

富含虾青素的法夫酵母对金鱼体色的影响

陈晓明¹, 徐学明², 金征宇²

(1. 淮阴工学院, 江苏 淮安 223001; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要:在饵料中添加 60 mg/g 富含虾青素的法夫酵母(*Phaffia rhodozyma*)喂养中国金鱼(*Carassius auratus*) (体重约 5.5 g), 60 d 的实验结果表明, 实验组的鱼头、鱼鳞、鱼肉、鱼尾各部位单位质量色素含量比对照组分别提高了 22.6%、45.5%、31.0% 和 21.2%, 差异均极显著($P < 0.01$)。通过 HPLC 初步分析了金鱼色素组成, 结果表明虾青素在中国金鱼体内以酯化形式沉积。

关键词:虾青素; 法夫酵母; 体色; 中国金鱼

中图分类号:S963.16 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2004)01-0070-04

虾青素(astaxanthin), 是一种非维生素 A 源的类胡萝卜素^[1]。它不仅具有很强的抗氧化性^[2]、抗肿瘤及增强免疫的生理功能^[3-4], 而且拥有艳丽的红色及极强的色素沉积能力^[5-6]。虾青素作为功能性色素在医药、食品、饲料及化妆品等工业中具有广阔的应用前景。

法夫酵母(*Phaffia rhodozyma*)是 20 世纪 70 年代由 Phaffia 等在日本及美国阿拉斯加山区上落叶树的渗出物中首先分离得到的 1 种新酵母属, 至今此属只有 1 种^[7]。由于在野生法夫酵母所产的 10 多种类胡萝卜素中虾青素是最大的组份, 占总类胡萝卜素的 40%~95%^[8], 因而它被认为是最有可能实现工业化发酵生产虾青素的优良菌种^[9]。

有关法夫酵母添加于蛋鸡饲料或水产饲料以提高蛋黄^[6]、虾^[10]、虹鳟^[11]及鲑^[12]体色的研究已有报道。有关着色效果, HIGGS 等^[12]以 50 mg/kg 的量将法夫酵母添加于大西洋鲑鱼饲料中, 证明以虾青素为主的法夫酵母可提高鲑鱼

肌肉中虾青素的含量, 其效果优于添加合成的虾青素单体, 而且能使鱼体的颜色更显自然。但目前有关虾青素对观赏金鱼着色效果的报道还甚少。本实验以富含虾青素的法夫酵母作为添加剂, 研究虾青素对观赏金鱼体色的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

金鱼: 中国金鱼(*Carassius auratus*), 购自无锡山北花鸟市场, 体重约 5.5 g。

法夫酵母: 本实验室制得的法夫酵母。

1.2 仪器

UV-1100 紫外-可见分光光度计(北京瑞利分析仪器有限公司), Platform LCZ4000 液质联用仪(Waters 公司)。

1.3 实验饲料

实验配方见表 1。

表 1 实验饲料的配方

Table 1 Feed formula of this experiment

饲料 Diet no.	鱼粉/% Fish meal	小麦粉/% Wheat meal	糊化淀粉/% Starch	复合矿物质/% Mineral substansis	复合维生素/% Vitamin mix	酵母粉/% Yeast meal	
						啤酒酵母 Beer yeast	法夫酵母 <i>Phaffia raudozyma</i>
No. 1	30	47.88	17	0.1	0.02	5	-
No. 2	30	47.88	17	0.1	0.02	-	5

注: 饲料中虾青素含量为 60 mg/kg, 法夫酵母虾青素含量为 1 200 μ g/g 干酵母。

Note: The content of astaxanthin is 60 mg/kg in diet, and 1 200 μ g/g (dry yeast) in *Phaffia raudozyma* yeast.

1.4 饲养条件与方法

每组 2 个水池, 共 4 个水池。水池规格为 87 cm $\times$ 45 cm

收稿日期: 2002-02-21; 修订日期: 2003-02-25.

基金项目: 教育部骨干教师资助计划项目[教育部教技司(2000)65号].

作者简介: 陈晓明(1969-), 女, 淮阴工学院副教授, 从事食品生物技术方面的研究.

×41 cm,水深35 cm,实验用水为充分曝气的自来水,每日换水50%,同时清理池内污物。水温20~25℃,全天充气。每池放养30尾,每池于每日早上9时1次性投喂饲料2.5 g,驯养预试15 d,正式60 d。

1.5 测定方法

1.5.1 样品采集 正式实验结束后,每池随机取出9尾,3尾1组,刮下鱼鳞,将鱼体和鱼鳞分别拍照后冷冻干燥,得干燥样品用于分析。

1.5.2 金鱼色素的测定 以类胡萝卜素总量为指标测定金鱼的不同部位的色素含量。将整鱼的头、尾与鱼体分开,用研钵分别将鱼头、鱼尾、鱼体及鱼鳞的干燥样品研细,称取一定量,用定量丙酮萃取,萃取液进行光谱扫描,确定最大吸收波长,在最大吸收波长下测定上述各溶液的吸光度。

1.5.3 金鱼色素成份的初步分析 用液相色谱对金鱼色素

成份进行初步分析。HPLC 色谱条件:symmetry C8 柱,担体粒度5 μ m,2.1 mm×150mm;进样量2 μ L,流动相为:A液,甲醇水(mL/mL)=85:15;B液,甲醇。梯度洗脱,洗脱方法为0~25 min B液,25~40 min A液,流速均为0.3 mL/min;二级管阵列检测器(PDA),检测波长 λ =480 nm。

皂化方法:在5 mL 萃取液中加入1 mL 0.05 mol/L NaOH 甲醇溶液后,充氮,置于冰箱中过夜。

2 结果与分析

2.1 法夫酵母虾青素对金鱼的着色效果

实验25 d后,肉眼可辨别实验组金鱼与对照组之间的色差。经过60 d的实验,实验组金鱼肌肉及鱼鳞的颜色不仅比对照组的要红而且亮、有光泽,见图1,这表明法夫酵母虾青素对金鱼具有较好的着色效果。

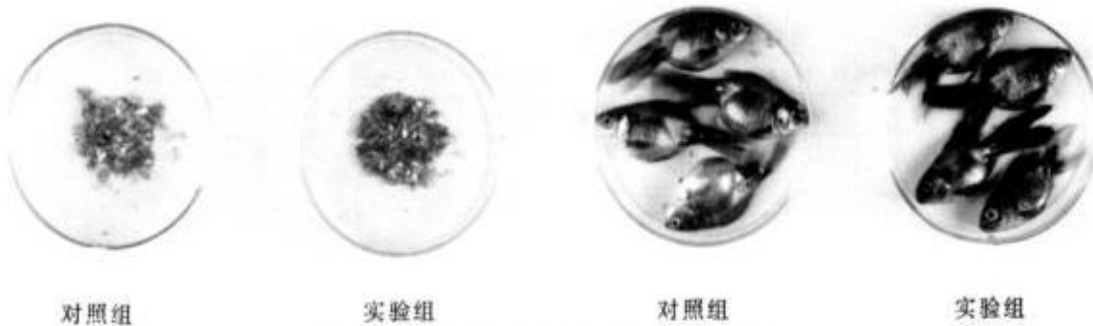


图1 富含 虾青素的法夫酵母对金鱼的着色效果

Fig. 1 Pigmentation of *C. auratus* with Astaxanthin-rich *Phaffia raodozyma*

光谱实验结果表明,实验组与对照组金鱼不同部位色素的吸收曲线完全相同,其最大吸收峰均在471 nm。说明实验组金鱼所含色素与对照组的相同,添加富含虾青素的法夫酵母对金鱼的着色很自然。表2是金鱼不同部位的色素在471 nm处单位质量吸光度的实验数据的统计结果。采用双尾、双样本等方差t检验法进行显著性检验。从表中看出,无论是实验组还是对照组,组内金鱼对应部位色素含量差异不显著($P < 0.05$),说明实验误差较小,结果具有客观性;实验组与对照组相比,鱼头、鱼鳞、鱼肉、鱼尾各部位单位质量色素含量分别提高了22.6%、45.5%、31.0%和21.2%,差异均极显著($P < 0.01$)。说明富含虾青素的法夫酵母能被动物利用,60 mg/kg 酵母虾青素的添加量对金鱼着色十分有效。另外,对于同一条鱼而言,其不同部位色素的分布不均匀,其含量为:鱼尾>鱼鳞>鱼头>鱼肉,且差异显著。

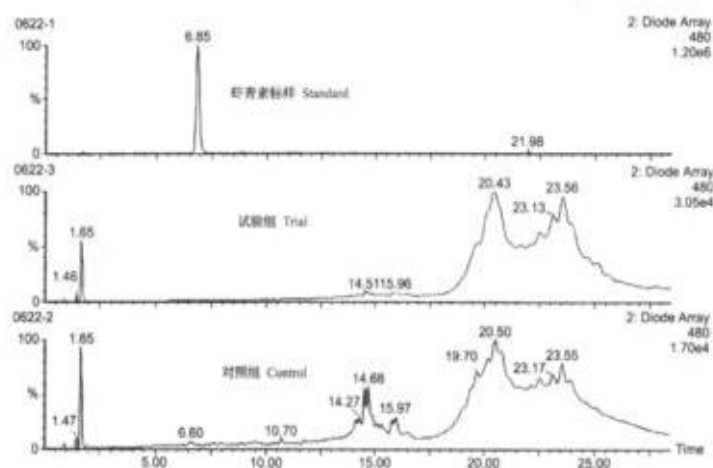
2.2 金鱼色素成分初步分析

图2是金鱼色素在 λ =480 nm处的HPLC图谱。从图中看出,对照组与实验组的出峰完全相同,这进一步证明,虾青素法夫酵母对金鱼着色的自然性,但与标样图谱相比,没

有了保留时间为6.85 min的虾青素吸收峰,这个结果说明,虾青素在金鱼体内发生了转化,虾青素在法夫酵母中是游离状态,而到了金鱼体内并非如此。因虾青素可能会以酯化形式在某些鱼体内沉积。于是对实验组的萃取液皂化。图3是色素皂化前后在 λ =480 nm的HPLC图谱,由图谱可见,皂化前保留时间在20~24 min内的吸收峰消失,皂化后色素组成中出现了虾青素的吸收峰(R_t =8.30 min)。结合皂化前吸收峰的变化,可以推断金鱼从饲料中吸收的虾青素是以酯化形式沉积。

3 结论

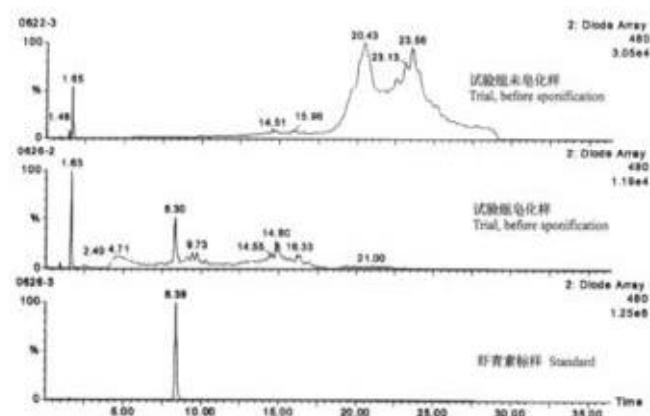
富含虾青素的法夫酵母对金鱼的着色很自然,60 mg/kg 酵母虾青素的添加量对金鱼着色十分有效。从金鱼色素的光谱曲线及HPLC图谱可以认为,中国金鱼对虾青素的利用不同于虹鳟、鲑及虾,后三者是直接吸收虾青素并不加转化地在体组织内以单体形式沉积^[13],而金鱼吸收的虾青素在体内以酯化形式存在,至于与什么样的脂肪酸酯化将有待于进一步研究。

图2 金鱼色素的 HPLC 图谱($\lambda = 480 \text{ nm}$)Fig. 2 HPLC chromatograms of *Carassius auratus* pigment ($\lambda = 480 \text{ nm}$)表2 金鱼不同部位色素萃取液的吸光度($\lambda = 471 \text{ nm}$)Table 2 Absorption values of pigment extract in various parts of *Carassius auratus* ($\lambda = 471 \text{ nm}$) $\bar{X} \pm \text{SD}$

组别 Group	鱼尾 Tail	鱼鳞 Scale	鱼头 Head	鱼肉 Meat
对照组 1 Control 1	2.972 ± 0.111	2.042 ± 0.065	1.827 ± 0.066	0.264 ± 0.017
对照组 2 Control 2	2.885 ± 0.197	2.161 ± 0.128	0.753 ± 0.087	0.258 ± 0.021
平均 Average	2.928 ± 0.151^b	2.102 ± 0.111^a	1.790 ± 0.080^c	0.261 ± 0.017^d
对 1 与 2 间的 $ t $ $ t $ between Control 1 and Control 2	0.669	1.433	1.191	0.433
实验组 1 Trial 1	3.663 ± 0.074	2.983 ± 0.121	2.249 ± 0.061	0.337 ± 0.020
实验组 2 Trial 2	3.547 ± 0.116	3.134 ± 0.074	2.140 ± 0.095	0.346 ± 0.020
平均 Average	3.549 ± 0.144^b	3.059 ± 0.122^a	2.195 ± 0.093^c	0.342 ± 0.018^d
实 1 与 2 间的 $ t $ $ t $ between Trial 1 and Trial 2	1.456	1.842	1.675	0.533
对比 - 实验间的 $ t $ Contrast	8.952	14.194	8.070	7.824

注: (1) 组内 $t_{0.05}(4) = 2.78$, $t_{0.01}(4) = 2.23$; 组间 $t_{0.05}(10) = 2.23$, $t_{0.01}(10) = 3.17$ 。(2) 同一字母上标表示之间差异显著($P < 0.01$)。

Note: (1) Intragroup $t_{0.05}(4) = 2.78$, $t_{0.01}(4) = 2.23$; Intergroup $t_{0.05}(10) = 2.23$, $t_{0.01}(10) = 3.17$ 。(2) The same superscriptions mean significant difference($P < 0.01$).

图3 金鱼色素皂化前后的 HPLC 图谱($\lambda = 480 \text{ nm}$)Fig. 3 HPLC chromatograms of the *Carassius auratus* pigment before and after saponification($\lambda = 480 \text{ nm}$)

参考文献:

- [1] WATARU MIKI. Biological functions and activities of animal carotenoids [J]. Pure Appl Chem, 1991, 63(1): 141 - 146.
- [2] Lee S H, Min D B. Effects quenching mechanisms and kinetics of carotenoids in chlorophyll-sensitized photo-oxidation of soybean oil [J]. J Agric Food Chem, 1990, 38(8): 1 630.
- [3] Tanaka T, Morishita Y, Suzui M, et al. Chemoprevention of mouse urinary bladder carcinogenesis by naturally occurring carotenoid astaxanthin [J]. Carcinogenesis, 1994, 15(1): 15 - 19.
- [4] Tanaka T, Makita H, Ohnishi H, et al. Chemoprevention of rat oral carcinogenesis by naturally occurring xanthophylls, astaxanthin and canthaxanthin [J]. Cancer Res, 1995, 55(18): 4 059 - 4 063.
- [5] Johnson E A, Villa T G, Lewis M J. *Phaffia rhodozyma* as an astaxanthin source in salmonid diets [J]. Aqu, 1980, 20: 123 - 127.
- [6] Johnson E A, Lewis M J, Grau C R. Pigmentation of egg yolks with astaxanthin from the yeast *Phaffia rhodozyma* [J]. Poultry Sci, 1980, 59: 1 777 - 1 782.
- [7] Miller M W. The yeast: A Taxonomic study [M]. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B V, 1984.
- [8] Andrews H G, Starr M P. (3R,3'R') - Astaxanthin from the yeast *Phaffia rhodozyma* [J]. Phytochemistry, 1976, 15: 1 009 - 1 011.
- [9] Nelis N J, DE Leenheer A P. Microbial sources of carotenoid pigments used in foods and feeds [J]. J Appl Bacteriol, 1991, 4(2): 107 - 112.
- [10] 吕玉华, 金征宇, 徐学明. 饲料中添加法夫酵母对罗氏沼虾体色及生长状况的影响 [J]. 水产养殖, 1999(4): 15 - 18.
- [11] Coral G, Huberman A, Lanza G, et al. Muscle pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed on oil-extracted pigment from langostilla (*Pleuronectes planipes*) compared with two commercial sources of astaxanthin [J]. J Aquatic Food Product Technology, 1998, 7(2): 31 - 45.
- [12] Higgs D, Donaldson E, Dosanjh B, et al. The case for *Phaffia*. A yeast-based pigmentation agent shows promise for adding color to salmon diets [J]. North Aqu, 1995, 11(2): 20 - 24.
- [13] Torrisen O J, Hardy R W, Shearer K D. Pigmentation of salmonids: carotenoids deposition and metabolism in salmonids [J]. Crit Rev Aquat Sci, 1989, 1: 209.

Pigmentation of *Carassius auratus* with astaxanthin-riched *Phaffia raodozyma*

CHEN Xiao-ming¹, XU Xue-ming², JIN Zheng-yu²

(1. Huaiyin Institute of Technology, Huaiyan 223001, China; 2. Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: *Carassius auratus* (body weight 5.5 g) were fed the diets containing astaxanthin-riched *Phaffia raodozyma*. The content of *Phaffia raodozyma* was 60 mg/kg in the feed and 1 200 µg/g (dry yeast) in the *Phaffia raodozyma* yeast. After 60 d rearing, the results showed that the contents of pigment in head, scale, flesh, and tail of the trials increased by an average of 22.6%, 45.5%, 31.0% and 21.2% ($P < 0.01$), respectively, compared to the control. For the same individual, the distribution of pigment content was different in the order tail > scale > head > meat. The HPLC analysis on the pigment composition indicates that astaxanthin is esterified inside of *Carassius auratus* body.

Key words: astaxanthin, *Phaffia rhodozyma*, *Carassius auratus*, pigmentation