

THÀNH PHẦN SINH HÓA CỦA MỘT SỐ LOÀI SAO BIỂN VIỆT NAM

**Đoàn Lan Phương¹, Nguyễn Thị Thu¹, Trịnh Thị Thu Hương¹, Trần Thị
Thúy¹, Phạm Minh Quân¹, Manobjyoti Bordoloi², Phạm Quốc Long¹**

¹Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên-Viện Hàn lâm KH và CN Việt Nam

²Viện Khoa học và công nghệ Đông Bắc Ấn Độ (NEIST)

Tóm tắt: So với nhiều quốc gia trên thế giới, Việt Nam đang sở hữu một nguồn tài nguyên vô giá về biển. Tiềm năng và nguồn lợi biển của Việt Nam là yếu tố và tác nhân cực kỳ quan trọng đối với sự nghiệp xây dựng và phát triển đất nước hiện nay và trong tương lai. Tuy nhiên nguồn tài nguyên này vẫn chưa được sử dụng đúng cách và hiệu quả nhất. Với mục đích tạo cơ sở khoa học để có thể định hướng khai thác hiệu quả nguồn tài nguyên sinh vật biển Việt Nam, chúng tôi đã chọn đối tượng Sao biển (Starfish), thuộc ngành Da gai (Echinodermata) để nghiên cứu. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu thành phần lipid, axit béo, protein và axit amin từ năm loài sao biển *Arachaster typicus*, *Acanthaster planci*, *Linckia laevigata*, *Culcita noveaguineae* và *Anthenea aspera* Việt Nam.

Từ khóa: Sao biển, Thành phần sinh hóa, Axit amin, Việt Nam.

BIO-CHEMICAL COMPOSITION OF SOME STARFISHES FROM VIETNAM

**Doan Lan Phuong¹, Nguyen Thi Thu¹, Trinh Thi Thu Huong¹, Tran Thi
Thuy¹, Pham Minh Quan¹, Manobjyoti Bordoloi², Pham Quoc Long¹**

¹Institute of Natural Products Chemistry-VAST

²North East Institute of Science and Technology

Abstract: In comparison to many countries around the world, Vietnam has an invaluable resource from the sea. The potential and resources of Vietnam sea are critical factors for the construction and development of the country in this period. However, these resources haven't been exploited effectively. With the objective to create the scientific background for effective exploitation of marine resources in Vietnam, Echinodermata for study. In this paper, we report the results of lipid, we have chosen the Starfish species, belonging to Phylum fatty acids, protein and amino acid content in five Starfish species, i.e. *Arachaster typicus*, *Acanthaster planci*, *Linckia laevigata*, *Culcita noveaguineae* and *Anthenea aspera* from Vietnam sea.

Từ khóa: Starfishes, Biochemical composition, Amino acid, Viet Nam.

I. MỞ ĐẦU

Sao biển là loài động vật không xương sống, thuộc ngành Da gai, đã từ lâu được biết đến như một loại thực phẩm bổ dưỡng (Đỗ Bích Huy và cs, 2004; Phạm Quốc Long và cs. 2004). Theo thống kê, hiện nay, ở Việt Nam có khoảng 60 loài sao biển phân bố dọc bờ biển từ Bắc đến Nam. Một số loài sao biển có giá trị cao trong việc sử dụng làm thực phẩm cao cấp bồi bổ cơ thể. Nhiều loài chứa hàm lượng lớn các hợp chất có hoạt tính sinh học có khả năng chống các khối u, tan máu, kháng virus, kháng nấm, giảm đau (Carter 1993, Chow 1992, Faulkner 1992, và Ireland 1993) và có thể ứng dụng làm thuốc chữa bệnh như các hợp chất steroid, saponin, và axit béo. Một số khác có chứa các hợp chất gây độc có thể sử dụng làm thuốc trừ sâu trong nông nghiệp.

Với mục đích tạo cơ sở khoa học để có thể định hướng khai thác hiệu quả nguồn tài nguyên sinh vật biển Việt Nam, chúng tôi đã chọn đối tượng Sao biển (Starfish), thuộc ngành Da gai (Echinodermata) để nghiên cứu. Bài báo này trình bày quá trình phân tích và kết quả nghiên cứu thành phần lipid, axit béo, protein và axit amin từ năm loài Sao biển Việt Nam bao gồm *Arachaster typicus*, *Acanthaster planci*, *Linckia laevigata*, *Culcita noveaguineae*, *Anthenea aspera*.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Mẫu sinh vật biển

Năm loài sao biển bao gồm *Arachaster typicus*, *Acanthaster planci*, *Linckia laevigata*, *Culcita noveaguinea*, *Anthenea aspera* được thu thập từ một số vùng biển phía Bắc Việt Nam cho mục đích nghiên cứu. Các mẫu sao biển luôn được bảo quản lạnh âm sâu để đảm bảo chất lượng. Mẫu sao biển này được PGS.TS. Đỗ Công Thung, Viện Tài nguyên môi trường biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam giám định tên loài và lưu giữ tiêu bản. Danh sách mẫu sinh vật biển và địa điểm thu thập mẫu được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Danh sách tên, địa điểm và thời gian thu thập mẫu

STT	Kí hiệu mẫu	Tên mẫu nghiên cứu	Tên loài	Địa điểm, thời gian thu mẫu
1	SB 01	Sao biển xám nhỏ	<i>Arachaster typicus</i>	Vạn Bội 04/2012
2	SB 15	Sao biển gai	<i>Acanthaster planci</i>	Hải Vân-Sơn Trà 05/2012
3	SB 07	Sao biển xanh cánh dài	<i>Linckia laevigata</i>	Hải Vân-Sơn Trà 5/2012
4	SB 06	Sao biển hộp	<i>Culcita noveaguineae</i>	Hải Vân-Sơn Trà 5/2012
5	SB 18	Sao biển cánh dày	<i>Anthenea aspera</i>	Cô Tô 4/2012

2. Phương pháp nghiên cứu

- Xác định lipid theo phương pháp của Bligh & Dyer (1959): Mẫu sinh vật biển tươi được xay nhỏ rồi ngâm chiết bằng hỗn hợp dung môi CHCl_3 : MeOH

tỷ lệ 1: 2 (v/v) trong thiết bị siêu âm ở 50⁰C, 2 giờ. Sau đó bổ sung CHCl₃ để đạt tỷ lệ 2:2, cho thêm nước vào để tách lấy lớp chất phía dưới có chứa lipid tổng. Dịch chiết trên đem làm khan bằng Na₂SO₄, lọc qua giấy lọc và cất loại dung môi bằng áp suất giảm thu được lipid tổng. Mỗi mẫu được chiết lặp lại 3 lần, hàm lượng lipid của mẫu sao biển sau khi cân trên cân phân tích Sartorius analytic (10⁻⁴) và được tính giá trị trung bình, tính % theo khối lượng mẫu tươi.

- Xác định thành phần và hàm lượng axit béo theo Tiêu chuẩn *ISO/FDIS 5590:1998*, LB Đức: Thành phần axit béo được xác định dưới dạng metyl este trên hệ thống sắc kí khí. 10 mg lipid tổng của các loài sao biển được hòa tan trong *n*-hexan bổ sung 50 µl NaOCH₃/CH₃OH, lắc kỹ trong 1 phút. Thêm 100 µl H₂O vào đem ly tâm chế độ 5000 vòng/phút, bổ sung 50 µl HCl. Phần dịch dưới được làm khan bởi Na₂SO₄ và đem phân tích trên máy sắc ký khí với cột mao quản chuyên dụng có kết hợp so sánh hệ chất chuẩn C16:0, C18:0. Sắc ký khí được thực hiện trên máy sắc ký khí HP-6890, ghép nối với Mass Selective Detector Agilent 5973; Cột HP-5MS (0,25 mm x 30m x 0,25mm); Khí mang He; Chương trình nhiệt độ: 80 (1phút) - 40/ phút -150 (1 phút) -10/phút - 260 (10 phút). Thư viện phổ khối: WILEY275.L và NIST 98.L.

- Xác định protein tổng (bằng phương pháp Kendal) theo TCVN 4295-86.

- Xác định thành phần và hàm lượng axit amin bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) đầu dò huỳnh quang (HITACHI), cột sắc kí C18, 250 mm – RESTEX, cột tách C18 (250 mm x 4,6 mm x 3,9 µm, nhiệt độ buồng cột 37⁰C, tốc độ dòng 1 ml/phút, thể tích bơm mẫu 20 µl, bước sóng kích hoạt 250 nm, bước sóng hấp thụ 375 nm, pha động kênh A là đệm Acetat-phosphat (pH = 5,05), kênh B là Acetonitril, kênh C là nước cất tinh khiết.

- Xác định hàm lượng các nguyên tố vi lượng trên máy quang phổ hấp thụ nguyên tử cùng các bộ phận đi kèm Thermo Elemental – Model Solaar M6 Dual Zeeman Atomic Absorption Spectrometer đi catot rỗng, HCL data Codel. Phân tích định lượng dựa vào hệ thức:

$$\lg(I_0/I) = A = k.b.C$$

Trong đó: I₀: cường độ bức xạ cộng hưởng chiếu vào môi trường hấp thụ; I: cường độ bức xạ sau khi qua môi trường hấp thụ; A: độ hấp thụ; k: hệ số hấp thụ; b: khoảng đường ánh sáng bị hấp thụ; và C: nồng độ (tính theo mol/l, g/l,...).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Hàm lượng lipid tổng và thành phần axit béo

1.1. Hàm lượng lipid tổng số

Kết quả phân tích hàm lượng lipid tổng thu nhận được cho thấy trong năm loài sao biển được đưa vào phân tích thì có mẫu sao biển *Anthenea aspera* thu tại Cô Tô có hàm lượng lipid cao nhất 1,34%, và thấp nhất là sao biển *Linckia laevigata* thu tại Hải Vân-Son Trà 0,84%. Hàm lượng lipid các mẫu sao biển *Culcita noveaguineae*, *Acanthaster planci* và *Arachaster typicus* thu được lần

lượng là 1,21; 0,90 và 0,95% so với trọng lượng mẫu tươi. Nhìn chung, các loài sao biển khác nhau có hàm lượng lipid tổng khác nhau, nhưng đều có hàm lượng lipid thấp. Kết quả phân tích hàm lượng lipid các mẫu Sao biển được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng lipid trong các mẫu nghiên cứu

Kí hiệu mẫu	Tên mẫu nghiên cứu	Tên khoa học	Hàm lượng lipid (% so với mẫu tươi)
SB 01	Sao biển xám nhỏ	<i>Arachaster typicus</i>	0,95
SB 15	Sao biển gai	<i>Acanthaster planci</i>	0,90
SB 07	Sao biển xanh cánh dài	<i>Linckia laevigata</i>	0,84
SB 06	Sao biển hộp	<i>Culcita noveaguineae</i>	1,21
SB 18	Sao biển cánh dày	<i>Anthenea aspera</i>	1,34

1.2. Thành phần và hàm lượng các axit béo

Kết quả phân tích thành phần và hàm lượng các axit béo trong lipid tổng của năm loài sao biển được trình bày trong Bảng 3. Theo đó thì các axit béo có mặt rất đa dạng trong các mẫu nghiên cứu từ C14 đến C24. Trong đó, axit béo no thường tập trung cao vào các axit C16:0 (Hexadecanoic acid), C18:0 (Octadecanoic acid); 19:0 (nonadecanoic); axit béo không no thường tập trung vào các axit béo thuộc họ ω -6 và ω -3 như: C20:2n-6 (11,14-eicosadienoic); C20:3n-6 (8, 11, 14-eicosatrienoic); C20:4n-3 (8, 11, 14, 17 eicosatetraenoic). Đặc biệt ba loài *Acanthaster planci*, *Linckia laevigata* và *Culcita noveaguineae* có hàm lượng các axit béo không no đạt khoảng 51 đến 57% tổng số axit béo.

Trong cả năm mẫu nghiên cứu thành phần các axit béo chính đều là các axit béo thuộc họ ω -6 và ω -3. Những axit này rất cần thiết cho quá trình biến đổi chất béo trong tự nhiên, tinh chất chủ yếu chứa trong 2 loại axit béo này không thể tự sản xuất ra trong cơ thể con người, vì vậy chúng cần phải được bổ sung từ nguồn thực phẩm. Trong đó đáng chú ý là các axit béo không no mạch dài cacbon như : Arachidonic (AA) trong sao biển *Acanthaster planci* (17,699%) cao hơn đáng kể so với các loài sao biển còn lại: sao biển *Linckia laevigata* và (8,240%), *Arachaster typicus* (1,380%), *Culcita noveaguineae* (2,582%). Đặc biệt axit Eicosapentaenoic (EPA) có mặt trong sao biển cánh dày *Anthenea aspera* (4.876%) cao hơn trong sao biển xám nhỏ và sao biển xanh, trong hai loài sao biển gai, sao biển hộp không xác định được axit này.

Ngoài ra, các axit béo no có hàm lượng cao trong các mẫu Sao biển *Arachaster typicus* là C20:3n-6 (8,692%); sao biển *Acanthaster planci* là C20:1n-9 (26,973%), C20:2n-6 (4,391%); sao biển *Linckia laevigata* là C20:4n-3 (8,230%); sao biển *Culcita noveaguineae* là C20:2n-6 (11,069%), C20:3n-6 (19,420%); và sao biển *Anthenea aspera* là C20:3n-6 (13,367%).

Bảng 3. Thành phần và hàm lượng axit béo trong 05 mẫu sao biển

STT	Axit béo	Tên khoa học	Hàm lượng (%)				
			SB01	SB15	SB07	SB06	SB18
1	C14:0	Axit tetradecanoic	1,528	1,051	2,521	0,903	2,029
2	C14:1n-5	Axit 9 tetradecenoic	-	-	2,163	0,906	-
3	C15:0	Axit pentadecanoic	-	1,342	-	-	1,230
4	C15:1n-5	Axit 10 pentadecenoic	-	-	-	0,848	1,461
5	C16:0	Axit hexadecanoic	11,621	8,093	10,934	4,629	7,015
6	C16:1n-7	Axit 9-hexadecenoic	5,725	3,105	-	-	1,980
7	C17:0	Axit heptadecanoic	0,563	0,864	1,279	1,586	-
8	C18:0	Axit octadecanoic	6,010	10,221	11,232	7,247	8,671
9	C18:1n-9	Axit 9-octadecenoic	7,205	4,719	3,835	2,410	4,199
10	C18:1n-7	Axit 11-octadecenoic	1,379	-	4,890	4,284	3,463
11	C18:2n-6	Axit 9,12-octadecadienoic	1,367	2,001	14,318	0,722	-
12	C19:0	Axit nonadecanoic	22,391	2,472	5,891	7,429	13,714
13	C18:5n-3	Axit 3,6,9,12,15 octadecapentaenoic	-	0,987	8,439	-	7,170
14	C20:2n-6	Axit 11,14-eicosadienoic	8,723	4,391	2,859	11,069	-
15	C20:4n-6	Axit 5,8,11,14,-eicosatetraenoic	1,380	17,699	8,240	2,582	-
16	C20:3n-6	Axit 8,11,14-eicosatrienoic	8,692	0,408	-	19,420	13,367
17	C20:4n-3	Axit 8,11,14,17 eicosatetraenoic	-	-	8,230	5,465	-
18	C22:0	Axit docosanoic	15,410	0,451	-	3,656	-
19	C20:5n-3	Axit 5,8,11,14,17 eicosapentaenoic	1,157	-	2,385	-	4,876
20	C20:5n-6	Axit 3,5,8,11,14 eicosapentaenoic	-	1,372	-	0,852	-
21	C20:1n-9	Axit 11 eicosenoic	-	26,973	1,545	-	1,811
22	C24:0	Axit Tetracosanoic	0,442	1,570	-	1,865	2,598
23	C18:1n-6	Axit 12-octadecenoic	-	-	-	1,119	-

STT	Axit béo	Tên khoa học	Hàm lượng (%)				
			SB01	SB15	SB07	SB06	SB18
24	Các thành phần khác		17,099	19,660	11,239	21,545	26,416
Tổng các axit béo no			55,965	26,064	31,857	27,315	35,257
Tổng các axit béo không no			26,936	54,276	56,904	51,14	38,327

1.3. Hàm lượng protein và thành phần các axit amin

Kết quả phân tích hàm lượng protein và thành phần các axit amin có trong năm loài sao biển *Arachaster typicus*, *Acanthaster planci*, *Linckia laevigata*, *Culcita noveaguineae* và *Anthenea aspera* được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng protein và thành phần các axit amin trong 5 loài sao biển Việt Nam

Mẫu nghiên cứu (kí hiệu)		SB01	SB15	SB07	SB06	SB18
STT	Protein Axit amin	166,29 (mg/g)	196,25 (mg/g)	161,18 (mg/g)	205,91 (mg/g)	125,073 (mg/g)
1	Aspartate	7,84	21,01	10,90	11,51	1,828
2	Serine	5,69	9,42	6,03	7,77	4,814
3	Glutamine	13,43	24,61	17,57	19,85	13,777
4	Glycine	49,31	38,23	38,61	59,97	30,768
5	Histidine	1,28	2,74	1,33	1,91	1,436
6	Threonine	5,56	9,77	7,63	6,68	6,633
7	Arginine	31,86	14,21	23,88	30,43	21,157
8	Alanine	18,48	12,97	11,81	15,32	8,196
9	Proline	13,61	11,38	17,61	21,96	12,662
10	Cysteine	0,61	0,91	0,51	0,75	0,330
11	Tyrosine	1,46	5,24	1,28	2,48	3,019
12	Valine	4,98	8,77	6,92	7,98	5,351
13	Methionine	3,12	2,82	3,53	4,75	2,443
14	Lysine	1,86	9,77	3,59	2,69	3,273
15	Isoleucine	2,42	7,16	3,11	3,56	3,610
16	Leucine	2,85	11,39	4,28	4,78	3,833
17	Phenylalanine	1,93	5,84	2,59	3,53	2,273

Từ các kết quả phân tích thu nhận được, nhận thấy hàm lượng protein tổng có trong cả năm loài sao biển đều cao, trong đó cao nhất là mẫu sao biển *Culcita noveaguineae* (đạt 205,91mg/g) và thấp nhất là mẫu sao biển *Anthenea aspera* (125,073 mg/g trọng lượng khô của mẫu). Và trong tất cả các mẫu sao

biển nghiên cứu đều chứa đầy đủ các axit amin thiết yếu là những amin cơ thể không thể tổng hợp được hoặc chỉ tổng hợp được một lượng rất ít. Qua bảng kết quả số 4, chúng tôi thấy được tất cả các mẫu sao biển đều chứa 09 loại axit amin thiết yếu là lysine, leucine, isoleucine, methionine, phenylalanine, threonine, valine, tyrosine và histidine. Nhìn chung hàm lượng các axit amin thiết yếu trong năm loài sao biển chênh lệch không nhiều. Trong tự nhiên không có loại thức ăn protein nào có thành phần hoàn toàn giống với thành phần axit amin của cơ thể. Do đó để đáp ứng nhu cầu cơ thể cần phối hợp các loại protein thức ăn để có thành phần axit amin cân đối nhất. Vì vậy giá trị dinh dưỡng một loại protein cao khi thành phần axit amin cần thiết trong đó cân đối và ngược lại. Như vậy, kết quả nghiên cứu chỉ rằng protein có trong loài sao biển này có giá trị dinh dưỡng rất tốt.

Kết quả này hoàn toàn phù hợp với thực tế, trong y học phương Đông đã từ lâu sử dụng sao biển làm thuốc bồi dưỡng cơ thể cho những người yếu mệt hay suy giảm sức đề kháng, phụ nữ sau khi sinh và trẻ em chậm phát triển là có cơ sở.

3. Hàm lượng các nguyên tố vi lượng

Kết quả phân tích nguyên tố vi lượng của 05 loài sao biển cho thấy trong các mẫu đều có mặt các nguyên tố vi lượng quan trọng như đồng, sắt, kẽm và mangan, ngoài ra còn có mặt nguyên tố chì và thủy ngân (Bảng 5).

Bảng 5. Hàm lượng và thành phần các nguyên tố vi lượng của các mẫu sao biển

STT	Ký hiệu mẫu	Hàm lượng (ppm)					
		Cu	Pb	Zn	Mn	Fe	Hg
1	SB01	129,80	25,86	63,80	9,47	147,65	2,72
2	SB15	99,11	43,10	59,05	14,21	97,32	0,95
3	SB07	34,53	30,17	46,83	26,32	142,62	1,08
4	SB06	221,88	21,55	93,89	3,16	102,35	1,13
5	SB18	113,6	24,91	69,32	12,57	95,38	1,24

Trong đó, mẫu sao biển SB06 thuộc loài *Culcita novaeguineae* có hàm lượng Cu cao nhất (221,88 ppm), sau đó là mẫu SB01 (129,80 ppm) trong khi mẫu SB07 thuộc loài *Linckia laevigata* có hàm lượng thấp hơn cả (34,53 ppm). Mẫu SB07 *Linckia laevigata* và SB01 *Arachaster typicus* cũng là mẫu có hàm lượng Fe lớn nhất (147,65 ppm), các mẫu khác cũng có hàm lượng tương đối cao xấp xỉ 100ppm. Hàm lượng Zn và Mn trong các mẫu ở mức thấp, mẫu SB06 có hàm lượng Zn cao nhất (93,89 ppm), còn mẫu SB07 có hàm lượng Mn cao nhất (26,32 ppm) trong khi mẫu SB06 lại có hàm lượng Mn thấp nhất (3,16 ppm). Pb và Hg là những nguyên tố không có lợi cho sức khỏe được ghi nhận ở mức thấp, hàm lượng Pb trong các mẫu lần lượt từ 21,55 – 43,10 ppm, còn Hg thì có hàm lượng rất nhỏ (0,95 – 2,727 ppm). Như vậy, hàm lượng các nguyên tố vi lượng trong các loài sao biển theo xu hướng có lợi, do đó, việc nghiên cứu sâu về sao biển nhằm định hướng trong việc sản xuất thực phẩm chức năng là có cơ sở.

IV. KẾT LUẬN

Hàm lượng lipid tổng của 05 loài sao biển trong nghiên cứu này khá thấp, đạt từ 0,84-1,34% so với trọng lượng mẫu tươi. Thành phần các axit béo có trong các loài sao biển này rất phong phú, trong đó có chứa các axit béo có hoạt tính sinh học cao là các axit béo không no đa nối đôi thuộc họ ω -3 và ω -6 với hàm lượng dao động trong khoảng 20 đến 40%.

Hàm lượng protein khá cao và chứa đầy đủ các axit amin thiết yếu. Độ chênh lệch giữa các axit amin thiết yếu trong cả 05 mẫu sao biển đều không nhiều. Điều này cho thấy giá trị dinh dưỡng của protein có trong đối tượng sao biển rất tốt, chúng có tiềm năng ứng dụng cao trong nhiều lĩnh vực nhằm phục vụ đời sống con người, đặc biệt trong y dược học, thực phẩm và nông nghiệp...

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện dưới sự tài trợ của đề tài nghị định thư với Ấn Độ: “Nghiên cứu thành phần hóa học và các chất có hoạt tính sinh học của một số loài sao biển ở vùng biển Việt Nam” do Bộ Khoa học & Công nghệ Việt Nam tài trợ kinh phí.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Bích Huy, Đặng Quang Trung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Huy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhung, Nguyễn Tập, Trần Toàn. 2004. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập 1, 1127-1128, NXB KHKT.
2. Phạm Quốc Long, Đoàn Lan Phương, Cẩm Thị Ính, Chu Quang Truyền, Trịnh Thị Thu Hương 2004. Nghiên cứu thành phần lipid, axit béo và hoạt tính sinh học các mẫu sinh vật biển ngành Da gai (Echinodermata) Hải sâm, Sao biển, Cầu gai. *Tạp chí Khoa học ĐHQG Hà nội*, KHTN & CN, T. XX, No 4, 11-18.
3. Trương Kinh Phong. 1963. Động vật chí Trung Quốc, Ngành động vật Da gai, NXB khoa học.
4. Bligh E. G., W. J. Dyer .1959. A rapid method of total lipid extraction and purification *Canadian Journal of Biochemistry Physiology, The national research council of Canada*.
5. Carreau J. P., J.P. Dubacq. 1978. Adaptation of macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts, *Journal of chromatography* 151: 384 -390.
6. Carter B.K. 1993. Current opinion in biotechnology 4: 275 – 279.
7. Chow Ching Kuang. 1992. Fatty acids in food and their health implications; Marcel Dekker, Inc.
8. Faulkner D. 1992. Biomedical uses for natural marine chemicals, *Oceanus* 35: 29 – 35.
9. Ireland C.M, B.R. Copp, M.P. Foster, L.A. McDonald, D.C. Radisky, J.C. Swersey. 1993. Biomedical potential of marine natural Products; Pages 1 - 43, Vol. 1. NewYork: plenum press.