

文章编号: 1000-0615(2019)04-0875-11

DOI: 10.11964/jfc.20171111067

二种海胆性腺的脂质组成及其抗氧化活性

徐 华, 王云鹏, 杨德孟, 楼乔明*, 张进杰, 杨文鸽

(宁波大学海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 为分析马粪海胆和光棘球海胆性腺的脂质组成和抗氧化活性, 采用核磁共振和气相色谱—质谱技术对2种海胆性腺油脂的脂质成分和脂肪酸组成进行分析, 并通过DPPH自由基清除法、羟基自由基清除法和超氧阴离子自由基清除法对其脂质的抗氧化活性进行研究。结果显示, 马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质均以甘油三酯和磷脂为主, 胆固醇、胆固醇酯和游离脂肪酸含量较低。马粪海胆和光棘球海胆性腺总脂富含C20:4n-6和C20:5n-3, 且二者总量分别占脂肪酸含量的35.88%和34.98%; 同时2种海胆性腺的中性脂和极性脂的脂肪酸组成存在较大差异, 中性脂以C14:0和C16:0等饱和脂肪酸为主, 而极性脂以C20:4n-6和C20:5n-3等多不饱和脂肪酸为主。马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质对DPPH自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基均具有较好的清除能力, DPPH自由基IC₅₀分别为2.75和1.98 mg/mL, 羟基自由基IC₅₀分别为0.33和0.29 mg/mL, 超氧阴离子自由基IC₅₀分别为0.33和0.31 mg/mL。研究表明, 马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质具有较高的营养价值和抗氧化活性, 可作为C20:4n-6、C20:5n-3和磷脂等功能性脂质因子的重要膳食来源。

关键词: 马粪海胆; 光棘球海胆; 性腺; 脂质; 脂肪酸; 抗氧化活性

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

海胆为棘皮动物门(Echinodermata)海胆纲(Echinoidea)动物, 是重要的海洋食药资源。目前世界上已发现的海胆有800多种, 中国约有100余种, 但可食用且具有较高经济价值的仅有马粪海胆(*Hemicentrotus pulcherrimus*)和光棘球海胆(*Strongylocentrotus nudus*)等少数几个品种^[1]。马粪海胆是中国及日本沿海的特有品种, 主要分布在中国黄渤海沿岸、浙江和福建沿海以及日本沿海。光棘球海胆又称大连紫海胆, 主要分布于辽东半岛和山东半岛的黄、渤海海域, 是中国北方沿海重要的经济海产品之一。海胆性腺俗称海胆黄, 为名贵的海产营养食品, 其味道鲜美, 且富含蛋白质、脂质、多糖和维生素等营养成分, 具有很高的营养价值和开发潜力^[2]。

近年来, 我国海胆养殖规模不断扩大, 至2016年其产量已超1万t^[3]。目前, 国内外对海胆资源利用不够充分, 综合开发利用水平较低; 且对海胆资源的研究多集中于生活习性、生长发育和遗传育种等方面, 而对海胆性腺脂质的研究相对较少, 对其脂质组成和抗氧化活性的研究鲜有报道^[4-6]。因此, 本实验以马粪海胆和光棘球海胆为原料, 采用核磁共振(NMR)和气相色谱—质谱(GC-MS)分别对其脂质成分和脂肪酸组成进行分析, 并通过DPPH自由基清除法、羟基自由基清除法和超氧阴离子自由基清除法对其脂质的抗氧化活性进行研究, 以为海胆性腺脂质分析、营养评价和综合开发利用提供理论参考。

收稿日期: 2017-11-24 修回日期: 2018-05-20

资助项目: 国家自然科学基金(31201283); 国家星火计划(2014GA701010); “水产”浙江省重中之重学科开放基金(xkzsc1531)

通信作者: 楼乔明, E-mail: louqm2005@163.com

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

马粪海胆和光棘球海胆购于大连超兴水产经销行。马粪海胆直径为(7.49±0.53) cm, 体质量为(78.63±7.51) g, 性腺指数22.81%±3.87%; 光棘球海胆直径为(10.41±0.79) cm, 体质量为(163.76±8.14) g, 性腺指数为25.64%±5.36%。将鲜活海胆去壳, 取性腺, 匀浆后冷冻干燥, 并经粉碎和40目过筛, 储存于4℃冰箱中备用。

1.2 仪器与amp;设备

RV-10型旋转蒸发仪, 德国IKA公司; 7890A型气相色谱仪, 美国Agilent公司; M7-80EI型质谱仪, 北京普析通用仪器有限公司; AVANCE III 400 MHz超导核磁共振谱仪, 瑞士Bruker公司; SpectraMax i3型多功能酶标仪, 美国Molecular Devices公司。

1.3 实验方法

总脂提取 取10 g海胆性腺粉末, 加入200 mL三氯甲烷—甲醇(2:1, 体积比)混合液, 超声30 min, 并浸提24 h; 过滤后, 滤液用50 mL 0.9%氯化钠溶液洗涤, 静置分层后, 取三氯甲烷层, 经无水硫酸钠干燥和减压浓缩, 得到海胆性腺总脂。

脂质分离制备 采用薄层层析法分离制备海胆性腺的中性脂与极性脂。海胆性腺总脂经带状点样, 以正己烷—乙醚—冰乙酸(80:20:1, 体积比)为展开剂进行展层, 刮板收集中性脂与极性脂组分, 用于脂肪酸组成分析。

核磁共振分析 取50 mg海胆性腺脂质, 加入0.6 mL氘代氯仿溶解, 转移至核磁管中用于核磁共振分析。氢谱参数: 脉冲序列zg30, 检测温度为296.3 K, 90°脉冲宽度P1为10.00 μs, 谱宽SWH为8 012.82 Hz, 脉冲延迟时间D1为1 s, 采样点数TD为65 536, 扫描次数NS为16, 空扫DS为2; 碳谱参数: 脉冲序列zgpg30, 检测温度297.2 K, 90°脉冲宽度P1为9.50 μs, 谱宽SWH为24 038.46 Hz, 脉冲延迟时间D1为2 s, 采样点数TD为65 536, 扫描次数NS为1 024, 空扫DS为4。氢谱和碳谱的化学位移均以四甲基硅烷(TMS)为标准校正。使用MestReNova软件对图谱进行处理和分析。

脂肪酸分析 甲酯化衍生: 分别取适量性腺总脂、中性脂和极性脂, 加入1 mL 10%浓硫酸—甲醇溶液, 于60℃水浴甲酯化30 min, 冷却后加入1 mL正己烷振荡, 静置分层后取上清液用于GC-MS分析。

色谱条件: DB-WAX毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 进样口温度250℃, 检测器温度250℃; 升温程序: 初始温度150℃, 保持2 min, 以10℃/min升至200℃, 保持5 min, 再以1.5℃/min升至250℃, 保持5 min, 整个分析过程50 min; 进样量1.0 μL, 分流比50:1; 以氦气为载气, 载气流量1 mL/min。

质谱条件: GC-MS接口温度250℃, EI离子源, 离子源温度200℃, 电离能量70 eV, 质量扫描范围为m/z 50~650 u。

抗氧化活性测定 DPPH自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基清除率实验参照文献[7]的方法进行。

1.4 数据分析

除核磁共振外, 其他指标均平行测定3次, 结果以平均值±标准差(mean±SD)表示。

2 结果

2.1 核磁共振分析

氢谱分析(¹H-NMR) 根据¹H-NMR谱中化学位移和信号模式, 参考文献[8-10]的方法对其信号峰进行归属(表1); 并以马粪海胆性腺脂质为例, 从核磁共振氢谱(¹H-NMR)可见, 化学位移5.42~5.31 ppm谱峰归属为所有不饱和脂肪酸碳碳双键上的氢; 5.29~5.26 ppm谱峰为甘油骨架中次甲基上的氢; 4.33~4.29和4.18~4.13 ppm谱峰为甘油骨架中亚甲基上的氢; 3.79 ppm归属为磷脂酰乙醇胺(PE)中与氮原子相连的亚甲基(-CH₂N)上的氢, 3.33 ppm为磷脂酰胆碱(PC)中与氮原子相连的甲基[(CH₃)₃N-]上的氢; 2.85~2.82 ppm谱峰为多不饱和脂肪酸中2个双键间的亚甲基上的氢; 1.00~0.97 ppm为n-3型多不饱和脂肪酸末端甲基上的氢, 0.91~0.86 ppm谱峰为除n-3型多不饱和脂肪酸之外的其他脂肪酸末端甲基上的氢; 1.03、0.93和0.69 ppm谱峰归属为胆固醇酯中C16位(-CH₂)、C17位(-CH)和C18位(-CH₃)上的氢, 而胆固醇中相应氢原子的化学位移依次为

表 1 马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质的¹H-NMR谱峰归属Tab. 1 Peak assignments of ¹H-NMR spectra of *H. pulcherrimus* and *S. nudus* gonad lipids

化学位移/ppm		chemical shift		化合物 compound	氢 hydrogen
马粪海胆 <i>H. pulcherrimus</i>	光棘球海胆 <i>S. nudus</i>				
5.42~5.31	5.42~5.30			不饱和脂肪酸 UFA	-CH=CH-
5.29~5.26	5.29~5.26			甘油基 glycerol	-CH ₂ -CH-CH ₂ -(sn-2)
4.33~4.29, 4.18~4.13	4.33~4.28, 4.17~4.13			甘油基 glycerol	-CH ₂ -CH-CH ₂ -(sn-1, 3)
3.95	3.94			磷脂 PL	-CH ₂ -(sn-3)
3.79	3.78			磷脂酰胆碱 PC	-CH ₂ N
3.33	3.32			磷脂酰胆碱 PC	(CH ₃) ₃ N
3.16	3.1			磷脂酰乙醇胺 PE	CH ₂ N
2.85~2.82	2.85~2.82			多不饱和脂肪酸 PUFA	=CH-CH ₂ -CH=
2.37~2.26	2.36~2.27			所有酰基链 all acyl chains	-CH ₂ -COOR
2.12~2.00	2.12~2.00			不饱和脂肪酸 UFA	-CH ₂ -CH=CH-
1.73~1.58	1.73~1.58			所有酰基链 all acyl chains	-CH ₂ -CH ₂ -COOR
1.33~1.27	1.33~1.26			所有酰基链 all acyl chains	-(CH ₂) _n -
1.03, 0.93, 0.69	1.03, 0.93, 0.69			胆固醇酯 CE	-CH ₂ , -CH, -CH ₃
1.02, 0.92, 0.69	1.01, 0.91, 0.69			胆固醇 Cho	-CH ₂ , -CH, -CH ₃
1.00~0.97	1.00~0.96			n-3型多不饱和脂肪酸 n-3 PUFA	-CH ₃
0.91~0.86	0.90~0.86			其余脂肪酸 all fatty acids except n-3 PUFA	-CH ₃

1.02、0.92和0.69 ppm (图1)。

碳谱分析(¹³C-NMR) 根据¹³C-NMR谱中化学位移和信号模式, 参考文献[11-13]的方法对其信号峰进行归属(表2); 并以马粪海胆性腺脂质为例, 从核磁共振碳谱(¹³C-NMR)可观察到5个光谱区: 羰基谱区(177~172 ppm)、烯烃谱区(141~121 ppm)、甘油谱区(75~50 ppm)、亚甲基谱区(40~20 ppm)以及甲基谱区(15~11 ppm)(图2)。

在羰基谱区, 176.70 ppm归属为游离脂肪酸羰基碳原子, 173.52~172.62 ppm为甘油磷脂、胆固醇酯以及甘油三酯羰基碳原子。在烯烃谱区, 130.48~129.54 ppm归属为单不饱和脂肪酸烯烃碳原子, 128.99~127.53 ppm为多不饱和脂肪酸烯烃碳原子, 胆固醇与胆固醇酯中烯烃碳原子(C5和C6)在此谱区亦有信号存在。在甘油谱区, 68.99~68.87、62.15~62.09 ppm分别归属为甘油三酯中甘油骨架上sn-2和sn-1,3位碳原子, 70.53~70.43、63.56和62.88 ppm分别归属为甘油磷脂中甘油骨架上sn-2、sn-3和sn-1位碳原子, 54.49 ppm归属为磷脂酰胆碱(PC)中与氮原子相连的甲基碳原子

[(CH₃)₃N-]。胆固醇C3、C14、C17、C9特征峰信号出现在71.70、56.77、56.16和50.14 ppm, 胆固醇酯相应的特征峰信号出现在73.67、56.69、56.13和50.03 ppm。亚甲基谱区包含脂质中脂肪酸的链长信息; 此外, 39.52 ppm归属为磷脂酰乙醇胺(PE)中与氮原子相连的亚甲基碳原子(-CH₂N)。在甲基谱区, 14.28~14.01 ppm归属为所有脂肪酸末端甲基碳原子, 胆固醇C18(-CH₃)特征峰信号在11.86 ppm处。

通过对核磁共振氢谱和碳谱的谱峰积分计算得到2种海胆性腺脂质的基本组成^[11, 14], 2种海胆性腺总脂以甘油三酯(TAG)和磷脂(PL)为主, 而胆固醇(Cho)、胆固醇酯(CE)和游离脂肪酸(FFA)含量相对较低(表3)。马粪海胆性腺总脂中甘油三酯含量为63.95 mol%, 远低于光棘球海胆的80.04 mol%; 而马粪海胆性腺总脂中磷脂含量为26.86 mol%, 远高于光棘球海胆的14.49 mol%。同时, 2种海胆性腺磷脂以磷脂酰胆碱(PC)和磷脂酰乙醇胺(PE)为主, 且马粪海胆和光棘球海胆中2种磷脂比值(PC/PE)分别为5.58和6.39, 表明2种海胆性腺

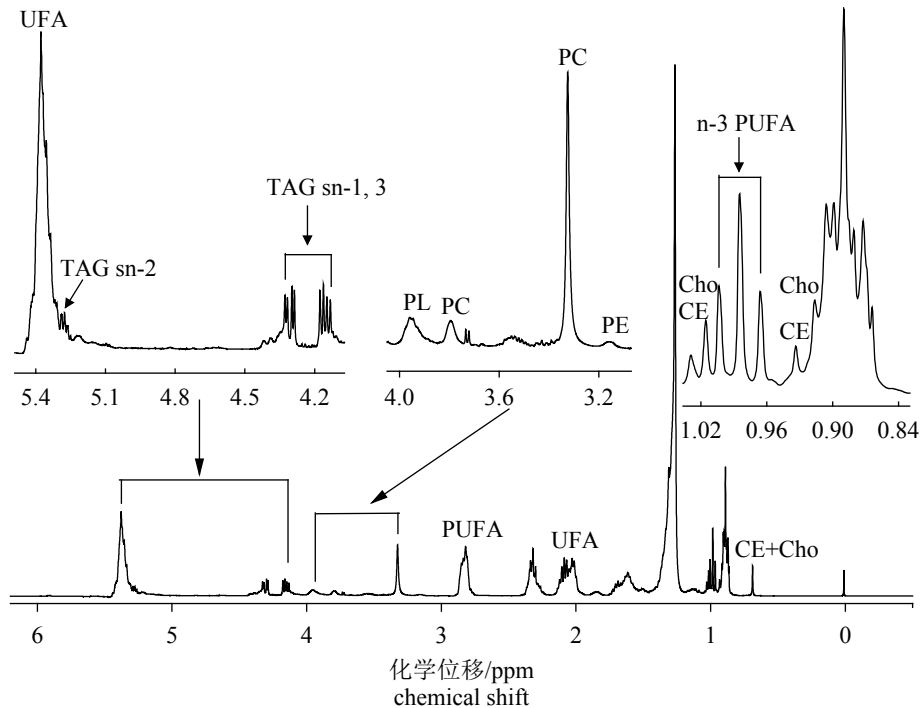


图1 马粪海胆性腺脂质的核磁共振氢谱图

UFA. 不饱和脂肪酸; PUFA. 多不饱和脂肪酸; TAG. 甘油三酯; PL. 磷脂; PC. 磷脂酰胆碱; PE. 磷脂酰乙醇胺; CE. 胆固醇酯; Cho. 胆固醇, 下同

Fig. 1 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of *H. pulcherrimus* gonad lipids

UFA. unsaturated fatty acids; PUFA. polyunsaturated fatty acids; TAG. triacylglycerols; PL. phospholipids; PC. phosphatidylcholine; PE. phosphatidylethanolamine; CE. cholesteryl esters; Cho. cholesterol, the same below

中磷脂酰胆碱含量远高于磷脂酰乙醇胺。

2.2 脂肪酸组成分析

从马粪海胆和光棘球海胆性腺总脂中共检测出22种脂肪酸, 包括6种饱和脂肪酸, 5种单不饱和脂肪酸和11种多不饱和脂肪酸, 且脂肪酸以C14:0、C16:0、C20:1n-9、C20:4n-6和C20:5n-3为主。马粪海胆和光棘球海胆性腺总脂脂肪酸中多不饱和脂肪酸(PUFA)含量最高, 分别占总脂肪酸含量的48.69%和46.79%, 饱和脂肪酸(SFA)次之, 而单不饱和脂肪酸(MUFA)含量最低; 且多不饱和脂肪酸中n-3型多不饱和脂肪酸(n-3 PUFA)含量远高于n-6型多不饱和脂肪酸(n-6 PUFA), 可有效补充n-3型多不饱和脂肪酸, 调节n-6PUFA和n-3 PUFA比例(表4)。同时, 马粪海胆和光棘球海胆性腺总脂中n-3型多不饱和脂肪酸以C20:4n-6和C20:5n-3为主, 二者总含量分别高达35.88%和34.98%, 可作为C20:4n-6和C20:5n-3的重要膳食来源。

马粪海胆和光棘球海胆性腺中性脂和极性

脂在脂肪酸组成上存在较大差异, 2种海胆性腺中性脂中饱和脂肪酸含量分别为51.11%和60.72%, 远高于极性脂的31.74%和36.58%; 而中性脂中多不饱和脂肪酸含量分别为32.84%和26.64%, 远低于极性脂的53.03%和50.74%, 表明2种海胆性腺中性脂易于结合C14:0和C16:0等饱和脂肪酸, 而极性脂易于结合C20:4n-6和C20:5n-3等多不饱和脂肪酸。

2.3 抗氧化活性

DPPH自由基清除活性 2种海胆性腺脂质对DPPH自由基均有一定的清除能力, 清除率随浓度增加而逐渐升高, 呈现出一定的量效关系; 且光棘球海胆性腺脂质对DPPH自由基的清除效果优于马粪海胆, 但二者清除DPPH自由基的活性均低于维生素C(图3)。马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质对DPPH自由基的 IC_{50} 分别为2.75和1.98 mg/mL。

羟基自由基清除活性 2种海胆性腺脂质对羟基自由基均有良好的清除能力, 且光棘

表 2 马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质的¹³C-NMR谱峰归属Tab. 2 Peak assignments of ¹³C-NMR spectra of *H. pulcherrimus* and *S. nudus* gonad lipids

化学位移/ppm		chemical shift		化合物 compound	碳 carbon
马粪海胆 <i>H. pulcherrimus</i>	光棘球海胆 <i>S. nudus</i>				
176.70	176.28			游离脂肪酸 FFA	-COOH
173.52~172.62	173.51~172.59			磷脂, 甘油三酯 PL, TAG	C=O
140.82, 139.71	140.84, 139.70			胆固醇, 胆固醇酯 Cho, CE	C6
132.01~131.94	132.00~131.92			n-3型多不饱和脂肪酸 n-3 PUFA	C ω 3
130.48~129.54	130.46~129.52			单不饱和脂肪酸 MUFA	-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -
128.99~127.53	128.99~127.53			多不饱和脂肪酸 PUFA	-CH=CH-CH-CH=CH-
127.13~127.01	127.12~127.01			n-3型多不饱和脂肪酸 n-3 PUFA	C ω 4
122.59, 121.65	122.57, 121.60			胆固醇酯, 胆固醇 CE, Cho	C5
73.67, 71.70	73.66, 71.71			胆固醇酯, 胆固醇 CE, Cho	C3
70.53~70.43	70.53~70.44			磷脂 PL	-CH ₂ -CH-CH ₂ -(sn-2)
68.99~68.87	68.99~68.87			甘油三酯 TAG	-CH ₂ -CH-CH ₂ -(sn-2)
66.38	66.38			磷脂酰胆碱 PC	-CH ₂ O
65.03	65.02			磷脂酰乙醇胺 PE	-CH ₂ O
63.56	63.54			磷脂 PL	-CH ₂ -CH-CH ₂ -(sn-3)
62.88	62.89			磷脂 PL	-CH ₂ -CH-CH ₂ -(sn-1)
62.15~62.09	62.14~62.07			甘油三酯 TAG	-CH ₂ -CH-CH ₂ -(sn-1, 3)
59.36	59.38			磷脂酰胆碱 PC	CH ₂ -N
56.77, 56.69	56.77, 56.69			胆固醇, 胆固醇酯 Cho, CE	C14
56.16, 56.13	56.16, 56.13			胆固醇, 胆固醇酯 Cho, CE	C17
54.49	54.44			磷脂酰胆碱 PC	(CH ₃) ₃ N-
50.14	50.15			胆固醇 Cho	C9
50.03	50.03			胆固醇酯 CE	C9
39.52	39.52			磷脂酰乙醇胺 PE	-CH ₂ N
34.20~34.05	34.19~34.03			所有酰基链 all acyl chains	C2
31.94~31.52	31.96~31.52			所有酰基链 all acyl chains	C ω 3
29.78~28.92	29.77~28.91			所有酰基链 all acyl chains	-(CH ₂) n-
27.31~27.10	27.30~27.10			不饱和脂肪酸 UFA	-CH ₂ -CH ₂ -CH=CH-
25.62~25.54	25.62~25.54			多不饱和脂肪酸 PUFA	=CH-CH ₂ -CH=
25.07~24.66	25.11~24.68			所有酰基链 all acyl chains	C3
22.70~20.56	22.70~20.56			所有酰基链 all acyl chains	C ω 2
14.28~14.01	14.27~14.00			所有酰基链 all acyl chains	-CH ₃
11.86	11.85			胆固醇 Cho	-CH ₃ (C18)

球海胆性腺脂质对羟基自由基的清除率高于马粪海胆(图4)。当浓度为0.1~0.3 mg/mL时, 2种海

胆性腺脂质对羟基自由基的清除率高于维生素C; 而当浓度高于0.3 mg/mL时, 维生素C对羟基

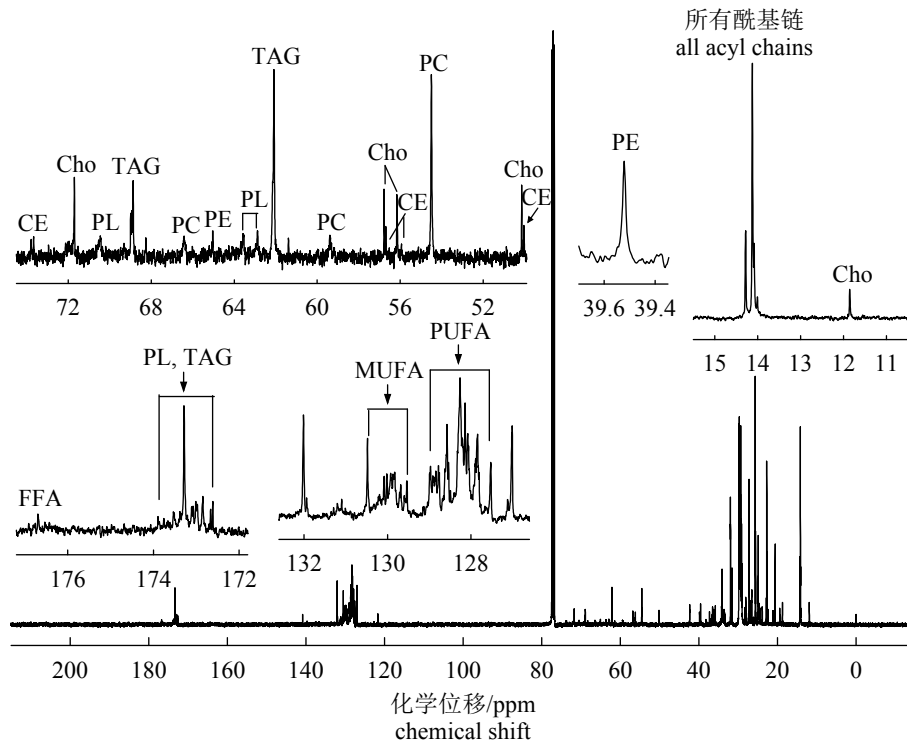


图2 马粪海胆性腺脂质的核磁共振碳谱图

FFA. 游离脂肪酸; MUFA. 单不饱和脂肪酸

Fig. 2 ^{13}C -NMR spectrum of *H. pulcherrimus* gonad lipids

FFA. free fatty acids; MUFA. monounsaturated fatty acids

表3 马粪海胆和光棘球海胆性腺的脂质组分和含量

Tab. 3 Lipid compositions and contents of

H. pulcherrimus and *S. nudus* gonad lipids

组分 composition	马粪海胆 <i>H. pulcherrimus</i>	光棘球海胆 <i>S. nudus</i>	mol%
游离脂肪酸 FFA	2.91	0.99	
胆固醇 Cho	3.18	2.91	
胆固醇酯 CE	1.58	1.57	
磷脂 PL	27.31	14.49	
甘油三酯 TAG	65.02	80.04	

自由基的清除率高于马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质。马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质对羟基自由基的 IC_{50} 分别为0.33和0.29 mg/mL。

超氧阴离子自由基清除活性 2种海胆性腺脂质清除超氧阴离子自由基的能力随浓度增加而增强,且清除能力呈现出良好的量效关系,但2种海胆清除能力均低于维生素C(图5)。当浓度为0.6 mg/mL时,马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质对超氧阴离子自由基的清除率分别为56.96%和70.18%。同时,马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质对

超氧阴离子自由基的 IC_{50} 分别为0.33和0.31 mg/mL。

3 讨论

脂质是海产品的重要成分,也是其营养价值的重要体现。马粪海胆和光棘球海胆性腺总脂含量分别为干重的13.72%和11.99%;2种海胆性腺总脂以甘油三酯和磷脂为主,且磷脂的主要成分为磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺。Liyana-Pathirana等^[15]采用TLC-FID法对北方球海胆(*S. droebacheinsis*)脂质组成的季节性变化研究发现,甘油三酯占海胆性腺中性脂含量的60.2%~76.4%,而磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺分别占极性脂含量的52.6%~66.9%和17.9%~31.1%。同时, Kalogeropoulos等^[16]通过TLC结合凝胶成像方法对拟球海胆(*Paracentrotus lividus*)的脂质组成分析发现,甘油三酯占性腺中性脂含量的70.6%,而磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺分别占极性脂含量的83.7%和4.9%,这与本研究中马粪海胆和光棘球海胆性腺的脂质组成基本一致。磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺是重要的功能性脂质成分,能有效调节脂质代

表 4 马粪海胆和光棘球海胆性腺的脂肪酸组成

Tab. 4 Fatty acid compositions of *H. pulcherrimus* and *S. nudus* gonad lipids

脂肪酸 fatty acid	马粪海胆 <i>H. pulcherrimus</i>			光棘球海胆 <i>S. nudus</i>		
	总脂 total lipid	中性脂 neutral lipid	极性脂 polar lipid	总脂 total lipid	中性脂 neutral lipid	极性脂 polar lipid
C14: 0	8.42±0.05	19.13±0.11	6.28±0.08	8.76±0.03	20.01±0.22	8.59±0.04
C15: 0	0.12±0.01	0.84±0.02	-	0.40±0.02	0.81±0.02	0.27±0.01
C16: 0	17.21±0.08	28.77±0.23	16.27±0.16	19.12±0.06	36.96±0.26	19.95±0.22
C18: 0	3.23±0.18	1.22±0.01	3.97±0.05	2.68±0.22	2.43±0.06	2.52±0.03
C20: 0	4.38±0.04	0.63±0.02	5.22±0.07	4.90±0.07	0.41±0.02	4.95±0.06
C22: 0	0.11±0.01	0.52±0.01	-	0.49±0.01	0.10±0.01	0.30±0.01
C14: 1n-7	0.33±0.01	2.36±0.05	0.10±0.01	0.32±0.02	0.21±0.01	0.12±0.02
C16: 1n-9	3.77±0.05	8.02±0.09	2.27±0.04	1.61±0.01	1.82±0.03	0.49±0.01
C16: 1n-7	1.70±0.01	1.21±0.03	1.13±0.02	2.53±0.04	2.15±0.04	1.72±0.04
C18: 1n-9	1.59±0.01	0.64±0.02	0.81±0.01	2.45±0.02	1.63±0.02	1.15±0.03
C18: 1n-7	0.59±0.01	0.20±0.01	0.13±0.01	0.53±0.01	0.10±0.01	0.15±0.01
C20: 1n-9	9.86±0.15	3.62±0.04	10.79±0.08	9.42±0.09	6.73±0.11	9.05±0.09
C18: 2n-6	0.49±0.01	0.33±0.01	0.17±0.01	0.25±0.01	0.15±0.01	0.39±0.02
C18: 3n-6	0.85±0.04	0.91±0.01	0.12±0.01	0.78±0.02	0.16±0.01	0.10±0.01
C18: 3n-3	4.73±0.06	4.28±0.09	2.23±0.04	3.18±0.04	2.94±0.03	1.54±0.03
C20: 2n-6	1.99±0.05	1.41±0.03	0.69±0.02	4.11±0.03	0.64±0.02	1.83±0.01
C20: 3n-6	0.31±0.02	-	0.27±0.01	0.16±0.01	-	-
C20: 3n-3	1.46±0.09	0.91±0.02	1.09±0.02	1.01±0.05	0.10±0.01	0.11±0.01
C20: 4n-6	16.97±0.17	5.67±0.08	22.53±0.18	12.83±0.11	5.87±0.06	16.01±0.14
C20: 4n-3	1.21±0.04	-	0.83±0.02	0.82±0.03	-	-
C20: 5n-3	18.91±0.11	17.51±0.12	24.22±0.22	22.15±0.15	16.28±0.11	30.51±0.19
C22: 6n-3	1.77±0.01	1.82±0.02	0.88±0.01	1.50±0.03	0.50±0.01	0.25±0.01
SFA	33.47	51.11	31.74	36.35	60.72	36.58
MUFA	17.84	16.05	15.23	16.86	12.64	12.68
PUFA	48.69	32.84	53.03	46.79	26.64	50.74
n-6 PUFA	20.61	8.32	23.78	18.13	6.82	18.33
n-3 PUFA	28.08	24.52	29.25	28.66	19.82	32.41

注: “-”表示未检测出

Notes: “-”, not detected

谢, 预防心脑血管疾病, 目前已被广泛应用于食品、医药等领域^[17-18]。2种海胆性腺脂质中富含磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺等磷脂成分, 表明具有较高的营养价值和开发潜力。

马粪海胆和光棘球海胆性腺总脂的多不饱和脂肪酸以C20: 4n-6和C20: 5n-3为主, 其中C20:

4n-6含量分别为16.97%和12.83%, C20: 5n-3分别为18.91%和22.15%; 而C22: 6n-3含量较低, 分别仅为1.77%和1.50%。Martínez-Pita等^[19]对拟球海胆和黑海胆(*Arbacia lixula*)脂肪酸分析发现, 拟球海胆中C20: 4n-6和C20: 5n-3含量分别为10.1%~12.3%和13.4%~17.5%, 黑海胆分别为13.8%~16.9%

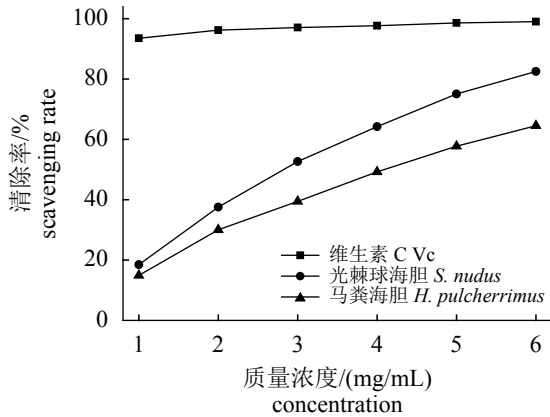


图3 马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质对DPPH自由基的清除率

Fig. 3 DPPH radical scavenging rates of *H. pulcherrimus* and *S. nudus* gonad lipids

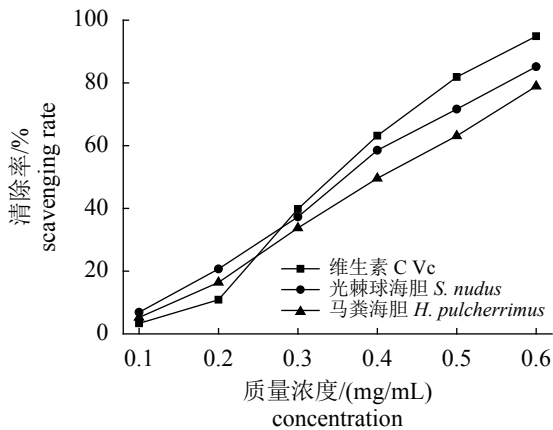


图4 马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质对羟基自由基的清除率

Fig. 4 Hydroxyl radical scavenging rates of *H. pulcherrimus* and *S. nudus* gonad lipids

和15.5%~16.3%，而2种海胆中C22: 6n-3含量分别仅为0.7%~1.0%和1.8%~1.9%，这与本研究马粪海胆和光棘球海胆的脂肪酸组成情况一致。同时，Barberá等^[20]对紫猥团海胆(*Spatangus purpureus*)的营养生态学研究发现，紫猥团海胆中C20: 4n-6、C20: 5n-3和C22: 6n-3分别为9.76%~19.67%、11.94%~22.12%和3.61%~7.65%，这与本研究结果基本相符。马粪海胆和光棘球海胆性腺多不饱和脂肪酸以C20: 4n-6和C20: 5n-3为主，且C22: 6n-3含量较低，这与贝类、鱼类等常见海洋水产动物存在较大差异^[21-22]，而海胆性腺多不饱和脂肪酸的上述组成特点可能与其食物来源和自身代谢等因素有关^[23]。C20: 4n-6为二十碳酸衍生物的直

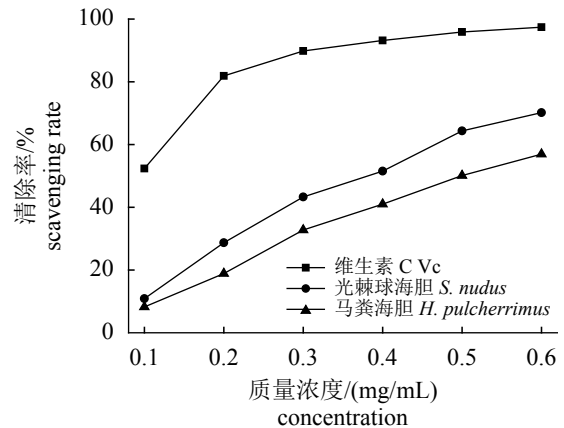


图5 马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质对超氧阴离子自由基的清除率

Fig. 5 Superoxide anion radical scavenging rates of *H. pulcherrimus* and *S. nudus* gonad lipids

接前体，具有预防心脑血管疾病、调节人体炎症反应、促进婴幼儿大脑发育和神经信号传递等作用^[24]；C20: 5n-3能有效调节血脂，降低血清胆固醇，预防血栓和动脉硬化等心血管疾病^[25]。2种海胆性腺脂质富含C20: 4n-6和C20: 5n-3等功能性多不饱和脂肪酸，可作为C20: 4n-6和C20: 5n-3的重要膳食来源。同时，磷脂作为2种海胆性腺极性脂的主要成分，其更易富集C20: 4n-6和C20: 5n-3等多不饱和脂肪酸，因此具有更好的功能性脂质因子的开发潜力。

马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质均能有效清除DPPH自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基，且清除能力随浓度增加而增强，并呈现出一定的量效关系，表明2种海胆性腺脂质具有较好的抗氧化活性，这可能与海胆性腺脂质中存在多不饱和脂肪酸、多酚和海胆色素等多种抗氧化活性物质有关^[26-27]。自由基易造成细胞膜、线粒体膜等膜结构和蛋白质、核酸等生物大分子的损伤，进而引发心脏病、帕金森症、癌症等多种疾病，亦是造成机体过氧化损伤的主要因素^[28]。2种海胆性腺脂质均能有效清除多种自由基，表明其可用于与抗氧化相关的功能食品、药品及食品添加剂的开发。

马粪海胆和光棘球海胆性腺脂质以甘油三酯和磷脂为主，富含C20: 4n-6和C20: 5n-3等多不饱和脂肪酸，且具有较好的DPPH自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基的清除能力，研究表明，2种海胆性腺脂质具有较高的营养价值和

开发潜力, 可作为C20: 4n-6、C20: 5n-3和磷脂等
功能性脂质因子的重要膳食来源。

参考文献:

- [1] Zhou D Y, Qin L, Zhu B W, *et al.* Extraction and antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from spines of purple sea urchin *Strongylocentrotus nudus*[J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(4): 1591-1597.
- [2] Zhou X, Zhou D Y, Lu T, *et al.* Characterization of lipids in three species of sea urchin[J]. *Food Chemistry*, 2018, 241: 97-103.
- [3] 农业部渔业渔政管理局. 2016中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2016: 23.
Fishery Bureau Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. China fishery statistic yearbook-2016[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2016: 23(in Chinese).
- [4] Zhao C, Sun P, Wei J, *et al.* Larval size and metamorphosis are significantly reduced in second generation of inbred sea urchins *Strongylocentrotus intermedius*[J]. *Aquaculture*, 2016, 452: 402-406.
- [5] Siliani S, Melis R, Loi B, *et al.* Influence of seasonal and environmental patterns on the lipid content and fatty acid profiles in gonads of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus* from Sardinia[J]. *Marine Environmental Research*, 2016, 113: 124-133.
- [6] Chen G Q, Xiang W Z, Lau C C, *et al.* A comparative analysis of lipid and carotenoid composition of the gonads of *Anthodiaris crassispina*, *Diadema setosum* and *Salmacis sphaeroides*[J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(4): 973-977.
- [7] 王艳梅, 万全, 赖年悦, 等. 黄缘盒龟肉的酶解工艺优化及其体外抗氧化活性研究[J]. 水产学报, 2013, 37(4): 622-630.
Wang Y M, Wan Q, Lai N Y, *et al.* Optimization of enzymatic technology of yellow-margined box turtle muscle and antioxidant abilities of its hydrolysates *in vitro*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(4): 622-630(in Chinese).
- [8] Popescu R, Costinel D, Dinca O R, *et al.* Discrimination of vegetable oils using NMR spectroscopy and chemometrics[J]. *Food Control*, 2015, 48: 84-90.
- [9] Dora C P, Kushwah V, Katiyar S S, *et al.* Improved metabolic stability and therapeutic efficacy of a novel molecular gemcitabine phospholipid complex[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2017, 530(1-2): 113-127.
- [10] Fahl C, Reniero F, Guillou C. ¹H NMR as a tool for the analysis of mixtures of virgin olive oil with oils of different botanical origin[J]. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 2000, 38(6): 436-443.
- [11] Pollesello P, Eriksson O, Höckerstedt K. Analysis of total lipid extracts from human liver by ¹³C and ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. *Analytical Biochemistry*, 1996, 236(1): 41-48.
- [12] Falch E, Størseth T R, Aursand M. Multi-component analysis of marine lipids in fish gonads with emphasis on phospholipids using high resolution NMR spectroscopy[J]. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2006, 144(1): 4-16.
- [13] Falch E, Størseth T R, Aursand M. High resolution NMR for studying lipid hydrolysis and esterification in cod (*Gadus morhua*) gonads[J]. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2007, 147(1): 46-57.
- [14] Nieva-Echevarría B, Goicoechea E, Manzano M J, *et al.* The influence of frying technique, cooking oil and fish species on the changes occurring in fish lipids and oil during shallow-frying, studied by ¹H NMR[J]. *Food Research International*, 2016, 84: 150-159.
- [15] Liyana-Pathirana C, Shahidi F, Whittick A, *et al.* Lipid and lipid soluble components of gonads of green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*) [J]. *Journal of Food Lipids*, 2002, 9(2): 105-126.
- [16] Kalogeropoulos N, Mikellidi A, Nomikos T, *et al.* Screening of macro- and bioactive microconstituents of commercial finfish and sea urchin eggs[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2012, 46(2): 525-531.
- [17] 张康逸, 宋范范, 高玲玲, 等. 离子液体提取医药级磷脂酰胆碱的研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(7): 235-239, 244.
Zhang K Y, Song F F, Gao L L, *et al.* Study on extraction of pharmaceutical grade phosphatidylcholine by ionic liquid[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(7): 235-239, 244(in Chinese).
- [18] 邓杨敏, 李冰麟, 董文博, 等. 磷脂酰乙醇胺的酶促合

- 成及底物抑制动力学[J]. 化工进展, 2017, 36(7): 2601-2606.
- Deng Y M, Li B L, Dong W B, *et al.* Synthesis of phosphatidylethanolamine by enzymatic catalysis and its substrate inhibition kinetics[J]. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2017, 36(7): 2601-2606(in Chinese).
- [19] Martínez-Pita I, García F J, Pita M. Males and females gonad fatty acids of the sea urchins *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* (Echinodermata)[J]. *Helgolander Marine Research*, 2010, 64(2): 135-142.
- [20] Barberá C, Fernández-Jover D, Jiménez J A L, *et al.* Trophic ecology of the sea urchin *Spatangus purpureus* elucidated from gonad fatty acids composition analysis[J]. *Marine Environmental Research*, 2011, 71(4): 235-246.
- [21] 楼乔明, 王玉明, 徐杰, 等. 栉孔扇贝和海湾扇贝脂质及其脂肪酸组成分析[J]. 中国食品学报, 2012, 12(11): 198-203.
- Lou Q M, Wang Y M, Xu J, *et al.* Analysis of lipid profile and fatty acid compositions of *Chlamys farreri* and *Argopecten irradians*[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2012, 12(11): 198-203(in Chinese).
- [22] 施永海, 徐嘉波, 刘永士, 等. 菊黄东方鲀发育早期的脂肪酸组成变化[J]. 水产学报, 2017, 41(8): 1203-1212.
- Shi Y H, Xu J B, Liu Y S, *et al.* Changes in fatty acid composition during early developmental stage of tawny puffer (*Takifugu flavidus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(8): 1203-1212(in Chinese).
- [23] 童圣英, 陈炜, 由学策, 等. 三种海胆性腺总脂的脂肪酸组成的研究[J]. 水产学报, 1998, 22(3): 247-252.
- Tong S Y, Chen W, You X C, *et al.* Study on lipid and fatty acids composition of three kinds of Echinoidea's gonad[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1998, 22(3): 247-252(in Chinese).
- [24] 蒋加拉, 刘素纯, 陈学武, 等. 花生四烯酸的生理学功能及利用真菌生产的研究进展[J]. 食品工业科技, 2010, 31(6): 389-392, 395.
- Jiang J L, Liu S C, Chen X W, *et al.* Research progress in the biological function of arachidonic acid and its production by fungi[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2010, 31(6): 389-392, 395(in Chinese).
- [25] 肖玫, 欧志强. 深海鱼油中两种脂肪酸(EPA和DHA)的生理功效及机理的研究进展[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 522-526.
- Xiao M, Ou Z Q. Research progress of the physiological function and mechanism of two kinds of fatty acid (EPA and DHA) in the fish oil of deep sea[J]. *Food Science*, 2005, 26(8): 522-526(in Chinese).
- [26] Popov A M, Krivoschapko O N. Protective effects of polar lipids and redox-active compounds from marine organisms at modeling of hyperlipidemia and diabetes[J]. *Journal of Biomedical Science and Engineering*, 2013, 6(5): 543-550.
- [27] Archana A, Babu K R. Nutrient composition and antioxidant activity of gonads of sea urchin *Stomopneustes variolaris*[J]. *Food Chemistry*, 2016, 197: 597-602.
- [28] 张辰暘, 魏安琪, 王妍, 等. 天然食品添加剂清除自由基作用的研究进展[J]. 化学与生物工程, 2017, 34(8): 1-4.
- Zhang C Y, Wei A Q, Wang Y, *et al.* Research progress in free radical scavenging ability of natural food additive[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2017, 34(8): 1-4(in Chinese).

Lipid compositions and antioxidant activities of *Hemicentrotus pulcherrimus* and *Strongylocentrotus nudus* gonads

XU Hua, WANG Yunpeng, YANG Demeng, LOU Qiaoming*, ZHANG Jinjie, YANG Wenge
(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: In order to analyze the lipid compositions and antioxidant activities of *Hemicentrotus pulcherrimus* and *Strongylocentrotus nudus* gonads, the lipid and fatty acid compositions were analyzed by NMR and GC-MS, and the antioxidant activities were determined by the methods of DPPH radical scavenging, hydroxyl radical scavenging and superoxide anion radical scavenging in this paper. The experimental results indicated that the triacylglycerols and phospholipids were the predominant lipid components of *H. pulcherrimus* and *S. nudus* gonads, while the contents of free fatty acids, cholesterol and cholesteryl esters were relatively low. Meanwhile, C20:4n-6 and C20:5n-3 were the major polyunsaturated fatty acids, and the total contents of C20:4n-6 and C20:5n-3 reached respectively 35.88% in *H. pulcherrimus* and 34.98% in *S. nudus*. The remarkable differences were observed in the fatty acid compositions of neutral lipids and polar lipids. Neutral lipids were chiefly composed with C14:0 and C16:0, whereas polar lipids mainly of C20:4n-6 and C20:5n-3. *H. pulcherrimus* and *S. nudus* gonad lipids exhibited great scavenging activity on DPPH radical and hydroxyl radical. The IC₅₀ values of *H. pulcherrimus* and *S. nudus* gonad lipids to DPPH radical were 2.75 and 1.98 mg/mL, and were 0.33 and 0.29 mg/mL to hydroxyl radical, 0.33 and 0.31 mg/mL to superoxide anion radical, respectively. The results suggested that *H. pulcherrimus* and *S. nudus* gonad lipids had high nutritional values and antioxidant activities, and could be the important dietary sources of C20:4n-6, C20:5n-3 and phospholipids.

Key words: *Hemicentrotus pulcherrimus*; *Strongylocentrotus nudus*; gonads; lipids; fatty acids; antioxidant activity

Corresponding author: LOU Qiaoming. E-mail: louqm2005@163.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31201283); China Spark Program (2014GA701010); Open Fund of Zhejiang Provincial Top Key Discipline of Aquaculture (xkzsc1531)