

高分辨质谱技术分析两地缢蛭的脂质差异性

张煜炯, 孙崇鲁, 杨颖欣, 岳军治, 周静峰*

(浙江药科职业大学食品学院, 宁波 315100)

摘要: **目的** 基于高分辨质谱技术对浙江象山和福建云霄两大主产地缢蛭的脂质差异性进行比较。**方法** 样品经培养后, 去壳、去胃进行冷冻干燥, 采用脂类提取法提取, 以 Hypersile Gold C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm) 色谱柱为分析柱, 甲醇/水(A)、甲醇/异丙醇(B)为流动相进行梯度洗脱分离, 采用四极杆静电场轨道阱高分辨质谱法对缢蛭脂质进行定性和半定量分析。**结果** 两大主产地缢蛭均检测到脂质 78 种, 潜在生物标记物由磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE)、磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)、磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)、神经酰胺氨基乙基亚磷酸(ceramide aminoethyl phosphite, CAEP)、甘油三酯(triglyceride, TAG)和甘油二酯(diglyceride, DAG)组成。浙江象山产地的缢蛭 PE (17:1-22:6, 15:1-22:6, 16:1-22:6, 17:1-18:4)、PI (20:3-20:5)和 DAG (18:4-18:4)含量为福建云霄产地的 2.55~9.11 倍; 福建云霄产地的缢蛭 DAG (16:0-16:0)、CAEP (d18:2-n16:0)和 PI (16:0-20:5)含量是浙江象山产地的 2.79~2.90 倍。**结论** 浙江象山和福建云霄产地的缢蛭存在脂质差异性, 为其产地鉴定提供重要依据。

关键词: 缢蛭; 脂类代谢物; 差异性; 超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱法; 浙江象山; 福建云霄

High resolution mass spectrometry analysis of lipid differences in *Sinonovacula constricta* from two regions

ZHANG Yu-Jiong, SUN Chong-Lu, YANG Ying-Xin, YUE Jun-Zhi, ZHOU Jing-Feng*

(School of Food, Zhejiang Pharmaceutical University, Ningbo 315100, China)

ABSTRACT: Objective To compare the differences in lipids of *Sinonovacula constricta* from 2 main producing areas of Xiangshan in Zhejiang and Yunxiao in Fujian based on high resolution mass spectrometry technology. **Methods** After the sample was cultured, the shell and stomach were removed for freeze-drying, and the lipid extraction method was used for extraction. Hypersile Gold C₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm) chromatographic column was regarded as the analysis column, and methanol/water (A) and methanol/isopropanol (B) was treated as the mobile phases for gradient elution separation. The lipids of *Sinonovacula constricta* were qualitatively and semi-quantitatively analyzed by quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry. **Results** The 78 kinds of lipids were detected in the *Sinonovacula constricta* from 2 main producing areas, potential biomarkers were composed of phosphatidyl ethanolamine (PE), phosphatidylinositol (PI), phosphatidylserine (PS), ceramide aminoethyl phosphate (CAEP), triglycerides (TAG), and diglycerides (DAG). The content of PE (17:1-22:6,

基金项目: 宁波市“科技创新 2025”重大专项(2019B10008)

Fund: Supported by the Ningbo City's "Science and Technology Innovation 2025" Major Special Fund (2019B10008)

*通信作者: 周静峰, 教授, 主要研究方向为功能食品研究开发。E-mail: zhoujf@zjpc.net.cn

*Corresponding author: ZHOU Jing-Feng, Professor, School of Food, Zhejiang Pharmaceutical University, 888 Yinxian Avenue, Yinzhou District, Ningbo 315100, China. E-mail: zhoujf@zjpc.net.cn

15:1-22:6, 16:1-22:6, 17:1-18:4), PI (20:3-20:5), and DAG (18:4-18:4) in the *Sinonovacula constricta* from Xiangshan area of Zhejiang was 2.55–9.11 times higher than that from the Yunxiao area of Fujian; while the content of DAG (16:0-16:0), CAEP (d18:2-n16:0), and PI (16:0-20:5) in the *Sinonovacula constricta* from Yunxiao area of Fujian were 2.79–2.90 times higher than those of Xiangshan area in Zhejiang. **Conclusion** There are lipid differences between *Sinonovacula constricta* from Xiangshan in Zhejiang and Yunxiao in Fujian, providing important evidence for their origin identification.

KEY WORDS: *Sinonovacula constricta*; lipid metabolites; differences; ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry; Xiangshan in Zhejiang; Yunxiao in Fujian

0 引言

缢蛭(*Sinonovacula constricta*, *S. constricta*)俗名蛭子, 属软体动物, 系瓣鳃纲, 真瓣鳃目, 竹蛭科, 是我国传统的四大经济贝类之一, 具有重要的经济和营养价值^[1-2]。近年来, 全国缢蛭养殖规模逐年扩大, 但受养殖和区域环境等影响, 不同地区缢蛭的风味差异化明显, 造成其原因主要在于地理环境及气候差异等影响, 如不同地域分布造成的生殖隔离, 不同海域独特的自然环境, 包括气候、盐度、饵料等, 都可引起渗透胁迫, 使得生物体内离子浓度、代谢物质、酶和基因等改变^[3], 而基于能量供给和渗透胁迫, 缢蛭脂质组成和调整也不可避免^[4], 导致缢蛭市场价格和品质差异较大, 直接影响到养殖户的经济效益, 所以开展不同产地缢蛭脂质差异性研究有着重要的现实意义。

目前, 对滩涂贝类的脂质组研究, 大多针对脂肪酸和甾醇^[5-6], 但绝大部分脂肪酸在生物体中以非游离态方式存在, 而是以脂肪酰基的形式通过酯键结合在甘油磷脂、鞘脂、三酰甘油等脂类分子上, 这些分子才是生物体内最直接的活性单元结构^[7-9]。同时, 脂类除自身营养价值外, 也是滩涂贝类营养风味的重要组成部分, 对食品风味的形成起重要作用^[10-11]。可见, 对不同产地缢蛭特色风味差异性的研究应以脂类的实际存在形式和组成作为研究对象, 以此筛选出对缢蛭脂类风味差异性起关键作用的脂类标记物。

近年来, 随着超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱技术(ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry, UPLC-Orbitrap-HRMS)的快速发展^[12-14], 食品领域中的脂组学研究也逐渐深入, 尤其在产地鉴别方面, 如罗依扎·瓦哈甫等^[15]通过脂质组学技术, 对产自新疆和山东的驴奶中的脂质进行对比研究, 筛选出 36 个差异脂质, 为产地鉴别提供参考依据; KLOCKMANN 等^[16]以不同产地的榛子为研究对象, 发现 5 种磷脂酰胆碱(phosphatidyl choline, PC)、3 种磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE)、4 种甘油二酯(diglyceride, DAG)、7 种甘油三酯(triglyceride, TAG)和 γ -生育酚丰度存在显著差异。本研究

以浙江象山和福建云霄产地滩涂贝类规模最大的缢蛭作为研究对象, 首次将脂组学分析手段和高分辨质谱技术应用到缢蛭产地鉴定, 在精确到实际脂类分子结构和组成的水平上, 筛选出这两产地缢蛭的脂类生物标志物, 建立浙江象山和福建云霄两产地缢蛭的差异性脂质数据库, 为其产地鉴定提供支撑。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

样品缢蛭稚贝来源于浙江宁波永胜养殖场, 实验海水和新鲜海泥分别来自浙江象山县谢前港和福建云霄县长乐港。

TAG、DAG 标准品(纯度 99%, 瑞典 Larodan 公司); PE、磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)、磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)标准品(纯度 99%, 美国 Avanti Polar Lipids 公司); 异丙醇、醋酸锂、甲酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 实验用水为超纯水, 取自 Milli-Q 高纯水发生器; 其他试剂(色谱纯, 德国 Merck 公司)。

Q-Exactive 四极杆静电场轨道阱高分辨质谱仪、UltiMate3000 超高压液相色谱仪、色谱柱 Hypersile Gold C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.9 μ m)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Milli-Q 高纯水发生器(美国 Millipore 公司); FreeZone[®]冷冻干燥机(美国 LABCONCO 公司); RV 10 旋转蒸发仪(德国 IKA 公司); Mitutoyo 数显千分尺(日本三丰量具公司); BK8180 折射盐度计(台湾贝克莱斯公司); PX125DZH 型万分之一电子分析天平(美国奥豪斯仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 缢蛭稚贝的培养与采集

实验在自然温度为 25~32°C 的两个混凝土池(1.2 m×1.2 m×1.5 m)中进行, 实验海水和新鲜海泥分别来自浙江象山县谢前港(120°47'54"E, 29°20'22"N, 海水盐度 23 psu)和福建云霄县长乐港(117°33'52"E, 23°95'26"N, 盐度 12 psu)两个天然滩涂, 折射盐度计监测盐水浓度, 水位和泥浆厚度分别保持在(60±2) cm 和 15 cm 左右。在整个实验过程中,

每 5 d 更新一次水和泥浆, 每天投喂两次(7 点和 17 点), 投喂前更换 1/3 的新鲜水体, 用等量的角毛藻、球等鞭金藻、青岛大扁藻和威氏海链藻混合微藻(1:1:1:1, $V:V:V:V$)以 16~200 个细胞/ μL 的浓度喂养 *S. constricta* 两次, 以满足这一阶段食物所需。

在受精后第 10 d, 从浙江宁波永胜养殖场(养殖海水盐度为 13 psu)获得 *S. constricta*。本研究将壳长为 (15.54±0.80) mm 的缩缢蛭随机撒入上述两个混凝土池中, 每个池中有 200 个个体。*S. constricta* 的大小表示为壳的长度, 并通过数显千分尺从壳的顶部到末端进行测量。将两组的 *S. constricta* 培养 25 d。实验结束时, 转移至干净海水中, 饥饿 12 h, 以排空胃, 避免残余日粮的影响。后将样品收集到冷冻瓶中, 在液氮中冷冻, 在 -80℃ 下储存, 进行下一步的脂质分析。

1.2.2 样品前处理

样品去壳、去胃后, 进行冷冻干燥处理。冷冻干燥后的样品每组各 6 平行, 分别取样 50 mg 左右, 通过改进后的脂类提取法提取^[17], 最后用 2 mL 纯甲醇将残留物复溶, 滤膜过滤, 供液相色谱-质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)检测。

1.2.3 色谱条件

色谱柱: Hypersile Gold C_{18} (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm), 柱温设为 45℃。流动相 A 为甲醇/水(1:2, $V:V$), 流动相 B 为甲醇/异丙醇(1:3, $V:V$), 为了促进电离, 流动相中加入 0.01% 醋酸锂和 15 mmol/L 的甲酸。梯度洗脱程序: 0~23 min, 2%~80% B; 23~28 min, 80% B; 28~30 min, 80%~2% B; 30~35 min, 2% B。进样量、流动相流速和洗脱总时间分别为 10 μL 、0.3 mL/min 和 35 min。

1.2.4 质谱条件

电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI), 正、负离子模式电离; 扫描范围 m/z 100~1000; 离子源电压 3000 V (正离子模式)和 3500 V (负离子模式); 离子传输管温度 300℃; 鞘气压力(N_2) 35 kPa, 辅助气压力(N_2) 10 kPa; 气化室温度 350℃。一级质谱分辨率 70000, 自动增益控制(automatic gain control, AGC)目标值 5.0×10^5 ; 二级质谱分辨率 35000, AGC 目标值 4.0×10^5 , 碰撞能量 30~50 eV。运行前对仪器进行正、负离子模式校正。

1.2.5 总脂的定性分析

UPLC-Orbitrap-HRMS 能检测出脂质的准确分子量, 并且能够给出对应的化学组成。结合数据库 HMDB (<http://www.hmdb.ca>)、MAPS (<http://www.lipidmaps.org>)、METLINE (<http://metlin.scripps.edu>)的查询结果推测脂质可能的化学组成。在相同的色谱、质谱条件下, 通过比对脂质标准品的保留时间和碎裂规律来确定样品中脂质的结构。关于 PC、PE、PI、PS 和 TAG 的质谱碎裂规律已有相关的文献报道^[18-19], CAEP 的二级规律和鉴定过程也有文献报道^[20]。

1.2.6 总脂的半定量分析

在样品提取之前, 将多种脂质标准品(未在缢蛭稚贝中检测出来的)加入到冷冻干燥好的粉末中, 总脂的半定量分析参照 ZHU 等^[21]方法。

1.3 数据处理

原始数据由 Xcalibur™ 2.1 数据处理系统采集, 经 Thermo SIEVE™ 软件处理, 构建一个涉及样品类型名称、各样品峰数量(以保留时间与对应质荷比为基础)和归一化后的峰强度数据库(database), 并将此数据库导入 SIMCA-P+12.0 软件进行聚类分析。

2 结果与分析

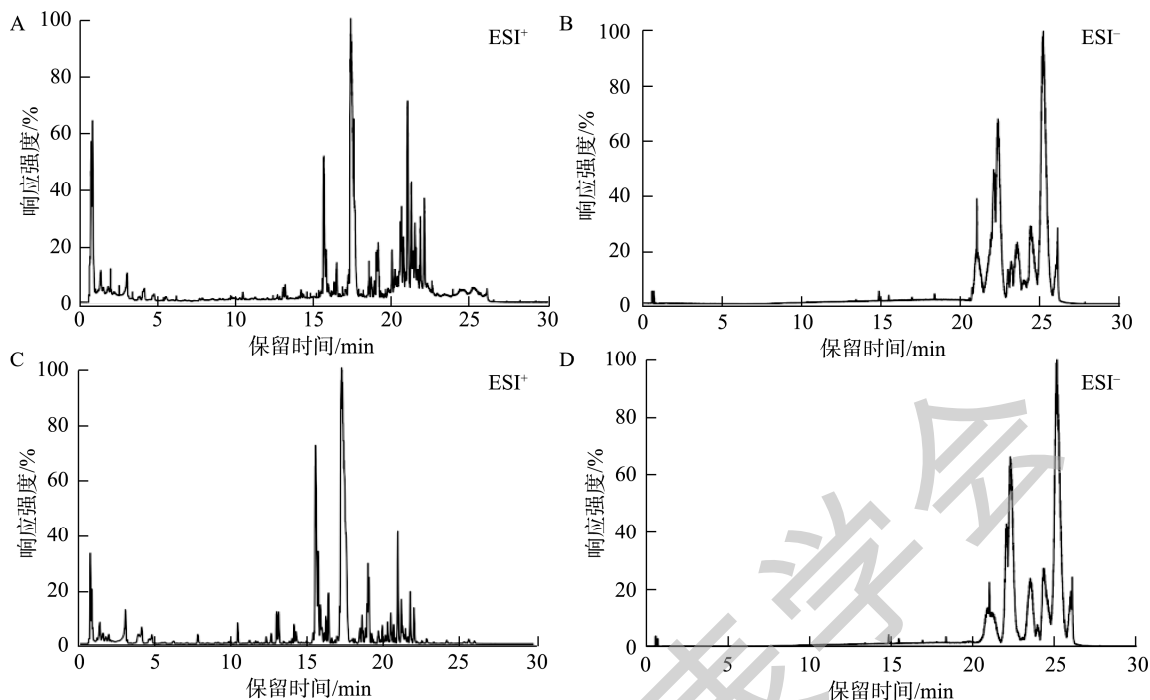
2.1 两产地缢蛭中脂类代谢物的差异性分析

为使数据处理结果具备可靠性与重要性, 各样品应重复进样 3 次及以上, 考虑到为获取各样品的全部信息, 应于正负离子模式下对各样品实施 LC-MS 分析。利用 Q-Exactive 分析系统, 参考 1.2.4 质谱条件, 两地区缢蛭的总脂获得良好分离(图 1)。

运用主成分分析对两组缢蛭脂质进行聚类分析, 进而反映两者在产地方面的差异性。通过高分辨质谱 Q-Exactive 获得的原始数据, 经过 Thermo SIEVE™ 开展数据分析, 于正负离子模式下各自获得 3638 个、1908 个信号峰。经由 SIMCA-P+ V12.0 归一化处理信号强度相对总强度, 再开展主成分分析, 各自获得浙江象山和福建云霄两产地不同样品在正负离子模式下第一、二主成分组成的平面上的投影评分图(score plot)(图 2, 以正离子举例)。此图内各标注点对应各批次内 1 个样品, 可以直观判断两组样品在产地间的差异性^[22], 此模型于正离子模式时能够解释变量的 55.06%, 于负离子模式时能够解释变量的 61.16%, 此聚类分析结果有效表明双方在质组学上的产地差异性。

经载荷图(loading plot)(图 3), 可各自提取到具有显著影响两组样品差异分布的潜在生物标志物, 并进行结构鉴定。潜在脂类生物标记物的选择应具备下述 2 项标准^[23-25]: (1) 变量权重参数(variable important in projection, VIP)>2, 此值越高, 说明该点对样品间差异性影响的贡献率越大; (2) $p(\text{corr})>0.6$, 此值越大, 说明样品组具有可信度越高的特征离子(表 1)。综上, 需具备上述 2 项标准的代谢物方可被视作潜在生物标记物, 同时对其开展深入分析, 结果表明这些潜在生物标记物主要由 6 大类脂质组成, 包括 PE、PI、PS、CAEP、TAG 和 DAG。因此, 本研究主要集中于这 6 大类脂在浙江象山和福建云霄两产地中的定性定量分析。

根据 VIP (VIP>3)分别采集对样品差异性存在突出贡献的物质, 将其当做潜在生物标记物, 通过表 1 可明确导致双方差异的潜在脂质标记物于两产地缢蛭中的分布情



注: A、B. 浙江象山产地(ESI⁺扫描、ESI⁻扫描); C、D. 福建云霄产地(ESI⁺扫描、ESI⁻扫描)。

图1 两地区缢蛏在正负离子模式下的总离子流图

Fig.1 Total ion flow diagram of *S. constricta* in 2 regions under positive and negative ion modes

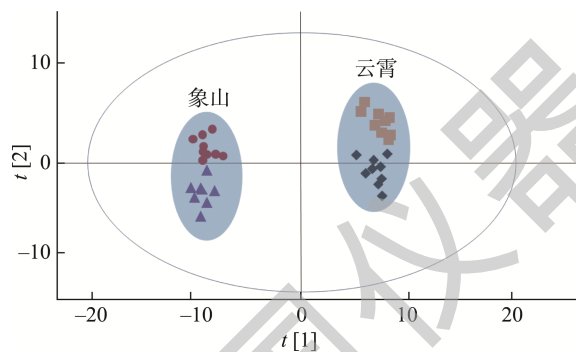
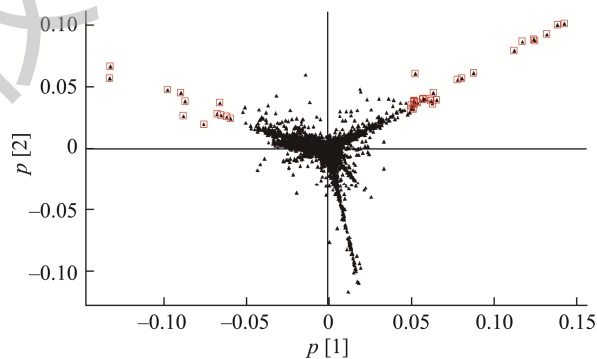


图2 浙江象山和福建云霄产地缢蛏样品在正离子模式下的主成分分析得分图

Fig.2 Principal component analysis score chart of *S. constricta* samples from Xiangshan and Yunxiao in ESI⁺



注: 红框表示表1中呈现的主要代谢物离子。

图3 缢蛏样品在正离子模式下的载荷图

Fig.3 Load graph of *S. constricta* Sample in ESI⁺

况。虽然 6 大类脂均出现在上述两产地缢蛏中, 但进一步比较这些潜在的脂质标记物, 不难发现 PE (17:1-22:6, 15:1-22:6, 16:1-22:6, 17:1-18:4)、PI (20:3-20:5)和 DAG (18:4-18:4), 在浙江象山产地中含量远远高于福建云霄产地, 其含量范围是福建云霄的 2.55~9.11 倍; 相反地, DAG (16:0-16:0), CAEP (d18:2-n16:0)和 PI (16:0-20:5)含量在福建云霄产地是浙江象山产地中对应脂质的 2.79~2.90 倍, 表明浙江象山所处的滩涂等自然生态环境更有利于十八碳以上多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA)链脂质的形成, 尤其是二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA) (20:5)、二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA) (22:6), 这些 PUFA 不仅可

以改善人体内的脂质代谢, 有效抵抗癌变, 还具有提高免疫力、降低血脂等生理功能^[26-27]。另外, 在加热产生香气成分方面, 脂肪起着重要作用, 而高含量的 PUFA 可大幅提高缢蛏鲜香味, 并可对肌肉的多汁性有所体现^[28]。所以, 从某种程度上讲, 浙江象山产地缢蛏的营养价值明显优于福建云霄, 这一结果很可能与象山饵料生物较为丰富、水环境相对稳定有关。同时, 对两采样区的盐度进行了连续 5 d 的监测, 结果显示象山采样点盐度为(28.58±2.18) psu, 云霄采样点盐度为(20.12±1.01) psu, 周海波等^[29]研究均表明, 盐度对缢蛏稚贝脂肪酸种类组成没有影响, 但随着盐度的升高, 十八碳以下的 PUFA 呈现降低的趋势, 而二十碳以上的 PUFA 呈现增加的趋势, 与本研究结论相吻合。

表 1 正负离子模式下缢蛭的差异化代谢物
Table 1 Differential metabolites of *S. constricta* under positive and negative ion modes

质荷比(<i>m/z</i>)	保留时间/min	化合物	峰面积比值(-P/+P)	VIP	<i>p</i> (corr)
905.5190	17.68	20:3-20:5-PI	-5.727	10.5	0.94
643.5175	18.92	d18:2-n16:0-CAEP	+2.790	10.0	0.60
722.5138	19.79	17:1-18:4-PE	-2.547	9.8	0.93
655.5173	19.10	d18:2-n17:1-CAEP	-2.426	9.6	0.78
855.5035	17.72	16:0-20:5-PI	+2.399	9.3	0.92
839.7682	22.46	16:0-16:0-18:1-TAG	+1.631	8.9	0.78
768.5920	20.89	18:1-20:2-PE	-1.575	8.5	0.81
774.5295	19.00	17:1-22:6-PE	-9.114	8.4	0.71
621.5070	19.77	20:5-16:0-DAG	+2.392	8.3	0.98
746.5140	19.76	18:0-18:0-PE	-2.241	8.1	0.69
728.5606	20.64	16:1-19:1-PE	+2.069	7.5	0.81
762.5447	20.10	16:1-22:5-PE	-1.711	7.5	0.92
857.5190	18.01	16:0-20:4-PI	+1.647	7.3	0.91
885.5498	18.46	18:0-20:4-PI	+1.558	7.2	0.95
809.7206	22.06	16:1-18:3-14:0-TAG	+1.982	7.2	0.72
599.5226	20.03	16:1-18:1-DAG	+1.982	7.1	0.64
746.5504	19.37	15:1-22:6-PE	-6.803	6.9	0.71
575.5226	20.28	16:0-16:0-DAG	+1.976	5.6	0.62
615.4605	18.69	18:4-18:4-DAG	-3.647	5.5	0.89
903.7056	21.61	20:5-20:5-16:1-TAG	+1.933	5.0	0.97
857.7212	21.94	16:0-20:5-16:1-TAG	+1.823	5.0	0.84
754.5761	20.72	16:1-21:2-PE	+1.812	4.6	0.94
671.5120	18.88	d18:2-n18:0-CAEP	-1.803	4.3	0.91
760.5294	19.91	16:1-22:6-PE	-3.980	4.2	0.95
573.5070	19.93	16:0-16:0-DAG	+2.904	3.9	0.72
700.5292	20.16	16:1-17:1-PE	+1.796	3.9	0.64
601.5386	20.37	16:0-18:1-DAG	+1.754	3.6	0.78
879.7051	21.65	18:4-20:4-16:1-TAG	-1.529	3.2	0.81

注: +表示与浙江象山产地相比在福建云霄产地缢蛭中含量增加的脂质代谢物; -表示与浙江象山产地相比在福建云霄产地缢蛭中含量减小的脂质代谢物。

2.2 重要脂类代谢物在两产地缢蛭中的分布和含量

众所周知,食物在改变海洋生物脂质组成方面起着重要作用^[30-31],为了消除该影响,本研究所有样品均投喂同样的饵料。除了上述提及的生物标记物以外,研究还对两产地缢蛭中脂质进行脂组全谱分析,进一步比较两组缢蛭不同产地脂质的差异性,这对于缢蛭产地鉴定研究有重要意义。

根据对每类脂的定性结果表明,产地对缢蛭稚贝脂质种类组成没有影响,在两种产地缢蛭中均检测出脂质 78 种,其中包括 31 种 TAG、12 种 DAG、6 种 CAEP、

18 种 PE、3 种 PS、8 种 PI(表 2),表明两产地差异对缢蛭脂质种类组成没有影响。按照上述的半定量方法,分别对 6 类脂质总量在两产地的结果进行比较,结果表明除了磷脂中的 PE 以外,其他 5 类的脂质总量,福建云霄产地中的含量均高于浙江象山产地(图 4),表明象山产地明显抑制缢蛭稚贝脂质的合成,这很可能与象山所具有的高盐环境相关, HANUSO 等^[32]、CHITTOH 等^[33]和 TORRES 等^[34]研究均表明总体上生存于低盐度的贝类在总脂含量相比生存于较高盐度的贝类偏高,与本研究结论较接近。

表 2 浙江象山和福建云霄产地缙蛭中的主要脂质分子种类和含量(nmol/mg 干缙蛭, n=6)
Table 2 Main types and content of lipid molecules in *S. constricta* from producing areas of Xiangshan in Zhejiang and Yunxiao in Fujian (nmol/mg dry weight *S. constricta*, n=6)

保留时间 /min	母离子	质荷比 (<i>m/z</i>)	化合物	浙江象山含量 /(nmol/mg)	福建云霄含量 /(nmol/mg)
22.04	[M+Li] ⁺	959.7681	22:5-22:6-16:0-TAG	0.022±0.004	0.024±0.006
22.11	[M+Li] ⁺	935.7667	22:6-16:0-20:3-TAG	0.031±0.006	0.024±0.003
21.98	[M+Li] ⁺	933.7525	22:6-16:0-20:4-TAG	0.044±0.006	0.051±0.005
22.04	[M+Li] ⁺	909.7520	22:6-18:1-16:1-TAG	0.058±0.004	0.054±0.006
22.15	[M+Li] ⁺	885.7513	18:1-20:5-16:1-TAG	0.120±0.009	0.149±0.009
22.00	[M+Li] ⁺	883.7360	16:0-22:6-16:1-TAG	0.105±0.011	0.131±0.010
22.08	[M+Li] ⁺	859.7365	16:0-20:5-16:0-TAG	0.092±0.008	0.134±0.010
22.13	[M+Li] ⁺	835.7367	16:1-18:2-16:0-TAG	0.041±0.006	0.046±0.006
22.06	[M+Li] ⁺	809.7206	16:1-18:3-14:0-TAG	0.019±0.003	0.038±0.004
21.94	[M+Li] ⁺	857.7212	16:0-20:5-16:1-TAG	0.108±0.012	0.196±0.010
21.85	[M+Li] ⁺	831.7059	16:0-18:4-16:1-TAG	0.068±0.008	0.081±0.006
21.87	[M+Li] ⁺	907.7363	22:6-18:3-16:0-TAG	0.064±0.003	0.064±0.003
21.81	[M+Li] ⁺	881.7204	16:2-22:6-16:2-TAG	0.082±0.004	0.064±0.003
23.08	[M+Li] ⁺	923.7106	18:0-18:0-20:1-TAG	0.103±0.009	0.093±0.008
21.82	[M+Li] ⁺	807.7057	16:0-18:3-14:0-TAG	0.014±0.004	0.018±0.004
21.75	[M+Li] ⁺	855.7051	16:1-20:5-16:1-TAG	0.081±0.007	0.120±0.010
21.61	[M+Li] ⁺	903.7056	20:5-20:5-16:1-TAG	0.085±0.005	0.164±0.012
21.48	[M+Li] ⁺	877.6891	18:4-20:5-16:1-TAG	0.077±0.007	0.094±0.006
21.65	[M+Li] ⁺	879.7051	18:4-20:4-16:1-TAG	0.090±0.007	0.059±0.004
22.50	[M+Li] ⁺	865.7834	18:1-18:1-16:0-TAG	0.053±0.004	0.067±0.006
22.46	[M+Li] ⁺	839.7682	16:0-16:0-18:1-TAG	0.029±0.002	0.048±0.003
22.42	[M+Li] ⁺	939.7988	22:6-20:1-16:0-TAG	0.038±0.002	0.038±0.003
22.44	[M+Li] ⁺	915.7983	18:0-18:1-20:4-TAG	0.029±0.003	0.023±0.001
22.52	[M+Li] ⁺	891.7986	16:0-18:1-20:2-TAG	0.042±0.002	0.041±0.003
22.67	[M+Li] ⁺	867.8000	16:0-20:1-16:0-TAG	0.031±0.004	0.040±0.004
22.67	[M+Li] ⁺	893.8151	16:0-18;1-20:1-TAG	0.050±0.004	0.047±0.005
22.73	[M+Li] ⁺	919.8311	20:1-18:1-18:1-TAG	0.035±0.003	0.027±0.003
22.75	[M+Li] ⁺	945.8466	20:2-20:1-18:1-TAG	0.014±0.000	0.010±0.002
22.73	[M+Li] ⁺	919.8310	18:1-22:2-16:0-TAG	0.035±0.002	0.027±0.001
22.88	[M+Li] ⁺	921.8454	16:0-20:1-20:1-TAG	0.025±0.002	0.018±0.002
22.90	[M+Li] ⁺	947.8638	20:1-16:0-22:2-TAG	0.018±0.001	0.015±0.001
TAG总量				1.701±0.501	2.004±0.103
21.02	[M+Li] ⁺	631.5856	18:0-18:0-DAG	0.053±0.005	0.055±0.005
20.83	[M+Li] ⁺	655.5854	20:1-18:1-DAG	0.047±0.003	0.050±0.004
20.74	[M+Li] ⁺	629.5696	16:0-20:1-DAG	0.074±0.007	0.091±0.008
20.66	[M+Li] ⁺	603.5540	16:0-18:0-DAG	0.166±0.011	0.181±0.015
20.47	[M+Li] ⁺	627.5537	18:1-18:1-DAG	0.078±0.006	0.099±0.007
20.37	[M+Li] ⁺	601.5386	16:0-18:1-DAG	0.100±0.008	0.175±0.011
20.28	[M+Li] ⁺	575.5226	16:0-16:0-DAG	0.126±0.011	0.249±0.017
20.03	[M+Li] ⁺	599.5226	16:1-18:1-DAG	0.055±0.004	0.109±0.008
19.95	[M+Li] ⁺	623.5231	16:0-20:4-DAG	0.054±0.004	0.053±0.002
19.93	[M+Li] ⁺	573.5070	16:0-16:0-DAG	0.067±0.005	0.194±0.014
19.77	[M+Li] ⁺	621.5070	20:5-16:0-DAG	0.096±0.008	0.230±0.014
18.69	[M+Li] ⁺	615.4605	18:4-18:4-DAG	0.126±0.010	0.035±0.002

表2(续)

保留时间 /min	母离子	质荷比 (<i>m/z</i>)	化合物	浙江象山含量 (nmol/mg)	福建云霄含量 (nmol/mg)
DAG总量				1.041±0.099	1.521±0.111
19.93	[M+H] ⁺	673.5644	d18:1-n18:0-CAEP	0.243±0.015	0.336±0.027
19.37	[M+H] ⁺	645.5330	d18:1-n16:0-CAEP	1.568±0.104	1.990±0.154
19.58	[M+H] ⁺	659.5490	d18:1-n17:0-CAEP	0.526±0.034	0.375±0.024
18.92	[M+H] ⁺	643.5175	d18:2-n16:0-CAEP	2.813±0.114	7.850±0.614
19.10	[M+H] ⁺	655.5173	d18:2-n17:1-CAEP	2.568±0.151	1.059±0.098
18.88	[M+H] ⁺	671.5120	d18:2-n18:0-CAEP	0.939±0.088	0.521±0.044
CAEP总量				8.658±0.524	12.129±1.015
18.70	[M-H] ⁻	760.5137	16:1-22:6-PE	2.317±0.099	0.757±0.077
19.00	[M-H] ⁻	774.5295	17:1-22:6-PE	0.420±0.027	0.046±0.004
19.37	[M-H] ⁻	746.5504	15:1-22:6-PE	0.106±0.008	0.016±0.000
19.79	[M-H] ⁻	722.5138	17:1-18:4-PE	0.087±0.002	0.034±0.001
19.76	[M-H] ⁻	746.5140	18:0-18:0-PE	0.134±0.010	0.060±0.003
19.91	[M-H] ⁻	760.5294	16:1-22:6-PE	0.239±0.016	0.060±0.004
19.74	[M-H] ⁻	764.5241	18:0-20:5-PE	0.216±0.014	0.255±0.016
20.16	[M-H] ⁻	700.5292	16:1-17:1-PE	0.277±0.016	0.497±0.025
19.99	[M-H] ⁻	748.5292	17:1-20:5-PE	0.235±0.012	0.344±0.019
20.10	[M-H] ⁻	762.5447	16:1-22:5-PE	0.165±0.009	0.096±0.007
20.20	[M-H] ⁻	774.5455	17:1-22:6-PE	0.329±0.021	0.234±0.021
20.35	[M-H] ⁻	714.5448	17:1-18:1-PE	0.326±0.022	0.268±0.015
20.35	[M-H] ⁻	776.5604	17:1-22:5-PE	0.210±0.012	0.222±0.014
20.64	[M-H] ⁻	728.5606	16:1-19:1-PE	0.200±0.014	0.414±0.021
20.72	[M-H] ⁻	754.5761	16:1-21:2-PE	0.199±0.011	0.361±0.018
20.89	[M-H] ⁻	768.5920	18:1-20:2-PE	0.188±0.008	0.119±0.007
20.83	[M-H] ⁻	780.5922	17:1-22:3-PE	0.143±0.009	0.146±0.006
21.14	[M-H] ⁻	782.6075	17:1-22:2-PE	0.260±0.011	0.349±0.019
PE总量				6.053±0.114	4.278±0.338
19.37	[M-H] ⁻	808.5141	18:0-20:5-PS	0.252±0.010	0.313±0.021
19.72	[M-H] ⁻	834.5298	18:0-22:6-PS	0.188±0.007	0.261±0.013
19.91	[M-H] ⁻	818.5349	17:1-22:6-PS	0.105±0.005	0.125±0.008
PS总量				0.650±0.015	0.699±0.033
17.72	[M-H] ⁻	855.5035	16:0-20:5-PI	0.254±0.008	0.609±0.021
18.01	[M-H] ⁻	857.5190	16:0-20:4-PI	0.142±0.005	0.235±0.000
17.68	[M-H] ⁻	905.5190	20:3-20:5-PI	0.035±0.002	0.006±0.000
17.82	[M-H] ⁻	881.5191	18:0-20:4-PI	0.276±0.009	0.269±0.008
18.17	[M-H] ⁻	883.5345	18:0-20:5-PI	2.958±0.100	3.119±0.176
18.28	[M-H] ⁻	909.5503	20:1-20:5-PI	1.960±0.099	1.841±0.109
18.46	[M-H] ⁻	885.5498	18:0-20:4-PI	2.120±0.099	3.303±0.208
18.57	[M-H] ⁻	911.5655	20:1-20:4-PI	1.785±0.089	2.206±0.107
PI总量				9.529±0.521	11.588±0.844

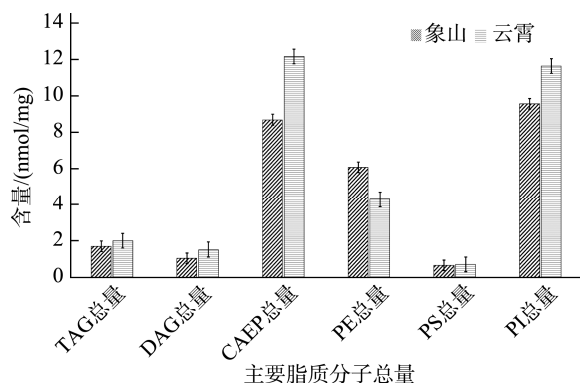


图4 浙江象山和福建云霄产地缢蛏中6种主要脂质分子总量图(n=6)

Fig.4 Plot of the total amount of 6 kinds of major lipid molecules in *S. constricta* from producing areas of Xiangshan in Zhejiang and Yunxiao in Fujian (n=6)

3 结论

本研究采用UPLC-Orbitrap-HRMS结合多变量分析手段,探究了浙江象山和福建云霄两个不同产地同一生长阶段的缢蛏脂类代谢物差异,明确起关键作用的脂质生物标记物。此外,对这两产地缢蛏样品进行全脂成分分析,建立浙江象山和福建云霄两产地的差异性脂质数据库,为后续缢蛏的产地鉴定提供了重要的质组学依据。

参考文献

- [1] 王涛, 刘雨博, 佟长青, 等. 缢蛏多糖提取工艺优化及生物活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(5): 1618–1626.
WANG T, LIU YB, TONG CQ, *et al.* Study on extraction process optimization and bioactivity of *Sinonovacula constricta* polysaccharide [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(5): 1618–1626.
- [2] 曹伟, 迟长风, 董迎辉, 等. 高盐胁迫对缢蛏幼贝存活和三种酶活性的影响[J]. 海洋科学, 2022, 46(7): 44–51.
CAO W, CHI CF, DONG YH, *et al.* Effects of high salt stress on survival and enzyme activities of *Sinonovacula constricta* juvenile [J]. Mar Sci, 2022, 46(7): 44–51.
- [3] 邢逸夫, 段亚飞, 韦政坤, 等. 亚硝酸盐和微塑料胁迫对凡纳滨对虾鳃中免疫、解毒代谢和渗透调节相关指标的影响[J]. 南方水产科学, 2023, 19(2): 70–77.
XING YF, DUAN YF, WEI ZK, *et al.* Effects of nitrite and microplastic stress on immune, detoxification metabolism and osmoregulation-related indicators in gills of *Litopenaeus vannamei* [J]. South China Fish Sci, 2023, 19(2): 70–77.
- [4] CHITTO ALF, SCHEIN V, ETG ES, *et al.* Effects of photoperiod on gluconeogenic activity and total lipid concentration in organs of crabs, *Neohelice granulata*, challenged by salinity changes [J]. Invert Biol, 2019, 128(3): 261–268.
- [5] VINCENZO NV, VINCENZO TR, LICATA PT, *et al.* Determination of fatty acid profile in processed fish and shellfish foods [J]. Foods, 2020,

- 12(13): 5–12.
- [6] MIGUEL ARC, VALERIA GB, JAIME R, *et al.* Quantification and distribution of omega-3 fatty acids in south pacific fish and shellfish species [J]. Foods, 2023, 9(12): 23–28.
- [7] 李禹含, 苗晶晶, 魏守祥, 等. 对氯苯胺、1,2-二氯乙烷、邻苯二甲酸丁苯酯和1-苯乙醇对两种海洋贝类急性毒性及其物种敏感度分布的研究[J]. 海洋环境科学, 2020, 39(5): 732–737.
LI YH, MIAO JJ, WEI SX, *et al.* Acute toxicity and species sensitivity distribution of *p*-chloroaniline, 1,2-dichloroethane, butyl benzyl phthalate and 1-phenylethyl alcohol on two marine bivalves [J]. Mar Environ Sci, 2020, 39(5): 732–737.
- [8] XU JL, CHEN DY, YAN XJ, *et al.* Global characterization of the photosynthetic glycerol lipids from a marine diatom *Stephanodiscus* sp. by ultra performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization-quadrupole-time of flight mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2020, 663(1): 60–68.
- [9] YAN XJ, LI HY, XU JL, *et al.* Analysis of phospholipids in microalgae *Nitzschia closterium* by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin J Oceanol Limn, 2020, 28(1): 106–112.
- [10] LI S, XU JL, CHEN J, *et al.* The major lipid changes of some important diet microalgae during the entire growth phase [J]. Aquaculture, 2020, 22(5): 104–110.
- [11] KAYIM M, CIMEN M, CAN E, *et al.* Biochemical taste parameters in meat and sea products [J]. J Anim Vet Adv, 2020, 9(17): 2246–2248.
- [12] 王小兵, 李启艳, 冉金凤, 等. 超高效液相色谱-四极杆/飞行时间高分辨质谱法用于保健食品中6种非法添加降脂类药物的快速筛查与定量分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(5): 1214–1219.
WANG XB, LI QY, RAN JF, *et al.* Rapid screening and quantitative analysis of 6 kinds of lipid-lowering drugs illegally added in health food by ultra performance liquid chromatography tandem quadrupole/time-of-flight high resolution mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(5): 1214–1219.
- [13] 于倩倩, 汪龙飞, 鲍蕾. 高效液相色谱-高分辨质谱法定性筛查牛奶中49种β-内酰胺类抗生素残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(4): 162–169.
YU QQ, WANG LF, BAO L, *et al.* Qualitative screening of 49 kinds of β-lactam antibiotic residues in milk by high performance liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(4): 162–169.
- [14] 郭忠会, 覃春萍, 梁洁, 等. 基于UHPLC-Q-TOF MS结合分子网络技术快速分析荷叶中生物碱类成分[J]. 分析测试学报, 2023, 42(8): 893–906.
GUO ZH, QIN CP, LIANG J, *et al.* Rapid identification of alkaloid components in *Nelumbinis folium* based on UHPLC-Q-TOF MS combined with molecular network technology [J]. J Instrum Anal, 2023, 42(8): 893–906.
- [15] 罗依扎·瓦哈甫, 李会, 徐雷, 等. 新疆和山东产地驴奶成分的代谢组和脂质组分析[J]. 食品科学, 2022, 43(22): 325–333.
LUOYIZHA WHP, LI H, XU L, *et al.* Metabolomic and lipidomic

- analysis of donkey milk from Xinjiang and Shandong [J]. Food Sci, 2022, 43(22): 325–333.
- [16] KLOCKMANN S, REINER E, BACHMANN R, *et al.* Food fingerprinting: metabolomic approaches for geographical origin discrimination of hazelnuts (*Corylus avellana*) by UPLC-Q-TOF-MS [J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(48): 9253–9262.
- [17] BLIGHT EG, DYER WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. Can J Physiol Pharm, 1959, 37(5): 911–917.
- [18] SOUZA LM, LACOMINI M, GORIN PJ, *et al.* Glyco- and sphingophosphonolipids from the medusa *Phyllorhiza punctata*: NMR and ESI-MS/MS fingerprints [J]. Chem Phys Lipid, 2007, 145(2): 85–96.
- [19] YAN XJ, LI HY, XU JL, *et al.* Analysis of phospholipids in microalga *Nitzschia closterium* by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin J Oceanol Limn, 2010, 28(1): 106–112.
- [20] YAN XJ, CHEN DY, XU JL, *et al.* Profiles of photosynthetic glycerolipids in three strains of *Skeletonema* determined by UPLC-Q-TOF-MS [J]. J Appl Phycol, 2021, 23(2): 271–282.
- [21] ZHU S, YE MW, XU JL, *et al.* Lipid profile in different parts of edible jellyfish *Rhopilema esculentum* [J]. J Agric Food Chem, 2021, 63(37): 8283–8291.
- [22] VANVLIET E, MONRATH S, ESKES C, *et al.* A novel *in vitro* metabolomics approach for neurotoxicity testing, proof of principle for methyl mercury chloride and caffeine [J]. Neurotoxicol, 2018, 29(1): 1–12.
- [23] 苗玥, 谭超, 彭春秀, 等. 基于UHPLC-QE-MS代谢组学分析小粒种咖啡豆特征成分[J]. 中国食品学报, 2022, 22(11): 355–367.
MIAO Y, TAN C, PENG CX, *et al.* Metabolomic analysis of the characteristic components of *Coffea arabica* L. based on UHPLC-QE-MS [J]. J Chin Inst Food Sci, 2020, 11(22): 355–367.
- [24] 于永兴, 张晓娜, 姚琳, 等. 双壳贝类中的持久性有机污染物生物标志物的研究及其应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(22): 8151–8156.
YU YX, ZHANG XN, YAO L, *et al.* Study and application of persistent organic pollutants biomarkers in bivalves [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(22): 8151–8156.
- [25] 张保军, 戈美玲, 刘志红, 等. 不同饲养环境、年龄及部位大青山山羊肉风味前体物质的差异分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(3): 291–297.
ZHANG BJ, GE ML, LIU ZH, *et al.* Analysis on the difference of flavor precursors of Daqingshan goat meat in different feeding environments, ages and cuts [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(3): 291–297.
- [26] 吴礼邦, 何如怡, 虞恒, 等. 鲟鱼鱼油的酶法提取及对非酒精性脂肪肝病的干预作用[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(11): 3532–3540.
WU LB, HE RY, YU H, *et al.* Enzymatic extraction of sturgeon fish oil and its intervention on non-alcoholic fatty liver disease [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(11): 3532–3540.
- [27] 郑飞洋, 戴志远, 崔益玮. 海洋生物中 ω -3 多不饱和脂肪酸研究进展[J]. 中国食品学报, 2022, 22(7): 345–359.
ZHENG FY, DAI ZY, CUI YW. Research progress on ω -3 polyunsaturated fatty acids in marine organisms [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2022, 22(7): 345–359.
- [28] 梅泊承, 张晓东, 赵淳朴, 等. 串联养殖模式下的凡纳滨对虾与缢蛭生长特性、消化免疫及水生态效应[J]. 海洋与湖沼, 2023, 54(3): 907–920.
MEI BC, ZHANG XD, ZHAO CP, *et al.* Growth characteristics, digestive immunity, and aquatic ecological effects of *Litopenaeus vannamei* and *Sinonovacula constricta* under serial aquaculture mode [J]. Limnol Sin, 2023, 54(3): 907–920.
- [29] 周海波, 徐继林, 冉照收. 海水盐度对美洲帘蛤稚贝生长和存活率的影响[J]. 生物学杂志, 2016, 33(5): 23–26.
ZHOU HB, XU JL, RAN ZS. Effects of salinity on the growth and survival rates of juvenile *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758) [J]. J Biol, 2016, 33(5): 23–26.
- [30] 周李美佳, 王友军, 安东平, 等. 3种经济类海胆的脂质组成差异分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(8): 284–289.
ZHOU LMJ, WANG YJ, AN DP, *et al.* Analysis of lipid composition differences among 3 kinds of economic *Echinoidea* [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(8): 284–289.
- [31] 黄莹, 葛汝祥, 娄格格, 等. 饲料中添加辅酶Q10对吉富罗非鱼幼鱼生长、抗氧化能力和组织结构的影响[J]. 水生生物学报, 2023, 47(2): 204–216.
HUANG Y, GE RY, LOU GG, *et al.* Effects of coenzyme Q10 in feed on growth, antioxidant capacity and tissue structure of juvenile GIFT tilapia [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2023, 47(2): 204–216.
- [32] HANUSO LO, LEVITSKY DO, SHKROB I, *et al.* Plasmalogens, fatty acids and alkyl glyceryl ethers of marine and freshwater clams and mussels [J]. Food Chem, 2009, 116(2): 491–498.
- [33] CHITTOH ALF, SCHEIN V, ETGES R, *et al.* Effects of photoperiod on gluconeogenic activity and total lipid concentration in organs of crabs, *Neohelice granulata*, challenged by salinity changes [J]. Invertebr Biol, 2009, 128(3): 261–268.
- [34] TORRES G, GINIMENEZ L, ANGER K. Effects of reduced salinity on the biochemical composition (lipid, protein) of zoea I decapod crustacean larvae [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2002, 277(1): 43–60.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

作者简介



张煜炯, 硕士, 高级实验师, 主要研究方向为食品加工与安全。
E-mail: sshhjj23@163.com



周静峰, 教授, 主要研究方向为功能食品研究开发。
E-mail: zhoujf@zjpc.net.cn