

金鱼总色素及色素组分的比较研究

刘金海¹ 王安利² 王维娜²

(1. 厦门大学海洋系, 厦门 361005; 2. 华南师范大学生命科学学院, 广州 510631)

摘要:用色谱和光谱两种方法对金鱼总色素和色素组分进行了研究。研究表明,红鲫、草金鱼和红龙睛等红色金鱼总色素光谱在可见光区(472nm 附近)有一个吸收峰,黑鲫和黑龙睛等黑色金鱼在可见光区(450nm 和 472nm 附近)有两个吸收峰出现,且红色金鱼所含色素组分以红色(虾青素)为主,黑色金鱼所含色素组分以杏黄色和橙色为主,其他色素组分为辅。金鱼黑色色斑形成是由于黑色素存在时,其他各色素组分的颜色被掩盖的结果;金鱼其他各种色斑的形成则是由于其体内各色素组分以不同比例相互搭配组合的结果。亲缘关系越近的金鱼其总色素组成就越相似,红鲫和黑鲫均含有四种近乎相同的色素组分,红龙睛和黑龙睛均含有六种近乎相同的色素组分,草金鱼虽也含有四种与红鲫和黑鲫相近的色素组分,但 Rf 值略有差异。据此推测,红鲫和黑鲫,红龙睛和黑龙睛可能分别具有较近的亲缘关系,而草金鱼则可能是介于黑鲫和龙睛鱼之间,且与黑鲫具有较近的亲缘关系。该研究有望为金鱼增色饵料的研制与开发提供理论依据,使金鱼的观赏价值和经济价值得到进一步提高。

关键词:金鱼;总色素;色素组分;光谱;色谱

中图分类号:Q965.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-3207(2007)01-0073-05

金鱼(*Carrassius auratus auratus* Linnaeus)在生物学上属于鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、鲤属(*Carassius*)、鲫(*Carassius auratus*)^[1],是野生鲫鱼的突变体经长期人工选育而来的^[2,3]。金鱼的色斑与其神经调节、色素细胞伸缩以及其生活环境的变化有着十分密切的关系。尤其是与其色素细胞中色素的种类和剂量有关。由于鱼类自身不具备合成有关色素的能力,所以其遗传特性和饵料中外源色素的性质与剂量是其色斑形成的主要原因。本研究旨在通过对不同品种金鱼色素的比较研究,揭示其色素组成及相对含量与其自身色斑之间的相关性,为深入研究其增色机理奠定基础,为其增色饵料的研制和开发提供理论依据。随着该项研究的逐步深入,金鱼观赏价值和经济价值将有望获得进一步提高。

1 材料与方法

1.1 材料 红金鲫(体长 4.0cm,背部红色,躯干两侧呈金黄色)、黑鲫(体长 3cm,背部黑色,躯干两侧呈灰黑色)、红龙睛(体长 5cm,通体鲜红色)、黑龙睛(体长 5cm,通体墨黑色)和草金鱼(体长 8cm,背部红色,躯干两侧金黄色)等各 9 尾,购于河北省保定市

东风桥花、鸟、虫、鱼市场。

1.2 仪器 UV-1200 型紫外-可见分光光度计、惠普扫描仪(scanzet4c 型)、MA110 型电子天平、TGL-16G 型离心机、50mL 容量瓶、5mL、10mL、25mL 量筒、分液漏斗、研钵、解剖剪、镊子、滴管、12cm × 2cm 玻璃片和洁净青霉素小瓶等。

1.3 试剂 丙酮(AR)、石油醚(AR)、无水硫酸钠(AR)、氯化钠(AR)、硅胶 G(TLC)和正丙醇(AR)等。

1.4 总色素提取法 称取鱼体中段(去除内脏)4.0g,放入洁净的研钵内,加入 0.7936g 无水硫酸钠,匀浆。然后加入 20mL 丙酮和 5mL 石油醚抽提一次,再用 3mL 丙酮和 7mL 石油醚连续抽提三次,将每次所得提取液先后吸入洁净的离心管中离心(5000r/min)5min。然后将上清液移入分液漏斗中,加入等体积的饱和食盐水溶液,轻轻振荡,静置分层,放掉下层的水、丙酮和盐溶液层,并用蒸馏水冲洗色素石油醚层 6—7 次,以彻底洗去丙酮和盐。然后将其移入 50mL 容量瓶中,用石油醚定容至 50mL,避光备用^[4,5]。

1.5 总色素检测法 用 UV-1200 型紫外-可见分光光度计对金鱼总色素进行检测(200—800nm)。

收稿日期:2005-02-27;修订日期:2006-09-18

作者简介:刘金海(1965—),男;在读博士;厦门大学海洋系海洋楼 307 室,E-mail:hnd530@126.com,Tel:13599512791

通讯作者:王安利(1957—),男;教授,理学博士,博导;E-mail:wanganl@scnu.edu.cn,Tel:(020)85211375-8304

1.6 色素组分的分离、纯化和检测法 首先将定容至 50mL 后的色素石油醚提取液风干浓缩,然后在浓缩物中加入 1mL 石油醚溶剂将其溶解,并用毛细玻璃管(共吸取色素溶解液 200 μ L)在已制好的硅胶薄层板上点样,每次一块,共点三板。然后分三次将点好样的薄层板放入盛有 25mL 展层剂(石油醚:丙酮:正丙醇 = 90:10:0.45)并封闭 15min 的层析缸中层析。用惠普扫描仪(scanzet4c 型)记录层析结果,计算各色素组分 Rf 值。之后对各色素组分硅胶色带进行洗脱(丙酮)、萃取(石油醚)、定容(5mL)

和检测。

2 结果

2.1 金鱼总色素光谱

金鱼总色素(混合色素)光谱研究结果(表 1)显示,红鲫、草金鱼和红龙睛总色素在可见光区只有一个吸收峰,黑鲫和黑龙睛总色素在可见光区有两个吸收峰。不同色斑金鱼总色素光谱之间存在着显著差异。色素丰度各不相同,其相对含量依次为:红鲫 > 红龙睛 > 黑鲫 > 草金鱼 > 黑龙睛。

表 1 金鱼总色素峰位及峰值比较

Tab.1 The comparison of total pigment peak location and peak value of goldfish

名称 Name	峰波长 Wavelength of peak (nm)	峰值 Peak value	峰波长 Wavelength of peak (nm)	峰值 Peak value
红 鲫 Red color crucian	470	0.996		
黑 鲫 Black carp	470	0.380	449	0.378
草金鱼 Grass goldfish	473	0.337		
红龙睛 Red Dragon-eye	472	0.866		
黑龙睛 Black Dragon-eye	473	0.254	451	0.261

2.2 金鱼总色素薄层色谱(TLC)及色素组分光谱

金鱼总色素薄层色谱(TLC)研究结果(图 1)显示,红鲫、黑鲫和草金鱼均含有浅红色、红色、橙色和杏黄色 4 种色素组分且 Rf 值(除草金鱼外)相近,红龙睛和黑龙睛均含弱红色、浅红色、橙红色、红色、橙

色和杏黄色 6 种色素组分且 Rf 值相近。色素组分光谱研究结果(图 2)显示,红鲫、草金鱼和红龙睛等红色金鱼的红色色素组分的相对含量较黑色金鱼高;黑鲫和黑龙睛等黑色金鱼的杏黄色和橙色色素组分的相对含量则较红色金鱼高。

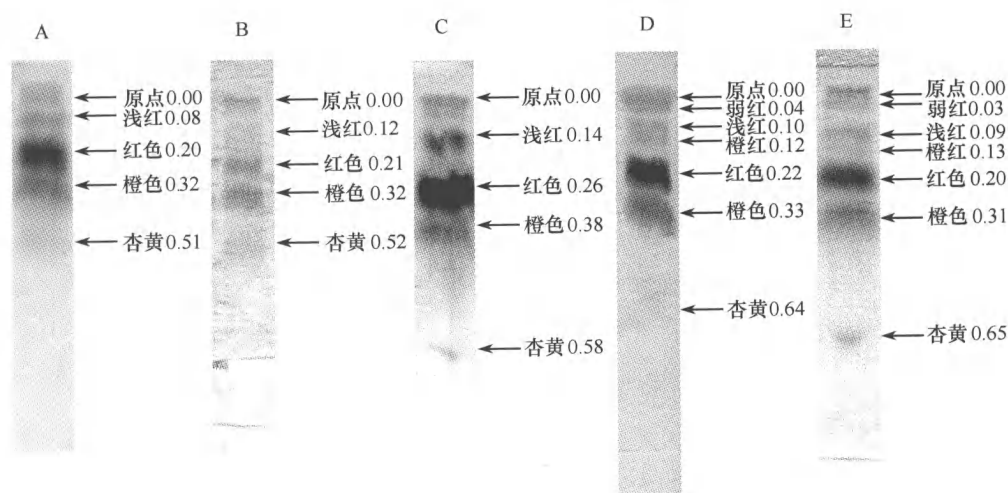


图 1 金鱼色素薄层色谱及示意图(Rf)

Fig.1 The map of thin-layer chromatography of the goldfish pigmentation(Rf)

A. 红鲫; B. 黑鲫; C. 草金鱼; D. 红龙睛; E. 黑龙睛

A. Red color crucian; B. Black carp; C. Grass goldfish; D. Red Dragon-eye; E. Black Dragon-eye

表 2 金鱼色素组分峰位比较

Tab.2 The peak location comparison of the goldfish pigment components

组分 Component	红 鲫 Red color crucian	黑 鲫 Black carp	红龙睛 Red Dragon-eye	黑龙睛 Black Dragon-eye	草金鱼 Grass goldfish
杏黄色 Apricot yellow	474	472	445		445
橙 色 Orange	474	452	468	461	469
红 色 Red	476	465	467	469	468
浅红色 Reddish	501	438	471	449	471
橙红色 Orange-red			448		446
弱红色 Weak red			455		

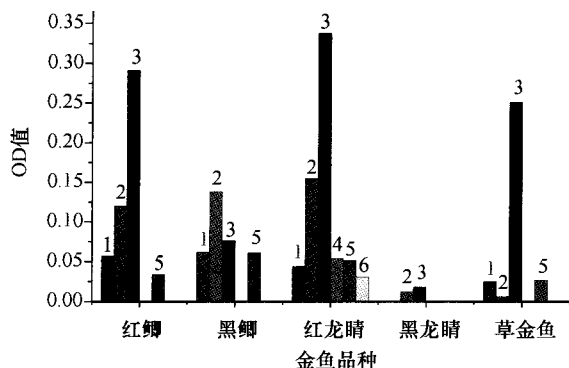


图 2 金鱼色素组分峰值

Fig.2 The absorption peak of goldfish pigment components

1. 杏黄色;2. 橙色;3. 红色;4. 浅红色;5. 橙红色;6. 弱红色

1. Apricot yellow;2. Orange;3. Red;4. Reddish;5. Orange-red;6. Weak red

3 讨 论

3.1 金鱼总色素光谱与其体色及色素组分之相关性

红鲫、草金鱼和红龙睛等红色金鱼总色素光谱在可见光区 472nm 左右只出现一个色素吸收峰,黑鲫和黑龙睛等黑色金鱼总色素光谱在可见光区(470—473nm 和 449—451nm)出现两个色素吸收峰。不同色斑金鱼总色素光谱之间存在着显著的差异。其原因在于红色金鱼以红色色素组分为主,红色色素组分的特征光谱掩盖了其他色素组分的特征光谱,而使红色金鱼的总色素光谱吸收峰只有一个;黑色金鱼以杏黄色和橙色色素组分为主,红色色素组分对总色素光谱的掩盖作用减弱,使其他色素组分的特征光谱得以显现,从而形成了黑色金鱼总色素光谱的两个吸收峰。

3.2 金鱼色斑与其色素组分之相关性

由于红鲫、草金鱼和红龙睛等红色金鱼体内的红色色素组分较体内其他类型的色素组分含量高,

而红色金鱼体内黑色素的存在又少或无,所以其身体颜色就表现为红色色素组分占主要地位的红色。至于红色金鱼身体上的不同色斑,笔者认为是由于各种色素组分如杏黄色、橙色、红色和浅红色等在鱼体某部位按不同比例组合而产生的结果。黑鲫和黑龙睛等黑色金鱼的体色为黑色,其主要原因是由于黑色金鱼体内存在大量的黑色素。由于黑色素的存在掩盖了其他色素组分的颜色而使黑色金鱼呈现为黑色。至于黑色金鱼的灰黑色色斑,笔者以为是由于色素细胞中黑色素的含量较低或黑色素细胞的伸缩造成的。黑色素是一种广泛分布于动植物体的色素,是通过多羟基酚(通常结合着蛋白质)氧化而形成的高分子化合物。按照 Nicollaus 的观点,可将其分成三类:真黑素(eumelanins),主要是呈黑色和褐色的含氮色素,由酪氨酸、二羟苯丙氨酸(多巴)、多巴胺等氧化聚合而成。棕黑素(phaeomelanins),颜色稍浅,常呈棕色、红色甚至黄色,是由酪氨酸经与上述同样路径合成而来,其中由半胱氨酸等的参与。异黑素(allomelanins),常呈黑色,主要存在于植物体内,这种异黑素是在多酚氧化酶(polyphenol oxidase)存在下通过多酚的氧化聚合而形成的^[6]。因其不溶于水 and 一般的有机溶剂,所以在本实验条件下黑色素未被提取出来。但黑色素确系是黑色金鱼色斑形成的主要原因。

3.3 金鱼色素组分的异同与其亲缘关系之相关性

相同色素组分在金鱼体内的存在提示了某些相同生化途径的存在,而生化途径则是由基因产物(酶)催化的一系列生化反应的巧妙连接,最终是受遗传基因控制的。由此可见相同色素组分的存在提示了相同生化途径的存在,相同生化途径的存在提示了金鱼 DNA 同源部分的存在,色素组分的差异越小,说明其 DNA 同源部分就越多,其亲缘关系也就

越近。从金鱼色素薄层色谱(TLC)^[7,8]结果来看,红鲫、黑鲫和草金鱼等均含有浅红色、红色、橙色和杏黄色4种颜色的色素带(除草金鱼外Rf值相近),红龙睛和黑龙睛均含弱红色、浅红色、橙红色、红色、橙色和杏黄色6种颜色的色素带且Rf值相近。每种颜色的色素带均代表一种主要的色素组分。因此,红鲫、黑鲫和草金鱼均含有四种相近的主要色素组分,红龙睛和黑龙睛则含有六种相近的主要色素组分。由此可见,红鲫、黑鲫和草金鱼可能具有较近的亲缘关系,红龙睛和黑龙睛则可能具有较近的亲缘关系。该研究与梁前进等人用其他方法研究所得结果一致^[2,3]。由此笔者以为,依据观赏鱼色素组分异同是否可以从另一个侧面来探讨观赏鱼之间的亲缘关系是一个值得探讨的新课题。

3.4 金鱼色素组分之归属

据文献报道,类胡萝卜素的主要吸收峰在可见光区400—600nm之间^[9—13]。研究结果表明,金鱼总色素主要吸收峰在400—600nm之间,故其应属于类胡萝卜素类色素。水产动物中常见的类胡萝卜素有 β -胡萝卜素、黄体素、玉米黄质、金枪鱼黄质和虾青素等^[14]。金鱼和锦鲤等观赏鱼,由于虾青素的存在而使其体表呈现红色^[15]。据此推断金鱼所含红色色素组分应该就是虾青素。至于其他色素组分的归属问题,则需要进一步研究确定。

以上结果表明,金鱼躯体色斑与其体内各色素组分的种类和剂量有关。亲缘关系越近的金鱼构成其体色的色素组分就越相近。深入研究金鱼色素组分搞清其代谢途径和调控点^[16]可以为观赏鱼增色饲料的研制和开发提供理论指导。虾青素含量较高的红色金鱼可作为海洋药物(虾青素)的重要来源。

参考文献:

- [1] Su J X, Zuo Z S, Ling G J, et al. Ichthyology and seawater fish aquaculture [M]. Beijing: Chinese Agriculture University Press. 1998, 185 [苏锦祥, 左镇生, 凌国键, 等. 鱼类学与海水鱼类养殖. 北京: 中国农业出版社, 1998, 185]
- [2] Liang Q J. Study on the originantion and evolvement of goldfish [J]. *Bulletin of Biology*, 1995, 30(3): 14—16 [梁前进. 金鱼起源及演化的研究. 生物学通报, 1995, 30(3): 14—16]
- [3] Liang Q J, Peng Y X, Yu Q M. The Discriminant and Cluster Analyses of The Wild crucian carp (*Carassius auratus*) and Fave Representative Varieties of Goldfishes (*C. auratus* var.) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1998, 23(3): 236—242 [梁前进, 彭奕欣, 余秋梅. 野生鲫和五个金鱼品种的判断分析和聚类分析. 水生生物学报, 1998, 23(3): 236—242]
- [4] Hu M F. Food analysis [M]. Chongqing: Southwest Agricultural University Press. 1993, 76—78 [胡明方. 食品分析. 重庆: 西南师范大学出版社. 1993, 76—78]
- [5] Li Y, Li Y W, Xiang X, et al. The effects of carotenoid and 17a-MT on the colour of ornamental fishes [J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 1999, 21(3): 270—273 [李云, 李英文, 向泉, 等. 类胡萝卜素甲基睾酮对观赏鱼体色的影响. 西南农业大学学报, 1999, 21(3): 270—273]
- [6] Nicolans R A. Melanins [A]. Chemistry of Natural Products [M]. Hermann, Paris, 1968, 68—91
- [7] Zhang Z N. ABC of thin-layer chromatography [J]. *Yunnan Chemical Technology*, 1995, 22(1): 46—50 [张震南. 薄层色谱 ABC. 云南化工, 1995, 22(1): 46—50]
- [8] Zhang Z N. Tin-layer chromatography ABC (4): qualitative detection and quantitative determination [J]. *Yunnan Chemical Technology*, 1995, 22(4): 51—56 [张震南. 薄层色谱 ABC (4) 定性鉴定和定量测定. 云南化工, 1995, 22(4): 51—56]
- [9] Wang C M, Wang Z J, Mao H Z. A study on the extraction and stability of the pigment from polemo peel [J]. *Food and Fermentation Industries*, 1996, 22(4): 50—53 [王春绵, 王忠杰, 茅惠忠. 柚皮色素的提取及其稳定性研究. 食品与发酵工业, 1996, 22(4): 50—53]
- [10] Sun Q J, Ding X L. The studies on the Stability of lycopene [J]. *Food and Fermentation Industries*, 1998, 24(2): 47—49 [孙庆杰, 丁霄霖. 番茄红素稳定性初步研究. 食品与发酵工业, 1998, 24(2): 47—49]
- [11] Chen X M, Xu X M, Jin Z Y. Studies on the Composition and Pigments from *Phaffia rhodozyma* [J]. *Journal of Wuxi University of Light Industry*, 2001, 20(2): 170—174 [陈晓明, 徐学明, 金征宇. 法夫酵母色素的组成与性质. 无锡轻工大学学报, 2001, 20(2): 170—174]
- [12] Guo X M, Zhai D Y, Niu Y F. Study of separating pigments from spinacia using thin layer chromatography [J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2000, 23(2): 101—104 [果秀敏, 翟彤宇, 牛延锋. 薄层色谱法分离菠菜叶片中色素的研究. 河北农业大学学报, 2000, 23(2): 101—104]
- [13] Wu P G, Zhen N X, Ye L Y. Study on the formation of carotenoids produced by *Rhodococcus* sp1 [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural University*, 1999, 25(2): 192—194 [吴平谷, 郑晓冬, 叶立杨. 红球菌类胡萝卜素形成的研究. 浙江农业大学学报, 1999, 25(2): 192—194]
- [14] Qiu S translated. Composition of Improving the body-colour and meat-colour of reared animals. Chartered Communique, 5—328909 [丘生译. 改善养殖动物的体色和肉色的组成物. 特许公报, 5—328909]
- [15] Li Z Q, Wang K Y, Du Z J. Research in the improving body-colour of fish and shrimps with carotenoid [J]. *feed research*, 2001, (1): 15—18 [李志琼, 汪开毓, 杜宗君. 类胡萝卜素对鱼虾体色改善的研究. 饲料研究, 2001, (1): 15—18]
- [16] Liu J h, Wang A L, Wang W N, et al. Progress of study on the component of pigment and painting substance of aquatic animals [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2002, 37(3): 92—96 [刘金海, 王安利, 王维娜, 等. 水产动物体色色素组分及着色剂研究进展. 动物学杂志, 2002, 37(3): 92—96]

COMPARATIVE STUDIES ON THE TOTAL PIGMENT AND PIGMENT COMPONENTS OF GOLDFISH

LIU Jin-Hai¹, WANG An-Li² and WANG Wei-Na²

(1. Department of oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005; 2. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631)

Abstract: The study was conducted to investigate the total pigment components of different breeds of goldfish by spectrophotometer and thin-layer chromatography. The results showed the spectrum of total pigment of Red color crucian, Grass goldfish and Red Dragon-eye had one absorption peaks in visible region (472nm). The spectrum of total pigment of Black carp and Black Dragon-eye had two similar absorption peaks in visible region (450nm and 472nm). The pigment components of different breeds of Red color goldfish were mainly Red pigment (astaxanthin). The pigment components of different breeds of Black color goldfish were mainly apricot or orange pigment. The black spots of goldfish may be formed when melanin covered other pigment, other color spots may be formed when the pigment component of all kinds were mixed in proper proportions. The more the relation of color spots is close, the more the total pigment component is similar. Red color crucian and Black carp had same pigment components of four kinds, Red Dragon-eye and Black Dragon-eye had the same pigment components of six kinds, although there are four pigment components, which are close to the ones in Red color crucian and Black carp in the body of Grass goldfish, but Grass goldfish's RF has slight difference with Red color crucian and Black carp. As above, Red color crucian and Black carp, Red Dragon-eye and Black Dragon-eye probably are close relatives, respectively, and the category of Grass goldfish may possibly fall between Black carp and Dragon-eye, which has a closer relative with Black carp. This study will give help to the research and development of goldfish color-adding diet and further enhancement of goldfish ornamental value and market value.

Key words: Goldfish; Total pigment; Pigment component; Spectrum; Chromatogram