

皱纹盘鲍内脏脂质分析

刘艳青, 李兆杰*, 楼乔明, 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: 对皱纹盘鲍内脏脂质进行了分析。采用 Folch 法提取内脏总脂, 硅胶柱层析对中性脂及磷脂进行分离; TLC 法对中性脂、磷脂不同组分进行分离与其主要组分的制备; 10% 硫酸—甲醇对样品进行甲酯化, 通过气相色谱法对其进行脂肪酸分析比较。结果表明, 皱纹盘鲍内脏中磷脂含量可达 31.58%, 不饱和脂肪酸在磷脂中含量显著高于中性脂中含量。磷脂中含有一定量的缩醛磷脂, 磷酸酯乙醇胺(PE)中缩醛型磷脂含量可达 50%。研究表明, 皱纹盘鲍内脏中含有丰富的磷脂, 多不饱和脂肪酸, 并含有一定量的缩醛磷脂, 具有较好的食用和药用价值, 应得到充分利用。

关键词: 皱纹盘鲍; 中性脂; 磷脂; 脂肪酸; 气相色谱

中图分类号: Q 545; Q 547; S 917

文献标志码: A

鲍为海珍品之一, 是非常名贵的药食两用的海产品。鲍多糖具有增强免疫、抗肿瘤的功效^[1-2], 从鲍脏器中提取的鲍内脏多糖具有抗氧化、抗癌等活性^[3-5]。鲍腹足与内脏脂质中多不饱和脂肪酸含量丰富^[6], 且富含磷脂^[7]。鲍内脏为加工副产物, 现多作为蛋白来源添加到饲料中。本研究对内脏脂质中中性脂与极性脂各组分进行全面的分析比较, 旨在为对鲍鱼内脏之后的研究提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

6980N 型气相色谱仪(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); 薄层层析硅胶板(烟台江友硅胶公司)。

脂肪酸甲酯标准品、PC、PE、PS 标准品购于美国 Sigma 公司; 甲醇、三氯甲烷、正己烷等分析纯试剂购于天津市科密欧化学试剂公司。

1.2 实验方法

总脂提取 皱纹盘鲍(*Haliotis discus hanai*), 体质量(61.6±3.1) g 购于青岛市鲍养殖场。将鲍去

壳, 分离出肌肉和内脏, 冷冻干燥后粉碎。取内脏样品 10 g, 用 Folch 法^[8]提取样品总脂。

硅胶柱层析 制备硅胶层析柱(30 cm×2.1 cm i.d)上样量约为 1 g 总脂, 分别用十倍柱体积的氯仿、丙酮、甲醇冲洗, 氯仿洗脱为中性脂, 甲醇洗脱为磷脂, 丙酮洗脱为糖脂及色素。将氯仿与甲醇洗脱部分旋蒸, 分别得到中性脂和磷脂, 氯仿溶解置于-20 °C 备用。

薄层层析分离制备各组分脂质 样品制备为 100 mg/mL 氯仿溶液, 薄层层析(thin-layer chromatography, TLC)分离脂质各组分。中性脂展开剂为正己烷: 乙醚: 乙酸=80: 20: 2, 磷脂展开剂为氯仿: 甲醇: 水=65: 25: 4。展开剂置于展开缸内 2 h 后, 样品点板后置于展开缸内。中性脂展开后碘蒸气显色 10 min, 磷脂展开后, 利用钼蓝显色法鉴定磷脂组分, 将对应标准品的位置刮板。硅胶置于具塞试管中, 作为下一步甲酯化备用。

脂肪酸的气相色谱分析 取一定量样品加到具塞试管中, 之后加入 1 mL 10% 硫酸-甲醇, 60 °C 水浴 15 min。加入 200 μL 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(30

收稿日期: 2011-11-16 修回日期: 2012-02-13
资助项目: 海洋公益性行业科研专项(201105029)
通讯作者: 李兆杰, E-mail: lizhaojie@ouc.edu.cn

m×0.32 mm×0.25 μm), 进样口温度为 230 °C, 检测器温度为 250 °C, 柱温以每秒 3 °C 由 170 °C 升至 210 °C, 在 210 °C 条件下保持 10 min, 整个分析过程为 43.3 min。

2 结果

2.1 皱纹盘鲍内脏的脂质含量

皱纹盘鲍内脏的总脂脂质含量为 21.54%±1.4%(以干基计), 中性脂含量为总脂的 60.52%±2.6%, 磷脂含量为总脂的 31.58%±1.8%。皱纹盘鲍内脏脂质中含有丰富磷脂。

2.2 中性脂与极性脂 TLC 分析

中性脂的 TLC 分析表明中性脂的主要组分为胆固醇酯, 游离脂肪酸, 甘油三酯, 甘油二酯, 有极少量的单甘酯(图 1)。

极性脂 TLC 分析结果, 极性脂的主要组分为磷脂酰乙醇胺(PE), 磷脂酰胆碱(PC), 磷脂酰丝氨酸(PS)以及少量的未知组分, 推测可能为溶血卵磷脂(LPC)(图 2)。

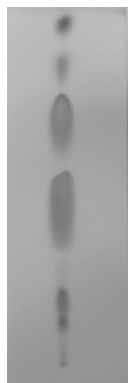


图 1 中性脂 TLC 分析

Fig. 1 TLC analysis of neutral lipid

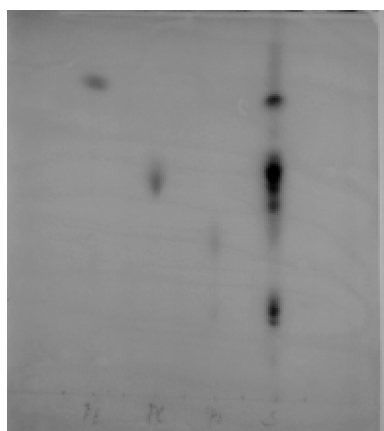


图 2 磷脂 TLC 分析

Fig. 2 TLC analysis of phospholipids

图 1 中, 由上至下, 分别为胆固醇酯, 脂肪酸乙酯, 甘油三酯(TG), 游离脂肪酸(FFA), 胆固醇, 1, 3-甘油二酯(1, 3-DG), 1, 2-甘油二酯(1, 2-DG), 单甘酯(MG)。

图 2 中, 由左至右, 分别为 PE 标准品, PC 标准品, PS 标准品, 内脏磷脂样品。

2.3 中性脂及极性脂主要组分的脂肪酸比较分析

中性脂及极性脂不同组分的脂肪酸分析见表 1。

由表 1 可知, 中性脂中不饱和脂肪酸含量显著低于磷脂中不饱和脂肪酸含量, 中性脂 3 种主要组分中, TG 饱和脂肪酸总量高达 62.57%, DG 单不饱和脂肪酸含量高于 FFA、TG, 为 36.23%。FFA、TG、DG 多不饱和脂肪酸含量相当, FFA 含量稍高。极性脂 3 种主要组分中, PC 饱和脂肪酸含量及单不饱和脂肪酸显著高于 PE、PS, 分别为 46.14%、22.93%。PS 组分多不饱和脂肪酸的含量高达 47.61, 明显高于其他两个组分。PE 中二甲基缩醛 DMA 含量为 24.67%, 而 PC、PS 中 DMA 含量仅为 3.45%、5.34%。其中 TG 与 PE 脂肪酸组成差异较大(图 3 和图 4)。

由表 1 可知, 中性脂中无二甲基缩醛, DMA 富集于磷脂中, 且主要存在磷脂中的 PE 组分, 缩醛型 PE 约占 PE 总量的 50%。

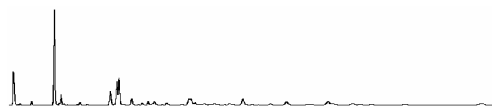


图 3 TG 气相色谱图

Fig. 3 Chromatogram of fatty acid components in TG by GC

按照出峰时间与标准品对照, 由左至右, 各峰为 C14:0, C15:0, C16:0, C16, C16:1(n-9) C17:0, C18:0, C18:1(n-7), C18:1(n-9), C18:2, C18:3(n-6), C18:3(n-3), C19:0, C20:1, C20:1(n-7), C20:2(n-3), C20:4(n-6), C20:5, C22:2, C22:5。

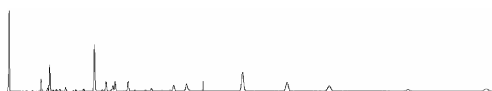


图 4 PE 气相色谱图

Fig. 4 Chromatogram of fatty acid components in PE by GC

按照出峰时间与标准品对照, 由左至右, 各峰为 C14:0, C15:0, C16:0DMA, C16:0, C16:1(n-7), C16:1(n-9) C17:0, C17:1, C18:0DMA, C18:0, C18:1(n-7), C18:1(n-9), C18:2, C18:3(n-6), C18:3(n-3), C19:0, C20:1DMA, C20:1, C20:1(n-7), C20:2(n-3), C20:2(n-6), C20:3, C20:4(n6, C20:4(n3), C20:5, C22:2, C22:4, C22:5。

表 1 中性脂与极性脂不同组分的脂肪酸组成
 Tab. 1 Fatty acid composition of different components of neutral lipid and polar lipid

脂肪酸 fatty acid	游离脂肪酸/% FFA	甘油三酯/% TG	甘油二酯/% DG	磷脂酰乙醇胺/% PE	磷脂酰胆碱/% PC	磷脂酰丝氨酸/% PS
C14:0	16.84	24.71	22.49	19.23	13.14	5.53
C15:0	1.23	1.01	0.81	0.00	1.45	0.00
C16:0	34.97	31.50	25.30	8.05	28.80	10.50
C17:0	0.69	1.45	0.00	0.00	0.00	0.94
C18:0	4.54	2.89	2.87	3.66	2.52	15.65
C19:0	0.97	1.01	0.62	0.00	0.22	0.00
Total SFA	59.23	62.57	52.09	30.94	46.14	32.61
C16:1n-9	4.05	5.78	5.12	0.00	0.57	0.00
C16:1n-7	0.00	0.00	0.00	0.00	1.65	0.00
C17: 1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C18:1n-7	8.42	8.38	11.37	2.41	7.52	2.81
C18:1n-9	9.14	8.82	11.81	3.61	8.87	4.50
C20:1	2.26	1.45	6.06	4.39	4.32	0.00
C20:1n-7	1.97	0.00	1.87	0.00	0.00	0.00
total MUFA	25.83	24.42	36.23	10.41	22.93	7.31
C18:2	2.20	2.46	2.06	3.66	1.67	0.00
C18:3n6	0.57	2.60	0.56	0.00	0.00	0.00
C18:3n3	1.60	1.30	0.87	0.77	0.82	0.00
C20:2n-3	0.63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:2n6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:4n6	2.77	3.76	4.50	13.54	10.07	25.49
C20:4n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:5	0.77	2.17	1.87	7.23	6.97	8.43
C22:2n6	1.40	0.00	1.81	5.11	2.62	10.22
C22:4	0.00	0.00	0.00	1.25	1.67	0.00
C22:5n3	1.00	0.00	0.00	2.41	3.65	3.47
C22:6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
total PUFA	10.93	12.28	11.68	33.98	27.48	47.61
C16:0DMA	0.00	0.00	0.00	3.76	0.37	0.00
C17:0DMA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C18:0DMA	0.00	0.00	0.00	18.02	2.55	5.34
C20:1DMA	0.00	0.00	0.00	2.89	0.52	0.00
Total DMA	0.00	0.00	0.00	24.67	3.45	5.34

注: FFA. 游离脂肪酸; TG. 甘油三酯; DG. 甘油二酯; PE. 磷脂酰乙醇胺; PC. 磷脂酰胆碱; PS. 磷脂酰丝氨酸; DMA. 二甲基缩醛。

Notes: FFA. free fatty acids; TG. triglycerides; DG. diacylglycerol; PE. phosphatidylethanolamine; PC. phosphatidylcholine; PS. phosphatidylserine; DMA. dimethyl acetal.

3 讨论

皱纹盘鲍内脏脂质中含有大量的不饱和脂肪酸, 中性脂主要组分为游离脂肪酸及甘油三酯, 含有一定量的甘油二酯, 少量的单甘酯。1,3-甘油二

酯, 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^[9]。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, 调节脂质代谢, 降低血脂中甘油三酯和胆固醇

水平。磷脂主要由磷脂酰乙醇胺, 磷脂酰胆碱, 磷脂酰丝氨酸组成。缩醛磷脂主要存在于磷脂酰乙醇胺中, 约含有 50%缩醛型磷脂酰乙醇胺。缩醛磷脂具有预防动脉粥样硬化和心脏病, 提高记忆力, 防治阿尔茨海默病(老年痴呆症)^[10-12]等功能。本研究对皱纹盘鲍内脏脂质进行具体分析, 对开发利用鲍内脏提供理论依据。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 楼乔明, 王玉明, 薛长湖, 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: 自然科学版, 2010, 41(6): 41-44.
- [7] 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.
- [8] Folch J, Lees M, Stanley G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues[J]. Journal of Biological Chemistry, 1957, 226(1): 497-509.
- [9] 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]. The 16th International Congress of Nutrition, 1997: 341.
- [10] 王兴国. 磷脂研究的历史和现状[J]. 中国油脂, 1999, 24(5): 44-46.
- [11] Sabrina S I, Raymond P, Bernard F. Evidence for the reactivity of fatty aldehydes released from oxidized plasmalogens with phosphatidylethanolamine to form Schiff base adducts in rat brain homogenates[J]. Chemistry and Physics of Lipids, 2004, 131(1): 93-105.
- [12] Mayba R. Antioxidative effect of plasmalogen[J]. Journal of Oleo Science, 2002, 2: 27-36

Analysis of the viscera lipid of *Haliotis discus hannai*

LIU Yan-qing, LI Zhao-jie*, LOU Qiao-ming, LIU Xiao-fang, XUE Chang-hu
(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: In this study, we analyzed the lipid of viscera of *Haliotis discus hannai*. The total lipids of the abalone viscera were extracted using Folch method. Separated neutral lipids and phospholipids by Silica gel column chromatography. Different components of neutral lipids and phospholipids were separated by TLC, and the main components were prepared by TLC. The composition of fatty acids was analyzed by GC, derived with 10% H₂SO₄-CH₃OH solution, then compared the composition of fatty acids of different components. The phospholipid content in Abalone viscera is up to 31.58%, the content of unsaturated fatty acids in the phospholipid is significantly higher than that in the neutral lipid. Phospholipids contain a certain amount of plasmalogen, especially in the phosphatidylethanolamine. The Abalone viscera is rich in phospholipids and unsaturated fatty acids, and it contains a certain amount of plasmalogen. The abalone viscera is the potential material for diet and medicine, which should be fully utilized.

Key words: *Haliotis discus hannai*; neutral lipid; phospholipids; fatty acid; gas chromatography

Corresponding author: LI Zhao-jie. E-mail: lizhaojie@ouc.edu.cn