

海参花营养成分分析及其提取物对人卵巢癌细胞雌二醇分泌的影响

李良康^{1,2}, 陈小凤², 王 灵², 汪彩进^{1,2}, 吴 鹏², 唐 旭^{2*}

(1. 福建农林大学食品科学学院, 福建 福州 350002; 2. 自然资源部第三海洋研究所, 福建 厦门 361005)

摘要: 海参花是雌海参的性腺, 在海参加工过程中常被作为下脚料, 但它含有丰富的营养成分和多种活性因子, 本研究检测了海参花的一般营养物质、元素含量以及氨基酸组成, 同时, 研究了海参花水提取物和乙醇提取物对人卵巢癌 OVCAR-3 细胞增殖以及对其雌二醇分泌的影响。结果表明, 海参花含水量为 86.63%, 粗蛋白、粗脂质和粗多糖(干重)占比分别为 65.06%、14.82% 和 1.93%。共检测出 17 种氨基酸, 总氨基酸含量为 519.09 mg/kg。其中, 必需氨基酸含量为 197.04 mg/kg。海参花还含有多种对人体有益的元素。海参花提取物对人卵巢癌 OVCAR-3 细胞的增殖有明显的抑制作用, 海参花水提取物、乙醇提取物均可提高细胞培养液上清液中雌二醇的含量, 其中乙醇提取物可显著提高上清液中雌二醇的含量($P < 0.01$)。以上表明, 海参花的营养丰富, 其提取物能显著促进人卵巢癌 OVCAR-3 细胞雌二醇的分泌调节, 因此具有很高的开发利用价值。

关键词: 海洋生物学; 海参花; 营养成分; 海参花提取物; 卵巢癌细胞; 雌二醇分泌

DOI: 10.3969/J.ISSN.2095-4972.20230529003

中图分类号: P735

文献标识码: A

文章编号: 2095-4972(2024)02-0284-08

雌激素是调节机体生理机能的重要信使物质, 可促进女性第二性征的发育, 如乳房发育、子宫内膜增厚、月经周期形成等。人体内雌激素主要有雌酮(E_1)、雌二醇(E_2)和雌三醇(E_3)三种, 其中雌二醇是生理活性最强的雌激素。研究表明, 极低或极高水平的雌激素都会导致健康问题。雌激素分泌水平低下, 会出现卵巢早衰、绝经、代谢紊乱、骨质疏松等症状。激素替代疗法是目前临床治疗卵巢早衰常用方法, 治疗效果显著, 但具有一定的副作用, 长期使用会导致子宫内膜癌发病率上升^[1]。与之相比, “治未病”饮食^[2]用以辅助改善卵巢雌激素分泌功能具有较大的开发应用价值。

海参是棘皮动物门海参纲生物的总称。研究表明^[3], 海参中含有海参多糖、海参胶原蛋白、磷脂、海参凝集素、硫酸甾醇、皂苷、多肽、酚类等具有重要生理活性的物质, 具有抗氧化、免疫增强^[4]、降血糖^[5]、抑制动脉粥样硬化^[6]、抗肿瘤^[7]、抗炎、预防

和缓解代谢综合征^[8-9]等作用。

海参花是雌海参的性腺, 在海参加工过程中被大量舍弃或制成低值产品, 无法利用海参花的营养及生物活性成分, 造成资源浪费。陆涛等对海参花营养成分的分析结果表明, 海参花是一种高蛋白、低脂肪的食物^[10], 此外, 还含有多糖、 ω -3 脂肪酸、氨基酸、核酸、性腺色素、钒等^[11-12]一些重要的营养成分, 具有较高的开发和应用价值。

目前, 关于海参花的研究主要集中在海参花提取工艺领域, 也有研究显示海参花提取物对卵巢早衰小鼠的生殖系统有改善作用^[12]。然而, 对海参花及其提取物的功能性研究相对较少。为高值化开发利用海参加工副产物, 本研究以海参花为原料, 检测其营养成分、元素含量以及氨基酸组成; 探究海参花提取物对人卵巢癌 OVCAR-3 细胞雌二醇分泌水平的影响, 为后续海参花的开发利用提供理论和实验依据。

收稿日期: 2023-06-15

资助项目: 烟台市海洋经济创新发展示范项目(YHCX-SW-L-201703); 厦门市海洋经济创新发展示范项目(16CZY009SF05)

作者简介: 李良康(1996—), 男, 硕士研究生; E-mail: lm1762138029@163.com

* 通讯作者: 唐旭(1974—), 男, 博士, 正高级工程师; E-mail: tangxu@tio.org.cn

1 材料与amp;方法

1.1 细胞

人卵巢癌细胞株(OVCAR-3)购自中国科学院典型培养物保藏委员会昆明细胞库。

1.2 药物与试剂

海参花来源于人工养殖的仿刺参(*Apostichopus japonicus*),由福建平潭综合实验区坛南湾水产食品有限公司提供;香菇多糖购于上海麦克林生化科技有限公司;Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒购自美国MCE公司;雌二醇ELISA试剂盒、DMSO购于北京索莱宝科技有限公司;DMEM高糖培养基购于美国Hyclone公司;牛胰岛素购于美国Sigma公司;胎牛血清(FBS)购于美国Gibco公司;PBS购于武汉普诺赛生命科技有限公司;HNO₃(优级纯)购于国药集团化学试剂有限公司。

1.3 仪器

实验所用仪器包括Alpha 2-4 LDplus真空冷冻干燥机(德国Christ公司)、FOSS SCINO KT260凯氏定氮仪[福斯赛诺分析仪器(苏州)有限公司]、7700X电感耦合等离子体质谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司]、DK-420电热恒温水槽(上海森信实验仪器有限公司)、Thermo 1300 SERIES A2超净工作台(德国赛默飞仪器公司)、Thermo二氧化碳培养箱(德国赛默飞仪器公司)、江南XD-202倒置显微镜(南京江南永新光学有限公司)、SpectraMax M5酶标仪(美国Molecular Devices公司)等。

1.4 海参花营养成分的测定

1.4.1 海参花基本成分测定

参照《食品中蛋白质的测定》^[13]用凯氏定氮法测定粗蛋白含量;参照《食品中脂肪的测定》^[14]用索氏提取法测定粗脂肪含量;采用苯酚-硫酸法^[15]测定粗多糖含量。平行做3组试验。

1.4.2 海参花元素含量的测定

使用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)检测海参花元素含量。海参花冻干后,研钵研磨粉碎并过100目筛网,获得样品粉末,称取干样样品0.040 0 g(精准到0.000 1 g),置于消解罐中,放入4 mL的HNO₃(优级纯),在180℃的消解罐中持续消解800 min,完全消解后转移到容量瓶中,定容到40 mL,摇匀后取8 mL消解液测定各元素的含量。平行做3组试验。

1.4.3 海参花氨基酸组成成分测定

采用微波消解仪消解海参花^[16]。微波消解结

束后,消解液经0.22 μm滤膜过滤后,保存于-20℃待用。每个样品做3组平行。

采用离子色谱法^[17]测定氨基酸各组分含量。色谱条件:氨基酸分析柱为Amino Pac PA-10(2 mm×250 mm);流动相A:水,流动相B:1 mol/L的NaOAc,流动相C:250 mmol/L的NaOH,梯度洗脱。流速:0.23 mL/min,柱温30℃,进样量25 μL,检测器用积分脉冲安培检测器。氨基酸的洗脱程序如表1所示。

表1 氨基酸洗脱程序

Tab. 1 Amino acid separation gradient elution procedure

时间/min	A占比/%	B占比/%	C占比/%
0.0	82	0	18
3.0	82	0	18
22.0	64	0	36
23.0	64	0	36
33.0	14	70	16
47.0	14	70	16
47.1	20	0	80
49.1	20	0	80
49.2	82	0	18
60.0	82	0	18

注:表中A、B、C分别为流动相A、流动相B和流动相C。

1.5 海参花提取物的制备

1.5.1 海参花水提取物的制备

参考张捷等^[12]的方法制备海参花提取物。称取海参花冻干粉100 g,加入400 mL蒸馏水混匀,超声提取30 min后,30℃水浴搅拌提取4 h,于4℃和6 000 r/min离心10 min,取上清液,滤渣与20倍体积的蒸馏水混合,重复提取1次,合并2次上清液,过滤后取滤液冷冻干燥,得海参花水提取物,分装,-20℃保存。

1.5.2 海参花乙醇提取物的制备

称取海参花冻干粉100 g,加入400 mL无水乙醇,60℃水浴搅拌提取4 h,于4℃和6 000 r/min离心10 min,取上清液,滤渣与20倍体积的无水乙醇重复提取1次,将上清液合并过滤,滤液旋蒸回收无水乙醇,提取液加入适量蒸馏水冷冻干燥,得到海参花乙醇提取物,分装,-20℃保存。

1.6 海参花提取物对人卵巢癌细胞增殖的影响

CCK-8法是一种无放射性、高灵敏度的比色测

定法^[18],该方法简便、可靠、重复性好,对检测的细胞具有重现性。在细胞增殖或细胞毒性试验中用于测定活细胞的数量。CCK-8 被细胞内脱氢酶还原,生成一种橙黄色的甲醛染料,这种染料溶解在细胞培养基中,其生成量与活细胞的数量成正相关。人卵巢肿瘤细胞和正常细胞分泌的雌二醇水平没有差异^[19],与正常细胞相比具有可持续分裂增殖的优点,更便于研究。

用 PBS 溶解海参花水提取物,用 DMSO 溶解海参花乙醇提取物,然后使用 0.22 μm 滤膜过滤,调节至终浓度为 100、50、25、12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

将 OVCAR-3 细胞接种于 10%FBS、0.01 mg/mL 牛胰岛素、100 U/mL 青霉素、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素的 DMEM 高糖培养基中,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养。培养后,将细胞分别以 2×10^4 个/孔的密度接种于 96 孔板中,培养 24 h。设置药物组、对照组和空白组,加入待测样品。每个样品设 3 个复孔。药物作用 48 h 后,吸去细胞液,在每个孔中加入 100 μL 的 CCK-8 药液,然后 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 1.5~3 h,用酶标仪 (OD_{620} 做参照) 检测 OD_{450} 值。抑制率计算公式如下:

$$\text{抑制率} = \left(1 - \frac{OD_{450\text{加药孔}} - OD_{450\text{空白孔}}}{OD_{450\text{对照孔}} - OD_{450\text{空白孔}}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

1.7 海参花提取物对人卵巢癌细胞雌二醇分泌水平的影响

参照“1.6”的 CCK-8 实验结果选择合适的测试浓度研究海参花提取物对 OVCAR-3 细胞雌二醇分泌水平的影响。实验分为 4 组:空白对照组、海参花水提取物组、海参花乙醇提取物组、阳性对照香菇多糖组。将细胞以 2×10^4 个/孔的密度接种于 96 孔板,培养 24 h,接着用不同试验药物刺激。于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 孵育 48 h。收集上清液, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存^[20]。使用雌二醇 ELISA 试剂盒检测 OVCAR-3 细胞培养上清液中雌二醇浓度。具体步骤参照试剂盒说明。

1.8 数据统计分析

所有数据重复 3 次,统计量以平均值 \pm 标准差表示。采用 SPSS 16.0 单因素分析法进行统计学分析,数据在 $P<0.05$ 时差异显著。使用 Excel 和 Origin 8.0 软件进行数据处理和绘图。

2 结果与讨论

2.1 一般营养成分分析

由表 2 可知,海参花冻干粉中粗蛋白占比为 65.06%,粗脂肪占比为 14.82%,粗多糖占比为

1.93%。海参花的蛋白质占比相对较高,是优质的蛋白质来源。多糖表现出多种生理活性,包括抗氧化、降血脂^[21]、抗衰老^[22]、抗癌、抗凝血、增强免疫力^[23]等。

表 2 海参花中一般营养成分组成

Tab. 2 Analysis of general nutrition components in sea cucumber ovum

粗蛋白占比/%	粗脂肪占比/%	粗多糖占比/%
65.06 \pm 0.37	14.82 \pm 0.07	1.93 \pm 0.28

注:粗蛋白、粗脂肪、粗多糖均为干重。

2.2 元素成分分析

样品经高压密封硝化罐消解后,采用电感耦合等离子体质谱分析了海参花中 Ca、Fe、Mg、As、Cd、Zn 等 16 种元素的含量,试验结果如表 3 所示。海参花中富含 P、Ca、Mg、Fe、K、Na 等许多对人体有益的元素,其中,必需元素中的 P 含量最高(12 334.82 mg/kg),此外 Zn、Cu 和 Mn 也有一定的含量,但占比不大。Zn、Fe、Mn 和 Cu 等是人体所必需的微量元素,涉及身体的许多重要化学合成和酶的活性,能够确保正常的机体造血、肌肉分泌的发挥,并保持神经和心血管系统、骨骼和胶原组织结构 and 功能的完整性^[24];Ca 是骨骼的重要组成成分,Cu 有明显减轻疼痛的功效^[25]。海参花中尽管检出的 As、Pb 等有害元素含量很低,但超过了国标规定的限量值^[26],这可能是由于海水受到污染^[27],在海参体内富集所致,这是后期工艺的方案设计需要注意的问题。

表 3 海参花中元素组成及含量分析

Tab. 3 Analysis of elements in sea cucumber ovum

元素	含量/(mg \cdot kg ⁻¹)	元素	含量/(mg \cdot kg ⁻¹)
Al	109.99 \pm 7.26	Ba	2.01 \pm 0.19
Cr	1.59 \pm 0.39	Pb	0.68 \pm 0.10
Mn	29.22 \pm 0.04	Mg	2 558.57 \pm 46.47
Ni	15.02 \pm 0.79	K	8 249.77 \pm 34.68
Cu	3.40 \pm 0.26	Na	8 954.51 \pm 97.59
Zn	42.30 \pm 0.48	Fe	1 166.30 \pm 24.01
As	6.10 \pm 0.21	Ca	4 687.49 \pm 78.71
Cd	0.01 \pm 0.01	P	12 334.82 \pm 138.91

2.3 海参花氨基酸组成及测定

采用微波消解仪对海参花进行消解,然后用离

子色谱测定海参花中的氨基酸组成。由表 4 可以看出,海参花中含有 17 种常见氨基酸,包括 7 种必需氨基酸。总氨基酸(TAA)、必需氨基酸(EAA)、非必需氨基酸(NEAA)、游离氨基酸(FAA)含量分别为 519.09、197.04、322.05、195.83 mg/kg。其中,必需氨基酸占总氨基酸(EAA/TAA)的 37.96%,必需氨基酸占非必需氨基酸(EAA/NEAA)的 61.18%,游离氨基酸占总氨基酸(FAA/TAA)的 37.73%。在 FAO/WHO 推荐的标准模型中,EAA/TAA 约为 40%,EAA/NEAA 为 60% 以上是优质的营养蛋白^[28]。由表 4 可看出,海参花的氨基酸组成符合 FAO/WHO 推荐的标准模型,可以作为优质的蛋白来源。在氨基酸中有 6 种呈味氨基酸,包括天门冬氨酸、酪氨酸、丙氨酸、谷氨酸、甘氨酸和苯丙氨酸;而游离氨基酸中有两种鲜味氨基酸和两种甜味氨基酸,分别为天门冬氨酸和谷氨酸、甘氨酸和丙氨酸,这 4 种氨基酸含量占总氨基酸含量的 37.73%,与马氏珠母贝(*Pinctada fucata martensii*)^[29]及刺鳅(*Mastacembelus aculeatus*)^[30]接近,略高于鸡汤^[31]和秋刀鱼(*Cololabis saira*)^[32],这也是海参味道鲜美的原因。精氨酸在调节内分泌和促进儿童生长发育等方面起着重要作用。研究表明,赖氨酸与精氨酸比值越高,对于降低胆固醇越有利,海参花中赖氨酸与精氨酸的比值为 0.59,略大于长牡蛎(*Crassostrea gigas*),与文献^[33-34]报道接近。可以看出,海参花营养丰富,开发价值高。

表 4 海参花中氨基酸组成及含量分析

Tab. 4 Analysis of amino acid contents in sea cucumber ovum

氨基酸	含量/(mg · kg ⁻¹)
赖氨酸(Lys)	35.57±0.96
苯丙氨酸(Phe)*	22.46±1.21
苏氨酸(Thr)	26.36±1.58
缬氨酸(Val)	25.74±1.63
亮氨酸(Leu)	39.74±2.12
蛋氨酸(Met)	11.16±0.59
组氨酸(His)	11.78±0.67
异亮氨酸(Ile)	24.23±1.28
谷氨酸(Glu)*	74.50±3.66
天门冬氨酸(Asp)*	60.75±6.29
丙氨酸(Ala)*	29.90±1.48
甘氨酸(Gly)*	30.68±1.75

续表

氨基酸	含量/(mg · kg ⁻¹)
脯氨酸(Pro)	23.70±5.24
丝氨酸(Ser)	20.76±0.57
精氨酸(Arg)	60.11±3.60
酪氨酸(Tyr)*	18.51±1.41
半胱氨酸(Cys)	3.14±0.16
总氨基酸(TAA)	519.09
必需氨基酸(EAA)	197.04
非必需氨基酸(NEAA)	322.05
游离氨基酸(FAA)	195.83
(EAA/TAA)/%	37.96
(EAA/NEAA)/%	61.18
(FAA/TAA)/%	37.73
(Lys/Arg)/%	59.17

注:“*”为呈味氨基酸。

2.4 海参花提取物对人卵巢癌细胞增殖的影响

本研究采用 CCK-8 法测定海参花提取物对 OVCAR-3 细胞增殖的影响。从表 5 可以看出,随着海参花提取物含量的增加,海参花水提取物和乙醇提取物对 OVCAR-3 细胞增殖抑制率逐渐升高,呈显著的浓度依赖性。海参花水提取物和乙醇提取物对 OVCAR-3 细胞增殖都有极显著的抑制作用。前人研究表明^[35],大叶藜(*Chenopodium hybridum*)醇提取物及大孔树脂的纯化物能明显抑制 OVCAR-3 细胞增殖,随着大叶藜醇提取物和大孔树脂纯化物含量的增加,其对细胞增殖抑制率逐渐升高,具有明显的浓度依赖性;在蓍(*Achillea millefolium*)正丁醇提取物中分离出的 Achicretin 2 对癌细胞有抑制作用,其对结肠癌 HCT-116 细胞与卵巢癌 OVCAR-3 细胞具有较强的抑制活性^[36]。海参花具有类似的效果,取具有抑制细胞增殖作用的浓度(100 μg/mL)作为测试浓度,探究海参花提取物对人卵巢癌细胞中雌二醇分泌水平的影响。

2.5 海参花提取物对人卵巢癌细胞雌二醇分泌水平的影响

2.5.1 雌二醇标准曲线的制备

按照雌二醇试剂盒的说明,雌二醇的标准曲线如图 1 所示。横坐标是标准品浓度,纵坐标是对应的 OD₄₅₀ 值,使用 Origin 8.0 软件 Logistic 模型拟合标准曲线。结果显示,0~2 000 pg/mL 范围内的雌二

醇浓度与 OD_{450} 值有较好的相关性 ($R^2 = 0.998$)。

表 5 不同含量的海参花水提物和醇提物对人卵巢癌细胞增殖的影响

Tab. 5 Effect of different contents of water extract and alcohol extract from sea cucumber ovum on proliferation of OVCAR-3 cell

名称	抑制率/%			
	12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	25 $\mu\text{g}/\text{mL}$	50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$
水提物	-26.72±0.06 **	-19.14±0.05 **	-16.50±0.04 **	9.50±0.04 **
醇提物	-20.14±0.05 **	-17.15±0.05 **	2.83±0.03 **	4.13±0.10 **

注:与相同剂量的空白组比较,“**”为 $P < 0.01$ 。

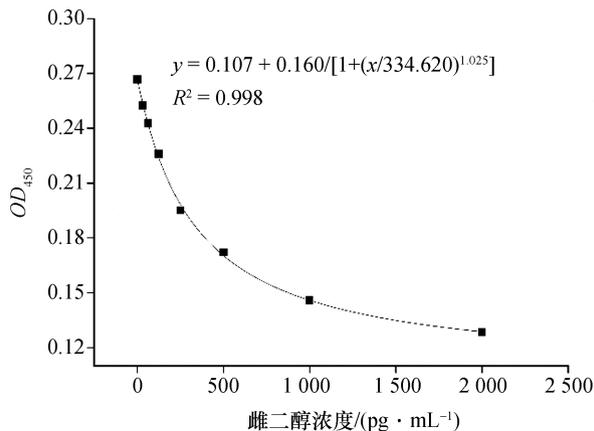


图 1 雌二醇标准曲线

Fig. 1 Standard curve of E_2

2.5.2 海参花提取物对人卵巢癌细胞雌二醇分泌水平的影响

为了解海参花提取物对卵巢癌细胞功能的影响,测定了 OVCAR-3 细胞经药物作用后细胞雌二醇的分泌能力。由表 6 可以看出,与空白对照组相比,海参花水提取物组、海参花乙醇提取物组和阳性对照香菇多糖组均能刺激 OVCAR-3 细胞中雌二醇的分泌。其中,海参花水提取物组无统计学意义 ($P > 0.05$),而阳性对照香菇多糖组和海参花乙醇提取物组均可明显地刺激 OVCAR-3 细胞分泌雌二醇,具有统计学意义 ($P < 0.01$)。

雌二醇是由卵巢器官的成熟卵泡细胞合成和分泌的天然雌激素,是生物活性最高的雌激素,与女性卵巢功能有关。垂体前叶通过分泌促性腺激素刺激雌二醇分泌,下丘脑控制促性腺激素的产生又受到体内雌激素水平的负反馈调节,从而调节内分泌系统,造成免疫功能发生改变^[37]。研究发现,雌二醇能够减少卵泡刺激素 (FSH) 和黄体生成素 (LH) 的分泌水平,提高血清雌二醇水平,升高 T 细胞的 CD^{4+} 、 CD^{4+}/CD^{8+} ,减少细胞凋亡,表明雌二醇有助于提高身体内分泌水平,增强免疫力^[38]。并且雌二醇

水平在卵巢功能减退、卵巢切除、青春期延缓、原发性和继发性闭经、绝经后均会降低^[39-41]。

本研究结果显示,与空白组比较,阳性香菇多糖组和乙醇提取物组能极显著提高雌二醇含量,与张婕等^[12]关于海参花乙醇提取物可以显著提高小鼠雌二醇分泌水平的研究结果相似。本研究利用分泌雌二醇的 OVCAR-3 人卵巢癌细胞,建立调节雌二醇分泌的药物筛选方法,可为卵巢早衰、多囊卵巢综合征、月经不调等因低水平雌二醇引起的疾病提供新的临床治疗和药物开发依据。

表 6 海参花提取物对人卵巢癌细胞雌二醇分泌水平的影响

Tab. 6 Effect of extract from sea cucumber ovum on E_2 secretion in OVCAR-3 cell

组别	雌二醇/($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
空白对照组	112.19±5.56
水提取物组	165.37±17.05
乙醇提取物组	281.66±11.94 **
阳性对照香菇多糖组	268.44±7.07 **

注:与空白对照组比较,“**”为 $P < 0.01$;细胞孔数目为 3;表中数值为平均值±标准差。

3 结论

本研究对海参花的营养成分进行了检测,比较了海参花提取物对人卵巢癌 OVCAR-3 细胞增殖以及对雌二醇分泌水平的影响。结果表明,海参花可以作为优质的蛋白来源,粗蛋白的含量为 65.06%,含有 17 种常见氨基酸,包括 7 种必需氨基酸。必需氨基酸占总氨基酸的 37.96%,必需氨基酸占非必需氨基酸的 61.18%,符合 FAO/WHO 推荐的优质营养蛋白标准。海参花含有多种对人体有益的元素,其中必需元素中的 P 含量最高 (12 334.82 mg/kg),同时含有 Zn、Fe、Mn 和 Cu 等人体必需的微量元素。海参花

提取物可促进 OVCAR-3 细胞的细胞增殖,表现出显著的浓度依赖性。海参花乙醇提取物对 OVCAR-3 细胞中雌二醇的分泌水平有显著影响,表明海参花

乙醇提取物在改善雌激素水平低下方面具有潜在的应用价值,可为海参花的开发利用提供新的方向。

参考文献:

- [1] SHAPIRO S, KELLY J P, ROSENBERG L, et al. Risk of localized and widespread endometrial cancer in relation to recent and discontinued use of conjugated estrogens[J]. The New England Journal of Medicine, 1985, 313(16): 969-972.
- [2] 黄建波, 张光霁. 论“治未病”理论体系建设[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(3): 911-914.
HUANG J B, ZHANG G J. Improvement of the theory of ‘preventive treatment of disease’[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2017, 32(3): 911-914.
- [3] XU C, ZHANG R, WEN Z Y. Bioactive compounds and biological functions of sea cucumbers as potential functional foods[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 49: 73-84.
- [4] WANG H, XUE Z, LIU Z Q, et al. A novel C-type lectin from the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (AjCTL-2) with preferential binding of D-galactose[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 79: 218-227.
- [5] GONG P X, WU Y C, LIU Y, et al. Structure and hypoglycemic effect of a neutral polysaccharide isolated from sea cucumber *Stichopus japonicus* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 216: 14-23.
- [6] DING L, ZHANG T T, CHE H X, et al. Saponins of sea cucumber attenuate atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice via lipid-lowering and anti-inflammatory properties[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 48: 490-497.
- [7] GUO Y, ZHAO Q, TIAN Y Y, et al. Study on the effects of the different polar group of EPA-enriched phospholipids on the proliferation and apoptosis in 95D cells[J]. Marine Life Science & Technology, 2021, 3(4): 519-528.
- [8] SONG J J, LI T G, CHENG X, et al. Sea cucumber peptides exert anti-inflammatory activity through suppressing NF- κ B and MAPK and inducing HO-1 in RAW264.7 macrophages[J]. Food & Function, 2016, 7(6): 2 773-2 779.
- [9] ZHANG H J, CHEN C, DING L, et al. Sea cucumbers-derived sterol sulfate alleviates insulin resistance and inflammation in high-fat-high-fructose diet-induced obese mice[J]. Pharmacological Research, 2020, 160: 105191.
- [10] 陆涛, 张军伟, 唐雪, 等. 海参花成分分析及对小鼠认知辨别能力的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(5): 60-69.
LU T, ZHANG J W, TANG X, et al. Composition analysis of sea cucumber ovum and its effect on cognitive discrimination of mice[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2021, 40(5): 60-69.
- [11] 周靖宇. 海参用于保健食品功能原料的药理研究进展[J]. 齐鲁药事, 2011, 30(6): 346-348.
ZHOU J Y. Pharmacological research progress of holothurian which was used for the health food materials[J]. Qilu Pharmaceutical Affairs, 2011, 30(6): 346-348.
- [12] 张婕, 刘坤, 高华, 等. 海参花醇提取物对卵巢早衰小鼠生殖系统的作用研究[J]. 中国海洋药物, 2014, 33(2): 69-73.
ZHANG J, LIU K, GAO H, et al. Effects of alcohol extracts of sea cucumber ovum on reproductive system of premature ovarian failure mice[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2014, 33(2): 69-73.
- [13] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准食品中蛋白质的测定: GB 5009.5—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission of the People’s Republic of China, China Food and Drug Administration. National food safety standard—determination of protein in foods: GB 5009.5—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [14] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准食品中脂肪的测定: GB 5009.6—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission of the People’s Republic of China, China Food and Drug Administration. National food safety standard—determination of fat in foods: GB 5009.6—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [15] 宋思媛, 李美琪, 王泽旭, 等. 海参多糖对小鼠肠道菌群紊乱的恢复作用[J]. 中国微生态学杂志, 2019, 31(9): 1 023-1 026.
SONG S Y, LI M Q, WANG Z X, et al. Restoration effect of Sea Cucumber polysaccharides on intestinal microbiota disorder in mice[J]. Chinese Journal of Microecology, 2019, 31(9): 1 023-1 026.
- [16] 吴英婷, 付文卓, 郑美青, 等. 微波消解技术在氨基酸分析中的应用研究[J]. 食品科技, 2016, 41(8): 260-264.
WU Y T, FU W Z, ZHENG M Q, et al. Application of microwave digestion method in analysis of amino acid[J]. Food Science and Technology, 2016, 41(8): 260-264.
- [17] 汪彩进, 吴鹏, 徐长安, 等. 雌性阿根廷鱿鱼生殖腺营养成分分析及评价[J]. 现代食品科技, 2019, 35(11): 231-236.
WANG C J, WU P, XU C A, et al. Analysis and evaluation of the nutritional composition of gonads in female Argentine squid[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(11): 231-236.
- [18] 王瑾, 马肖容, 张王刚. CCK-8 法在淋巴细胞增殖检测中最佳实验条件的筛选[J]. 中国医药导报, 2018, 15(23): 13-16.
WANG J, MA X R, ZHANG W G. Optimization of the experimental conditions of CCK-8 in lymphocyte proliferation assays[J]. China Medical Herald, 2018, 15(23): 13-16.
- [19] RIDDERHEIM M, MÄHLCK C G, SELSTAM G, et al. Steroid production in different parts of malignant and benign ovarian tumors *in vitro* [J]. Cancer Research, 1993, 53(S10): 2 309-2 312.

- [20] 高雅楠, 袁婷, 张伟伟, 等. 二仙汤水提物、醇提物对小鼠脾脏和卵巢细胞作用的比较研究[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(4): 958-961.
GAO Y N, YUAN T, ZHANG W W, et al. Effect of water or alcohol extract of erxian decoction on spleen and ovarian function in mice[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2017, 35(4): 958-961.
- [21] ZHOU T Y, XIANG X W, DU M, et al. Protective effect of polysaccharides of sea cucumber *Acaudina leucoprocta* on hydrogen peroxide-induced oxidative injury in RAW264.7 cells[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 139: 1 133-1 140.
- [22] LIU J Q, DU C X, WANG Y F, et al. Anti-fatigue activities of polysaccharides extracted from *Hericium erinaceus*[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2015, 9(2): 483-487.
- [23] YANG D D, LIN F D, HUANG Y Y, et al. Separation, purification, structural analysis and immune-enhancing activity of sulfated polysaccharide isolated from sea cucumber viscera[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155: 1 003-1 018.
- [24] 李丽华, 陈伟珍, 赖惠琴, 等. 微波消解原子发射光谱法测定鲍鱼中微量元素的含量[J]. 广东微量元素科学, 2008, 15(5): 59-62.
LI L H, CHEN W Z, LAI H Q, et al. Determination of microelement in *Haliotis* by microwave digestion and ICP-AES[J]. Guangdong Trace Elements Science, 2008, 15(5): 59-62.
- [25] 王莹, 康万利, 辛士刚, 等. 鲍鱼、海参中微量元素的分析研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(2): 511-514.
WANG Y, KANG W L, XIN S G, et al. Analysis study of trace elements in abalone and sea cucumber[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2009, 29(2): 511-514.
- [26] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准食品中污染物限量: GB 2762—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. National food safety standard—contaminant limits of in food: GB 2762—2017[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [27] 叶洪, 朱品玲, 钟茂生, 等. 福建海域养殖海参重金属含量分析及评价[J]. 渔业研究, 2019, 41(3): 234-240.
YE H, ZHU P L, ZHONG M S, et al. Concentration and assessment of the heavy metals in the culture sea cucumber from Fujian coastal waters [J]. Journal of Fisheries Research, 2019, 41(3): 234-240.
- [28] 林玉锋, 黄后培, 刘嘉怡, 等. 不同烹饪方式对牡蛎蛋白质营养品质的影响[J]. 食品科技, 2020, 45(7): 143-151.
LIN Y F, HUANG H P, LIU J Y, et al. Effect of different cooking methods on the nutritional quality of oyster protein[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(7): 143-151.
- [29] 章超桦, 刘亚, 杨萍, 等. 马氏珠母贝肉酶解蛋白抗疲劳功能的初步研究[J]. 中国海洋药物, 2006, 25(4): 46-47.
ZHANG C H, LIU Y, YANG P, et al. Preliminary study on anti-fatigue effects of enzymatic hydrolyzed animal protein extracted from *Pinctada martensii*[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2006, 25(4): 46-47.
- [30] 伍远安, 梁志强, 李传武, 等. 两种刺魮肌肉营养成分分析及评价[J]. 营养学报, 2010, 32(5): 499-502.
WU Y A, LIANG Z Q, LI C W, et al. Analysis and evaluation of nutritional components in the muscle of two kinds of mastacemebelus[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2010, 32(5): 499-502.
- [31] 张小强, 田亚东, 康相涛, 等. 固始鸡汤主要营养成分分析[J]. 食品工业科技, 2008, 29(1): 268-270.
ZHANG X Q, TIAN Y D, KANG X T, et al. Analysis of primary nutritive compositions in Gushi chicken soup[J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 29(1): 268-270.
- [32] 叶彬清, 陶宁萍, 王锡昌. 秋刀鱼肌肉营养成分分析及评价[J]. 营养学报, 2014, 36(4): 406-408.
YE B Q, TAO N P, WANG X C. Analysis and evaluation of nutritional composition of *Cololabis saira* muscle[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2014, 36(4): 406-408.
- [33] 王丹, 赵元晖, 曾名湧, 等. 牡蛎营养成分的测定及水提工艺的研究[J]. 食品科技, 2011, 36(3): 209-212.
WANG D, ZHAO Y H, ZENG M Y, et al. Nutritional components and water-extraction process of *Crassostrea gigas* meat[J]. Food Science and Technology, 2011, 36(3): 209-212.
- [34] WEN J, HU C Q, FAN S G. Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(14): 2 469-2 474.
- [35] 杨淑莉, 程端端, 司丽慧, 等. 基于高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱技术和分子对接技术分析筛选大叶藜抗卵巢癌活性成分[J/OL]. [2024-01-05]. <https://doi.org/10.16720/j.cnki.tej.2023.065>.
YANG S L, CHENG D D, SI L H, et al. Screening of anti-inflammatory active components of *Chenopodium hybridum* based on high performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry and molecular docking technology[J/OL]. [2024-01-05]. <https://doi.org/10.16720/j.cnki.tej.2023.065>.
- [36] HICHRI F, ZNATI M, BOUJAJILA J, et al. New cytotoxic sesquiterpene lactones from *Achillea cretica* L. growing in Tunisia[J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2018, 20(4): 344-351.
- [37] 邓三宁, 熊小兵. 近年女性雌激素(雌二醇)变化的探讨[J]. 华西医学, 2009, 24(7): 1 840-1 841.
DENG S N, XIONG X B. The female estradiol level change in recent years[J]. West China Medical Journal, 2009, 24(7): 1 840-1 841.
- [38] 田莉. 雌二醇对老年雌鼠内分泌免疫功能调节的影响实验研究[J]. 实用临床医药杂志, 2010, 14(21): 8-10.
TIAN L. Experimental study on regulatory effect of estradiol on endocrine and immune functions in aged female rats[J]. Journal of Clinical Medicine in Practice, 2010, 14(21): 8-10.
- [39] PICKAR J H, GRAHAM S, ZABLOTNA R, et al. Novel oral combined 17 β -estradiol (E₂) and micronized progesterone (P4) therapy improves vasomotor symptoms (VMS) and sleep in postmenopausal women (PW)[J]. Maturitas, 2021, 152: 85.

- [40] HUANG C Y, JIANG Y, LIU J Y, et al. The relationship between serum estrogen (E_2) levels and outcomes of hormone replacement therapy-frozen embryo transfer (hrt-fet) [J]. *Fertility and Sterility*, 2021, 116(3): e183.
- [41] KIM Y J, CHOI K H, KANG K Y, et al. P-658 Lovastatin promotes the expression of LDL receptor and enhances E_2 production in the cumulus cells [J]. *Human Reproduction*, 2021, 36(S1) : deab130.657.

Nutritional composition analysis of sea cucumber ovum and the effect of extracts on estradiol secretion in ovarian cancer cells

LI Liangkang^{1,2}, CHEN Xiaofeng², WANG Ling², WANG Caijin^{1,2}, WU Peng², TANG Xu^{2*}

(1. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

2. Third Institute of Oceanography, MNR, Xiamen 361005, China)

Abstract: Sea cucumber ovum is the gonad of female sea cucumber ovum, which is often treated as the waste in sea cucumber processing, but it contains rich nutrients and a variety of active factors. In this study, the composition and content of general nutrients, elements and amino acids of sea cucumber ovum were analyzed. At the same time, the effects of sea cucumber ovum water extract and alcohol extract on the proliferation of human ovarian cancer OVCAR-3 cells and its estradiol secretion were studied. Results showed that the water content of sea cucumber ovum was 86.63%, and the contents of crude protein, crude lipid and crude polysaccharide (dry weight) were 65.06%, 14.82% and 1.93%, respectively. A total of 17 amino acids were detected, and the total amino acids content was 519.09 mg/kg. Among them, the content of essential amino acids was 197.04 mg/kg. Sea cucumber ovum contains a variety of elements beneficial to human body. Sea cucumber ovum extract significantly inhibited the proliferation of human ovarian cancer OVCAR-3 cells, and the contents of estradiol in the supernatant of cell culture solution were increased by water extract and alcohol extract in sea cucumber ovum, and the content of estradiol in supernatant can be significantly increased by alcohol extract ($P < 0.01$). The above results show that sea cucumber ovum is rich in nutrition, and its extract has a significant role in promoting the secretion and regulation of estradiol in human ovarian cancer OVCAR-3 cells, so it has high exploitation and utilization values.

Key words: marine biology; sea cucumber ovum; nutritional ingredient; sea cucumber ovum extract; ovarian cancer cell; estradiol secretion

DOI: 10.3969/J.ISSN.2095-4972.20230529003

* Corresponding author (E-mail: tangxu@tio.org.cn)

(责任编辑:王 静)