

雌、雄皱纹盘鲍内脏脂肪酸及磷脂组成的比较分析

刘艳青, 李兆杰*, 李国云, 刘小芳, 薛长湖

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003)

摘 要: 目的: 对雌、雄皱纹盘鲍内脏脂质进行提取及测定, 主要对其脂肪酸和磷脂组成进行分析比较。方法: Folch法提取雌、雄鲍鱼内脏脂质, 测定脂质基本指标, 游离脂肪酸、甘油三酯、磷脂、胆固醇含量; 气相色谱法测定雌、雄鲍鱼内脏脂肪酸组成, 并对其比较分析; 固相微萃取法分别分离提取雌、雄鲍鱼内脏磷脂, 高效液相色谱-蒸发光散射法测定雌、雄鲍鱼内脏磷脂组成并比较分析。结果: 雌、雄皱纹盘鲍内脏脂质有较大差异, 雌性鲍鱼内脏不饱和脂肪酸含量高于雄性; 雌、雄鲍鱼内脏磷脂成分较复杂, 但主要的磷脂组分为磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸。结论: 鲍鱼内脏中含有丰富的磷脂及多不饱和脂肪酸, 具有较好的食用和药用价值, 应得到充分利用。

关键词: 雌雄鲍鱼内脏; 脂肪酸; 磷脂; 气相色谱; 高效液相色谱-蒸发光散射

Comparative Analysis of Fatty Acid and Phospholipids in Viscera of Male and Female *Haliotis discus hannai* Ino

LIU Yan-qing, LI Zhao-jie*, LI Guo-yun, LIU Xiao-fang, XUE Chang-hu

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Objective: To describe comparative analysis of visceral fatty acids and phospholipids in male and female *Haliotis discus hannai* Ino. Methods: Visceral total lipids were extracted using Folch method and determined for the contents of free fatty acids, triglycerides, phospholipids and cholesterol. The fatty acid composition was analyzed by GC after derivatization with 10% $H_2SO_4-CH_3OH$ solution. Phospholipids were extracted using SPE method, and then analyzed by HPLC-ELSD. Results: The visceral content of unsaturated fatty acids in female *Haliotis discus hannai* Ino was higher than in male *Haliotis discus hannai* Ino. The composition of visceral phospholipids in male and female *Haliotis discus hannai* Ino, though complicated, mainly consisted of phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE) and phosphatidylserine (PS). Conclusion: The viscera of both female and male *Haliotis discus hannai* Ino are rich in phospholipids and polysaturated fatty acids and have high medicinal and edible values.

Key words: viscera of *Haliotis discus hannai* Ino; fatty acids; phospholipids; gas chromatography (GC); high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detector (HPLC-ELSD)

中图分类号: TS254.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)10-0184-03

doi:10.7506/spkx1002-6630-201310040

鲍鱼为海珍品之一, 是非常名贵的药食两用海产品。鲍鱼壳, 即石决明, 具有平肝潜阳、清热益阴、明目解毒的功效, 能治疗头晕目眩、胃酸过多和失眠等症状^[1]。鲍鱼多糖具有增强免疫、抗肿瘤的功效^[2-3], 从鲍鱼脏器中提取的鲍鱼内脏多糖具有抗氧化、抗癌等活性^[4-6]。鲍鱼腹足与内脏脂质中多不饱和脂肪酸含量丰富^[7], 且富含磷脂^[8]。多不饱和脂肪酸能够降低血中胆固醇

及甘油三酯的水平, 降低血液黏稠度, 改善血液循环。磷脂对活化细胞、维持新陈代谢、增强人体免疫力和再生力方面发挥重要的作用。鲍鱼内脏为加工副产物, 现多作为蛋白来源添加到饲料中, 本实验对雌、雄鲍鱼内脏脂质进行比较分析, 主要研究其脂肪酸及磷脂组成, 以期对鲍鱼内脏脂质研究提供理论依据。

收稿日期: 2012-02-24

基金项目: 海洋公益性行业科研专项(201105029)

作者简介: 刘艳青(1988—), 女, 硕士研究生, 主要从事海洋活性脂质研究。E-mail: lyqtheone@163.com

*通信作者: 李兆杰(1969—), 男, 高级工程师, 博士, 主要从事水产品化学研究。E-mail: lizhaojie@ouc.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

皱纹盘鲍 青岛市鲍鱼养殖场。

脂肪酸甲酯标准品、磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰丝氨酸(PS)标准品、甲醇、氯仿、甲酸(均为色谱纯) 美国Sigma公司; 甲醇、三氯甲烷、正己烷(均为分析纯) 天津市科密欧化学试剂公司; 总胆固醇(TC)试剂盒、甘油三酯(TG)试剂盒 北京中生北控生物科技股份有限公司。

6980N型气相色谱仪、高效液相色谱仪、蒸发光散射检测器、ZORAX RX-SIL色谱柱 美国Agilent公司; Laborota 4000 efficient旋转蒸发器 德国海道尔夫公司; AB135-S型精密电子分析天平 瑞士梅特勒-托利多公司; Milli-Q Synthesis超纯水系统 美国Millipore公司; 氯仿活化氨基硅胶固相萃取小柱 天津艾杰尔科技公司。

1.2 方法

1.2.1 总脂的提取

将皱纹盘鲍(61.6g±3.1g)去壳, 分离出肌肉和内脏, 冷冻干燥后粉碎。取内脏样品10g, 用Folch法提取样品总脂。

1.2.2 游离脂肪酸含量的测定

将所提总脂用氯仿溶解并定容至100mL, 取一定的氯仿溶液, 减压干燥后, 用4mL正庚烷溶解, 并加入1mL脂肪酸显色剂(5%醋酸铜溶液, 用吡啶调节pH6.1), 充分振荡后, 离心取上层有机相于710nm波长处测定吸光度, 并与标准曲线对照, 计算总脂中的游离脂肪酸含量。

1.2.3 磷脂含量的测定

总脂用硝酸-高氯酸混合液(4:1, V/V)进行消化, 使总脂中的有机磷转变成无机磷, 在VC条件下与钼酸铵反应生成钼蓝, 于650nm波长处测定吸光度, 并与标准曲线对照, 计算总脂中的磷脂含量。

1.2.4 甘油三酯含量的测定

将所提总脂用氯仿溶解并定容至100mL, 取一定的氯仿溶液, 减压干燥后, 按照试剂盒的使用说明测定总脂中胆固醇和甘油三酯的含量。

1.2.5 脂肪酸的气相色谱分析

分别取脂肪酸标准品混合样及雌雄总脂样品, 向具塞试管中加入1mL 10%硫酸-甲醇, 60℃水浴15min。加入200μL正己烷漩涡振荡, 取正己烷层待气相色谱分析。

气相色谱条件: HP-INNOWax 石英毛细管柱(30m×0.32mm, 0.25μm); 进样口温度230℃; 检测器温度250℃; 柱温以3℃/s由170℃升到210℃, 在210℃条件下保持10min。整个分析过程为43.3min。

1.2.6 磷脂的高效液相色谱-蒸发光散射(high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detector, HPLC-ELSD)组成分析

根据García等^[9]的方法, 分别称取20.0mg雌雄鲍鱼内脏总脂, 用1.0mL氯仿溶解。先用1mL氯仿活化氨基硅胶固相萃取小柱, 取0.5mL脂质氯仿溶液移入固相萃取小柱中; 并依次用8mL氯仿溶液(2:1, V/V)和3mL 2%乙酸-乙醚溶液洗脱小柱, 弃去洗脱液; 最后用3.0mL甲醇溶液洗出磷脂并收集; 减压干燥后用甲醇溶解。

PE、PC、PS标准品及雌雄磷脂样品通过HPLC-ELSD进行组分分离及分析。色谱条件^[10]: 色谱柱: ZORAX RX-SIL正相色谱柱(250m×4.0mm, 5μm); 柱温40℃; 流动相A: 氯仿-甲醇-水(1mol/L甲酸-三乙胺, pH3)(87.5:12:0.5, V/V), 流动相B: 氯仿-甲醇-水(1mol/L甲酸-三乙胺, pH3)(28:60:12, V/V); 洗脱梯度: 时间0~20min内, 流动相B由0%增至100%, 100%B洗脱保持5min后, 在5min内恢复至初始100%A洗脱; 蒸发光散射检测器: 温度70℃, 氮气雾化, 气体流速2L/min。

2 结果与分析

2.1 脂类基本组成含量分析

表1 雌、雄性鲍鱼内脏中脂类基本组成含量
Table 1 Lipid composition of viscera of female and male *Halotis discus hannai* Ino

	鲍鱼内脏	甘油三酯	胆固醇	磷脂	游离脂肪酸
雌性	34.27±1.6	3.72±0.8	24.5±2.4	18.5±2.3	
雄性	23.44±2.2	3.81±0.7	18.6±1.8	36.6±2.8	

由表1可以看出, 雌性鲍鱼内脏中甘油三酯与磷脂含量明显高于雄性内脏, 而雄性内脏中游离脂肪酸含量要远高于雌性内脏。

2.2 雌、雄鲍鱼内脏脂类脂肪酸的组成

表2 雌、雄鲍鱼内脏脂类脂肪酸组成
Table 2 Visceral fatty acid composition of female and male *Halotis discus hannai* Ino

脂肪酸	雌性鲍鱼内脏/%	雌性鲍鱼内脏/%	脂肪酸	雌性鲍鱼内脏/%	雌性鲍鱼内脏/%
C _{14:0}	10.48±0.23	10.20±0.23	C _{18:3n-3} *	1.96±0.06	2.29±0.16
C _{15:0}	0.62±0.08	0.73±0.05	C _{20:3n-3}	0.55±0.03	0.65±0.06
C _{16:0} **	19.31±0.12	17.51±0.24	C _{20:4n-6}	0.69±0.03	0.72±0.07
C _{17:0} *	0.43±0.04	0.54±0.02	C _{20:5}	0.61±0.04	0.59±0.05
C _{18:0}	3.06±0.21	3.10±0.08	C _{20:6n-6}	8.81±0.36	9.20±0.18
C _{19:0}	1.12±0.07	0.95±0.05	C _{20:4n-3}	0.73±0.10	0.71±0.03
总饱和脂肪酸**	35.02±0.33	33.03±0.34	C _{21:3} **	5.82±0.22	9.70±0.44
C _{16:1n-7} **	3.71±0.13	2.86±0.10	C _{22:3n-6}	4.38±0.26	4.73±0.12
C _{16:1n-7} *	1.02±0.05	0.78±0.09	C _{22:4} **	1.80±0.07	1.21±0.09
C _{17:1} *	0.33±0.05	0.50±0.03	C _{22:5n-3} **	3.18±0.09	4.10±0.08
C _{18:1n-7} **	8.51±0.18	6.84±0.22	C _{22:6}	0.00	0.00
C _{18:1n-7} *	8.64±0.14	7.23±0.21	总不饱和脂肪酸**	31.57±0.33	37.61±0.26
C _{20:1} **	6.33±0.09	7.28±0.26	C _{16:0} DMA	0.17±0.04	0.18±0.06
C _{20:1n-7} **	0.79±0.07	1.57±0.18	C _{17:0} DMA	0.00	0.00
总单不饱和脂肪酸**	29.33±0.34	27.06±0.32	C _{18:0} DMA**	1.45±0.05	0.51±0.05
C _{18:2} *	2.30±0.09	2.97±0.25	C _{20:1} DMA**	0.39±0.03	0.86±0.07
C _{18:2n-6}	0.74±0.04	0.74±0.06	总二甲甲基缩醛	2.01±0.24	1.55±0.22

注: *P<0.05; **P<0.01。

不同组分比较采用SPSS 18.0软件进行数据分析。由表2可知,雌、雄鲍鱼内脏脂质脂肪酸组成具有显著性差异。雄性鲍鱼内脏的总饱和脂肪酸及单不饱和脂肪酸总量高于雌性鲍鱼内脏脂质,且存在显著性差异($P<0.01$);而雌性鲍鱼内脏的多不饱和脂肪酸及二甲基缩醛含量要高于雄性。

2.3 雌、雄鲍鱼内脏脂质磷脂的组成

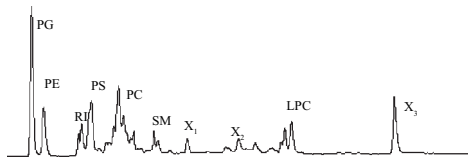


图1 雌性鲍鱼内脏脂质HPLC-ELSD图谱

Fig.1 HPLC-ELSD profile of phospholipids in female *Haliotis discus hannai* Ino viscera

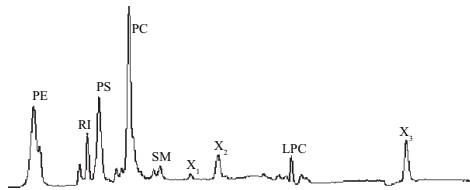


图2 雄性鲍鱼内脏脂质HPLC-ELSD图谱

Fig.2 HPLC-ELSD profile of phospholipids in male *Haliotis discus hannai* Ino viscera

雌、雄鲍鱼内脏脂质中磷脂组成主要有磷脂酰甘油(PG)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰肌醇(PI)、磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰胆碱(PC)、鞘磷脂(SM)、溶血卵磷脂(LPC)以及3种未知组分 X_1 , X_2 , X_3 组成。雌、雄鲍鱼内脏脂质不同磷脂组分含量差异较大(图1、2),雄性鲍鱼内脏中几乎没有PG,雄性鲍鱼内脏中PE、PC、PS这3种常见磷脂含量较高。

3 讨论

鲍鱼内脏脂质中含有大量的不饱和脂肪酸,可以用于预防和治疗高血脂症以及与高血脂症密切相关的心脑血管疾病,是理想的油脂替代品^[11]。皱纹盘鲍内脏脂质中磷脂含量丰富,磷脂作为功能性脂质在生命代谢活动中有极

其重要的作用,可以调节脂质代谢,降低血脂中甘油三酯和胆固醇水平。皱纹盘鲍内脏磷脂主要由PE、PC、PS组成,PS具有提高认知力,改善老年人的阿耳茨海默(氏)症的功效^[12-15]。雌性鲍鱼内脏中不饱和脂肪酸及二甲基缩醛的含量要高于雄性,雄性鲍鱼内脏在磷脂组成方面较雌性简单,PG、未知磷脂组分 X_1 基本未检测到。

参考文献:

- [1] 李太武, 苏秀裕, 丁明进. 皱纹盘鲍中几种营养成分的测定[J]. 中国海洋药物杂志, 1995(1): 47-48.
- [2] 王兵, 蒋建敏, 许东晖, 等. 鲍鱼多糖对人鼻咽癌裸鼠抗癌作用的研究[J]. 中草药, 2000, 31(8): 597-599.
- [3] 王兵, 许东晖, 许实波, 等. 鲍鱼多糖对环磷酰胺的增效减毒作用[J]. 中药材, 1999, 22(4): 198-201.
- [4] 许东晖, 王兵, 许实波, 等. 鲍鱼多糖对荷瘤小鼠腹腔巨噬细胞活性及迟发型超敏反应的作用[J]. 中药材, 1999, 22(2): 88-89.
- [5] 许东晖, 许实波, 王兵, 等. 皱纹盘鲍多糖抗肿瘤药理作用研究[J]. 热带海洋学报, 1999, 18(4): 86-90.
- [6] 朱莉莉, 孙黎明, 李冬梅, 等. 鲍鱼内脏蛋白多糖体内对H22肝癌的抑制作用[J]. 营养学报, 2009, 31(5): 478-482.
- [7] 楼乔明, 王玉明, 杨延存, 等. 皱纹盘鲍脂肪酸及脂肪醛二甲基缩醛的气相色谱/质谱分析[J]. 中国海洋大学学报, 2010, 41(6): 41-44.
- [8] 王竹清, 李八方, 李平林, 等. 皱纹盘鲍性腺脂质成分分析[J]. 中国海洋药物, 2011, 30(3): 37-42.
- [9] GARCÍA-REGUEIRO J A, GIBERT J, DÍAZ I. Determination of neutral lipids from subcutaneous fat of cured ham by capillary gas chromatography and liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 1994, 66(7): 225-233.
- [10] RODRÍGUEZ-ALCALÁ L M, FONTECHA J. Major lipid classes separation of buttermilk, and cows, goats and ewes milk by high performance liquid chromatography with an evaporative light scattering detector focused on the phospholipid fraction. Journal of Chromatography A, 2010, 121(7): 3063-3066.
- [11] NAITO S. Effect of dietary diacylglycerols on lipids metabolism in human: 1. The suppressive effect of dietary diacylglycerols on the increase of the serum triglycerides[Z]. 16th International Congress of Nutrition, 1997.
- [12] HASHIOKA S, HAN Y H, FUJII S, et al. Phosphatidylserine and phosphatidylcholine: containing liposomes inhibit amyloid p and interferon induced microglial activation[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2007, 42(7): 945-954.
- [13] ENGEL R R, SATZGER W, GTINTHER W, et al. Double-blind cross-over study of phosphatidylserine vs. placebo in patients with early dementia of the Alzheimer type[J]. European Neuropsychopharmacology, 1992, 2(2): 149-155.
- [14] ALVES C S, ANDREATINI R, CUNHA C D, et al. Phosphatidylserine reverses reserpine: induced amnesia[J]. European Journal of Pharmacology, 2000, 404(1/2): 161-167.
- [15] CLARO F Y, PATTI C L, ABFLIO V C, et al. Bovine brain phosphatidylserine attenuates scopolamine induced amnesia in mice[J]. Progress in Neuro: Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2006, 30(5): 881-886.