

白燕与血燕的营养成分分析和比较

曹妍¹,徐杰¹,高焱²,王静凤¹,李兆杰¹,薛长湖^{1*}

(1.中国海洋大学食品科学与工程学院,山东青岛 266003;

2.青岛国家海洋科学研究中心,山东青岛 266071)

摘要:为分析和比较白燕与血燕的营养成分,分别采用凯氏定氮法、邻苯二甲醛-氯甲酸苄甲酯(OPA-FMOC)柱前衍生反相高效液相色谱法、柱前衍生二极管阵列/荧光检测器串联反相高效液相色谱法和电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)等方法测定了白燕与血燕的蛋白质含量、氨基酸组成及比例、唾液酸含量、无机元素含量。结果表明:白燕蛋白质含量为56.5%,氨基酸总量49.22%,其中必需氨基酸占氨基酸总量的58.0%,唾液酸含量占干重15.3%。血燕蛋白质含量为55.0%,氨基酸总量44.16%,必需氨基酸占氨基酸总量的57.9%,唾液酸含量约为13.3%。两种燕窝中蛋白质、氨基酸含量均较高,必需氨基酸占氨基酸总量50%以上,唾液酸含量均大于10%,无机元素种类丰富。白燕的蛋白质含量、氨基酸总量、唾液酸含量比血燕略高,但两者不存在明显差异,两种燕窝中无机元素含量略有差异。该结果为燕窝产品的深入研究提供了重要依据和实验思路。

关键词:燕窝(EBN),氨基酸,无机元素,唾液酸

Comparative analysis of nutritional components in White-edible bird's nest (EBN) and Red-EBN

CAO Yan¹, XU Jie¹, GAO Yan², WANG Jing-feng¹, LI Zhao-jie¹, XUE Chang-hu^{1*}

(1.College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2.National Oceanographic Center, Qingdao 266071, China)

Abstract: To compare the nutritional components in White-EBN and Red-EBN, protein was determined by using Kjeldahl method, precolumn derivatization with o-phthalaldehyde (OPA) and fluorenylmethyl chloroformate (FMOC chloride) was used on the determination of amino acids, pre-column derivation reversed phase high performance liquid chromatography with photodiode array detector(DAD) and fluorescence detector(FLD) method was used for the determination of N-acetylneuraminic acid, the content of inorganic elements was studied by using inductive coupled plasma mass spectrometry. The results indicated that the protein content in White-EBN was 56.5%, the total amino acid content of White-EBN was 49.22%, in which, the essential amino acid accounted for 58.0% of total amino acid. The protein content in Red-EBN was 55.0%, the total amino acid content of White-EBN was 44.16%, in which, the essential amino acid accounted for 57.9% of total amino acid. There were no significant differences among the protein content, amino acids and N-acetylneuraminic acid, although White-EBN had the higher amount than Red-EBN. They had the same inorganic elements, but their contents differed.

Key words: edible bird's nest; amino acid; inorganic elements; sialic acid

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2011)10-0414-04

燕窝,为雨燕科Apodidae金丝燕属Collocalia的几种鸟类吞食海中小鱼或其他蚕螺海藻等小生物消化后,分泌出的胃液与其绒羽混合凝结于悬崖峭壁上,而筑成的巢窝^[1]。燕窝具有养阴润燥、补中益气、养胃补脾、化痰止咳等功能,并有促进细胞生长和加强免疫系统功能等作用。燕窝含有丰富的蛋白质、糖类和矿物质,其特征成分是唾液酸糖蛋白^[2]。随着人们对燕

窝需求量的日益增长,燕窝销售商家不断增多,其产品种类繁多且价格差异较大,国内对燕窝真伪鉴别的报道较多,胡昌国等^[3]建立了水提唾液酸吸光度法,对燕窝及其制品进行检测,并解决了燕窝唾液酸糖蛋白提取、掺假干扰和排除方法以及纯度的计算方法和评价标准问题。梅宏辉和林伟萍^[4]介绍了燕窝真伪优劣的性状鉴别、经验鉴别、显微鉴别和理化鉴别方法。孙素琴等^[5]首次利用微钻石ATR探头傅里叶变换红外光谱法(FTIR)无损快速鉴别了印尼燕、越南燕、马来西亚燕、泰国血燕、菲律宾草燕和香港市售燕窝等6种燕窝,结果表明:不同燕窝均有各自的红外特征谱,据谱

收稿日期:2010-09-25 * 通讯联系人

作者简介:曹妍(1986-),女,硕士研究生,研究方向:食品科学。

基金项目:国家科技支撑计划(2008BAD94B05)。

图吸收峰的波数位置和相对峰强度的差异可实现燕窝类同和伪品的鉴别。胡珊梅和赖东美^[6]对不同燕窝进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,根据燕窝特征谱带的比较,对燕窝及其加工品进行鉴别。本研究选择白燕与血燕两种常见燕窝产品,首次对其营养成分进行较全面的分析比较。采用几种较先进的仪器分析方法,分别测定了白燕和血燕的蛋白质含量、氨基酸含量、无机元素和唾液酸含量,为今后进一步分析和研究白燕与血燕产品提供了实验思路 and 理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

白燕、血燕 市售;乙腈 色谱纯, Muskegon公司;磷酸氢二钠等 分析纯;氨基酸标准品,邻苯二甲酰(OPA),9-芴甲基氯甲酸酯(FMOC)。

Agilent 1100 高效液相色谱仪 配有自动进样器、二极管阵列检测器(DAD),美国Agilent公司;超纯水系统 美国Millipore公司;电热恒温水浴锅,电子恒温鼓风干燥箱,离心机,0.45 μ m针头微孔滤膜过滤器。

1.2 实验方法

1.2.1 蛋白质含量测定 凯氏定氮法,参照GB 5009.5—2010^[7],每种燕窝样品做3个平行。

1.2.2 氨基酸分析

1.2.2.1 酸水解 准确称取10mg样品于安瓿瓶中,加入2.5mL 6mol/LHCl,充氮气封管,110 $^{\circ}$ C水解24h,待冷却后,置于80 $^{\circ}$ C水浴,通N₂吹干,然后加入1mL甲醇,N₂吹干,重复操作两次,吹干后加入0.5mL超纯水溶解残渣,10000r/min离心10min后取上清液,冻藏。

1.2.2.2 氨基酸标准混合液的配制 参照文献[8]。

1.2.2.3 样品前处理 酸水解样品用10mol/L KOH调节pH至接近中性,10000r/min离心取上清液,根据样品性质稀释200、100、50倍,加入浓度为225pmol/ μ L内标,过0.45 μ m微孔滤膜,待测。

1.2.2.4 色谱条件^[9] 色谱柱:ZORBAX Eclipse-AAA (4.6mm \times 150mm i.d, 3.5 μ m),柱温40 $^{\circ}$ C,流速2mL/min;流动相:A:40mmol/L Na₂HPO₄(pH 7.8),B:ACN:MeOH:H₂O(45:45:10, V/V/V);检测波长:FLD检测器:激发波长(Ex)340nm,发射波长(Em)450nm,DAD检测器:338nm。流动相梯度洗脱条件见表1。

表1 流动相梯度洗脱条件

时间(min)	流动相A(%)	流动相B(%)
0	100	0
1.9	100	0
18.1	43	57
18.6	100	0
22.3	100	0
23.3	0	100
26.0	0	100

1.2.2.5 柱前衍生^[9] 采用自动进样器进行OPA-FMOC柱前衍生:吸取硼酸缓冲液2.5 μ L后,吸取氨基酸标准溶液或者样品0.5 μ L,混合,洗针,吸取0.5 μ L OPA,混合,洗针,吸取0.5 μ L FMOC,混合,吸取32 μ L水,混合后进样。

1.2.3 唾液酸含量测定

1.2.3.1 唾液酸标准溶液的配制^[10] 精密称取N-乙酰神经氨酸标准品适量,加水溶解并定容成2mg/mL的对照品储备液。吸取上述储备液,配制成0.1、1.5、10、25、50、100、200、400、750、1000 μ g/mL等一系列浓度的对照品使用溶液,待衍生。

1.2.3.2 样品溶液的制备^[10] 分别称取两种燕窝样品各约2mg,加0.5mol/L硫酸氢钠溶液1mL,80 $^{\circ}$ C水浴30min,取出冷却,待衍生。

1.2.3.3 衍生反应^[10] 取上述溶液各1mL,分别加入20mg/mL邻苯二氨盐酸盐溶液1mL,再置于80 $^{\circ}$ C水浴中加热40min,取出后冷却,经0.45 μ m微孔滤膜过滤,待进样。

1.2.3.4 色谱条件^[10] 色谱柱:ZORBAX SB-C₁₈柱(4.6mm \times 150mm i.d, 5 μ m);检测器:二极管阵列,检测波长230nm,荧光激发波长(Ex)230nm,发射波长(Em)425nm;流速1.0mL/min,柱温35 $^{\circ}$ C;流动相:1.0%四氢呋喃水溶液(含0.5%磷酸和0.15%正丁胺)-乙腈(95:5, V/V);进样体积:20 μ L。

1.2.4 无机元素分析 将燕窝样品研碎后,准确称取1.000g,置于50mL三角瓶中,放数粒玻璃珠,各加入HNO₃-HClO₄(4:1)混合消化液10mL,加盖浸泡过夜,电炉湿法消化样品,至冒白烟后加水赶酸,消化液呈无色透明或略带黄色,放冷,最后用水定容至50mL,同时作试剂空白。电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)^[11]测定两种燕窝中无机元素含量。

2 结果与分析

2.1 蛋白质含量

经测定,白燕蛋白质含量56.5%,血燕蛋白质含量55.0%,均在50%以上,且与猪皮、银耳、琼脂等掺假物有明显区别^[12-13]。由结果可知,白燕与血燕的蛋白质含量接近,无显著差异。

2.2 氨基酸组成及比例

白燕与血燕的主要氨基酸含量如表2所示。

表2 白燕与血燕氨基酸组成及比例(g/100g)

氨基酸	白燕	血燕
苏氨酸Thr	8.72	8.01
缬氨酸Val	3.97	3.67
赖氨酸Lys	4.50	3.53
异亮氨酸Ile	5.03	ND
亮氨酸Leu	ND	4.64
精氨酸Arg	4.67	4.28
组氨酸His	1.65	1.43
丙氨酸Ala	2.02	1.85
酪氨酸Tyr	4.52	3.80
天冬氨酸Asp	5.99	5.18
谷氨酸Glu	3.22	3.14
丝氨酸Ser	4.93	4.63
必需氨基酸(含半必需氨基酸)	28.54	25.56
总氨基酸	49.22	44.16
必需氨基酸/总氨基酸	0.58	0.58
必需氨基酸/非必需氨基酸	1.38	1.37

从表2中可以看出,燕窝中总氨基酸、必需氨基酸的含量较高,且必需氨基酸占总氨基酸的相对含量较高。白燕与血燕的氨基酸组成有较大的相似性,也有一定的差异。Asp、Glu、Ser、His、Thr、Arg、Ala、Tyr、Val和Lys为两种燕窝共有,其含量略有差异。另外,

白燕中含异亮氨酸,而血燕中含亮氨酸。白燕氨基酸总量为49.22g/100g,必需氨基酸含量达28.54g/100g,必需氨基酸占氨基酸总量的58%,必需氨基酸与非必需氨基酸含量的比值为1.38。白燕中氨基酸含量最高的是Thr,其次是Asp,第三是Ile,Ser,Tyr,Lys含量也较高,His、Arg和Ala含量较低。血燕氨基酸总量为44.16g/100g,必需氨基酸含量达25.56g/100g,略低于白燕的含量。必需氨基酸占氨基酸总量的58%,必需氨基酸与非必需氨基酸含量的比值为1.37,与白燕相似。血燕氨基酸中含量最高的是Thr、Asp、Leu,其次是Ser、Tyr、Lys,His、Arg和Ala的含量相对较低。

2.3 唾液酸含量

由图1~图3可知,白燕与血燕中的唾液酸均为N-乙酰神经氨酸。采用外标法计算白燕与血燕中的唾液酸含量,结果见表3。实验表明,白燕与血燕中的唾液酸含量均较高,与文献报道相符^[12]。白燕唾液酸含

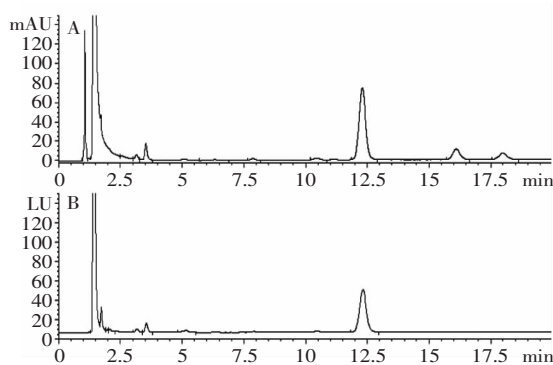


图1 唾液酸标准HPLC图

注: A为DAD色谱图, B为FLD色谱图; 图2、图3同。

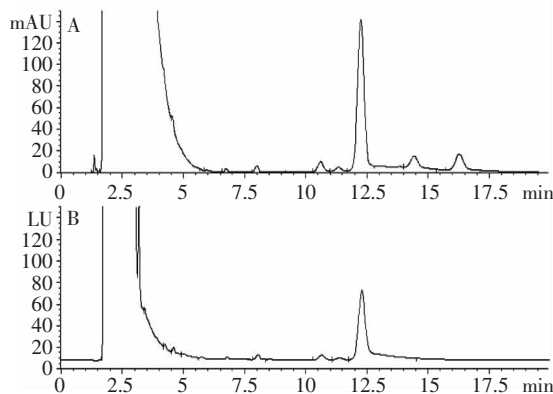


图2 白燕中唾液酸的HPLC图

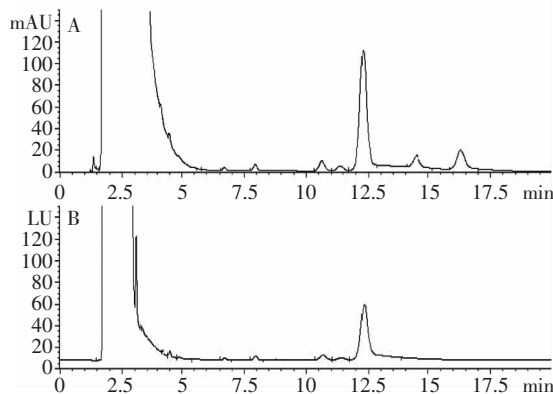


图3 血燕中唾液酸的HPLC图

量略高于血燕,但不具有显著差异。

表3 白燕与血燕的唾液酸含量(μg/mg)

检测器	白燕	血燕
DAD	153.09	133.67
FLD	153.28	134.04

燕窝可防止流感病毒、促进细胞生长和加强免疫,唾液酸的有无及结构不同,其活性也不同^[14]。唾液酸及其衍生物在各种生命活动的调节及细胞间相互识别中起作用,在治疗流感、抗癌转移、促进神经细胞生长与抗老年痴呆、抗流感病毒、抗炎等方面有很重要的应用价值^[15-16]。唾液酸还能增强婴儿的记忆力和促进智力的发育^[17]。

2.4 无机元素分析

表4是白燕与血燕中15种无机元素含量。

表4 白燕与血燕的无机元素分析(μg/g)

元素	白燕	血燕
Na	12856.14	10227.95
Mg	1306.61	1281.74
K	113.02	150.42
Ca	6318.10	6213.76
Fe	28.35	24.11
Zn	2.11	2.26
Cu	4.43	4.41
Mn	1.33	1.12
Se	0.23	0.09
Co	0.03	0.03
Mo	0.02	0.02
Ni	0.68	0.24
V	0.01	0.01
Cr	14.05	13.16
As	0.03	0.12

从表4中可以看出,两种燕窝含有的无机元素种类相同,元素含量有一定差异。陆源等^[18]比较研究了云南三种燕窝和进口燕窝的主要成分,不同产地、不同种类的燕窝也存在类似差异。在被分析的15种无机元素中,Na、Ca、Mg、K等人体必需宏量元素含量特别高,白燕中Na、Mg、Ca含量略高于血燕,血燕中K含量略高于白燕。燕窝中微量元素种类丰富,Zn、Cu、Mn、Co、Mo、V、Cr等元素含量基本接近,白燕中Se元素含量是血燕的2.5倍,Ni元素含量是血燕的2.8倍,血燕中As元素含量是白燕的4倍。

燕窝中无机元素含量较高,含有多种人体必需的微量元素,各种微量元素对人体健康均有不同的作用。实验结果表明,白燕与血燕的无机元素含量具有一定差异,燕窝采摘、加工过程均可能对无机元素产生一定影响。为进一步研究白燕与血燕的营养功能差异,可对重要元素进行形态分析,明确两者的生理功能和机理。

3 讨论

侯惠婵等^[19]测定了燕窝总氮和氨基酸含量,陈文锐^[20]用毛细管气相色谱法分析了燕窝与其掺伪品氨基酸组成,结果均表明掺伪品与燕窝总氮、氨基酸含量差异显著,燕窝总氮在6%~10%之间,氨基酸含量在40%~50%之间,猪皮、琼脂、银耳、鱼鳔等掺伪品氨基酸含量均不在此范围内。本实验测定的白燕与血燕的蛋白质含量分别为56.5%和55.0%,氨基酸总量分

别为49.22%和44.16%，与文献报道基本一致，说明燕窝蛋白质含量丰富，氨基酸含量较高，必需氨基酸比例接近60%，具有良好的营养价值。

经测定，白燕与血燕的蛋白质含量、氨基酸组成、唾液酸含量未见特征性差异，白燕的含量略高，但不显著；两种燕窝的无机元素组成略有不同。以上结果不能确证血燕的形成，也未能明确区分白燕和血燕。以后可尝试从不同燕窝的唾液酸结构、无机元素形态进行分析，进行品质鉴定和功能评价。

参考文献

- [1] 胡雅妮,李峰,康廷国.燕窝的研究进展[J].中国中药杂志,2003,28(11):1003-1005.
- [2] 张能荣.燕窝的成分和药理研究概况[J].中国生化药物杂志,1993(4):6-10.
- [3] 胡国昌,陈文锐,陈捷,等.燕窝及其制品的检测方法[J].食品科学,1996,17(11):47-50.
- [4] 梅宏辉,林伟萍.燕窝真伪优劣的检定[J].中草药,2005,36(8):1249-1250.
- [5] 孙素琴,梁曦云,杨显荣.6种燕窝的傅里叶变换红外光谱法原性状快速鉴别[J].分析化学研究简报,2001,29(5):552-554.
- [6] 胡珊梅,赖东美.燕窝的聚丙烯酰胺凝胶电泳法鉴别[J].中国中药杂志,1999,24(6):331-332,341.
- [7] GB 5009.5—2010食品安全国家标准.食品中蛋白质的测定[S].
- [8] 张红梅,朱洪亮,费贤明,等.柱前衍生反相液相色谱法测定饲料中氨基酸含量[J].安徽农业通报,2007,13(7):27-29.

- [9] 陈雅,陈波,揭新明,等.邻苯二甲酸柱前衍生反相高效液相色谱法检测珍珠粉中的氨基酸含量[J].时珍国医国药,2007,18(7):1680-1681.
- [10] 冯婷玉,薛长湖,孙通,等.燕窝中唾液酸的DAD/FLD串联HPLC测定方法的研究[J].食品科学,2010,31(8):233-236.
- [11] 陈惠云,吴坚,吴优利,等.微波消解ICP-MS法测定笋制品中的多种元素[J].中国农学通报,2009,25(23):118-121.
- [12] 朱春红,雍炜,徐厉,等.燕窝真假鉴定技术研究[J].中国食品卫生杂志,2007,19(3):206-209.
- [13] 周辉,王威.用凯氏定氮法检测分析燕窝及其制品[J].高科技与产业化,1996(4):47-49.
- [14] GUO C T, TAKAHASHI T, BUKAWA W, et al. Edible bird's nest extract inhibits influenza virus infection[J]. Antiviral Research, 2006, 70: 140-146.
- [15] 李绍顺.唾液酸及其衍生物的生物学研究进展[J].药学进展,1997(2):70-76.
- [16] 张杰,徐文方.唾液酸及其衍生物的应用前景[J].中国新药杂志,2004,13(12):1253-1257.
- [17] 黄华军,奚星林,吴宏中,等.奶粉中唾液酸的测定方法[J].分析测试学报,2006,25(4):129-131.
- [18] 陆源,韩灯保,王建云,等.云南三种燕窝与进口燕窝成分的比较研究[J].动物学研究,1995,16(6):385-391.
- [19] 侯惠焯.中国产燕窝总氮及氨基酸含量分析[J].中药材,2007,30(8):961-963.
- [20] 陈文锐.毛细管气相色谱法测定燕窝中的氨基酸及掺伪鉴别方法的研究[J].旅行医学科学,1995,1(3):110-113,142.

(上接第413页)

蛋白溶解酶原激活剂抑制剂-1的平衡决定的，但也可以通过纤维蛋白溶解酶原激活剂抑制剂-1和血浆中丝氨酸蛋白酶的相互作用改变^[8]。

从图3中可以看出，SPFE-I可以降解纤维蛋白溶解酶原激活剂抑制剂-1，也就是说可以解除纤维蛋白溶解酶原激活剂抑制剂-1对tPA的抑制作用，间接地促进了溶解酶原激活剂纤维蛋白溶解酶，从而促进了纤维蛋白的水解。纤维蛋白是体内血栓的主要成分之一，SPFE-I降解纤维蛋白溶解酶原激活剂抑制剂-1，从而可以间接促进体内血栓的溶解。

3 结论

经研究证明，纤溶酶SPFE-I具有溶解血栓的作用，在浓度1.5U/mL时血凝块溶解率为72%；同时具有抗凝血作用，临界浓度大约是0.12U/mL。采用SDS-PAGE电泳法研究其机理，表明它有三种作用方式：直接降解纤维蛋白的作用；激活纤溶酶原，从而间接降解纤维蛋白；降解纤维蛋白溶解酶原激活剂抑制剂-1，也就是说可以解除纤维蛋白溶解酶原激活剂抑制剂-1对tPA的抑制作用，间接地促进了溶解酶原激活剂纤维蛋白溶解酶，从而促进了纤维蛋白的水解。因此，该酶是一种很有开发潜力的溶栓酶。

参考文献

- [1] 汪钟,郑植苓.现代血栓病学[M].北京:北京医科大学出版社,1997:523-532.

- [2] 王兆敏.溶栓治疗的现状及研究进展[J].国外医学内科学分册,2000,27(8):323-326.
- [3] Sumi H, Hamada H, Tsushima H, et al. A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese natto; a typical and popular soybean food in the Japanese diet[J]. Experientia, 1987, 15: 1110-1111.
- [4] Noh K A, Kim D H, Choi N S, et al. Isolation of fibrinolytic enzyme producing strains from Kimchi[J]. Korean J Food Sci Technol, 1999, 31: 219-223.
- [5] Peng Y, Huang Q, Zhang R H, et al. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus amyloliquefaciens* DC-4 screened from douchi, a traditional Chinese soybean food[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2003, 134: 45-52.
- [6] Ying H, BO J, Yoshiinori M, et al. Purification and characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Bacillus* sp. nov. SK006 isolated from an Asian traditional fermented shrimp paste [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56: 1451-1457.
- [7] 王萍,陈钧,陈红斌.纳豆激酶分离纯化及体外溶栓和溶血作用研究[J].中国药理学杂志,2005,40(21):1669-1672.
- [8] Tetsumei U, Hayato I, Kazuo U, et al. The Profibrinolytic Enzyme Subtilisin NAT Purified from *Bacillus subtilis* Cleaves and Inactivates Plasminogen Activator Inhibitor Type 1[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2001, 276: 24690-24696.