrees of amino acids in various fractions

样 品	馏分	Asp	Ala	Glu	Leu	Phe
南越王墓	不溶馏分	0.148	0.057	0.070	0.056	0.063
牛 骨	可溶馏分	0.217	0.080	0.095	0.046	
	可透馏分	0.460	0.387	0.138	0.093	0.084
连县肢骨	可溶馏分	0.245	0.186	0.148		
	可透馏分	0.434	0.343	0.259	0.125	
白莲洞骨片	可溶馏分	0.268	0.194	0.169	0.110	
	可透馏分	0.372				

### 2.3 化石氨基酸组成所反映的成岩模式

骨化石中的原生有机质主要为不溶的胶原蛋白,从透析结果来看(表 1),随着化石年龄的增加,化石中胶原蛋白已逐渐降解,产生可溶性的蛋白质或小肽,并且,这些肽链也逐渐断裂成更小的肽和游离氨基酸,因而可透馏分和可溶馏分逐渐增加,肽链的断裂一般通过水解反应,水解反应是氨基酸成岩作用中最主要的一种成岩作用.

不同透析馏分氨基酸组成的分析结果揭示了化石中蛋白质的水解具有选择性,某些氨基酸(如天冬、谷氨酸)形成的肽键较易水解,因此,这类氨基酸在可溶和可透馏分中的比例

较在不溶馏分中高,且以端基形式存在的几率较大;而某些氨基酸(如异亮、亮、缬、苯丙氨酸)形成的肽键较难水解,故多以中间残基存在,这类氨基酸在三种透析馏分中所占的比例也较为接近。

化石中蛋白质除发生水解反应外,还经受了其它的成岩作用,从而引起化石氨基酸组成的变化。这些作用包括氨基酸的转化、分解、聚合及流失等。热稳定性高的氨基酸,如苯丙、异亮、缬、丙氨酸不易分解,故其相对含量随化石地质年龄的增加略有升高或基本保持不变;含有活泼基团的氨基酸(如丝、苏、蛋、胱及赖氨酸等),则较易分解,这些氨基酸所占比例相对降低。丝、苏热稳定性最差,易于脱去羟基而形成非氨基酸物质(醇胺),或脱水形成丙氨酸或2-氨基丁酸。碱性氨基酸的热稳定性也较差,例如精氨酸易转化为热稳定性较高的脯氨酸;含硫氨基酸则易于氧化成亚砷等物质。氨基酸的分解及转化,不但使自身的含量发生变化,而且也改变了其它氨基酸的含量,从而引起氨基酸组成随时间而发生变化。

引起化石中氨基酸组成变化的另一作用是氨基酸的流失。由于化石的无机基质比较疏松,蛋白质水解形成的小肽及游离氨基酸可以通过扩散或淋滤而流失。不同的氨基酸,其流失速度不同,例如,化石无机基质(钙盐)对酸性氨基酸具较大的亲和力,故谷、天冬氨酸不易流失,从而造成其相对比例随化石年龄而增加的现象。

#### 2.4 氨基酸外消旋反应动力学机理

氨基酸外消旋反应经过负碳离子中间体,中间体的稳定性直接受分子结构的影响。因此,氨基酸外消旋反应速度与其分子结构密切相关(表现在电子效应和空间效应),可以预测,游离氨基酸外消旋速度大小顺序为: Asp> Phe> Ala> Glu> Ile。

骨化石中,除天冬、亮氨酸分别表现出最快或最慢的外消旋速度外,苯丙、谷和丙氨酸的外消旋速度并不呈现固定的大小顺序,这说明还有其它因素影响氨基酸外消旋速度,前面的分析表明,不同透析馏分中相同氨基酸的外消旋速度不同,许多学者的研究也表明,不同形态氨基酸的外消旋速度大小顺序为: 端基氨基酸>>中间氨基酸残基>>游离氨基酸,天冬氨酸较易水解,以端基存在几率很大,它占据了易于外消旋的位置;与之相反,亮氨酸更多地以中间残基形式存在,不易外消旋,因此,化石中天冬氨酸的外消旋速度最快而亮氨酸最慢。苯丙、谷和丙氨酸的外消旋速度取决于分子结构及存在状态综合影响的结果,由于这几种氨基酸是以端基,还是以中间残基或游离态为主要形式存在还取决于环境因素,因此,其外消旋速度没有固定的大小顺序。

严格地讲,化石总组分的氨基酸外消旋速度,实际应为表观外消旋速度,它是不同形态(键合态、游离态)氨基酸外消旋速度的宏观表现。由于氨基酸的保存状态与蛋白质物质水解作用密切相关,因此,氨基酸外消旋动力学在很大程度上受水解作用的影响,化石中蛋白质水解作用的差异,造成了氨基酸表观外消旋动力学的差异。如表 1 所示,随化石年龄的增加,蛋白质水解程度越来越高,游离氨基酸及小肽所占比例不断增大。由于各种形态氨基酸的外消旋速度不同,因此,随着氨基酸游离组分的不断增大,势必导致氨基酸表观外消旋速度逐渐减缓,即导致氨基酸表观外消旋动力学曲线偏离线性。对胶原蛋白中天冬氨酸高温外消旋反应的动力学模拟实验的结果,也揭示了外消旋速度随时间的变化。

### 3 结 论

(1) 化石中的蛋白质物质或多或少保留了原生蛋白的某些特征,但由于经历了水解,分

解以及流失等作用,使化石中原生蛋白质逐渐降解成小肽及游离氨基酸,氨基酸组成也逐渐发生变化,并与原生胶原蛋白的氨基酸组成有所差别.某些稳定性差的氨基酸,随化石年龄增加,其含量迅速递减,稳定性较高的氨基酸如异亮、亮、缬、甘、丙、苯丙、天冬和谷氨酸,其相对含量保持较高的比例.由于化石无机基质对酸性氨基酸具特殊亲和力,使天冬、谷氨酸的相对含量随化石年龄的增加而有较大的升高.

(2) 在化石埋藏过程中,氨基酸自始至终发生缓慢的外消旋反应,不同氨基酸外消旋程度不同,各馏分中氨基酸的外消旋速度也各不相同,说明氨基酸外消旋反应速度不但与其分子结构有关,而且与蛋白质的水解速度、氨基酸的保存状态等也密切相关,这些因素综合影响的结果,使化石中天冬氨酸的外消旋速度最快,亮氨酸的外消旋速度最慢,苯丙、谷、丙氨酸的外消旋速度大小顺序则随化石的不同而不同.化石中蛋白质水解速度及氨基酸保存状态随时间的变化,也使氨基酸外消旋反应在后期偏离了线性一级动力学.

### 参 考 文 献

- 1 吴佩珠,钱方.用氨基酸测年法对“元谋人”年代的初步研究.人类学学报,1991,10(3): 194~ 199
- 2 周义华.北京猿人和丁村人的氨基酸年龄测定.人类学学报,1989,8(2): 177~ 181
- 3 王将克,陈水挾,钟月明,等.氨基酸生物地球化学.北京:科学出版社,1991. 1
- 4 陈水挾,王将克,钟月明,等.粤西第四纪洞穴化石的氨基酸年龄及混杂堆积现象.中山大学学报,1995,34(3): 89~ 94
- 5 Hedges R E M, Wallace C J A. The survival of protein in bone. In: Biogeochemistry. New York: John & Sons Inc. 1980. 35

## Diagenesis of Amino Acids in Fossil Bones and Teeth

Chen Shuixia\* Wang Jiangke Zhong Yueming Luo Honghong

**Abstract** The content and racemization degrees of amino acids in fossil bones and teeth buried in some Quaternary deposits in Guangdong province and the Guangxi Zhuang Autonomous Region, and in Nanyue King's mausoleum, were analyzed. The results show that proteins in fossils had been gradually degraded into free amino acids and shorter peptides with the increase of burial time, and the amino acid compositions also had been modified. Amino acids in fossils had continuously racemized since buried. Free, terminal and interior amino acids have different racemization rates, which explained why amino acid in various dialysis fractions had different racemization degrees. It can also be expected that amino acids racemization will deviate linear kinetics with the further hydrolysis of residual proteins in fossils.

**Keywords** fossil, amino acid, diagenesis, racemization

\* Department of Geology, Zhongshan University, Guangzhou 510275