

仿刺参生殖腺营养成分分析

张 健^{1,2,3}, 王茂剑^{1,3}, 马晶晶¹, 王共明⁴, 赵云苹¹, 高继庆¹, 刘京熙¹, 李 倩⁴

(1.山东省海洋水产研究所, 山东 烟台 264006; 2.华东理工大学生物工程学院, 上海 200237;

3.山东省海洋生态修复重点实验室, 山东 烟台 264006; 4.上海海洋大学食品学院, 上海 200000)

摘 要: 对仿刺参生殖腺进行卵和精的分类, 并分别进行营养成分分析。利用显微镜对生殖腺进行卵和精分类, 经真空冷冻干燥后, 分别测定粗蛋白、粗脂肪、粗灰分、粗多糖、磷脂及矿质元素含量; 对卵和精的氨基酸组成、脂肪酸组成进行分析。结果表明: 海参卵、精都具有较高的粗蛋白含量, 分别达到51.80g/100g和74.31g/100g; 卵的粗脂肪含量为10.18g/100g, 显著高于精中的含量(4.26g/100g), 而其中磷脂所占比例分别为71.32g/100g和52.35g/100g; 卵和精的粗多糖含量为干质量的26.98g/100g和9.93g/100g; 仿刺参精中Mg、Fe的含量高于仿刺参卵, 而仿刺参卵当中Ca、Zn的含量要显著高于仿刺参精。卵和精的氨基酸总量分别为354.6mg/g和550.89mg/g, 其中必需氨基酸含量分别为180.03mg/g和257.25mg/g; 卵和精的脂肪酸组成中不饱和脂肪酸分别为73.22g/100g和62.61g/100g, 其中, EPA含量最高, 分别为15.98g/100g和15.27g/100g。

关键词: 仿刺参; 生殖腺; 营养成分; 氨基酸; 脂肪酸

Nutrient Composition of *Apostichopus japonicus* Gonad

ZHANG Jian^{1,2,3}, WANG Mao-jian^{1,3}, MA Jing-jing¹, WANG Gong-ming⁴, ZHAO Yun-ping¹, GAO Ji-qing¹, LIU Jing-xi¹, LI Qian⁴

(1. Marine Fisheries Research Institute of Shandong Province, Yantai 264006, China;

2. School of Biotechnology, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China;

3. Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Yantai 264006, China;

4. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 200000, China)

Abstract: *Apostichopus japonica* spawn and sperm were identified through microscopic observation for nutrient composition analysis. The contents of crude protein, crude fat, crude ash, crude polysaccharide, phospholipid and mineral elements in vacuum frozen samples were determined along with the amino acid composition and fatty acid profile. The results showed that both the spawn and sperm had high level of crude protein contents, accounting for 51.80 g/100 g and 74.31 g/100 g, respectively. The crude lipid content of the spawn (10.18 g/100 g) was significantly higher than that of the sperm (4.26 g/100 g), and phospholipid content was 71.32 g/100 g and 52.35 g/100 g in the spawn and sperm, respectively. The content of crude polysaccharide in the spawn and sperm were 26.98 g/100 g and 9.93 g/100 g, respectively. The contents of Mg and Fe in the sperm were higher than in the spawn of *Apostichopus japonica*, while the contents of Ca and Zn in the spawn were significantly higher than in the sperm. The total amino acids of the spawn and sperm were 354.6 mg/g and 550.89 mg/g, with essential amino acids accounting for 180.03 mg/g and 257.25 mg/g, respectively. As for fatty acids in the spawn and sperm, the unsaturated fatty acid contents were 73.22 g/100 g and 62.61 g/100 g, respectively, among which EPA accounted for 15.98 g/100 g and 15.27 g/100 g, respectively.

Key words: *Apostichopus japonica*; gonad; nutrient composition; amino acid; fatty acid

中图分类号: TS254.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)14-0232-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201314047

仿刺参(*Apostichopus japonicus*)素为“海产八珍”之一, 具有很高的营养价值。当前研究材料主要集中于仿刺参体壁组织, 对其进行了基本营养成分^[1-4]、海参多糖^[5]、

海参多肽^[6]等较为详尽的研究。干刺参加工的副产物——仿刺参生殖腺组织, 俗称“海参花”, 因其同样含有丰富的各种营养成分^[2], 逐渐为人们所认知, 国内学者已经

收稿日期: 2012-07-05

基金项目: 国家海洋局海洋公益性行业科研专项(201205027; 201105029); 山东省水生动物营养与饲料泰山学者岗位经费资助项目(200651036); 山东省现代农业产业技术体系刺参产业创新团队建设项目(2012-2014)

作者简介: 张健(1980—), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向为食品科学与生物化学。E-mail: zjzd408@163.com

开始对其开展生物酶解等方面的研究^[7-10]。对仿刺参生殖腺组织进行雌雄分类,并分别对其进行营养成分分析,有助于明确其具体的营养组成,加深人们对其营养功能的认知,为综合利用及高值化研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

鲜仿刺参生殖腺,产自山东省烟台市,经显微鉴定后,分拣出仿刺参卵和仿刺参精。

1.1.2 试剂

17种混合氨基酸标样、邻苯二甲醛(OPA) 美国Agilent公司;37种标准脂肪酸甲酯 美国Supelco公司;木瓜蛋白酶 南宁庞博生物工程有限公司;其他试剂为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

1200型高效液相色谱仪、7500a ICP-MS、Eclipse-AAA HPLC柱 美国Agilent公司;GC2010气相色谱仪 日本岛津公司;SP-2560气相毛细管柱 美国Supelco公司;紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;5804R高速冷冻离心机 德国Eppendorf公司;电热鼓风干燥箱、电热恒温水浴锅 龙口市先科仪器公司。

1.3 方法

1.3.1 基本营养成分测定

新鲜仿刺参生殖腺经真空冷冻干燥后,按照国标方法进行检测。粗蛋白:GB/T 5009.5—2003《食品中蛋白质的测定》;粗脂肪:GB/T 5009.6—2003《食品中脂肪的测定》中索氏抽提法;灰分:GB/T 5009.4—2003《食品中灰分的测定》。

1.3.2 磷脂含量的测定

参考相关研究^[11],称取冷冻干燥后样品0.5g,采用三氯甲烷-甲醇(2:1, V/V)混合液抽提4次,蒸发干燥,经炭化灰化后,用蒸馏水溶解定容制备样液。吸取磷酸二氢钾(KH₂PO₄)标准溶液(1mL相当于0.1mg磷)0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL,分别补水至5mL,加入2mL钼酸铵溶液,0.25mL氯化亚锡甘油溶液,混匀后放置15min,于690nm波长处比色,绘制标准曲线,得到标准曲线方程。取样品溶液1mL,按照上述过程操作测定吸光度,根据标准曲线方程计算磷脂含量。

1.3.3 粗多糖含量测定

取鲜仿刺参生殖腺,粉碎后匀浆,测定水分含量后加入木瓜蛋白酶至10000U/g,55℃,水解5h。酶解液经灭酶后10000r/min离心20min,收集上清液,以葡萄糖为标准品,利用苯酚硫酸法^[12-13]绘制标准曲线并得到标准曲线方程,测定粗多糖含量,经换算后得到仿刺参生殖腺干基的粗多糖含量。

1.3.4 氨基酸组成分析

采用浓盐酸与水等体积混合后在110℃条件下水解样品22h,利用邻苯二甲醛(OPA)柱前衍生法在HPLC上测定。色谱条件:色谱柱:ZORBAX Eclipse-AAA (150mm×4.6mm, 5μm);检测波长:338nm;流速:2mL/min;流动相:A:0.04mol/L Na₂HPO₄,用NaOH调pH值至7.8;B:乙腈-甲醇-水(45:45:10, V/V)。洗脱梯度如表1所示。

表1 氨基酸洗脱梯度表
Table 1 Elution gradient of amino acids

时间/min	流动相比/%	
	A	B
0~1.9	100	0
1.9~18.1	100~43	0~57
18.1~18.6	43~0	57~100
18.6~22.3	0	100
22.3~23.2	0~100	100~0
23.2~26	100	0

1.3.5 脂肪酸组成分析

采用GC 2010气相色谱仪,带AOC-12自动进样器,(100m×0.25mm, 0.2μm) SP-2560气相毛细管柱;色谱条件:进样口温度260℃,载气纯度为99.99%的高纯氮,柱流速1.8mL/min,柱前压357.4kPa,柱起始温度140℃,保持5min,以4℃/min升至240℃,保持10min。分流进样1μL,分流比90:1。监测器温度260℃。

采用标准脂肪酸甲酯确定脂肪酸种类,采用面积归一法计算脂肪酸相对含量。

1.3.6 矿质元素分析

利用7500a ICP-MS对仿刺参生殖腺进行矿质元素测定,具体调谐参数如下:射频功率1500W,采样深度8mm,等离子气15L/min,载气0.9L/min,辅助气0.22L/min,雾化室温度2℃,采样锥直径1mm,截取锥0.4mm,提升速率1.0mL/min,分析模式:定量,重复采集数据次数:3。

2 结果与分析

2.1 基本营养成分测定

表2 真空冷冻干燥后仿刺参生殖腺的基本营养成分
Table 2 Nutritional components of *Apostichopus japonica* gonad

样品	g/100g			
	水分(干燥前)	粗蛋白	粗脂肪	粗灰分
仿刺参卵(<i>Apostichopus japonicus</i> spawn)	96.22±0.11	51.80±0.83	10.18±0.61	15.04±0.40
仿刺参精(<i>Apostichopus japonicus</i> sperm)	94.56±0.2	74.31±0.37	4.26±0.51	15.74±0.22

由表2可知,新鲜仿刺参精卵含水量都比较高,同时仿刺参卵的含水量略高于仿刺参精。经真空冷冻干燥后,仿刺参卵和精所含灰分相差不大,仿刺参精粗蛋白

含量达到74.31g/100g,明显高于仿刺参卵,同时也高于仿刺参体壁的粗蛋白含量57.1g/100g^[2]。仿刺参卵粗脂肪含量是仿刺参精的2倍多,达到10.18g/100g,远高于已报道的仿刺参体壁的脂肪含量1.1g/100g^[4]。这可能跟卵的生理功能的复杂性有关,其含有的营养物质要满足受精卵发育所必需的各种营养需求。

2.2 磷脂含量测定结果

表3 仿刺参生殖腺的磷脂含量

样品	仿刺参卵	仿刺参精
磷脂含量/(g/100g)	7.26±0.18	2.23±0.25
占粗脂肪的比例/%	71.32	52.35

磷脂分为磷酸甘油酯和鞘磷脂,对保证生物体正常的新陈代谢及机体健康具有重要的意义^[14]。经绘制标准曲线后,得到标准曲线方程为 $Y=1.1x+0.014$, $R^2=0.998$,线性范围0~0.1mg/mL。由表3可知,仿刺参卵的磷脂含量明显高于仿刺参精,同时其所占粗脂肪的比例也明显高于仿刺参精。相关研究^[15]认为,卵磷脂含量与水产动物的交配、产卵及孵化等密切相关,具有较高的卵磷脂含量是雌雄个体正常交配、受精的保障。

2.3 粗多糖含量测定结果

表4 仿刺参生殖腺的粗多糖含量

样品	粗多糖/(g/100g,以鲜基计)	粗多糖/(g/100g,以干基计)
仿刺参卵	1.02±0.06	26.98±1.59
仿刺参精	0.54±0.03	9.93±0.55

经绘制标准曲线后,得到标准曲线方程为 $Y=0.007x+0.010$, $R^2=0.996$,线性范围16~64μg/mL。由表4可知,仿刺参卵粗多糖含量明显高于仿刺参精,达到26.98g/100g,远高于相关文献^[2]报道的1.47g/100g,这可能与检测方法的不同有关。另外,苯酚硫酸法检测数值受酶解液中蛋白等影响较大,检测结果可能稍高于实际。研究^[16]认为,仿刺参多糖具有抗凝血、抗肿瘤等多种生物活性,被认为是仿刺参最重要的营养成分。

2.4 氨基酸组成分析结果

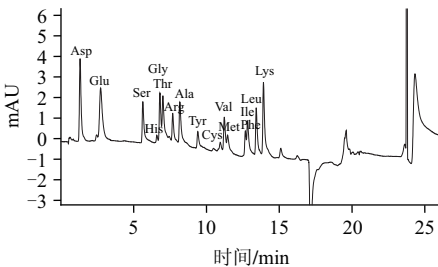


图1 仿刺参卵氨基酸组成液相色谱图

Fig.1 HPLC of amino acid compositions in *Apostichopus japonica* spawn

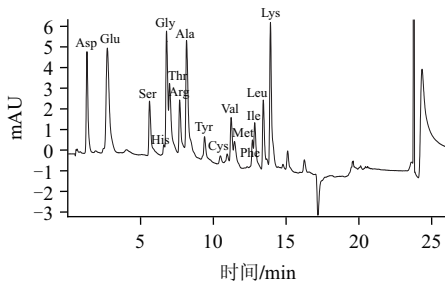


图2 仿刺参精氨基酸组成液相色谱图

Fig.2 HPLC of amino acid compositions in *Apostichopus japonica* sperm

表5 仿刺参生殖腺的氨基酸组成

Table 5 Amino acid compositions in <i>Apostichopus japonica</i> gonad			
mg/g			
氨基酸	仿刺参卵	仿刺参精	
苏氨酸	22.39±0.33	36.97±0.39	
精氨酸	22.94±0.68	41.51±0.30	
缬氨酸	17.10±0.26	23.65±0.28	
蛋氨酸	13.55±0.57	17.55±0.33	
必需氨基酸	21.84±0.87	23.61±0.30	
亮氨酸	31.11±0.95	35.86±0.62	
苯丙氨酸	16.92±0.69	19.39±0.02	
赖氨酸	30.70±0.73	51.85±0.48	
组氨酸	3.48±0.09	6.86±0.04	
总量	180.03±5.17	257.25±2.77	
天冬氨酸	42.86±0.83	43.62±0.60	
谷氨酸	63.77±0.23	119.64±0.82	
丝氨酸	18.55±0.26	26.56±0.53	
非必需氨基酸	12.82±0.19	33.81±0.76	
甘氨酸	17.84±0.15	46.29±0.41	
丙氨酸	3.86±0.34	4.62±0.14	
半胱氨酸	14.85±0.21	19.10±0.19	
酪氨酸	174.57±2.21	293.64±3.46	
总量			

仿刺参精卵的氨基酸组成高效液相色谱图见图1、2。由表5可知,在检出的所有氨基酸中,仿刺参卵中必需氨基酸的总量达到了180.03mg/g,超过了其非必需氨基酸的总量,其必需氨基酸含量由高到低依次为: Leu>Lys>Arg>Thr>Ile>Val>Phe>Met>His。非必需氨基酸中含量较高的为Glu和Asp。卵的氨基酸总量达到了354.6mg/g。仿刺参精中必需氨基酸含量达到了257.25mg/g,高于仿刺参卵,但低于其本身的非必需氨基酸含量,其必需氨基酸含量由高到低依次为: Lys>Arg>Thr>Leu>Val>Ile>Phe>Met>His。其Lys、Arg、Thr、His的含量均明显高于卵。非必需氨基酸中含量最高的Glu达到了119.64mg/g,其次为Ala和Asp。精的氨基酸总量为550.89mg/g。

2.5 脂肪酸组成分析结果

仿刺参卵和精的GC-MS图谱见图3、4,具体结果见表6。可知,仿刺参卵和精中不饱和脂肪酸含量丰富,其含量分别为73.22g/100g和62.61g/100g,其中,EPA含量最高,分别为15.98g/100g和15.27g/100g。EPA、DHA同属n-3系列不饱和脂肪酸,此系列脂肪酸具有抗凝血、降血压、降血脂、提高免疫力、抗肿瘤等作用,同时也

是大脑及中枢神经系统的结构成分,具有重要的生理功能^[17]。另外,仿刺参卵中棕榈酸的含量远高于仿刺参精,达到15.3g/100g。

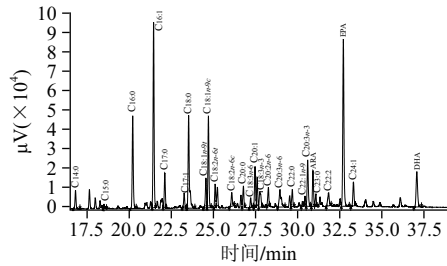


图3 仿刺参卵脂肪酸GC-MS图谱

Fig.3 GC-MS of fatty acids in *Apostichopus japonica* spawn

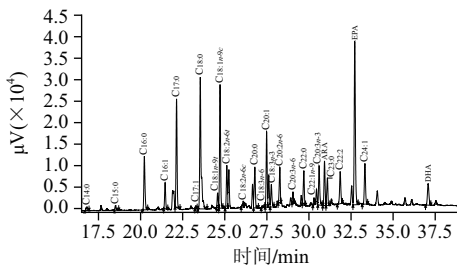


图4 仿刺参精脂肪酸GC-MS图谱

Fig.4 GC-MS of fatty acid in *Apostichopus japonica* sperm

表6 仿刺参生殖腺的脂肪酸组成

Table 6 Fatty acid composition of *Apostichopus japonica* gonad

脂肪酸	仿刺参卵	仿刺参精
肉豆蔻酸C _{14:0}	1.61±0.02	0.45±0.01
十五烷酸C _{15:0}	0.44±0.01	0.54±0.03
软脂酸C _{16:0}	8.01±0.04	4.85±0.11
棕榈酸C _{16:1}	15.30±1.32	2.13±0.15
珠光脂酸C _{17:0}	2.97±0.05	8.76±0.23
十七碳一烯酸C _{17:1}	1.31±0.03	0.20±0.00
硬脂酸C _{18:0}	9.55±0.71	13.84±1.25
反油酸C _{18:1n-7}	2.71±0.43	1.14±0.04
油酸C _{18:1n-9c}	7.71±0.62	10.10±0.54
反亚油酸C _{18:2n-6t}	1.96±0.08	3.61±0.21
亚油酸C _{18:2n-6c}	1.39±0.23	0.62±0.03
花生酸C _{20:0}	1.84±0.01	3.72±0.25
γ-亚麻酸C _{18:3n-6}	0.90±0.02	0.24±0.01
二十碳一烯酸C _{20:1}	3.48±0.52	6.11±0.44
α-亚麻酸C _{18:3n-3}	2.14±0.03	2.10±0.01
二十碳二烯酸C _{20:2n-6}	1.61±0.06	2.85±0.11
二十碳三烯酸C _{20:3n-6}	2.79±0.41	0.76±0.03
山嵛酸C _{22:0}	1.46±0.01	2.74±0.02
芥子酸C _{22:1n-9}	0.38±0.00	0.51±0.01
二十碳三烯酸C _{20:3n-3}	4.26±0.24	3.62±0.26
花生四烯酸(ARA)C _{20:4n-6}	3.11±0.52	3.79±0.41
二十三烷酸C _{23:0}	0.90±0.01	2.50±0.14
二十二碳二烯酸C _{22:2}	1.60±0.07	3.13±0.31
二十碳五烯酸(EPA)C _{20:5n-3}	15.98±1.07	15.27±1.31
鲨油酸C _{24:1}	2.24±0.14	3.85±0.18
二十二碳六烯酸(DHA)C _{22:6n-3}	4.36±0.52	2.60±0.12
不饱和脂肪酸	73.22±0.85	62.61±0.92
饱和脂肪酸	26.78±0.32	37.39±0.95

2.6 常见矿质元素分析结果

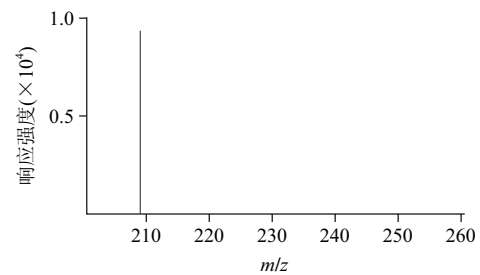
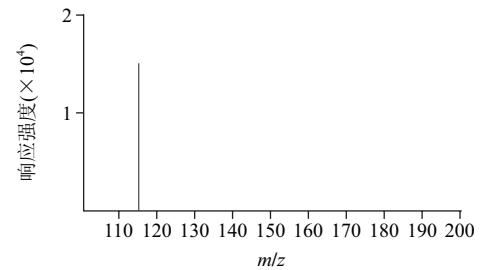
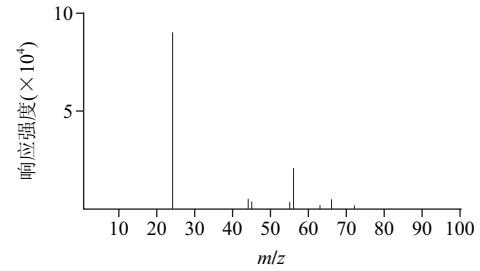
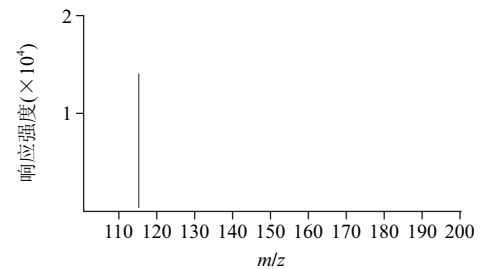
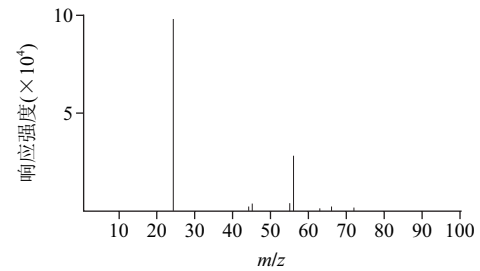


图5 仿刺参卵ICP-MS谱图

Fig.5 ICP-MS of *Apostichopus japonica* spawn



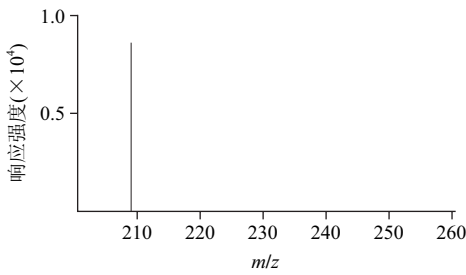


图6 仿刺参精ICP-MS谱图

Fig.6 ICP-MS of *Apostichopus japonica* sperm

表7 仿刺参生殖腺的矿质元素组成

Table 7 Mineral element composition of *Apostichopus japonica* gonad

矿质元素	mg/kg	
	仿刺参卵	仿刺参精
Mg	4269±72.57	5390±77.62
Ca	3800±39.9	2079±31.19
Mn	21.36±0.41	28.15±0.76
Fe	83.87±1.48	139.6±1.19
Cu	6.88±0.15	5.2±0.15
Zn	142.4±1.35	75.29±1.37
Se	9.72±0.16	12.65±0.25
V	0.26±0.02	0.35±0.02

海参精、卵的ICP-MS图谱见图5、6，具体结果见表7。由表7可知，在仿刺参卵和精当中矿质元素Mn、Cu、Se、V含量相差不大，而Mg、Fe在仿刺参精中的含量高于仿刺参卵，仿刺参卵中Ca、Zn在仿刺参卵当中的含量要显著高于仿刺参精。

3 结 论

仿刺参卵营养素种类齐全均衡，粗蛋白含量超过50g/100g，粗多糖含量高达26.98g/100g，粗脂肪含量达到10.18g/100g左右，而其中多以磷脂形式存在，脂肪酸组成中不饱和脂肪酸含量达到73.22g/100g，氨基酸组成中必需氨基酸含量达到180mg/g，其矿质元素Ca、Zn的含量明显高于仿刺参精。仿刺参精同样含有各种营养素，但不够均衡，其粗蛋白含量高达74.31g/100g，氨基酸总量及必需氨基酸含量都高于卵，矿质元素Mg、Fe的含量也较高。仿刺参生殖腺营养素的组成及含量应该与其特定的生理功能密切相关，卵是雌性生殖细胞，将为受精卵的发育提供各种必需的营养素，故其所含营养素

种类齐全，含量均衡，可作为珍贵材料用来开发高品质营养品。海参中含有的营养素往往具有良好的生物学活性，如海参岩藻聚糖具有抗肿瘤活性^[18]及保护胃黏膜的作用^[19]，海参皂苷具有降脂效果^[20]等。在对海参生殖腺进行营养成分分析的基础上，对生殖腺进行活性物质的提取分离及生物活性研究是下一步的研究方向。

参考文献:

[1] 苏秀榕, 姜永江, 常亚青, 等. 海参的营养成分及海参多糖的抗肿瘤活性的研究[J]. 营养学报, 2003, 25(2): 181-182.

[2] SUN Weihong, LENG Kailiang, LIN Hong, et al. Analysis and evaluation of chief nutrient composition in different parts of *Stichopus japonicus*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2010, 22(1): 212-220.

[3] 向怡卉, 苏秀榕, 董明敏. 海参体壁及消化道的氨基酸和脂肪酸分析[J]. 水产科学, 2006, 25(6): 280-282.

[4] 崔凤霞. 海参胶原蛋白生化性质及胶原肽活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.

[5] 盛文静, 薛长湖, 赵庆喜, 等. 不同海参多糖的化学组成分析比较[J]. 中国海洋药物杂志, 2007, 26(1): 44-49.

[6] 王静, 张京楼, 王铎喜, 等. 海参多肽的抗氧化性能研究[J]. 食品与机械, 2010, 26(2): 67-71.

[7] 向怡卉, 苏秀榕, 董明敏, 等. 复合蛋白酶水解海参生殖腺工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(3): 143-146.

[8] 赵鸿霞, 周大勇, 秦磊, 等. 响应面法优化海参卵酶解工艺[J]. 食品与机械, 2010, 26(5): 114-117.

[9] 曹荣, 刘淇, 殷邦忠. 响应面法优化海参性腺酶解工艺的研究[J]. 食品科学, 2012, 33(2): 29-33.

[10] 王共明, 张健, 王茂剑, 等. 仿刺参卵酶解工艺条件优化[J]. 食品科学, 2012, 33(23): 193-198.

[11] 李树立, 鞠国泉, 李会旋, 等. 食品中磷脂测定方法的探讨[J]. 食品工业科技, 2004, 25(9): 133-134.

[12] 严成, 严夏. 枸杞多糖提取工艺比较及体外抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 183-187.

[13] 钟建平, 钟春燕, 赵道辉, 等. 苯酚硫酸比色法测定保健食品多糖的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2001, 11(6): 675.

[14] 孙燕军, 朱振凯. 卵磷脂在水产动物营养中的作用和饲料中的应用[J]. 水产科技情报, 2004, 31(2): 73-75.

[15] 杨海明, 杨筱慧, 蒋晓敏. 河蟹(*Eriocheir sinensis*)体内卵磷脂含量与死亡、产卵的关系[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2006, 29(1): 70-73.

[16] CHEN Shiguo, XUE Changhu, YIN Li'ang, et al. Comparison of structures and anticoagulant activities of fucosylated chondroitin sulfates from different sea cucumbers[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(2): 688-696.

[17] CALDER P C, YAQOUB P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and human health outcomes[J]. Biofactors, 2009, 35(3): 266-272.

[18] 张珂, 王静凤, 徐雷, 等. 海地瓜和冰岛刺参岩藻聚糖硫酸酯抗肿瘤作用的比较研究[J]. 食品科学, 2012, 33(7): 251-255.

[19] 刘艳青, 李国云, 高焱, 等. 海参硫酸软骨素对大鼠酒精性胃溃疡的保护作用[J]. 食品科学, 2012, 32(19): 201-204.

[20] 胡晓倩, 王玉明, 任兵兴, 等. 海参主要活性成分对大鼠脂质代谢影响的比较研究[J]. 食品科学, 2009, 30(23): 393-396.