

## 锦鲤总色素及色素组分的比较研究

王安利<sup>1</sup> 刘金海<sup>2</sup> 王维娜<sup>1</sup>

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

**摘要:** 用光谱和色谱两种方法对锦鲤的总色素和色素组分进行了研究。研究结果表明, 红色锦鲤、乌鲤和绯写锦鲤总色素光谱在可见光区(448nm 和 470nm)有两个完全相同的吸收峰, 黄写锦鲤和昭和三色锦鲤总色素光谱在可见光区(445nm 和 472nm 附近)有两个相近的吸收峰, 锦鲤所含色素组分均以杏黄色或橙色为主, 其他色素组分为辅。锦鲤黑色色斑是由于黑色素存在时, 其他各色素组分的颜色被黑色所掩盖; 锦鲤其他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。亲缘关系越近的锦鲤其总色素组分就越相似, 红色锦鲤和乌鲤均含有六种相同的色素组分, 绯写锦鲤除杏黄色和橙色色素组分与前者的同色色素组分 Rf 值不同外, 其余四种同色色素组分的 Rf 值均相近; 黄写锦鲤与昭和三色锦鲤分别含有三种和四种色素组分且 Rf 值差异显著。据此推测, 红色锦鲤、乌鲤和绯写锦鲤可能具有较近的亲缘关系, 而黄写锦鲤、昭和三色锦鲤与前三者之间可能具有较远的亲缘关系。该研究有望为锦鲤增色饵料的研制与开发提供理论依据, 使锦鲤的观赏价值和经济价值得到进一步提高。

**关键词:** 锦鲤; 总色素; 色素组分; 光谱; 色谱

中图分类号: S965.8 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2005)06-0694-05

锦鲤(*Colorcarp*)在生物学上属于鲤形目、鲤科、鲤属(*Cyprinus*)、鲤(*Cyprinus carpio* Linnaeus)<sup>[1]</sup>, 是人们对自然鱼种进行杂交选育而形成的。锦鲤的色斑与其神经调节、色素细胞伸缩及其生活环境的变化有着十分密切的关系。尤其是与色素细胞中色素的种类和含量有关。由于鱼类自身不具备合成相关色素的能力, 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<sup>[2]</sup>。近年来, 国内学者开展了观赏鱼生理生化方面的研究<sup>[3,4]</sup>, 但关于其色素组分与色斑之间关系的研究尚未见报道。本研究旨在通过对不同品种锦鲤色素的比较研究, 揭示其色素组成及相对含量与自身色斑之间的相关性, 为深入研究其增色机理奠定基础, 并为增色饵料的研制和开发提供理论依据。随着研究工作的逐步深入, 锦鲤的观赏价值和经济价值将有望得到进一步提高。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料 红色锦鲤(体长 6.0cm, 通体红色)、乌

鲤(体长 6.0cm, 通体黑色)、绯写锦鲤(体长 6.0cm, 红底色上有黑色斑)、黄写锦鲤(体长 6.0cm, 黄底色上有黑色斑)以及昭和三色锦鲤(体长 6.0cm, 躯体上有黑、蓝、红三种色斑)均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-可见光分光光度计、惠普扫描仪(Scanzet4c型)、MA110型电子天平、TGL-16G型离心机、50mL容量瓶、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** 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 1 次, 再用 3mL 丙酮和 7mL 石油醚连续抽提 3 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

收稿日期: 2004-02-27; 修订日期: 2005-05-20

基金项目: 广东省科技计划项目(2002C20304); 广州市科技攻关重点项目(2002Z2-E0102)资助

作者简介: 王安利(1957—), 男, 河北滦南人, 理学博士, 教授, 博导; 主要研究方向: 鱼虾营养免疫学与养殖生态学; E-mail: wanganli@senu.edu.cn

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, 以石油醚定容50mL, 避光备用<sup>[5,6]</sup>。

**1.5 总色素检测** 用UV-1200型紫外光分光光度计对锦鲤的总色素进行检测(800—200nm)。

**1.6 色素组分的分离、纯化和检测** 将定容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200μL)在已制好的硅胶薄层板上点样, 每次1板, 共点3板。然后分3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(Scanjet4c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(方法同1.5)。

## 2 结果

### 2.1 锦鲤总色素光谱

锦鲤总色素(混合色素)光谱研究结果(表1)显示, 红色锦鲤、乌鲤和绯写锦鲤等总色素光谱在可见光区(448nm和470nm)有两个完全相同的吸收峰, 黄写锦鲤与昭和三色锦鲤等在可见光区(445nm和472nm附近)有两个相近的吸收峰。总色素丰度各不相同, 其相对含量依次为: 昭和三色锦鲤>乌鲤>红色锦鲤>绯写锦鲤>黄写锦鲤。

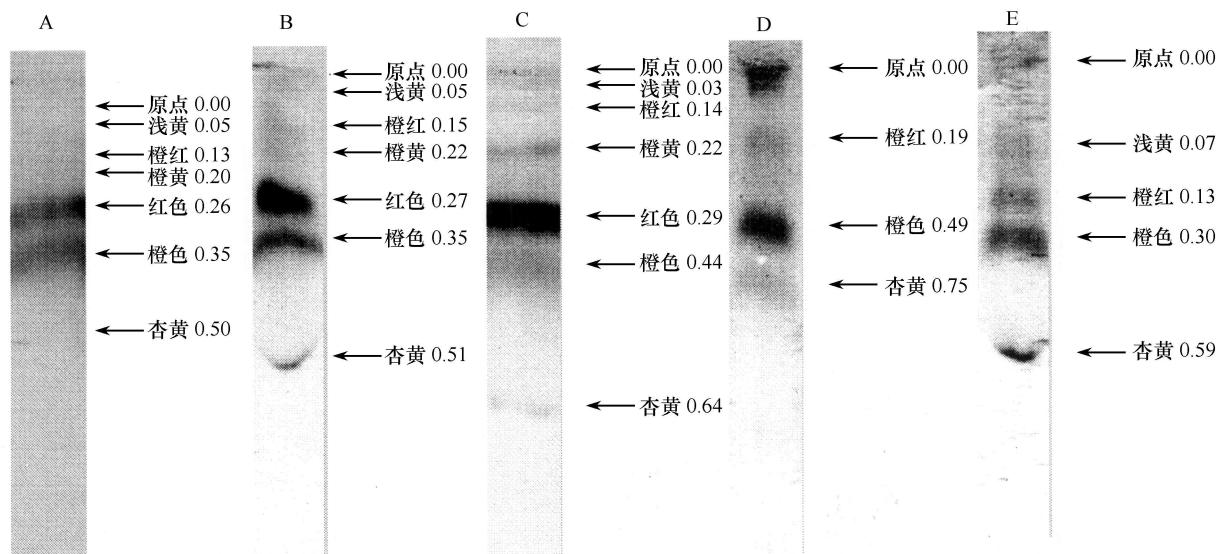


图1 锦鲤色素薄层色谱及示意图(附Rf值)

Fig. 1 The map of thin-layer chromatography of the carp pigment (Rf)  
A. 红色锦鲤; B. 乌鲤; C. 绯写锦鲤; D. 黄写锦鲤; E. 昭和三色锦鲤

表1 锦鲤总色素峰位及峰值比较

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

名称	峰波长1(nm)	峰值	峰波长2(nm)	峰值
红色锦鲤	470	0.148	448	0.156
乌鲤	470	0.156	448	0.166
绯写锦鲤	470	0.114	448	0.117
黄写锦鲤	474	0.059	445	0.069
昭和三色锦鲤	472	0.169	444	0.196

### 2.2 锦鲤总色素薄层色谱及色素组分光谱

锦鲤的总色素薄层色谱(TLC)研究结果(图1)显示, 红色锦鲤、乌鲤和绯写锦鲤均含有浅黄色、橙红色、橙黄色、红色、橙色和杏黄色等六条色素带, 绯写锦鲤除了杏黄色和橙色带的Rf值与前两者略有不同外, 其余色素带的Rf值几乎完全相同; 黄写锦鲤含有橙红色、橙色和杏黄色三条色素带, 昭和三色锦鲤则含有浅黄色、橙红色、橙色和杏黄色四条色素带, Rf值与前两者相比差异较大。锦鲤色素组分光谱的研究结果(表2和图2)显示, 锦鲤杏黄色素组分的λ<sub>max</sub>与文献记载的α-胡萝卜素的λ<sub>max</sub>值475、445和423nm<sup>[7]</sup>十分接近, 橙色色素组分的λ<sub>max</sub>值与文献记载的β-胡萝卜素主要吸收峰λ<sub>max</sub>值450nm(石油醚)<sup>[8]</sup>十分接近。其所含主要色素组分为杏黄色和橙色两种。锦鲤杏黄色素组分相对含量依次为: 昭和三色锦鲤>黄写锦鲤>乌鲤>绯写锦鲤>红色锦鲤; 橙色色素组分相对含量依次为: 红色锦鲤>绯写锦鲤>乌鲤>昭和三色锦鲤>黄写锦鲤。

表 2 锦鲤色素组分峰位比较

Tab. 2 The peak location comparison of the color carp pigment components

组 分	红色锦鲤	乌鲤	绯写锦鲤	黄写锦鲤	昭和三色锦鲤
杏黄色	473	469	475	468	471
	443	445	449		444
		423	423	419	
橙 色				505	
	453	455	451	450	451
红 色	479		472		
	454		455		
橙黄色		501			
	480		467		
	442	454	450		
橙红色		502		515	
	474		475	461	
	444	457	451		446
	500		519		
浅黄色	481		477		
		456	443		443
					423

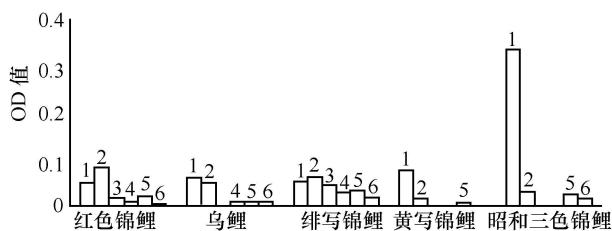


图 2 锦鲤色素组分峰值

Fig. 2 The absorption peak of color carp pigment components

1. 杏黄色; 2. 橙色; 3. 红色; 4. 橙黄色; 5. 橙红色; 6. 浅黄色

### 3 讨 论

#### 3.1 锦鲤总色素光谱与其体色及色素组分之相关性

锦鲤总色素光谱在可见光区均存在两个吸收峰。红色锦鲤、乌鲤和绯写锦鲤总色素光谱吸收峰位置相同, 即 448nm 和 470nm; 黄写锦鲤和昭和三色锦鲤总色素光谱吸收峰位置相近, 即在 445nm 和 472nm 附近。总色素光谱吸收峰的形成与锦鲤所含主要色素组分及其辅助色素组分光谱吸收峰有关, 总色素光谱是其所含主要色素组分与辅助色素组分光谱叠加的结果。锦鲤体色与其总色素光谱之间未见明显的相关性。

#### 3.2 锦鲤色斑与其色素组分之相关性

锦鲤色素细胞中除含有大量的杏黄色或橙色色

素组分外, 还含有一定量的红色、橙红色、橙黄色和浅黄色等其他色素组分。黑色锦鲤或具黑色斑的锦鲤的色素细胞中除此还含有大量的黑色素, 正是由于黑色素的存在才使该锦鲤局部或通体呈现黑色。锦鲤的红、橙、黄和金黄色等不同色斑的形成源于各种色素组分在鱼体某一部位不同比例组合的结果; 锦鲤白色斑的产生可能源于其色素细胞中各色素组分或无或少或剂量均衡之故; 锦鲤的黑色斑是由于黑色素的存在掩盖了其他色素组分颜色而形成的。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 (Alomelanins), 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<sup>[9]</sup>。因其不溶于水和一般的有机溶剂, 所以在本实验条件下黑色素未被提取出来。但黑色素确系锦鲤黑色色斑形成的主要原因。

#### 3.3 锦鲤色素组分的异同与其亲缘关系之相关性

相同色素组分在锦鲤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锦鲤 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。从锦鲤色素的薄层色谱<sup>[10, 11]</sup>结果来看, 红色锦鲤、乌鲤和绯写锦鲤等均含有浅黄色、橙红色、橙黄色、红色、橙色和杏黄色等六种颜色的色素带, 除绯写锦鲤杏黄色和橙色两条色素带 Rf 值有一定差别外, 其他各同颜色色素带的 Rf 值基本相同; 黄写锦鲤含有橙红色、橙色和杏黄色等三种颜色的色素带, 昭和三色锦鲤含有浅黄色、橙红色、橙色和杏黄色等四种颜色的色素带, 各同颜色色素带的 Rf 值以及与前三者同颜色色素带 Rf 值相比均有较大差异。每种颜色的色素带均代表一种主要的色素组分。总之, 红色锦鲤、乌鲤和绯写锦鲤均含有六种相近的主要色素组分, 黄写锦鲤和昭和三色锦鲤则分别含有三种和四种 Rf 值差异较大的主要色素组分。

据此推测, 红色锦鲤、乌鲤和绯写锦鲤可能具有较近的亲缘关系, 黄写锦鲤、昭和三色锦鲤与前三者之间的亲缘关系可能较远。

### 3.4 锦鲤色素组分之归属

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<sup>[12-14]</sup>。研究结果表明, 锦鲤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  $\beta$ -胡萝卜素、黄体素、玉米黄质、金枪鱼黄质和虾青素等。锦鲤杏黄色素组分的  $\lambda_{max}$  与文献记载的  $\alpha$ -胡萝卜素的  $\lambda_{max}$  值 475, 445 和 423nm 十分接近, 而橙色色素组分的  $\lambda_{max}$  值则与文献记载的  $\beta$ -胡萝卜素主要吸收峰  $\lambda_{max}$  值 450nm(石油醚)<sup>[15]</sup> 十分接近, 且已知锦鲤体表之所以呈现红色是因为其体内存在虾青素的缘故。据此推测锦鲤杏黄色、橙色和红色色素带中所含主要色素组分可能分别是  $\alpha$ -胡萝卜素、 $\beta$ -胡萝卜素和虾青素。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, 锦鲤躯体色斑与其实体内各色素组分的种类和剂量有关。亲缘关系越近的锦鲤构成其体色的色素组分就越相近。深入研究锦鲤色素组分搞清其代谢途径和调控点可以为观赏鱼增色饵料的研制和开发提供理论指导。

### 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, 凌国健, 等. 鱼类学与海水鱼类养殖. 北京: 中国农业出版社, 1998, 185]
- [2] Zhu Y F, Mai K S. A review of carotenoid of pigmentation additives in fish feeds [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27(2): 196—200 [朱艺峰, 麦康森. 鱼饲料着色剂类胡萝卜素研究进展. 水生生物学报, 2003, 27(2): 196—200]
- [3] Li X Y, Xia M, Li L, et al. The proteinases and their activity in the tissues and embryogenesis of goldfish (*Carassius auratus* L.) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2000, 24(2): 128—136 [李效宇, 夏民, 李莉, 等. 金鱼不同组织器官及胚胎发育不同时期蛋白水解酶的种类和活性变化. 水生生物学报, 2000, 24(2): 128—136]
- [4] Liu C F, Tao S, Long A M. Accumulation of lead and cadmium in goldfish, *Carassius auratus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, 25(4): 344—349 [刘长发, 陶澍, 龙爱民. 金鱼对铅和镉的吸收蓄积. 水生生物学报, 2001, 25(4): 344—349]
- [5] 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]
- [6] Li Y, Li Y W, Xiang X, et al. The effects of carotenoid and 17 $\alpha$ -MT on the colour of ornamental fishes [J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 1999, 21(3): 270—273 [李云, 李英文, 向枭, 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]
- [7] Yuan X H, Yang H Z. Plant physiological biochemical experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 1985, 148—158 [袁晓华, 杨中汉. 植物生理生化实验. 北京: 高等教育出版社, 1985, 148—158]
- [8] Guo X M, Zhai T 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, 牛延峰. 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]
- [9] Li X W, Wang Z, Jiang X Y. The purification of melanin extracted from squid ink [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2001, 10(3): 252—256 [李兴旺, 王慥, 蒋霞云. 从鱿鱼墨中精制黑色素. 上海水产大学学报, 2001, 10(3): 252—256]
- [10] Zhang Z N. ABC of thin-layer chromatography [J]. *Yunnan Chemical Technology*, 1995, (1): 46—50 [张震南. 薄层色谱 ABC. 云南化工, 1995, (1): 46—50]
- [11] Zhang Z N. Thin-layer chromatography ABC(4): qualitative detection and quantitative determination [J]. *Yunnan Chemical Technology*, 1995, (4): 51—56 [张震南. 薄层色谱 ABC(4)一定性鉴定和定量测定. 云南化工, 1995, (4): 51—56]
- [12] Lin 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 [林春绵, 王忠杰, 茅惠忠. 薯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]
- [13] 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]
- [14] Chen X M, Xu X M, Jin Z Y. Studies on the Composition and Characteristics of Pigments from *Phaffia rhodaxyna* [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]
- [15] 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 COLOR CARP

WANG An-Li<sup>1</sup> LIU Jin-Hai<sup>2</sup> and WANG Wei-Na<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631;

2. Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005)

**Abstract:** The study was conducted to investigate the total pigment and pigment components of different breeds of color carp by spectrophotometer and thin-layer chromatography. The results showed that spectrum of total pigment of Red Color Carp and Black color Carp and Black Spot-Red color Carp had two same absorption peaks in visible region (470nm and 448nm). The spectrum of total pigment of Black Spot-Yellow color Carp and Black-Blue-Red Spot color Carp had two similar absorption peaks in visible region (445nm and 472nm). The pigment components of different breeds of brocaded carp were mainly apricot or orange pigment. The black spots of color carp may be formed when melanin covered other pigment, other color spots may be formed when the pigment components of all kinds were mixed in proper proportions. The more the relation of color carp is close, the more the total pigment component is similar. Red color Carp and Black color Carp had same pigment components of six kinds, there were similar Rf values of four same color pigment components for Black Spot-Red color Carp as compared with both of the former and there were different Rf values of two same color pigment components for the latter in comparison with both of the former. Black Spot-Yellow color Carp and Black-Blue-Red Spot color Carp had three and four pigment components respectively, and the difference of their Rf values was notable. As above, Red color Carp and Black color Carp and Black Spot-Red color Carp probably are close relatives, and the former and Black Spot-Yellow color Carp of Black-Blue-Red Spot color Carp probably are distant relatives. This study will help the research and development of color carp color adding diet and further enhancement of brocaded carp ornamental value and market value.

**Key words:** color carp; Ornamental carp; Total pigment; Pigment component; Spectrum; Chromatogram