

林蛙卵油的脱腥脱色比较分析研究

王 硕¹, 魏琦岩², 林宇琪¹, 郑 月², 闫祉铮², 闫立成², 马吉胜^{2*}

¹吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春

²长春三德天晟科技有限公司, 吉林 长春

收稿日期: 2023年8月4日; 录用日期: 2023年9月1日; 发布日期: 2023年9月11日

摘要

目的: 改善林蛙卵油的腥味和色泽, 以利于在食品和化妆品等行业得到广泛应用。方法: 采用过氧化氢法, 以透光度、过氧化值、脂肪酸和孕酮等作为考查指标, 考察不同温度、pH值、过氧化氢浓度和反应时间等对林蛙卵油的影响。结论: 林蛙卵粗油在温度60~80℃, 与30%过氧化氢(添加量为粗油体积的8%)反应40 min, 对林蛙卵粗油进行脱腥去色效果最好。

关键词

林蛙卵, 脱腥, 脱色, 工艺, 分析

Comparative Analysis of Deodorization and Decolorization of *Rana temporaria chensinensis* David Egg Oil

Shuo Wang¹, Qiyuan Wei², Yuqi Lin¹, Yue Zheng², Zhizheng Yan², Licheng Yan², Jisheng Ma^{2*}

¹College of Chinese Medicine Materials, Jilin Agricultural University, Changchun Jilin

²Changchun Sunnytech Co., Ltd., Changchun Jilin

Received: Aug. 4th, 2023; accepted: Sep. 1st, 2023; published: Sep. 11th, 2023

Abstract

Objective: To improve the fishy taste and color of *Rana temporaria chensinensis* David egg oil, in order to facilitate its widespread application in industries such as food and cosmetics. **Method:** The hydrogen peroxide method was used to investigate the effects of different temperatures, pH

*通讯作者。

values, hydrogen peroxide concentrations, and reaction times on frog egg oil, using transmittance, peroxide value, fatty acids, and progesterone as test indicators. Conclusion: The best deodorization and color removal effect of egg crude oil is achieved by reacting it with 30% hydrogen peroxide (added at 8% of the crude oil volume) at a temperature of 60~80°C for 40 minutes.

Keywords

Rana temporaria chensinensis David Egg Oil, Deodorization, Decolorization, Processing, Analyses

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

中国林蛙是我国东北地区长白山麓的特有品种，也是吉林省特色资源珍贵蛙种，资源丰富。林蛙输卵管是我国传统名贵滋补中药哈士蟆油，也称哈蟆油、林蛙油，具有养肺滋肾的功效。林蛙的蛙卵也称哈蟆籽，含有人体必需的氨基酸、微量元素、多不饱和脂肪酸、磷酯和雌激素等成分，具有很高的营养价值，在民间被公认为是与林蛙输卵管并列的滋补佳品。林蛙卵具有调节免疫、延缓衰老、壮阳、明目、调节血脂和预防妇女更年期综合症的作用[1]。对林蛙卵的营养成分和营养价值全面系统分析结果表明，林蛙卵中蛋白质的含量为 16.80 g/100 g 比鸡蛋中的 11.80 g/100 g 蛋白质含量略高一些，说明林蛙卵的营养价值比较高[2]。而采用乙醇溶剂或 CO₂超临界萃取等技术提取得到的林蛙卵脂溶性物质，俗称林蛙卵油，近年来被认为具有降脂、抗焦虑和妇科保健等活性。目前已有相关报道表明，林蛙卵油还具有镇静和抗焦虑作用[3]。另有资料显示，林蛙卵油对红细胞 SOD 的活性有促进作用[4]。此外林蛙卵油中含有很高的对人体细胞免疫系统有改善作用的免疫因子，其含有的孕酮和雌二醇是天然生成的调理激素，可以促进钙的吸收，调节人体内分泌，促进身体的生长发育。将其加工提取后用于美容保健化妆品中，可有效治疗痤疮、褐斑，防止皮肤粗糙，保持皮肤光泽与弹性[5]。

然而，林蛙卵和林蛙卵油由于其本身具有较强的鱼腥味和较深的颜色，口感与色泽不佳，只能通过做成软胶囊等制剂掩盖，大大限制了它的广泛应用。而目前对林蛙卵油所采用的树脂吸附法精制和分子蒸馏精制的脱腥除味工艺，存在着溶剂残留，回收率较低，浪费严重，成本成倍增加等缺点[6]。本文通过研究林蛙卵油脱腥脱色提取精制生产工艺方法，以精制林蛙卵油为原料进行系列保健和美容产品研发。

2. 材料与方法

2.1. 材料与试剂

供试材料为中国林蛙，取输卵管后的副产品林蛙卵，干燥保存。

主要试验材料见表 1。

Table 1. Main materials

表 1. 主要试验材料

试剂	生产厂家	纯度
30%过氧化氢溶液	北京化工厂	分析纯
氢氧化钠	北京化工厂	分析纯

Continued

冰醋酸	天津富宇精细化工有限公司	分析纯
异辛烷	阿拉丁试剂	分析纯
碘化钾	北京化工厂	分析纯
硫代硫酸钠	北京化工厂	分析纯
正己烷	北京化工厂	分析纯
淀粉	生工生物工程(上海)有限公司	分析纯
乙腈	天津市化学试剂	色谱纯
甲醇	北京化工厂	色谱纯

2.2. 仪器

使用仪器见表2。

Table 2. Main equipment

表 2. 使用仪器

仪器	型号	生产厂家
恒温磁力搅拌器	SZCL-2A	巩义市予华仪器有限责任公司
电热恒温鼓风干燥箱	DUG-9076	上海精宏实验设备有限公司
紫外可见分光光度计	T6 新世纪	北京普析通用仪器有限责任公司
气相色谱 - 质谱联用仪	AGILENT 5975-6890N	美国安捷伦
高效液相色谱仪	S6000	中国华谱
高效液相色谱仪	Untimate 3000	美国热电

3. 试验方法

3.1. 林蛙卵粗油制备

将林蛙卵去掉残留筋膜，干燥(80℃干燥箱 24 h，含水量不超过 8%)。采用索式提取的方法提取林蛙卵：石油醚(60~90℃)为 4 个虹吸体积，提取时间为 4 h，回收率为 22.7%。

3.2. 脱腥脱色

分别称取林蛙卵粗油 5 mL 于 9 个小烧杯中，将 1、2 和 3 号样品加热至 60℃、80℃、100℃后恒温 20 min，再分别加入 250 μL (油体积的 5%) 30%过氧化氢水溶液(用 NaOH 溶液调节 pH 至 9.0，现配现用)反应时间 40 min；将 4、5 和 6 号样品分别升高温度至 60℃、80℃、100℃后恒温 20 min，再分别加入 400 μL (油体积的 8%) 30%过氧化氢水溶液(pH 9.0)反应时间 40 min；将 7、8 和 9 号样品分别升高温度至 60℃、80℃、100℃后恒温 20 min，再分别加入 500 μL (油体积的 10%) 30%过氧化氢水溶液(pH 9.0)反应时间 40 min。

然后用温的去离子水分别洗涤以上处理后的 9 个样品三次，以去除残余的过氧化氢，每次用水量为油体积的 10%，于 60℃的干燥箱中静置 6 小时以上。

3.3. 透光度的测定

林蛙卵粗油去色前后的吸光度计算去色率，检测波长为 420 nm，以正己烷作参比。去色率(%) = (A0 - A1)/A0 × 100%。式中，A0 为原油的吸光度，A1 为去色后油脂的吸光度。

3.4. 过氧化值残留量的测定

样品中过氧化值残留量的检测采用动植物油脂过氧化值(GB/T5538-2005)的测定方法, 具体步骤参照GB/T5538-2005。

3.5. 成分分析

① 脂肪酸检测色谱条件[7]

色谱条件: 色谱柱 Agilent 19091G-133 细管柱; 柱前压 10.36 psi; 柱温 90°C~290°C, 按 10°C/min 程序升温; 进样口温度 280°C, 载气 He。

质谱条件: 质量分析器为四极滤质器; EI源; 离子源温度 230°C; 质量扫描范围 50~700 amu; 溶剂延迟 3 min。

② 孕酮检测色谱条件[8]

色谱柱: C18 柱($250 \times 4.6 \text{ mm}, 5.5 \mu\text{m}$); 流动相: 乙腈: 水(体积比为 40:60); 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL; 检测波长: 240 nm。

③ 磷脂检测色谱条件[9]

色谱柱: C18 色谱柱($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$), 以甲醇为流动相, 柱温为室温, 流速为 1.0 mL/min, 进样量为 10 μL; 蒸发光散射检测器参数: 载气为空气, 载气压力为 250 kPa, 载气流量为 2.2 L/min, 漂移管温度为 75°C。

4. 结果与讨论

4.1. 林蛙油脱腥去色

林蛙卵粗油有刺鼻的腥臭味, 经过过氧化氢处理后的精炼油腥味明显减小, 且颜色明显变浅, 由深棕色(图 4)变为浅黄色(图 5)。

应用不同条件对林蛙卵粗油精炼后颜色有不同程度的明显改变(图 1), 实验结果表明处理 4、5、8 和 9 号样品的去色率均在 70%以上(图 2), 但是 8 和 9 号样品的过氧化氢残留量相对较高(图 3), 这可能是由于过氧化氢的用量过高。

林蛙卵粗油精炼后的回收率差别不大, 基本都在 60%以上, 损失主要在于水洗的过程中发生乳化现象, 水洗次数越多, 回收率越小, 但水洗次数越少, 过氧化氢残留量也会随之增大。

通过对比表明(表 3)使用处理 4 和 5 号的条件, 即将林蛙卵粗油在温度 60~80°C, 与 30%过氧化氢(添加量为粗油体积的 8%)反应 40 min, 对林蛙卵粗油进行脱腥去色效果最好。

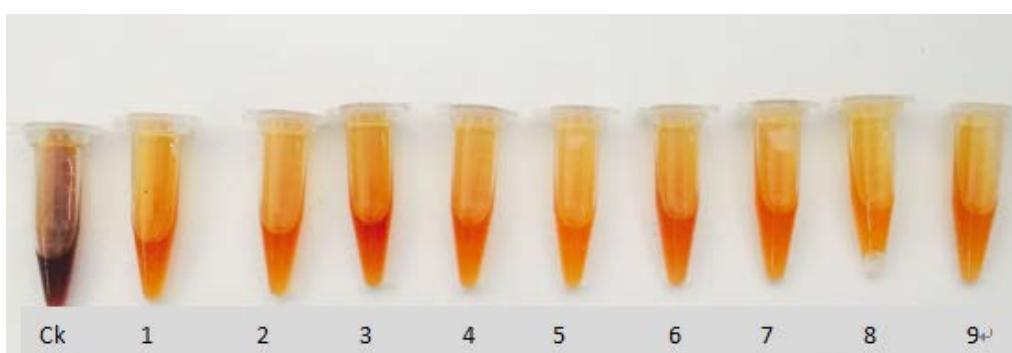


Figure 1. Color contrast of samples before and after treatment

图 1. 处理前后各样品颜色对比

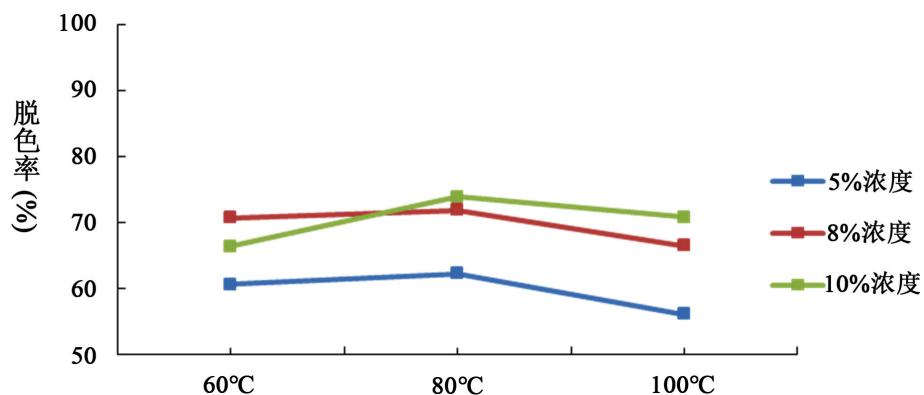
**Figure 2.** Effect of temperature and concentration on color removal rate

图 2. 温度、浓度对去色率的影响

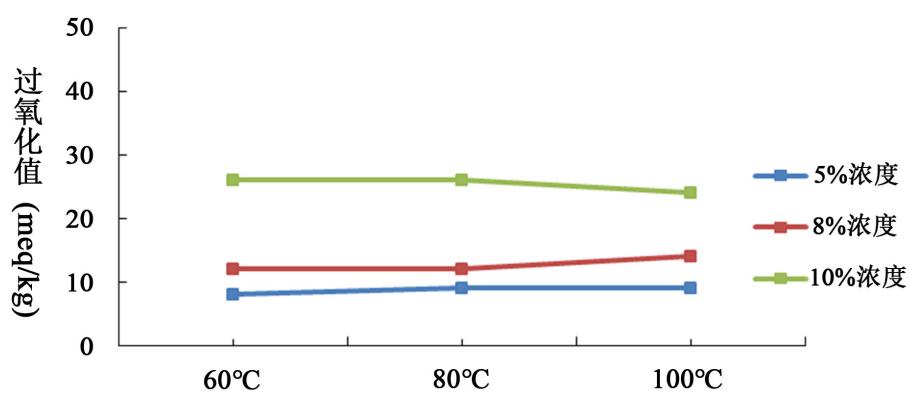
**Figure 3.** The influence of temperature and concentration on the residual quantity

图 3. 温度、浓度对残留量的影响

**Figure 4.** Oil before refining
图 4. 精制前的油**Figure 5.** Refined oil
图 5. 精制后的油

Table 3. Deodorization and color removal of *Rana temporaria chensinensis* David egg oil under different conditions
表 3. 不同条件对林蛙油脱腥去色结果

编号	反应温度(℃)	30% H ₂ O ₂ 溶液 (占油体积)	去色率	残留量 (meq/kg)	回收率	腥味
处理 1、	60	5%	60.58%	8	64%	微腥
处理 2、	80	5%	62.2%	9	62%	微腥
处理 3、	100	5%	56.05%	9	60%	微腥
处理 4、	60	8%	70.64%	12	66%	微腥
处理 5、	80	8%	71.84%	12	64%	微腥
处理 6、	100	8%	66.44%	14	66%	微腥
处理 7、	60	10%	66.33%	26	64%	微腥
处理 8、	80	10%	73.84%	26	64%	微腥
处理 9、	100	10%	70.81%	24	62%	微腥

4.2. 林蛙卵粗油与精炼油的成分对比分析

① 脂肪酸

采用气相色谱 - 质谱联用(GC-MS)法对林蛙卵粗油与精炼油进行脂肪酸的检测, 前者检测出 28 种脂肪酸, 后者为 20 种(表 4)。

林蛙卵粗油与精炼油的主要成分均为棕榈酸和反-9-十八碳烯酸, 其中常见及对人体有益的脂肪酸如: 棕榈酸(润滑剂、软化剂)、硬脂酸(稳定剂、表面活性剂、橡胶硫化促进剂、防水剂、抛光剂、金属皂)亚油酸(降低人体血液中胆固醇和血脂)、亚麻酸(可调节血脂, 预防心肌梗塞和脑梗塞、降血压、减肥、抑制过敏反应、抗炎作用、保护视力、增强智力、抑制衰老)花生四烯酸(对提高智力和增强视敏度具有重要作用, 并具有酯化胆固醇、增加血管弹性、降低血液粘度, 调节血细胞功能等一系列生理活性, 对预防心血管疾病、糖尿病和肿瘤等具有重要功效)。二十碳五烯酸(对治疗冠状动脉心脏病、高血压和炎症等有效)林蛙卵粗油与精炼油中均可检测到, 且含量变化不大。二十二碳五烯酸(具有调节血脂、软化血管, 降低血液粘度, 改善视力、促进生长发育和提高人体免疫功能等作用, 其调节血脂的功能比有血管清道夫之称的 EPA 还要强很多倍。更适合于血脂偏高的中老年人)在精炼油中未检测到, 但相关文献显示诸如 n-3、n-6 系列必须脂肪酸在人体内可相互转化。反亚油酸味道对人皮肤有刺激作用, 摄入可引起恶心和呕吐并且 对环境、水体和大气可造成污染, 精炼油中未检测到反亚油酸的存在, 这可能是林蛙卵粗油精炼后腥味减小的原因之一; 二十二碳六烯酸(DHA)是人的大脑发育、成长的重要物质之一, 能优化胎儿大脑锥体细胞的磷脂的构成成分, 降低血脂肪、预防心脏血管疾病, 改善老人痴呆, 精炼油中二十二碳六烯酸含量有所增加。

脂肪酸为林蛙卵粗油的主要成分, 在精炼后的林蛙卵粗油中缺少了一些相对含量较低的饱和脂肪酸, 如 13-甲基十四烷酸、14-甲基十五烷酸等, 可能是因为其相对含量较少, 在精炼过程中损耗了。而其含有的 n-3、n-6 系列必须脂肪酸并未减少, 故精炼后的林蛙卵油其脂肪酸功用差异并未有所改变。

Table 4. Comparison of fatty acid content in crude oil and refined oil of *Rana temporaria chensinensis* David egg oil
表 4. 林蛙卵粗油与精炼油中脂肪酸含量对比

	脂肪酸名称	中文名	粗油	精炼油
1	tetradecanoate	五甲基呋喃溴酸	1.04%	1.54%
2	Pentadecanoic acid	十五烷酸	0.76%	1.42%
3	9-Hexadecenoic acid (Z)-	棕榈油酸	1.65%	1.10%

Continued

4	4. Hexadecanoic acid	棕榈酸	21.49%	25.89%
5	15-methylhexadecanoate	15-甲基十六烷酸	0.29%	0.37%
6	14-methylhexadecanoate	甲基十六烷酸	0.38%	0.35%
7	cis-10-Heptadecenoic acid	10-顺-十七碳烯酸	0.47%	0.56%
8	Heptadecanoic acid	十七烷酸	0.92%	0.93%
9	9-Octadecenoic acid (E)-	反-9-十八碳烯酸	29.64%	26.95%
10	Octadecanoic acid	硬脂酸	8.20%	6.53%
11	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	亚油酸	12.24%	12.59%
12	9,12,15-Octadecatrienoic acid(Z,Z,Z)-	亚麻酸	7.18%	8.33%
13	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid(all-Z)-	花生四烯酸	6.05%	4.39%
14	cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid	花生五烯酸	2.05%	2.27%
15	11,14,17-eicosatrienoate	二十碳三烯酸	1.02%	0.70%
16	Cyclopropanebutanoic acid	环丙烷丁酸	0.45%	0.76%
17	7,10,13,16,19-docosapentaenoate	二十二碳五烯酸	2.95%	N/A
18	Doconexent	二十二碳六烯酸(DHA)	0.14%	2.76%
19	Moroctic acid	6,9,12,15-十八碳四烯酸甲酯	0.31%	N/A
20	13-methyltetradecanoate	13-甲基十四烷酸	0.21%	N/A
21	Pentadecanoic acid	14-甲基十五烷酸	0.14%	N/A
22	9-cis,11-trans-octadecadienoate	9,11-共轭亚油酸	0.23%	N/A
23	9,12-Octadecadienoic acid(E,E)-	反亚油酸(C18:2)	0.24%	N/A
24	cis-10-Nonadecenoic acid	顺式-10-十九碳烯酸	0.17%	N/A
25	Nonadecanoic acid	正十九酸	0.28%	N/A
26	cis-11,14-Eicosadienoic acid	顺式-11,14-二十碳二烯酸	1.10%	N/A
27	11-docosenoate	11-二十碳烯酸	0.25%	N/A
28	15-Tetracosenoic acid(Z)-	cis-15-十四酸	0.18%	N/A
29	11-Hexadecenoic acid	11-十六碳烯酸	N/A	0.91%
30	8,11,14-eicosatrienoate	8,11,14-二十碳三烯酸	N/A	0.74%
31	10,13-Eicosadienoic acid	10,13-二十碳二烯酸	N/A	0.92%

② 孕酮

采用高效液相色谱(HPLC)法对林蛙卵粗油与精炼油进行孕酮含量的检测，林蛙卵粗油孕酮含量为136 μg/g，精炼油孕酮含量为318 μg/g。孕酮又名黄体酮，是由卵巢黄体分泌的一种天然孕激素，在体内对雌激素激发过的子宫内膜有显著形态学影响，为维持妊娠所必需，可以抑制宫缩，维持蜕膜反应，抑制免疫反应。精炼后的林蛙卵油中孕酮含量有所增加，可能是由于林蛙卵粗油中的某种或某些化合物物质经过高温与过氧化氢反应生产了孕酮，故精炼后的林蛙卵油在孕酮的功用上要略高于林蛙卵粗油。

③ 磷脂

采用高效液相色谱 - 蒸发光散射检测(HPLC-ELSD)法，磷脂酰乙醇胺(PE)、溶血性磷脂酰胆碱(LPC)和以磷脂酰胆碱(PC)为标准品，检测林蛙卵粗油与精炼油中磷脂种类及其含量变化。林蛙卵粗油中 PE、LPC 与 PC 含量分别为 0.194 μg/mL (占卵油总体积 3.78%)、0.864 μg/mL (16.9%)、0.215 μg/mL (4.2%)。精炼油中 PE、LPC 与 PC 含量分别为 0.166 μg/mL (占卵油总体积 3.24%)、0.702 μg/mL (12.6%)、0.175 μg/mL (3.1%)。精炼后的林蛙卵油中 PE、LPC 与 PC 含量略少于林蛙卵粗油，可能是由于精炼过程中林蛙粗油在高温与空气中进行，使得油脂内的磷脂类成分氧化变性所导致的，故精炼后的林蛙卵油在磷脂的功用上要略低于林蛙卵粗油。

实验结果表面林蛙卵粗油在温度 60~80℃，与 30%过氧化氢(添加量为粗油体积的 8%)反应 40 min 之后的精制油，色泽及气味均有改善；在孕酮的含量上精制后的油是粗油的 2.3 倍，脂肪酸及磷脂含量差异较小。该方法可用于林蛙卵粗油的精制。

基金项目

吉林省科技发展计划项目资助(编号：20190304079YY)。

参考文献

- [1] 刘俊梅, 吴世玉, 王丹洋, 等. 林蛙卵营养成分和保健功能的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(11): 220-224.
- [2] 王宇, 尚德静, 冯伯森. 中国林蛙卵营养成分分析[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版), 2004(4): 471-473.
- [3] 牛艳秋, 徐险峰. 中国林蛙药理作用的研究概况[J]. 中国药师, 2010, 13(4): 568-569.
- [4] 金莉莉, 刘德文, 范文今, 王秋雨. 中国林蛙卵、卵油及输卵管对红细胞 SOD 活性的影响[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(5): 607.
- [5] 陈宁宁, 卫功庆, 常雷, 岑欣桉. 东北林蛙卵油脂脂肪酸化妆品的研制[J]. 经济动物学报, 2018, 22(3): 160-167.
- [6] 丁忠福, 金莉莉, 李强, 等. 超临界 CO₂ 萃取精馏技术在林蛙卵油脱腥中的应用研究[J]. 特产研究, 2007(2): 18-21.
- [7] 韩子晗, 孙尧, 杨富雅, 高冷. 林蛙卵油的提取、成分分析及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(11): 60-65.
- [8] 唐婕, 李晶晶, 王波, 等. 空气暴露时间对林麝粪便孕酮水平的影响[J]. 动物医学进展, 2018, 39(8): 44-49.
- [9] 文艺晓, 彭吉星, 郭莹莹, 等. HPLC-ELSD 检测南极磷虾油中磷脂含量[J]. 南方农业学报, 2019, 50(10): 2293-2299.