

- [6] 肖凯军,曾庆孝,高孔荣.大豆分离蛋白的酶法改性[J].食品科学,1995,16(9):30-34.
- [7] 石彦国,等.酶工程技术在大豆蛋白工业中的应用进展.大豆新加工技术原理与应用[M].科学技术文献出版社,1999.
- [8] 李书国,陈辉,等.复合酶法制备活性大豆寡肽研究[J].粮食与油脂,2001,(3):5-7.
- [9] 马永强,赵毅,石彦国.大豆蛋白水解物中肽分子分布的研究[J].中国粮油学报,2001,16(3):15-17.

## 菹草类胡萝卜素的研究

### ——菹草与红心鸭蛋类胡萝卜素特性的初步比较

王海滨<sup>1,2</sup>, 彭光华<sup>1</sup>, 刘良忠<sup>1</sup>, 刘 民<sup>1</sup>, 任丹丹<sup>1</sup>, 石嘉悻<sup>1</sup>, 张声华<sup>1</sup>

(1. 华中农业大学食品科技学院, 武汉 430070; 2. 武汉工业学院食品科学与工程学院, 武汉 430023)

**摘 要:** 用菹草喂养蛋鸭能生产优质红心蛋, 通过薄层层析及紫外可见吸收光谱等研究, 发现菹草含有一类特殊的红色类胡萝卜素, 菹草红色类胡萝卜素及部分黄色类胡萝卜素与红心蛋色素有很好的对应关系, 证明了红心鸭蛋的红色素来源于菹草; 菹草红色类胡萝卜素易溶于丙酮、乙醇、甲醇等极性溶剂, 其丙酮溶液的可见吸收光谱峰波长为480nm; 菹草和红心鸭蛋中都含有 $\beta$ -胡萝卜素; 对菹草类胡萝卜素的部分特性作了初步研究。

**关键词:** 菹草; 红心鸭蛋; 类胡萝卜素; 特性

## Studies on the Carotenoids in Potamogeton

### Potamogeton Crispus

#### Comparisons on the Characteristics of Carotenoids between Potamogeton Crispus and Red-yolk Duck Eggs

WANG Hai-bin<sup>1,2</sup>, PENG Guang-hua<sup>1</sup>, LIU Liang-zhong<sup>1</sup>, LIU Min<sup>1</sup>, REN Dan-dan<sup>1</sup>, SHI Jia-yi<sup>1</sup>, ZHANG Sheng-hua<sup>1</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agri Uni, Wuhan 430070, China 2. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic Uni, Wuhan 430023, China)

**Abstract:** The ducks fed Potamogeton crispus could produce good red-yolk eggs. A kind of special red carotenoid pigments was found in Potamogeton crispus, and its red and some yellow pigments were in correspondence with the pigments in red-yolk eggs of ducks fed Potamogeton crispus as assayed by thin-layer chromatography (TLC) and UV-Vis spectroscopy. The red pigments in Potamogeton crispus were solubilized easily in acetone, alcohol and methyl alcohol, and the wavelength of maximum absorption ( $\lambda_{max}$ ) of it in acetone was 480nm. There was  $\beta$ -carotene found in both Potamogeton crispus and red-yolk ducks eggs. Some characteristics of carotenoids in Potamogeton crispus were studied.

**Key words:** Potamogeton crispus L.; red-yolk ducks eggs; carotenoids; characteristics

中图分类号 TS202.3

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2003)11-0041-05

菹草(Potamogeton crispus L.)为眼子菜科、多年生沉水草本植物, 广泛分布于江河、湖泊、水库、渠沟、池塘和沼泽等地<sup>[1]</sup>。它是湖泊、水库等渔业水域系统中重要的初级生产者, 由于柔嫩多汁、营养丰富, 因此是鱼及多种畜禽的良好饲料<sup>[1~3]</sup>。在湖北的仙桃、洪湖等蛋鸭饲养地区, 很早就发现蛋鸭采食菹草后能产下优质的

收稿日期: 2003-04-06

作者简介: 王海滨(1964-), 男, 副教授, 在职博士, 研究方向为功能食品与分子生物学基础。

红心鸭蛋,这种红心蛋蛋黄呈现独特的绚丽的天然红色(朱砂红),深受国内外消费者喜爱,其经济价值明显高于普通鸭蛋。据报道禽蛋蛋黄的色泽与饲料中的类胡萝卜素有关<sup>[4~7]</sup>,类胡萝卜素不仅是重要的天然色素,而且在预防肿瘤、免疫调节、清除自由基、预防眼病和心血管疾病等方面具有非常重要的作用<sup>[7~10]</sup>,富含类胡萝卜素产品的营养保健功能值得深入研究,同时,随着人们对合成色素安全性的担忧及对天然色素需求的急剧增加,使寻找和开发富含类胡萝卜素的生物资源的研究受到广泛重视<sup>[7][10,11]</sup>,因此,作为红心蛋鸭的苜蓿具有很高的经济价值和开发前景。文献情报查新结果表:国内外目前对苜蓿的报道多集中在生理生态学特性<sup>[12,13]</sup>、常规营养成分的分析方面<sup>[1~3][14]</sup>,但是苜蓿和红心鸭蛋有什么关系?其红色素的化学本质及特性如何?有关这些方面的深入研究还未见报道。为了更好地开发利用这一资源,我们对苜蓿开展了系统的研究,本文报道苜蓿和红心鸭蛋类胡萝卜素特性的初步比较研究结果。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验材料

苜蓿:鲜苜蓿采于湖北仙桃,经中科院武汉植物研究所鉴定为眼子菜科植物苜蓿 *Potamogeton crispus* L.;红心鸭蛋:采食鲜苜蓿的蛋鸭所产,湖北仙桃食品总公司提供。

### 1.2 主要化学试剂

玉米黄素标准品 瑞士F.Hoffmann La Roche公司产品;β-胡萝卜素标准品 美国Sigma公司产品;硅胶G(60型,CP) 中国青岛海洋洋化工公司;石油醚、正己烷、无水乙醚、无水乙醇、丙酮、甲醇、氯化钠、无水硫酸钠、无水碳酸钠、二氧化硅 均为国产分析纯,其中无水乙醚加适量还原铁粉过夜、再重蒸去过氧化物;异抗坏血酸钠 食品添加剂。

### 1.3 实验仪器和设备

紫外-可见分光光度计 UV-265FW(Shimadzu Co. Japan), 752 紫外分光光度计(上海分析仪器总厂),控温多用高速组织捣碎机(300w,江苏江阴科研器械厂),RE52-3 旋转器及SHZ-3 循环水多用真空泵(上海沪西分析仪器厂),电子恒温水浴锅(深圳国华仪器厂)。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 苜蓿类胡萝卜素的提取制备

类胡萝卜素是植物色素的重要组分,易溶于有机溶剂,常用石油醚-丙酮混合溶剂提取<sup>[7][11][15]</sup>。

##### 1.4.1.1 苜蓿色素提取物的制备

称取200g洗净沥干的鲜苜蓿,加适量石英砂、碳酸钠和异抗坏血酸钠,在高速组织捣碎机中用800ml石油醚-丙酮(1:1, v/v)分三次搅拌提取(室温),提取总时间在40min左右。将提取液抽滤合并转入1000ml分液漏斗中,加入100ml左右的蒸馏水摇匀,避光静置干燥1h,

过滤,将滤液在40℃以下真空浓缩至干(回收溶剂),即得到苜蓿色素提取物,用200ml石油醚溶解即得苜蓿色素提取液,用分光光度法测定总类胡萝卜素浓度( $C_{x+c}$ )<sup>[7]</sup>,充氮密封避光低温保存备用。

##### 1.4.1.2 苜蓿色素提取物的皂化(苜蓿总类胡萝卜素的制备)

取苜蓿色素提取液100ml置于250ml棕色试剂瓶中,加入20ml 40%(w/v)氢氧化钾-甲醇溶液,摇匀后充氮置于暗处在室温下皂化12h,将皂化液转入分液漏斗,弃去下层,将上层(石油醚层)多次用蒸馏水洗至中性,再用无水硫酸钠干燥1h,过滤、在40℃以下减压浓缩蒸发至干,即得苜蓿色素不皂化物(总类胡萝卜素),用100ml石油醚或丙酮溶解于棕色瓶中,用分光光度法测定总类胡萝卜素浓度<sup>[7]</sup>,充氮密封避光低温保存备用。

##### 1.4.2 红心鸭蛋蛋黄总类胡萝卜素的提取

取3枚红心鸭蛋,将蛋黄小心地与蛋白分开,将蛋黄置于高速组织捣碎机中,加适量石英砂、碳酸钠和异抗坏血酸钠,用300ml丙酮分三次搅拌提取,提取总时间在40min左右。将提取液抽滤合并转入1000ml分液漏斗中,加入200ml石油醚萃取,缓慢加入约100ml饱和食盐水,避光静置分层,弃去下层水相,反复用食盐水洗3次去杂,在上层有机相中加适量无水硫酸钠,避光静置干燥1h,过滤,将滤液在40℃以下真空浓缩至干(回收溶剂),即得到蛋黄色素提取物,用100ml石油醚溶解即得蛋黄色素提取液,充氮密封避光低温保存备用。

##### 1.4.3 苜蓿与红心鸭蛋蛋黄总类胡萝卜素的薄层层析比较

将上述苜蓿色素提取液、苜蓿色素不皂化物(总类胡萝卜素)溶液、红心鸭蛋蛋黄总类胡萝卜素溶液各取20ml,用氮气挥发深剂浓缩至2ml左右,作为薄层层析的样品。薄层层析的条件为:玻璃板规格10cm(宽)×20cm(长),吸附剂为硅胶G,厚度分别为0.25mm(分析用)和0.75mm(制备用),于120℃活化1h置干燥器中冷却待用,展层剂为石油醚-丙酮=17:4(v/v)。

##### 1.4.4 苜蓿色素和总类胡萝卜素的溶解性、可见光谱特性和定性显色反应

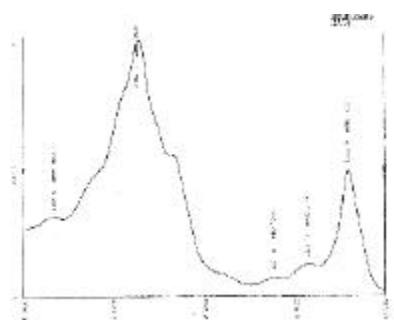
取上述苜蓿色素和总类胡萝卜素溶液各8份,每份10ml,减压挥发溶剂,分别加入3ml石油醚、正己烷、无水乙醚、无水乙醇、丙酮、甲醇、二硫化碳、氯仿,观察色素在常见有机溶剂中的溶解特性;用紫外-可见分光光度计测定色素溶液在300~700nm的吸收光谱特性(最大吸光值在0~2之间);通过在色素的乙醚溶液中加入数滴浓硫酸或三氯化铁-氯仿后的显色反应辅助鉴定类胡萝卜素<sup>[11]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 苜蓿色素提取物、苜蓿色素不皂化物(总类胡萝卜素)及红心蛋色素的基本特性

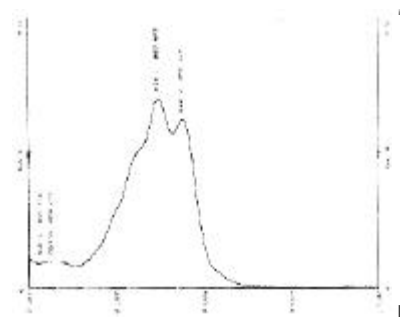
从颜色、溶解性和吸收光谱几个方面作了比较。苜蓿色素提取物(*Potamogeton crispus* Pigments Extracts,简称PPE)呈墨绿色膏状,易溶于石油醚、正己烷、乙醚、

氯仿、丙酮、乙醇等有机溶剂,其溶液有明显的荧光现象,其可见吸收光谱图(图1)可分为两个主要的光谱区,第一个在330~500nm之间,最高峰在430.4nm,另外一个在550~700nm之间,最高峰在661nm(此峰是叶绿素的特征吸收峰)。将菹草色素提取液皂化后,除去了叶绿素,可得到橙红色的膏状物(即菹草色素不皂化物, Unsaponifiable Matter of Potamogeton crispus Pigments Extracts, 简称UMPPE),其溶解特性与PPE相似,其溶液的可见吸收光谱图(图2)呈“三指状”,光谱区在350~550nm之间,最高峰和次高峰分别为449.4nm及477.4nm,在可见光区有吸收峰表明分子中有共轭双键,这是类胡萝卜素的典型图谱<sup>[7,15]</sup>。



溶剂: 石油醚(60~90℃)  
(最高峰波长430.4nm、次高峰波长661.0nm)

图1 菹草色素提取物可见吸收光谱图



溶剂: 石油醚(60~90℃)  
(最高峰波长449.4nm、次高峰波长477.4nm)

图2 菹草色素不皂化物可见吸收光谱图

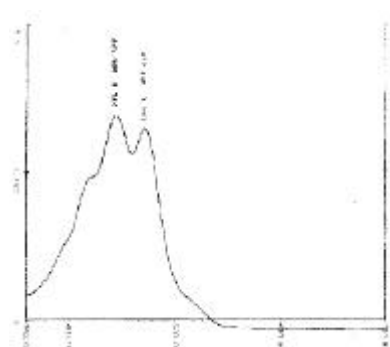
红心鸭蛋蛋黄色素的溶解性与菹草色素不皂化物的溶解性相似,其溶液颜色接近,呈橙红色,其可见吸收光谱图如图3,亦呈“三指状”,光谱区在350~550nm之间,最高峰和次高峰分别为445.0nm及472.4nm,与菹草色素不皂化物的可见吸收光谱图形很相似(见图2),也呈现类胡萝卜素的典型图谱<sup>[15]</sup>。

上述情况说明:菹草色素不皂化物和红心蛋蛋黄色素都是以类胡萝卜素为主要特征成分的混合物。

## 2.2 菹草与红心鸭蛋蛋黄色素薄层层析比较及初步鉴定

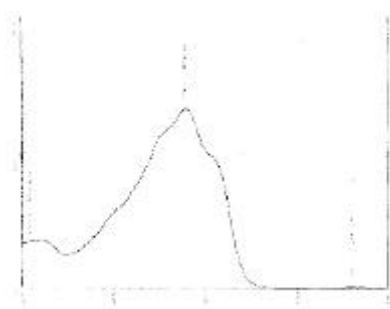
### 2.2.1 主要色素类型和特征

薄层层析(TLC)是分离鉴定色素物质的重要手段之一,它具有相对简便、灵活和直观的特点。对菹草色素



溶剂: 石油醚(60~90℃)  
(最高峰波长445.0nm、次高峰波长472.4nm)

图3 红心鸭蛋蛋黄色素提取物可见吸收光谱图



溶剂: 丙酮  
(最高峰波长480.0nm)

图4 菹草色素红色组分可见吸收光谱图

提取物(PPE)、菹草色素不皂化物(UMPPE)与红心鸭蛋蛋黄色素提取物进行了薄层比较分析,首次发现了菹草和红心蛋中有红色素,作者以分离红色素为重点并兼顾分离其它色素作为试验的指导思想,探索了多种薄层吸附剂和展开剂,最后得到了较好的分离条件(图5),结果表明:菹草色素的主要类型有绿色素、黄色素和红色素,皂化后剩下黄色素和红色素,绿色素消失,红心蛋蛋黄色素主要有黄色素和红色素,而未采食菹草的鸭蛋所产鸭蛋蛋黄中没有与菹草红心蛋相同的红色素。



薄层吸附剂: 硅胶 G  
展层剂: 石油醚 - 丙酮 = 17: 4 (v/v)  
样品编号(从左至右):  
I. 菹草色素提取物  
II. 菹草色素不皂化物  
III. 红心鸭蛋蛋黄色素提取物  
IV. 玉米黄素标准品

图5 菹草与红心鸭蛋蛋黄色素薄层图谱

## 2.2.2 主要色素的初步鉴定

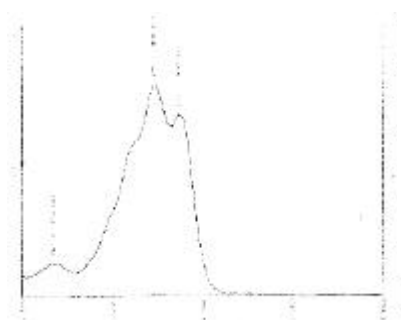
用制备薄层层析将各主要色素带收集后,进行了定性显色试验及光谱扫描。

### 2.2.2.1 苜蓿草和红心蛋蛋黄中的红色素

苜蓿草和红心蛋蛋黄中的红色素有很好的对应关系,都呈紫红色,  $R_f$  为 0.41, 位于薄层板的中下部,在鲜苜蓿草色素中位于绿色素的上方、灰色素的下方;红色素在乙醚、丙酮、氯仿、乙醇、甲醇中的溶解性很好,在石油醚、正己烷中的溶解性较差,表明其极性较大;红色素的乙醚溶液加浓硫酸后呈蓝绿色、加三氯化锑-氯仿溶液后呈蓝色;红色素对碱处理(皂化)稳定,处理前后未见明显变化,提示红色素不是脂肪酸的酯类物质;其可见吸收光谱见图4,最大吸收峰波长为480nm(丙酮溶剂),峰型不对称,与类胡萝卜素相似。结合其它光谱及理化特征(如拉曼和红外光谱等,待发表),综合分析认为:苜蓿草和红心蛋蛋黄中的红色素同属于类胡萝卜素,从其具有较大的吸收光谱峰波长及红色的外观初步判断,红色素分子中具有相对较多的共轭双键<sup>[7][15]</sup>。其详细化学结构正在研究之中。

### 2.2.2.2 苜蓿草和红心蛋蛋黄中的黄色素

位于薄层最前沿的黄色素组分:苜蓿草和红心蛋蛋黄中都有这一组分,  $R_f$  为 0.93;该黄色素在石油醚、正己烷、氯仿和乙醚中的溶解性很好,在丙酮中溶解性较好,在乙醇和甲醇中的溶解性很差,表明其极性很小;黄色素的乙醚溶液加浓硫酸后呈蓝绿色、加三氯化锑-氯仿溶液后呈蓝色;黄色素对碱处理(皂化)稳定,处理前后未见明显变化,提示黄色素不是脂肪酸的酯类物质;其可见吸收光谱见图6(石油醚溶剂),呈类胡萝卜素的典型图谱,吸收峰波长为448.8nm(最大)和475.8nm,与标准品和文献对照(450nm和478nm),可确认该色素为 $\beta$ -胡萝卜素。



溶剂:石油醚(60~90℃)  
(最高峰波长448.8nm、次高峰波长475.8nm)

图6 苜蓿草和红心蛋薄层最前沿的黄色素可见吸收谱图

其它黄色素:在本试验分离条件下,发现除了有 $\beta$ -胡萝卜素外,在苜蓿草色素中至少还有3种黄色素(I号样,  $R_f$  分别为0.07、0.20、0.30)在苜蓿草色素不皂化物中至少还有2种黄色素(II号样,  $R_f$  分别为0.30、0.47),在

红心蛋蛋黄中至少还有3种黄色素(III号样,  $R_f$  分别为0.25、0.30、0.47),经显色反应和分析可见光谱等特性,初步证实都属于类胡萝卜素,但具体结构还有待进一步研究;在红心蛋蛋黄色素中,  $R_f$  为0.30的黄色素组分的颜色特征与玉米黄素很接近,但具体结构还有待进一步研究。

### 2.2.2.3 苜蓿草色素中的绿色素和灰色素

在鲜苜蓿草色素中,  $R_f$  为0.25处是一草绿色色素,可见光谱主要吸收峰为461.6nm和647.8nm(溶剂为石油醚),初步鉴定为叶绿素b;  $R_f$  为0.34处是一蓝绿色色素,可见光谱主要吸收峰为427.8、618.2、664.2nm(溶剂为石油醚),初步鉴定为叶绿素a;  $R_f$  为0.50处是一灰色色素,皂化后消失,可见光谱吸收峰类似于叶绿素,初步认定是脱镁叶绿素,具体类型有待进一步鉴定。

## 2.3 苜蓿草和红心蛋与其它十几种天然动植物类胡萝卜素提取物的初步比较结果

作者同时将虾(龙虾、河虾)蟹壳、红辣椒(干、鲜)、番茄、金盏菊、胡萝卜、枸杞子、金盏菊花、水葫芦、柑桔皮、松针叶和玉米的类胡萝卜素提取物与苜蓿草和红心鸭蛋的类胡萝卜素提取物作了薄层对照,结果表明:虾蟹壳、红辣椒和番茄中也有红色类胡萝卜素,但从  $R_f$  及颜色特征比较与苜蓿草和红心蛋的红色素有较大差异,其它材料的类胡萝卜素提取物是黄色素,没有红色素,这说明苜蓿草和红心鸭蛋的红色素与众不同,具有特异性,采食苜蓿草的蛋鸭所产红心蛋的特征红色素确实是来源于苜蓿草。有关苜蓿草和红心鸭蛋蛋黄的红色和黄色类胡萝卜素的深入系统研究结果将陆续报道。

## 3 结 论

3.1 苜蓿草色素的主要类型有类胡萝卜素和叶绿素两大类,其中类胡萝卜素又可分为红色素和黄色素,苜蓿草红色素具有特异性。

3.2 苜蓿草红色类胡萝卜素易溶于丙酮、乙醇、甲醇等极性溶剂,其丙酮溶液的可见吸收光谱峰波长为480nm。

3.3 苜蓿草和红心鸭蛋中都含有 $\beta$ -胡萝卜素。

3.4 苜蓿草中的红色素和部分黄色素与采食苜蓿草的蛋鸭所产红心蛋的蛋黄色素有很好的对应关系,此红心鸭蛋的红色素来源于苜蓿草。苜蓿草和红心鸭蛋中色素的鉴定工作有待深入研究。

## 参考文献:

- [1] 贾慎修,富象乾,黄兆华,等.中国饲用植物志(第四卷)[M].北京:农业出版社,1992.500.
- [2] 杨富亿.苜蓿草的经济价值及其栽培与养鱼技术[J].资源开发与市场,1996,12(5):195-197.
- [3] 姜玉杰,杨连玉,张庆华.苜蓿草的生物学特性与营养价值[J].中国饲料,2000,(10):27.

- [4] Bailey C A, Chen B H. Chromatographic analyses of xanthophylls in egg yolks from laying hens fed turf bermudagrass (*Cynodon dactylon*) meal [J]. *J Food Sci*, 1989, 54(3): 584-586, 592.
- [5] 尹兆正, 童莲芳. 蛋黄色素的研究进展[J]. *中国家禽*, 1994, (4): 32-33.
- [6] 黄艳群(译). 黄色类胡萝卜素在蛋黄着色上的应用[J]. *国外畜牧科技*, 2000, 27(1): 38-39.
- [7] 王业勤, 李勤生. 天然类胡萝卜素——研究进展、生产、应用[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1997.
- [8] 李忠. 枸杞子类胡萝卜素化学及抗氧化作用研究[D]. 华中农业大学1998届博士学位论文.
- [9] 彭光华. 类胡萝卜素及其抗乳腺癌机理研究——细胞凋亡、细胞间隙连接通讯、基因表达及基因芯片检测[D]. 华中农业大学2002届博士学位论文.
- [10] 胡晓丹. 金盏菊花色素的研究[D]. 华中农业大学2001届硕士学位论文.
- [11] 马自超, 庞业珍. 天然食用色素化学及生产工艺学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1994.
- [12] 李永函, 金送笛, 刘国才, 等. 菹草型水体的理化因子和水生生物状况[J]. *大连水产学院学报*, 1992, 6(2): 1-11.
- [13] 任久长, 乔建荣, 董巍, 等. 菹草(*Potamogeton crispus*)的生态习性和在京密引水渠的发生规律研究[J]. *北京大学学报(自然科学版)*, 1997, 33(6): 749-754.
- [14] 赵春生, 李景林. 红卵黄鸭蛋生产技术研究及效果分析[J]. *资源开发与市场*, 2000, 16(6): 323-324.
- [15] Britton G. "General Carotenoids Methods" in "Methods in Enzymology (Vol 111) Steroids and Isoprenoids (Part B)" [M]. Academic Press, New York, 1985.

## 利用高压脉冲电场加速食物解冻的实验研究 及其装置的研究

方 胜, 孙学兵, 张 涛, 何 西, 路 波, 于 森  
(北京工商大学机械自动化学院, 北京 100037)

**摘 要:** 在前期研究的基础上, 通过对三种高压脉冲解冻装置的比较建立了高压脉冲电场解冻装置。并通过对冰、豆腐、肉糜和肉块的解冻试验, 利用实验数据分析结果, 揭示了在高压脉冲电场作用下对冰水相变的加速作用及其规律, 然后对此规律的机理进行了探讨。

**关键词:** 高压脉冲电场; 解冻

## Study on Food Thawing Accelerated by HPEF and Design of Experiment Device

FANG Sheng, SUN Xue-bing, ZHANG Tao, HE You, LU Bo, YU Sen  
(College of Mechanical Automation, Beijing Technology & Business University, Beijing 100037, China)

**Abstract:** Based on initial study, through the comparison of the three high voltage pulse thawing equipments, the most proper equipment was chosen. Through analyzing data of water, bean curd, minced meat and diced meat in the thawing experiment, we found the role of high voltage pulse electric field in accelerating the food thawing and the mechanism, and then we discussed the prospect.

**Key words:** high voltage pulsed electric fields (HPEF); thawing method

中图分类号 TS203.7

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2003)11-0045-06

收稿日期: 2003-08-03

作者简介: 方胜, 男, 34岁, 副教授, 硕导, 研究方向为食品加工、贮藏与保鲜。