

# 多棘海盘车幽门盲囊极性脂和脂肪酸组分的研究\*

李烈英 陈念红 孙作庆

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

**提要** 对多棘海盘车(*Asterias amurensis*)幽门盲囊中总脂、极性脂及脂肪酸组分进行了研究。结果表明,总脂含量占湿重的7.85%。磷脂中PC、PE、PS含量较高,PI和DPG含量较低。主要的脂肪酸是16:0,18:0,18:1(n=9),20:1(n=9),20:1(n=7),20:4(n=6),20:5(n=3),22:6(n=3),占总脂肪酸的74%以上。其中以20:1(n=9)最为丰富,占总脂肪酸的19.1%。两种重要的高度不饱和脂肪酸20:5(n=3)(EPA)和22:6(n=3)(DHA)分别占总量的11.7%和10.6%。海星脂肪酸组分和其食性相符。

**关键词** 多棘海盘车,幽门盲囊,极性脂,脂肪酸

脂类物质是构成生物细胞的重要成分。自50年代以来,由于气相色谱和薄层色谱技术的普及,对脂类和脂肪酸的研究迅速发展起来。研究表明,某些高度不饱和脂肪酸(PUFA),尤其是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)具有很强的生理活性,对多种心血管疾病具有预防和治疗效果。

海洋动物是PUFA的主要来源。海洋动物体内富含EPA和DHA,因此成为脂化学研究的热点。对动物体内的脂类成分进行研究,还可以获得其生活习性、营养来源等方面的信息<sup>[1]</sup>。研究表明,海洋动物体内n=3系列的PUFA,尤其是十八碳四烯酸(n=3)是海洋动物重要的食性因子<sup>[2]</sup>。而高含量的奇数碳、支链脂肪酸是底栖动物的特点,和进食细菌及植物碎屑有关<sup>[3]</sup>。

本文对多棘海盘车幽门盲囊极性脂和脂肪酸组成进行了研究,阐明了其极性脂和脂肪酸组成的特点,并讨论了海星的营养特性。

## 1 实验

### 1.1 材料及试剂

海星于1992年12月中旬采于汇泉角潮间带。

SiO<sub>2</sub>薄层板由俄罗斯科学院远东分院海洋

生物研究所V. E. Vaskovsky教授提供。

文中所用试剂均为分析纯。

极性脂显色所用指示剂按有关文献配制<sup>[6~8]</sup>。

### 1.2 总脂的提取

将海星剖开后取出幽门盲囊,按改进的Bligh-Dyer法<sup>[4]</sup>提取总脂,即用氯仿/甲醇(1:2, V)提取后,再用少量的氯仿/甲醇提取残渣2~5次。减压蒸馏至干,称量总脂,按20mg总脂/1ml氯仿稀释,冷冻保存,备用。

### 1.3 极性脂的分离与鉴定

1.3.1 极性脂的分离:将1.2中的总脂点样于SiO<sub>2</sub>薄板(6×6cm)的右下角,采用Sveta-shev-Vaskovsky<sup>[5]</sup>二维TLC法展开,溶剂系统为:

(1) 氯仿/甲醇/苯/29%氨水(65:30:10:6, V)。

(2) 氯仿/甲醇/苯/丙酮/乙酸/水(70:30:10:5:4:1:, V)。

1.3.2 极性脂的鉴定:采用不同显色剂对1.3.1中展开的TLC进行显色,以鉴定极性脂成分。所用的显色剂如下:

\* 中国科学院海洋研究所调查研究报告2573号。

收稿日期:1995年4月10日

10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/甲醇:检测全部脂类<sup>[7]</sup>。

钼蓝试剂:检测磷脂<sup>[6]</sup>。

孔雀绿试剂:检测含磷物质<sup>[8]</sup>。

茚三酮/丙酮试剂:检测含氨基(-NH<sub>2</sub>)类脂类(PE, PS等)<sup>[7]</sup>。

Dragendorff 试剂:检测含三甲胺(-N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)类脂类(PC, DGTS, DGTA等)<sup>[9]</sup>。

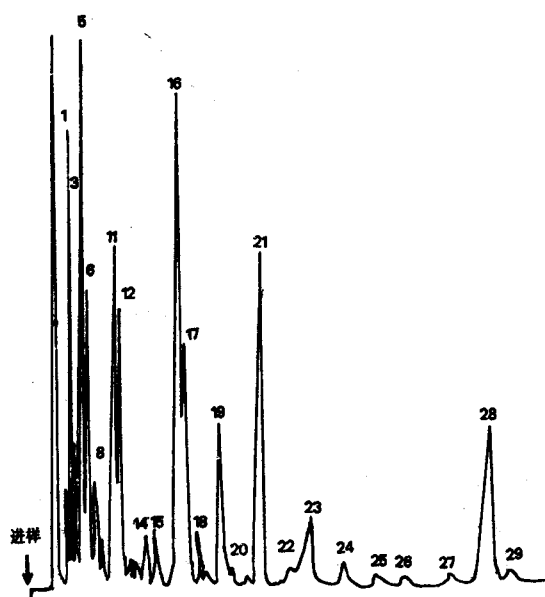


图1 多棘海盘车幽门盲囊脂肪酸甲酯的气相色谱  
Fig. 1 Chromatogram of fatty acid methyl ester of pylorus caecum from *Asterias amurensis*

## 1.4 脂肪酸分析

1.4.1 甲酯化:取1.2中的总脂约0.2ml,按 Carreau-Dubacq 法<sup>[10]</sup>甲酯化。即先用1ml 1% Na/甲醇于55℃水溶中皂化30min,再加入1.5ml HCl/甲醇溶液在55℃水溶中甲酯化30min。用 SiO<sub>2</sub>薄板纯化脂肪酸甲酯,用于GC分析。

1.4.2 脂肪酸甲酯的GC分析:取1.4.1中纯化样品1μl用于脂肪酸甲酯的分析,GC为HP5880气相色谱,色谱条件如下:柱:Carbowax (25×0.2mm);炉温:190℃;载气:氮气;载气流速:2.9ml/min;分流比:100/7.25;检测器:火焰离子化检测器(FID)。

1.4.3 脂肪酸甲酯的定性定量分析:脂肪酸的定性分析通过计算等价链长(ECL),并同文献值<sup>[11]</sup>对照来完成。定量分析采用对各组分峰积分,计算其面积百分数的方法,由GC积分仪完成。

1.4.4 单烯和双烯不饱和脂肪酸的分离。在分析上面的结果时,保留时间为37.14min的色谱峰 ECL 值同时接近于22:1和22:2的 ECL 值,为了进一步鉴定该组分,进行了单烯和双烯不饱和脂肪酸的分离。方法如下:将花生油(含有18:1(n=9)和18:2(n=6))酯化作为单烯和双烯 FA 的标准。在一用95%甲醇/5%水饱和 AgNO<sub>3</sub>溶液浸泡过的 TLC 上分离多棘海盘车甲酯化样品,将单烯和双烯 FA 带分别刮下,纯化后用GC进行分析。

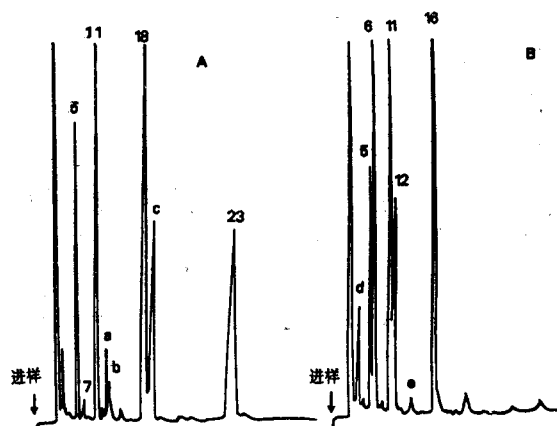


图2 单烯和双烯不饱和脂肪酸甲酯的气相色谱  
A. 单烯不饱和脂肪酸; B. 双烯不饱和脂肪酸  
a, 18:2(n=6); b, 18:2(n=4); c, 20:2(n=6); d, 13:1;  
e, 19:1

Fig. 2 Chromatograms of monoene and diene unsaturated fatty acid methyl ester of pylorus caecum from *Asterias amurensis*

## 2 结果与讨论

### 2.1 总脂含量

多棘海盘车幽门盲囊总脂含量为7.85% (湿重)。

## 2.2 极性脂组分

海星软组织中含有较高的 PC、PE 和 PS 及含量较低的 PI、DPG, 另外还有一定量的糖脂。

表1 多棘海盘车幽门盲囊脂肪酸组成

Tab. 1 Fatty acid composition of pylorus caecum from *Asterias amurensis*

	脂肪酸	含量	RT
1	14:0	3.52	5.57
2	15:0	0.46	5.97
3	15:0	1.19	6.36
4	16:0	0.55	6.93
5	16:0	9.88	7.53
6	16:1(n=7)	3.34	7.86
7	16:2(n=6)	0.51	8.48
8	17:0	1.94	9.05
9	17:1	0.41	9.53
10	18:0	0.36	10.15
11	18:0	6.26	11.34
12	18:1(n=9)	6.06	12.05
13	18:3(n=9)	0.14	13.89
14	18:3(n=3)	0.61	15.42
15	18:4(n=3)	1.20	16.71
16	20:1(n=9)	19.14	20.07
17	20:1(n=7)	5.69	20.73
18	20:2(n=9)	1.47	22.39
19	20:4(n=6)	5.69	25.60
20	20:3(n=3)	0.55	26.65
21	20:5(n=3)	11.70	30.92
22	22:1(n=9)	0.34	34.73
23	22:2	3.30	37.14
24	22:3(n=6)	1.23	41.81
25	22:4(n=6)	0.79	45.96
26	22:5(n=6)	0.59	49.69
27	22:5(n=3)	0.87	55.66
28	22:6(n=3)	10.63	61.16
29	24:0	0.96	63.85
$\Sigma n=3$	/	25.57	/
$\Sigma n=6$	/	10.07	/
$\Sigma n=3/\Sigma n=6$	/	2.54	/
$\Sigma C_{20}$	/	42.60	/
$\Sigma C_{22}$	/	18.89	/

## 2.3 脂肪酸组成

海星脂肪酸甲酯的 GC 色谱图及鉴定结果如图1。

单烯和双烯不饱和脂肪酸的分离谱图及鉴定结果如图2。组分鉴定结果如表1。

1995年第5期

由图2可以看出, 图1中保留时间为37.14min的组分为22:2。

结果显示, 多棘海盘车幽门盲囊中的脂肪酸以20:1(n=9)最为丰富, 达19.14%。两种重要的 PUFA(EPA 和 DHA)含量分别为11.7%和10.63%。含量超过5%的组分有16:0, 18:0, 18:1(n=9), 20:1(n=9), 20:1(n=7), 20:4(n=6), 20:5(n=3), 22:6(n=3)约占总脂肪酸的74%。总的  $C_{20}$  和  $C_{22}$  FA 之和达到61%以上, 这些结果和 Waldtraut Rodegker 对南加州海星 (*Pisasterochraceus*) 的研究结果<sup>[12]</sup>相似, 证实了海洋动物体内的 FA 以  $C_{20}$  和  $C_{22}$  为主。另外还检测到几种三烯酸(18:3(n=9), 18:3(n=3), 20:3(n=3), 22:3(n=6))和一种四烯酸(22:4(n=6)), 而 Waldtraut Rodegker 没有给出。18:4(n=3)(1.20%)明显高于 Waldtraut Rodegker 的结果, 而20:2(n=6)则低于他的结果。在单烯和双烯 FA 分离研究中, 还检测到少量19:1。

n=3系列的 PUFA(尤其是18:4(n=3))被认为是海洋动物在食物链中的相对位置的重要因子<sup>[23]</sup>。随着食物链的传递, n=3系列的 FA 逐级减少, 而 n=6系列的 FA 则逐级增加<sup>[2]</sup>。本文中, 只检测到少量的18:4(n=3)没有检测到18:5(n=3), n=6系列的 FA 含量很高, 达到10.07%,  $\Sigma n=3/\Sigma n=6$  仅为2.54, 大大低于文昌鱼<sup>[1]</sup>和鳕鱼幼体<sup>[2]</sup>, 这与海星的食性, 即主要捕食软体动物(蛤、贝类等)相符。

## 参考文献

- [1] V. I. Svetashev, et al., 1994. *Comp. Biochem. Physiol.* V. 108a, N. 2/3, 325-329.
- [2] Angus J. Fraser and John R. Sargent, 1989. *Marine Chemistry*, 27:1-18.
- [3] Svetashev V. I. et al., 1991. *Comp. Biochem. Physiol.* 98B, 489-494.
- [4] Bligh, E. G. and W. J. Dyer, 1959. *Can. J. Biochem. Biophysiol.* 37(8):911-915.
- [5] Svetashev, V. I. and V. E. Vaskovsky, 1972. *J. Chromatogr.* 67:376-378.
- [6] Vaskovsky V. E., 1975. *J. Chromatogr.* 114:129-141.

- [7] Bergelson, L. D., 1980. Lipid Biochemical Preparations. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Amsterdam, New York, Oxford. 22-219.
- [8] Vaskovsky, V. E. and N. A. Latyshev, 1975. *J. Chromatogr.* 115:246-249.
- [9] Khotimchenko, S. V. *et al.*, 1990. *Biochem. System. Ecol.* 18(2-3):93-101.
- [10] Carreau, J. P. and J. P. Dubacq, 1978. *J. Chromatogr.* 151:384-390.
- [11] W. W. Christie, 1988. *J. Chromatogr.* 447:305-314.
- [12] Waldtraut Rodegker and Judd C. Nevenzel, 1964. *Comp. Biochem. Physiol.* 11:53-60.

## STUDY OF POLAR LIPIDS AND FATTY ACID COMPOSITION IN PYLORUS CAECUM OF STARFISH (*Asterias amurensis*)

Li Lieying, Chen Nianhong and Sun Zuqing

(*Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, PRC*)

Received: Apr. 10, 1995

**Key Words:** *Asterias amuresis*, Pylorus caecum, Polar lipids, Fatty acids

### Abstract

Total lipid, polar lipids and fatty acids composition in pylorus caecum of starfish (*Pisaster ochraceus*) were investigated. Total lipid was 7.85% of the tissue (wt). The concentrations of PC, PE and PS were high, but PI and DPG were low. The main fatty acids were 16:0, 18:0, 18:1(n=9), 20:1(n=9), 20:1(n=7), 20:4(n=6), 20:5(n=3) and 22:6(n=3). 20:1(n=9) was the most abundant, about 19.1% of total fatty acids. Contents of two important PUFA 20:5(EPA) and 22:6 (DHA) in the total fatty acids were 11.7% and 10.6% respectively. The fatty acid composition was compliant with its dietary.