

# 高效液相色谱-蒸发光散射法分析海参脑苷脂和神经酰胺的含量

贾子才, 徐杰\*, 宋雨, 李兆杰, 薛长湖

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 青岛 266003)

**摘要:** **目的** 建立了一种高效液相色谱-蒸发光散射检测方法(high performance liquid chromatography coupled with evaporative light-scattering detection, HPLC-ELSD)同时分析海参中脑苷脂和神经酰胺含量的方法。

**方法** 以TSKgel CN-80Ts柱为分离柱, 正己烷-异丙醇-二氯甲烷-甲醇为流动相, 采用梯度洗脱方式, 流速1.0 mL/min, 漂移管温度50 °C, 氮气流速2.4 L/min。**结果** 在优化条件下, 18 min内完成分离, 脑苷脂的线性范围为2.5~250 µg/mL, 检出限为0.5 µg/mL( $S/N=3$ ), 相关系数 $R>0.99$ , 神经酰胺的线性范围为5~150 µg/mL, 检出限为0.05 µg/mL( $S/N=3$ ), 相关系数 $R>0.99$ , 方法稳定性良好; 不同种海参中脑苷脂和神经酰胺含量存在较为明显的差异, 含量范围分别为0~4.44 mg/g和0.24~2.21 mg/g。其中, 猪参的脑苷脂含量最高为4.44 mg/g, 而白底靴参的脑苷脂未能检出。阿拉斯加红参的神经酰胺含量最高为2.21 mg/g, 而海地瓜神经酰胺含量最少。**结论** 所建立的方法灵敏、准确、快速, 可应用于食品中脑苷脂和神经酰胺的同时定量分析。

**关键词:** 高效液相色谱法; 蒸发光散射检测法; 神经酰胺; 脑苷脂; 海参

## Simultaneous quantitative analysis of cerebroside and ceramide from sea cucumbers by high performance liquid chromatography coupled with evaporative light-scattering detection coupled with evaporative light-scattering detection

JIA Zi-Cai, XU Jie\*, SONG Yu, LI Zhao-Jie, XUE Chang-Hu

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

**ABSTRACT: Objective** To establish a high performance liquid chromatography coupled with evaporative light-scattering detection (HPLC-ELSD) method for analyzing the contents of cerebroside and ceramide simultaneously in sea cucumbers. **Methods** The separation was performed on a TSK gel CN-80Ts column by using *n*-hexane-isopropanol-dichloromethane-methanol as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min. The temperature of drift tube was kept at 50 °C and the flow rate of nitrogen was 2.4 L/min. Seventeen sea cucumber species were selected as experimental subjects. **Results** Under optimal conditions, effective separation of cerebroside and ceramide was completed within 18 min. The linear range of the established cerebroside calibration curve was 2.5~250 µg/mL, and the limit of detection was 0.5 µg/mL with a regression

基金项目: 国家自然科学基金项目(31201329)、海洋公益性行业科研专项(201105029)、国家科技支撑计划项目(2012BAD33B07)

**Fund:** Supported by the National Natural Science Foundation of China (31201329), the Special Fund for Marine Scientific Research in the Public Interest (201105029) and the National Science and Technology Support Plan (2012BAD33B07)

\*通讯作者: 徐杰, 副教授, 博士, 主要研究方向为水产化学。E-mail: xujie9@ouc.edu.cn

\*Corresponding author: XU Jie, Associate Professor, College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, No. 5, Yushan Road, Qingdao 266003, China. E-mail: xujie9@ouc.edu.cn

correlation coefficient of 0.99. Meanwhile, the linear range of the established ceramides calibration curve was 5~150  $\mu\text{g/mL}$ , and the limit of detection was 0.05  $\mu\text{g/mL}$  with a regression correlation coefficient of 0.99. There were obvious difference in cerebroside and ceramides among these sea cucumber species. The cerebroside content of *Bohadschia marmorata* was the highest, which was up to 4.44 mg/g, in contrast, that of *Actinopyga mauritiana* could not be detected. As for ceramides, the content of *Parastichopus californicus* was the highest, which was up to 2.21 mg/g, in contrast, *Acaudina molpadioides* had the lowest content. **Conclusion** The established method can provide essential data for development and utilization of sea cucumbers, which is sensitive, accurate and fast.

**KEY WORDS:** high performance liquid chromatography; evaporative light-scattering detection; ceramides; cerebroside; sea cucumber

## 1 引言

海参是棘皮动物门(*Echinodermata*)海参纲(*Holothuroidea*)动物的总称,自古就因其较高的食用和药用价值而被列为“八珍”之首。海参中的鞘脂类主要为脑苷脂和神经酰胺,人们每日摄入的鞘脂类主要也是脑苷脂、神经酰胺和鞘磷脂,食物来源的脑苷脂和神经酰胺是对人类健康十分重要的营养成分<sup>[1]</sup>。目前关于鞘脂类的研究主要集中在陆生生物和微生物<sup>[2-4]</sup>,海洋食品中鞘脂类含量的测定研究较少。神经酰胺,即N-脂酰神经鞘氨醇,其结构特征表现为鞘氨醇部分多存在不饱和双键,是一种广泛存在于真核生物细胞中的信号传导物质,作为一种脂质分子以细胞膜的结构组成成分或胞内自由分子形式存在<sup>[5,6]</sup>。脑苷脂又称酰基鞘氨醇己糖苷,是一种中性的鞘糖脂,存在于细胞膜中的内源性活性化合物,由神经酰胺连接一分子的己糖构成,是由神经酰胺通过C-1位上羟基与己糖通过 $\beta$ 糖苷键连接而成,属于神经鞘脂类<sup>[7]</sup>。其结构按其糖基组成可分为葡萄糖脑苷脂(*glucosylceramide*, *GlcCer*)、半乳糖脑苷脂(*galactocerebroside*, *GalCer*)和胆碱磷酸脑苷脂三类,但通常脑苷脂泛指*GlcCer*和*GalCer*。

近年来,对于脑苷脂和神经酰胺的生物学活性研究逐渐深入。有研究表明,海参脑苷脂和神经酰胺具有多方面的生物活性,如抗肿瘤<sup>[8,9]</sup>、免疫调节<sup>[10,11]</sup>、抗菌抗病毒<sup>[12,13]</sup>、调控细胞生长及凋亡<sup>[14]</sup>、神经保护<sup>[15]</sup>、缓解肝硬化<sup>[16]</sup>等。海地瓜神经酰胺脂质体可显著抑制S-180细胞的增殖活性,且呈现出时间和剂量效应关系;海参脑苷脂和海星脑苷脂对于氧化损伤的PC12有保护作用<sup>[17]</sup>。

有关脑苷脂和神经酰胺的定量检测方法报道不多,主要有高效薄层色谱法(UPTLC)<sup>[19,20]</sup>和高效液相色谱法(HPLC)<sup>[21,22]</sup>。其中,有先经水解使神经酰胺变成鞘氨醇,再用萘-2,3-二醛衍生,采用反相高效液相色谱法测定了鼠血中神经酰胺的含量的研究报道<sup>[21]</sup>;徐杰等<sup>[23]</sup>利用高效液相色谱-蒸发光散射检测方法(*high performance liquid chromatography coupled with evaporative light-scattering detection*, HPLC-ELSD)测定了水产品中脑苷脂的含量,但是未能同时测定水产品中神经酰胺的含量。本文以不同产地、不同品种的海参为原料,利用HPLC-ELSD法同时测定了不同海参的脑苷脂和神经酰胺的含量,相对于UPTLC和HPLC而言,实现了不同海参中脑苷脂和神经酰胺快速灵敏的定量分析,为海参鞘脂类物质的营养价值研究和开发提供重要的数据支撑。

## 2 材料和方法

### 2.1 实验原料

革皮氏海参(*Pearsonothuria graeffei*)、墨西哥参(*Holothuria mexicana*)、猪参(*Bohadschia marmorata*)、美国肉参(*Isostichopus badionotus*)、白乳参(*Bohadschia argus*)、白底靴参(*Actinopyga mauritiana*)、叶瓜参(*Cucumaria frondosa*)、梅花参(*Thelenota ananas*)、海地瓜(*Acaudina molpadioides*)、秃参(*Holothurim scabras*)、阿拉斯加红参(*Parastichopus californicus*)、仿刺参(*Apostichopus japonicus*,产地:蓬莱、牟平、威海、温州、獐子岛、大连)等海参干品,购自青岛市南山市场。

### 2.2 试剂和材料

半乳糖脑苷脂(来源于牛脑)和神经酰胺(来源于

牛脊髓)对照品(美国 Sigma 公司), 结构见图 1; 二氯甲烷、甲醇、正己烷、异丙醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 其他试剂均为国产分析纯; 实验用水均为实验用水均为 Milli Q 超纯水; TSKgel CN-80Ts 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)(日本 TOSOH 公司)。



图 1 半乳糖脑苷脂和神经酰胺对照品结构图

Fig. 1 The structures of GalCer and ceramide reference substances

## 2.3 仪器与设备

1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); 2000ES 型 ELSD 检测器(法国 Alltech 公司); Elix5+Milli-QA 超纯水系统(美国 Millipore 公司); FZ102 粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司); AL204 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); T10 basic 分散机(德国 IKA 公司); SB5200D 超声波清洗机(宁波新芝生物科技有限公司); TDL-5-A 低速大容量离心机(上海安亭科学仪器厂); DTU-1C 氮吹仪(日本 TAITEC 公司)。

## 2.4 实验方法

### 2.4.1 色谱条件

流动相 A: 正己烷: 异丙醇(99:1, v:v), 流动相 B: 二氯甲烷: 甲醇(60:40, v:v); 色谱柱: TSKgel CN-80Ts(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 柱温: 40 °C; 流速: 1 mL/min; 梯度洗脱(洗脱程序见表 1)。蒸发光散射检测器: 雾化气为氮气, 流速 2.4 L/min, 漂移管温度 50 °C; 进样量: 20 μL。

表 1 梯度洗脱程序表

Table 1 Adjustable gradient elution program

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	100	0
12	60	40
15	40	60
17	40	60
18	100	0

### 2.4.2 混合对照品溶液的配制

准确称取半乳糖脑苷脂和神经酰胺对照品适量, 分别加入甲醇溶解、定容, 配制成 500 μg/mL 的混合对照品储备液。吸取上述混合对照品储备液, 使用甲醇逐级稀释, 得到 2.5、5、25、50、100、150、250 μg/mL 系列混合对照品溶液。其他浓度混合对照品溶液的配制方法同上。4 保存备用。

### 2.4.3 样品溶液的配制

每种海参各取 3 只, 将每只海参粉碎为干粉(100~200 目)后, 单独收集。准确称取每只海参干粉约 0.1 g(精确度至  $1 \times 10^{-5}$  g)。分别加入 6 mL 的氯仿: 甲醇(2:1, v:v)匀浆 2 min, 超声浸提 15 min, 过滤, 反复浸提 3 遍。滤液氮吹至干, 加入 1 mL 水超声成乳浊液, 每次加入 2 mL 正己烷萃取, 共萃取 3 遍, 有机相合并收集用氮气吹干。再加入 100 μL 的 4 mol/L 氢氧化钾溶液以及 1.0 mL 甲醇, 放于 37 °C 水浴锅中皂化 1 h, 再分散于 0.8 mL 水中, 使用 2 mL 氯仿萃取, 萃取 3 遍, 有机相用氮气浓缩至干, 得到海参脂质粗提物, 加入色谱级甲醇溶解并定容至 10 mL。取 2.0 mL 样品溶液用 0.22 μm 有机滤膜过滤后, 待 HPLC-ELSD 分析。

## 2.5 方法学考察

### 2.5.1 线性范围及检出限

吸取 2.5~250 μg/mL 不同浓度的混合对照品溶液各 20 μL, 按 2.4.1 方法测定, 记录色谱峰面积。以混合对照品浓度的自然对数值( $\ln X$ )为横坐标, 以峰面积的自然对数值( $\ln Y$ )为纵坐标, 绘制标准曲线。得出对照品的回归方程、线性范围及检出限。

### 2.5.2 精密度

取 25 μg/mL 的混合对照品溶液, 按 2.4.1 方法测定, 连续测定 6 次, 记录其峰面积并计算相对标准偏差(RSD)值。

### 2.5.3 稳定性

取 25 μg/mL 的混合对照品溶液, 按 2.4.1 方法测定, 于 12 h 内每 2 h 测定一次, 记录其峰面积并计算相对标准偏差(RSD)值。

### 2.5.4 回收率

精确称取 18 份已测定出脑苷脂和神经酰胺含量的海参干粉各 0.1 g(精确度至  $1 \times 10^{-5}$  g), 分别平行加入 6 份低、中、高质量浓度(5、50、200 μg/mL)的混合对照品溶液各 2 mL, 再分别加入 4 mL 氯仿, 其余按 2.4.3 的方法操作, 制得 18 份 10 mL 加标样品溶

液。按 2.4.1 色谱条件测定, 3 个加标水平的混合对照品溶液的平均回收率和 RSD。

### 2.5.5 样品中脑苷脂和神经酰胺含量的测定

取 2.4.3 的样品溶液各 20  $\mu\text{L}$ , 按 2.4.1 色谱条件测定海参样品中脑苷脂和神经酰胺的含量。采用外标法根据峰面积分别计算各物质的含量。

## 2.6 统计分析方法

所有试验数据用 SPSS 19.0 进行分析, 采用 Duncan 多重比较对数据之间的显著性进行对比。

## 3 结果与讨论

### 3.1 色谱条件的优化

由于所研究的脑苷脂和神经酰胺均为两性化合物, 因此可采用正相和反相两种色谱法进行分析。本实验筛选 ZORBAX SB-C18 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、TSKgel CN-80Ts (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、ZORBAX Rx-SIL (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 3 种不同类型的色谱柱。其中, ZORBAX SB-C18 以 98% 的甲醇-水为流动相, 分析 GalCer 和神经酰胺对照品, 发现峰形复杂, 无法确定目标峰的位置; ZORBAX Rx-SIL 为正相柱, 以正己烷-异丙醇-二氯甲烷-甲醇为流动相, 峰形明显改善, 但在目标峰左右两侧各出现一未知峰, 影响到积分计算。最后, 确定出基线平稳、分离效果最佳的 TSKgel CN-80Ts 柱作为分析用柱。

选择 3 种不同溶剂系统组成的流动相对样品进行分析, 即正己烷-四氢呋喃-甲醇-甲基叔丁基醚(溶剂系统)、正己烷-四氢呋喃-氯仿-乙醇(溶剂系统)、正己烷-异丙醇-二氯甲烷-甲醇(溶剂系统)、从而优化出最佳的流动相组成。使用溶剂系统时, 溶剂峰与样品峰重合, 并且分析时间较长; 而使用溶剂系统时, 基线噪音过大, 只有使用溶剂系统时符合分离要求, 因此本实验选用溶剂系统作为流动相。

由于脑苷脂的紫外吸收比较弱, 不适合采用紫外检测器测定。示差折光检测器对工作环境要求很苛刻, 要求恒温、恒流速, 且无法采用梯度洗脱, 检测

灵敏度也不够高。ELSD 检测器能对无紫外或紫外末端吸收的大分子有机化合物进行检测, 且不受溶剂的影响, 是神经酰胺和脑苷脂含量测定的理想检测器。漂移管温度和雾化气体流量是影响 ELSD 目标峰响应值的两个重要因素。经过反复实验, 最终选择 ELSD 的碰撞器关闭、漂移管温度 50、雾化气为氮气、流速 2.4 L/min。

### 3.2 标准曲线、线性范围及检出限

吸取 2.5~250  $\mu\text{g/mL}$  不同浓度混合对照品溶液各 20  $\mu\text{L}$ , 按 2.4.1 方法测定, 记录峰面积。对于 ELSD 检测器, 浓度跟峰面积不成线性, 分别取自然对数后成线性。根据结果绘制标准曲线, 横坐标为混合对照品浓度的自然对数值( $\ln X$ ), 纵坐标为峰面积的自然对数值( $\ln Y$ )。结果见图 2 和表 2。

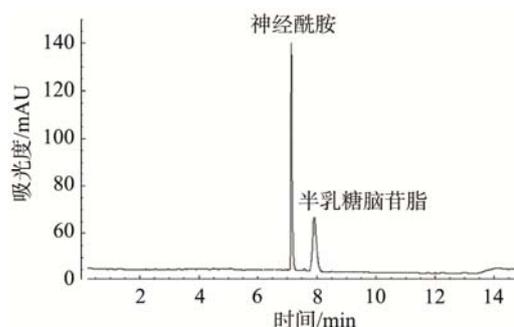


图 2 混合对照品对照品的 HPLC-ELSD 色谱图(25  $\mu\text{g/mL}$ )

Fig. 2 HPLC-ELSD chromatogram of mixed reference solution(25  $\mu\text{g/mL}$ )

图 2 显示, 半乳糖脑苷脂和神经酰胺对照品的峰形好, 实现了良好的分离, 且分析时间短, 可以用于两者含量的同时测定。表 2 表明, 半乳糖脑苷脂和神经酰胺对照品标准曲线的线性相关系数均大于 0.99, 说明在线性范围内对照品浓度的对数和峰面积的对数呈正相关, 满足分析要求, 且半乳糖脑苷脂和神经酰胺对照品的检出限分别为 0.5  $\mu\text{g/mL}$  和 0.05  $\mu\text{g/mL}$ , 具有较高的灵敏度。

表 2 混合对照品的回归方程及检出限

Table 2 Regressing equation and detection limit of mixed reference solution

鞘脂种类	线性范围( $\mu\text{g/mL}$ )	线性方程	R	检出限( $\mu\text{g/mL}$ ) ( $S/N=3$ )
半乳糖脑苷脂	2.5~250	$\ln Y = 1.848 \ln X + 1.153$	0.999	0.5
神经酰胺	5~150	$\ln Y = 1.1829 \ln X + 7.4665$	0.994	0.05

### 3.3 精密度

取 25  $\mu\text{g/mL}$  的混合对照品溶液, 按方法 2.5.2, 计算得半乳糖脑苷脂和神经酰胺对照品的 RSD 分别为 3.33% 和 5.49%。说明仪器精密度良好, 可以满足分析要求。

### 3.4 稳定性

取 25  $\mu\text{g/mL}$  的混合对照品溶液, 按方法 2.5.3 计算得半乳糖脑苷脂和神经酰胺对照品的 RSD 值分别为 1.92% 和 2.31%。说明样品在 12 h 内稳定, 满足分析要求。

### 3.5 回收率

按照 2.5.4 的方法, 计算得三个加标水平的脑苷脂和神经酰胺的平均回收率分别为 93.83% 和 94.58%, RSD 分别为 4.93% 和 3.12%。结果见表 3。

表 3 方法回收率实验结果( $n=6$ )

Table 3 Recovery rate for cerebroside and ceramides in sea cucumber( $n=6$ )

化合物	样品 基质 ( $\mu\text{g/mL}$ )	加标浓度( $\mu\text{g/mL}$ )			平均回 收率 (%)	RSD(%)
		1	10	40		
脑苷脂	40.53	41.42	49.96	79.82	93.83	4.93
神经酰胺	16.46	17.37	26.14	54.75	94.58	3.12

### 3.6 样品测定

将 2.4.3 中制得的样品溶液取 20  $\mu\text{L}$ , 按 2.4.1 色谱条件测定各海参样品中脑苷脂和神经酰胺的含量, 结果见图 3(以猪参为例)通过外标法利用峰面积计算, 结果见表 4。

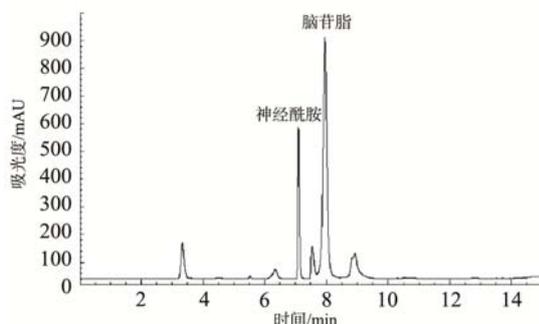


图 3 猪参样品中脑苷脂和神经酰胺的 HPLC-ELSD 色谱图

Fig. 3 HPLC-ELSD chromatogram of cerebroside and ceramides from sea cucumber *Bohadschia marmorata*

以猪参为代表, 列出了其脑苷脂和神经酰胺的 HPLC-ELSD 色谱图, 根据标准品的保留时间, 判定样品中脑苷脂和神经酰胺的样品峰, 并通过峰面积计算出各组分含量。色谱图显示样品中脑苷脂和神经酰胺分离效果好。

不同种海参样品中两种鞘脂成分的含量见表 4。结果表明不同种类海参中脑苷脂含量存在较为明显的差异, 其中猪参的脑苷脂含量最高为 4.44  $\text{mg/g}$ , 而白底靴参的含量极低, 未能检出。不同种类海参中神经酰胺含量也存在较为明显的差异, 其中阿拉斯加红参的神经酰胺含量最高为 2.21  $\text{mg/g}$ , 而海地瓜含量最低。其中, 革皮氏海参、美国肉参、白乳参、叶瓜参、梅花参、海地瓜等六种海参的脑苷脂含量与徐杰等<sup>[23]</sup>所测的结果无明显差异。Sugawara 等<sup>[24]</sup>报道了 48 种日本产的可食植物中脑苷脂的含量, 经对比, 植物中脑苷脂含量远远低于海参中脑苷脂的含量。

近年来, 随着人民生活水平的提高和保健意识的增强, 海参的营养保健作用得到了广泛重视, 已成为我国重要的经济水产品。相比于其他经济作物, 海参中脑苷脂含量丰富。不同海参中的脑苷脂和神经酰胺含量各异, 总体上神经酰胺的含量低于脑苷脂的含量, 且二者含量不存在明显的相关性。此外, 靴参中不含脑苷脂, 但含有少量的神经酰胺; 叶瓜参脑苷脂高于仿刺参, 但神经酰胺比蓬莱、獐子岛等地的仿刺参含量低。从种类看, 刺参科海参与海参科海参与在脑苷脂和神经酰胺含量上没有高低之分, 具体含量还与海参的生长环境、生长方式等有关; 从种属看, 同属于白尼参科的猪参和白乳参的脑苷脂的含量差异极其显著( $P<0.001$ ), 神经酰胺含量有显著差异( $P<0.05$ )。本文共测定了六种不同产地的仿刺参的脑苷脂和神经酰胺的含量, 可知不同产地仿刺参的脑苷脂和神经酰胺含量存在差异。温州仿刺参的脑苷脂的含量与和神经酰胺含量与其他北方仿刺参相比存在极其显著的差异( $P<0.001$ )。此外蓬莱仿刺参和牟平仿刺参虽属同一海域, 但在脑苷脂和神经酰胺含量上也有明显差异( $P<0.001$ ), 推测可能是由于生长方式等情况造成; 从地域分布看, 阿拉斯加红参和叶瓜参同属于寒带水域生长, 脑苷脂和神经酰胺含量均较高, 可能因其生长环境温度低, 压强大, 生长周期长从而导致营养成分的富集, 而属于热带海域的几种海参如

表 4 不同种类海参中脑苷脂和神经酰胺的含量  
Table 4 The contents of cerebrosides and ceramides from different sea cucumber species

样品编号	种属	海参名称	脑苷脂含量 (mg/g)	神经酰胺含量 (mg/g)	总含量 (mg/g)
1	海参科	蓬莱仿刺参	2.82±0.08	1.52±0.01	4.34
2		牟平仿刺参	1.88±0.27	1.27±0.02	3.15
3		威海仿刺参	2.23±0.12	1.21±0.04	3.44
4		辽宁盘锦仿刺参	1.79±0.04	1.57±0.02	3.36
5		獐子岛仿刺参	2.15±0.05	1.46±0.03	3.61
6		温州仿刺参	1.27±0.04	0.89±0.06	2.16
7		美国肉参	3.96±0.23	1.58±0.09	5.54
8		梅花参	0.72±0.02	0.36±0.01	1.08
9		阿拉斯加红参	3.94±0.04	2.21±0.13	6.15
10		墨西哥参	1.04±0.02	0.87±0.06	1.91
11	刺参科	白乳参	0.78±0.01	0.66±0.05	1.44
12		猪参	4.44±0.10	1.92±0.27	6.36
13		革皮氏海参	1.28±0.04	0.92±0.05	2.20
14		靴参	n.d.	0.46±0.02	0.46
15		秃参	2.02±0.01	1.05±0.11	3.07
16	瓜参科	叶瓜参	4.05±0.17	1.38±0.12	5.43
17	尻参科	海地瓜	0.42±0.02	0.24±0.01	0.66

注: n.d. 为未检出。

白乳参、梅花参的脑苷脂和神经酰胺含量普遍较低;靴参被认为是品质较好的海参,但经检测其脑苷脂含量低于检出限,未能检出,远低于某些低值海参如海地瓜中含量,这为低值海参的高值化利用提供了理论依据。

#### 4 结 论

本文建立了一种对不同海参脑苷脂和神经酰胺同时定量的 HPLC-ELSD 方法,该方法简便、快速、灵敏、准确,能够满足定量分析的要求。结果表明,不同种海参中脑苷脂和神经酰胺含量存在较为明显的差异,与海参的种类、生长环境、生长方式等存在相关性,为后续海参鞘脂类物质的营养价值研究和产品开发提供重要的数据支撑。该方法的建立为水产品鞘脂类的开发利用奠定了基础。同时,该方法也可以应用于其他食品中脑苷脂和神经酰胺含量的同时定量分析。

#### 参考文献

- [1] Zhang K, Showalter M, Revollo J, *et al.* Sphingolipids are essential for differentiation but not growth in *Leishmania* [J]. *EMBO J*, 2003, 22(22): 6016–6026.
- [2] Vesper H, Schmelz EM, Nikolova-Karakashian MN, *et al.* Sphingolipids in food and the emerging importance of sphingolipids to nutrition [J]. *J Nutr*, 1999, 129(7): 1239–1250.
- [3] Wennekes T, Van Den Berg RJ, Boot RG, *et al.* Glycosphingolipids—nature, function, and pharmacological modulation [J]. *Angew Chem Int Ed Eng*, 2009, 48(47): 8848–8869.
- [4] Sugawara T, Miyazawa T. Separation and determination of glycolipids from edible plant sources by high-performance liquid chromatography and evaporative light-scattering detection [J]. *Lipids*, 1999, 34(11): 1231–1237.
- [5] Hakomori SI. Glycosphingolipids in cellular interaction, differentiation, and oncogenesis [J]. *Annu Rev Biochem*, 1981, 50(1): 733–764.
- [6] Spiegel S, Merrill A. Sphingolipid metabolism and cell growth

- regulation [J]. *FASEB J*, 1996, 10(12): 1388–1397.
- [7] Koynova R, Caffrey M. Phases and phase transitions of the sphingolipids [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1255(3): 213–236.
- [8] Xu J, Guo S, Du L, *et al.* Isolation of cytotoxic glucocerebrosides and long-chain bases from sea cucumber *Cucumaria frondosa* using high speed counter-current chromatography [J]. *J Oleo Sci*, 2012, 62(3): 133–142.
- [9] Oku H, Li C, Shimatani M, *et al.* Tumor specific cytotoxicity of  $\beta$ -glucosylceramide: structure–cytotoxicity relationship and anti-tumor activity *in vivo* [J]. *Cancer Chem Pharm*, 2009, 64(3): 485–496.
- [10] Margalit M, Shalev Z, Pappo O, *et al.* Glucocerebroside ameliorates the metabolic syndrome in OB/OB mice [J]. *J Pharm Exp Ther*, 2006, 319(1): 105–110.
- [11] Zigmund E, Preston S, Pappo O, *et al.*  $\beta$ -Glucosylceramide: a novel method for enhancement of natural killer T lymphocyte plasticity in murine models of immune-mediated disorders [J]. *Gut*, 2007, 56(1): 82–89.
- [12] Mizrahi M, Lalazar G, Ben Ya'acov A, *et al.*  $\beta$ -Glycoglycosphingolipid-induced augmentation of the anti-HBV immune response is associated with altered CD8 and NKT lymphocyte distribution: a novel adjuvant for HBV vaccination [J]. *Vaccine*, 2008, 26(21): 2589–2595.
- [13] Mbosso EJT, Ngouela S, Nguedia JCA, *et al.* Spathoside, a cerebroside and other antibacterial constituents of the stem bark of *Spathodea campanulata* [J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(4): 296–304.
- [14] Uchida Y, Murata S, Schmuth M, *et al.* Glucosylceramide synthesis and synthase expression protect against ceramide-induced stress [J]. *J Lipid Res*, 2002, 43(8): 1293–1302.
- [15] Wang RF, Wu XW, Di G. Two cerebroside isolated from the seeds of *Sterculia lychnophora* and their neuroprotective effect [J]. *Molecules*, 2013, 18(1): 1181–1187.
- [16] Zhang B, Xue CH, Hu XQ, *et al.* Dietary sea cucumber cerebroside alleviates orotic acid-induced excess hepatic adipopexis in rats [J]. *Lipids Health Dis*, 2012, 11(1): 48.
- [17] 于横横, 徐杰, 冯婷玉, 等. 海地瓜中神经酰胺类化合物的分离鉴定及其活性研究[J]. *中国食品学报*, 2013, 13(5): 181–186.
- Yu JJ, Xu J, Feng TY, *et al.* Identification and vitro antitumor activity of ceramide in *Acaudina molpadioides* [J]. *J Chin Food Sci Technol*, 2013, 13(5): 181–186.
- [18] Wu FJ, Xue Y, Tang QJ, *et al.* The protective effects of cerebroside from sea cucumber and starfish on the oxidative damage in PC12 cells [J]. *J Oleo Sci*, 2013, 62(9): 717–727.
- [19] Counihan J, Zani P, Fried B, *et al.* Characterization and quantification of the polar lipids in the lizard *uta stansburiana* by HPTLC-densitometry [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2009, 32(9): 1289–1298.
- [20] Tamai Y, Kojima H, Saito S, *et al.* Characteristic distribution of glycolipids in gadoid fish nerve tissues and its bearing on phylogeny [J]. *J Lipid Res*, 1992, 33(9): 1351–1359.
- [21] He X, Dagan A, Gatt S, *et al.* Simultaneous quantitative analysis of ceramide and sphingosine in mouse blood by naphthalene-2,3-dicarboxyaldehyde derivatization after hydrolysis with ceramidase [J]. *Anal Biochem*, 2005, 340(1): 113–122.
- [22] Rombaut R, Dewettinck K, Van Camp J. Phospho-and sphingolipid content of selected dairy products as determined by HPLC coupled to an evaporative light scattering detector (HPLC–ELSD) [J]. *J Food Compost Anal*, 2007, 20(3): 30–312.
- [23] 徐杰, 薛长湖, 冯婷玉, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法分析水产品中神经酰胺的含量[J]. *食品科学*, 2011, 32(18): 286–290.
- Xu J, Xue CH, Feng TY, *et al.* Quantitative analysis of cerebroside in aquatic products by HPLC coupled with evaporative light-scattering detection [J]. *Food Sci*, 2011, 32(18): 286–290.
- [24] Sugawara T, Miyazawa T. Separation and determination of glycolipids from edible plant sources by high-performance liquid chromatography and evaporative light-scattering detection [J]. *Lipids*, 1999, 34(11): 1231–1237.

(责任编辑: 杨翠娜)

## 作者简介



贾子才, 硕士研究生, 主要研究方向为水产化学。  
E-mail: jzcouc@gmail.com



徐杰, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为水产化学。  
E-mail: xujie9@ouc.edu.cn