

僧帽牡蛎保鲜过程中游离氨基酸、牛磺酸的变化

吴成业 刘智禹 陈 冰
(福建省水产研究所, 厦门 361012)

摘 要 探讨了僧帽牡蛎在低温贮藏保鲜过程中鲜度指标及游离氨基酸、牛磺酸等的变化。实验表明, 在 $0\sim 2^{\circ}\text{C}$ 及 $3\sim 5^{\circ}\text{C}$ 的贮藏中挥发性盐基氮呈平缓上升趋势, 贮藏 15 天分别为 $15.2\text{mg}/100\text{g}$ 和 $20.6\text{mg}/100\text{g}$; 而在 $6\sim 8^{\circ}\text{C}$ 下贮藏, 挥发性盐基氮变化相对较快, 15 天后高达 $26.8\text{mg}/100\text{g}$ 。在萃取液中, 牛磺酸的含量最高, 其在贮藏中略有下降, 但基本上在 $357\text{mg}/100\text{g}\sim 387\text{mg}/100\text{g}$ 范围内波动; 游离氨基酸的含量较高的为丙氨酸、甘氨酸和谷氨酸等, 丝氨酸、精氨酸、赖氨酸次之, 其余氨基酸初始含量相对较低, 其含量的变化在不同的贮藏温度下快慢不一样, 但各自呈现出一定的规律性。

关键词 僧帽牡蛎, 保鲜, 游离氨基酸, 牛磺酸

水产动物从它们死后起, 体内非蛋白氮化合物(NPNC)的含量就开始发生变化, NPNC 的含量水平与细胞的自溶作用以及随之发生的微生物生长繁殖有紧密关系。八十年代初日本学者开始在这一领域对鱼类进行研究[Morihiko 1984], 探讨鱼类在冷藏过程中, 从新鲜状态到初期腐败阶段的游离氨基酸(FAA)含量变化以及三甲胺(TMA)、挥发性盐基氮(VB-N)等相关鲜度指标对其的影响。这些方面的深入研究和机理的阐明, 促使加工产品原料特性及其保鲜加工的理论水平上了一个新台阶。我国在这方面的研究起步较迟, 所见报道不多。

牡蛎中含有大量的 NPNC, 主要是游离氨基酸、牛磺酸(Tau), 甜菜碱、琥珀酸、核苷酸及其相关化合物。这些风味营养物质以游离氨基酸最为丰富, 其在细胞内起调节渗透压的作用, 同时也赋予贝类特有的鲜味和营养。本实验以僧帽牡蛎(*Ostrea plicatula*)为研究对象, 从保鲜角度出发, 分析和探讨僧帽牡蛎在不同的冷藏条件下, 从新鲜状态到腐败早期阶段, FAA、Tau 及鲜度指标 K 值、VB-N 的变化情况, 旨在通过对这些相关化合物的分析研究, 找出其变化的规律性及内在联系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验原材料选自龙海县白礁牡蛎养殖场养殖的僧帽牡蛎。牡蛎从海水中捞出后, 在当地破壳并加冰保藏, 2 小时内运回实验室, 用去壳时所渗出的汤汁澄清后漂洗牡蛎肉, 迅速装入锡箔袋中(每袋 200 克)贮藏。装袋后的牡蛎分三组, 分别在 A 组 $0\sim 2^{\circ}\text{C}$ 、B 组 $3\sim 5^{\circ}\text{C}$ 和 C 组 $6\sim 8^{\circ}\text{C}$ 下贮藏, 每天取出上述三组各一袋用高速组织捣碎机匀浆提取, 样品供分析用。

1.2 检验方法

感官检验:生牡蛎,先察看色泽、闻气味及手感;水煮牡蛎,先将容器内的水烧沸,然后放入牡蛎,盖紧容器再次煮沸,开盖后立即嗅气味,再观察汤汁,最后品尝口味。

K值:据加藤登和内山均[1974]的研究,水产动物中的甲壳类、贝类、软体动物等,体内的三磷酸腺苷分解途径沿 $ATP \rightarrow ADP \rightarrow AMP \rightarrow AdR \rightarrow HxR \rightarrow Hx$ 进行,不存在IMP的积累,所以本文为研究的方便,参照关志苗[1995]的方法,借用鱼类K值的概念,用作衡量ATP及其关联物的分解速度的指标。测定时按内山均[1974]方法提取待测液,用Waters高速液相色谱仪测定。分离柱:U-Bandapak C18 \times 300mm;流动相:94%0.01mol/L K_2HPO_4 (pH=6.6)+6%乙腈;流速:1.5mL/min,UV检测器,波长254nm。其计算公式为:

$$K(\%) = \frac{HxR + Hx}{ATP + ADP + AMP + AdR + HxR + Hx} \times 100\%$$

挥发性盐基氮:采用微量扩散法测定。

游离氨基酸、牛磺酸的测定:称取30克样品,加1.5克磺基水杨酸混匀,在冰箱内冷藏1小时后,离心沉淀,取上清液,放入急冻室冻结贮藏、待测。分析时,先把待测液解冻,用Waters高速液相色谱的PICO-TAG方法测定。分离柱:PicoTaoc 18 3.9 \times 150nm 流动相为A液:19.0g NaAc+0.5mL三乙胺,溶解于940mL重蒸水,调节pH6.4,加入60mL乙腈,B液:60%乙腈;流速:1.5mL/min,UV检测器,波长:254nm。

2 实验结果

2.1 K值的变化

图1为僧帽牡蛎在贮藏中K值的变化曲线。如图所示,在几种贮藏温度下,K值变化幅度不同。在C组中,K值前期上升较快,5天后达到39.5%,此后上升幅度逐渐趋缓,15天后达到68.8%;B组K值前期上升也比较快,在4天后就达到21.4%,8天后达到38.2%,贮藏15天,K值达到52.8%;A组K值基本上呈缓慢上升的状态,贮藏12天才达到39.6%,15天后达到47.8%。

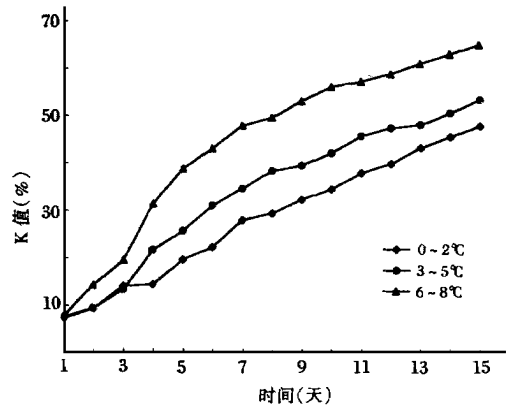


图1 僧帽牡蛎在不同贮藏温度下K值的变化
Fig. 1 Changes of K Value of *O. plicatula* stored in different temperature

2.2 挥发性盐基氮的变化

僧帽牡蛎在贮藏中VB-N含量变化如图2所示。贮藏第1天,僧帽牡蛎VB-N含量为3.1mg/100g,在贮藏中A、B两组VB-N呈平缓上升趋势,A组贮藏12天、B组10天,还未超过国家牡蛎食用卫生标准(10mg/100g),而贮藏15天后分别为15.2mg/100g和20.6mg/100g。C组的VB-N变化相对较快,第9天就达到11.6mg/100g,到15天达到26.8mg/100g。

2.3 感官检验结果

牡蛎在保藏初期, 呈灰白色, 有光泽, 弹性及润滑好, 水煮则具有牡蛎固有的香味及鲜味, 汤汁清晰, 口感好。随着保藏期的延长, 牡蛎的色泽、手感、汤汁及气味、口味都发生了一系列的变化。至 A 组第 10 天、B 组第 8 天、C 组第 6 天, 生牡蛎的颜色逐渐变为淡黄, 弹性较差, 水煮则汤汁略浑, 香味及鲜味减弱, 尚无不良气味。A 组保藏到 13 天、B 组保藏到 10 天、C 组保藏到 7 天时, 生牡蛎的颜色已变黄, 色泽暗淡, 微有腥臭味, 手感稍粘, 有汤汁溢出, 水煮则具有的异味, 肉质发糜, 汤汁出现浑浊。

2.4 游离氨基酸、牛磺酸含量的变化

在僧帽牡蛎中, 各种游离氨基酸的含量以牛磺酸(Tau)为最高, 几乎是其它游离氨基酸量的总和。如图 3 所示, 在三种贮藏温度下牛磺酸含量的变化曲线呈相互交错, 上下波动的胶着状态, 但总体呈下降趋势。经 15 天的贮藏, 其变化范围, A 组为 384mg/100g ~ 364mg/100g, B 组为 387mg/100g ~ 357mg/100g, C 组为 380mg/100g ~ 366mg/100g。

图 4~图 6 绘制了僧帽牡蛎在不同贮藏温度下 18 种游离氨基酸(FAA)含量的变化曲线。在僧帽牡蛎中, 各种 FAA 的初始含量有较大的差异, 含量较高的有谷氨酸、丙氨酸和甘氨酸, 分别为 53.8mg/100g、38.8mg/100g 和 32.7mg/100g, 其次为丝氨酸、精氨酸、天门冬氨酸和赖氨酸, 分别为 25.2mg/100g、20mg/100g、16mg/100g 和 14.2mg/100g, 其余均在 10mg/100g 以下。在贮藏过程, 18 种游离氨基酸总体上呈上升趋势, 但有的升幅较大, 有些变化较为平缓。在不同贮藏温度下各种氨基酸的上升幅度不尽相同, 总体来看, 图 4 中各种氨基酸变化相对较小, 而图 6 中曲线上扬的幅度较为明显, 尤其是初始量越低的氨基酸, 在贮藏中升幅越大。

3 讨论

僧帽牡蛎在贮藏中主要鲜度指标 K 值、VB-N 都有不同程度的变化。其变化的原因, 从 K 值和 VB-N 等指标的变化情况来看, 前期主要是由于机体内发生生物变化, 而后期主要是因微生物侵入引起的。牡蛎脱壳死后, 体内的三磷酸腺苷(ATP)受酶的作用迅速分解为二磷酸腺苷(ADP)、腺苷酸(AMP)、直至次黄嘌呤核苷(HxR)、次黄嘌呤(Hx)。因而作为衡量其

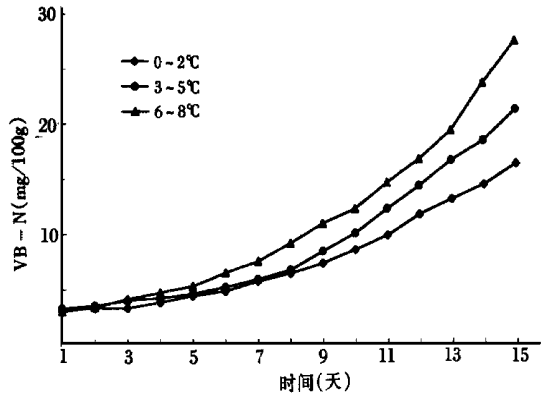


图 2 僧帽牡蛎在不同贮藏温度下 VB-N 的变化
Fig. 2 Changes of VB-N Value of *O. plicatula* stored in different temperature

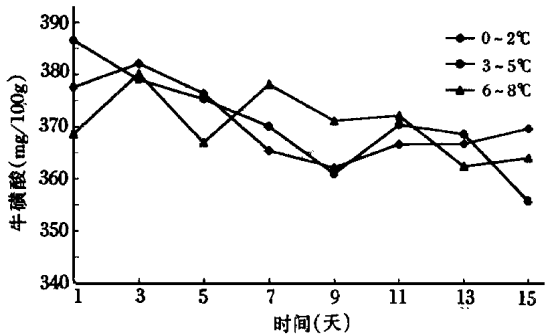


图 3 僧帽牡蛎在不同贮藏温度下 TUA 的变化
Fig. 3 Changes of Tau Value of *O. plicatula* stored in different temperature

分解速度的指标 K 值在贮藏初期即迅速升高, 其上升的速度视贮藏温度而呈现不同的变化 (图 1), 这说明低温有抑制酶活力、减缓 ATP 分解速度的作用。而贮藏后期 K 值升幅有所减慢, 其原因, 可能是因可供分解的底物逐渐减少或酶作用环境改变所致 [岩本宗昭 1991]。以 K 值来

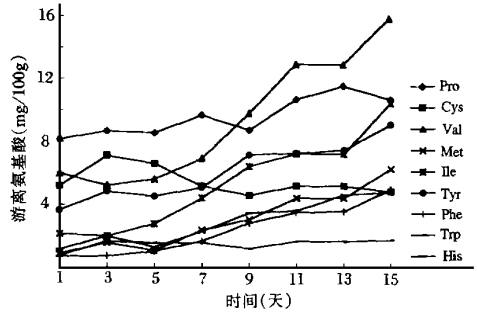
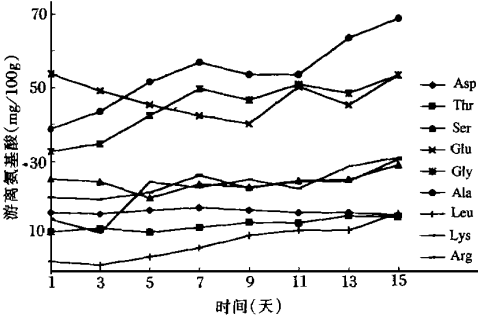


图 4 僧帽牡蛎在 0~2℃贮藏中游离氨基酸变化
Fig. 4 Changes of FAA of *O. Plicatula* stored in 0~2℃

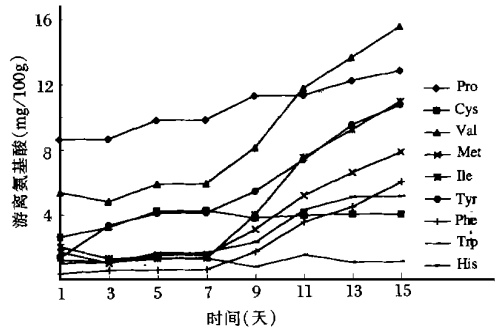
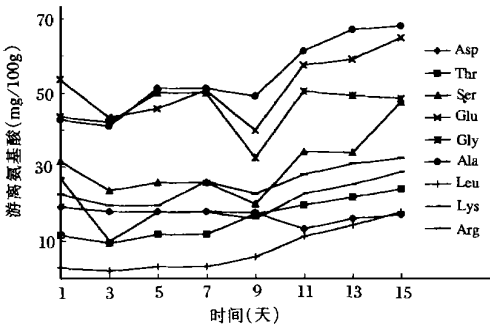


图 5 僧帽牡蛎在 3~5℃贮藏中游离氨基酸变化
Fig. 5 Changes of FAA of *O. Plicatula* stored in 3~5℃

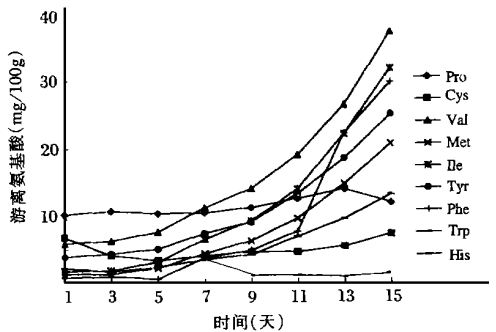
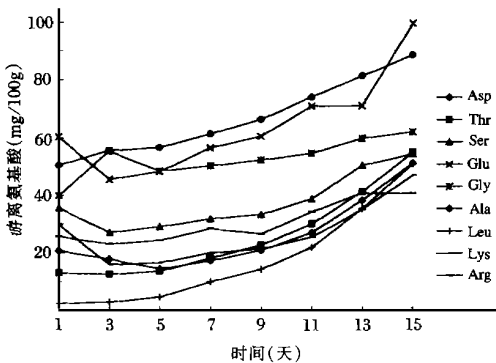


图 6 僧帽牡蛎在 6~8℃贮藏中游离氨基酸变化
Fig. 6 Changes of FAA of *O. plicatula* stored in 6~8℃

衡量牡蛎的生鲜度, 国内尚无相应的指标, 从图 1 的分析结果, 结合感官变化情况来看, 原有的鱼类 K 值的指标不适用于牡蛎, 具体的衡量标准有待于通过进一步系统分析来确定。牡蛎中 VB-N 含量开始都比较低, 呈缓慢上升趋势, 而在贮藏后期 VB-N 的上升速度比较快(图 2)。引起 VB-N 含量变化的原因, 在前期可能是由于 AMP 脱氨基作用释放出氨态氮引起 VB-N 升高, 虽然不能排除有其它物质的脱氨基作用, 但 TMA 或二甲胺(DMA)引起 VB-N 的增加的可能性不大, 因为甲壳类中氧化三甲胺(TMAO)含量并不高[Michiyo 1986]。而在贮藏后期, 由于大量的氨基酸受微生物分解, 产生脱氨基作用, 因而 VB-N 的含量迅速增加。

牛磺酸(Tau)在生物体内可由含硫氨基酸转变而来, 通常海产双壳贝类动物组织中 Tau 的含量都很高, 僧帽牡蛎也不例外, 其体内 Tau 的含量高达 355~386mg/100g 左右。Tau 是调节细胞组织渗透压的成分, 在贮藏过程中 Tau 的含量总体呈稍微下降趋势, 但变化很小(图 3)。Tau 在牡蛎肌肉组织中的新陈代谢过程还不清楚, 但有报道说, Tau 具有抵制微生物入侵的作用[Morihiko 1984], 它在贮藏过程中含量相对比较稳定。

僧帽牡蛎在贮藏初始, 体内 18 种游离氨基酸总量约在 300mg/100g 左右, 随着贮藏时间的推移, FAA 总量逐渐增加, 其增加幅度因贮藏温度有较大的差异。在 A 组中 FAA 的增加量较少, 而 C 组中增加量较大, B 组则介于两者之间(图 7)。牡蛎冷藏期间 FAA 及非蛋白氮(NP-N)含量的增加被认为与肌肉组织自溶作用和微生物生长繁殖有关。由于牡蛎肌肉中含有较高的蛋白酶, 在冷藏期间酶激发细胞膜破裂, 微生物就能迅速利用可促进其生长的细胞内容物, 包括维生素、无机物以及增加的 FAA, 开始是低分子量肽积累, 然后是肽链端解酶使 FAA 水解[今堀和友和山川民 1986], 而低温条件有助于减缓肽链端解酶的反应速度, 温度越低, 酶的活力越弱, FAA 的离解速度就越慢, 这可能就是 A 组 FAA 含量增加较慢、C 组 FAA 含量增加较快的原因。

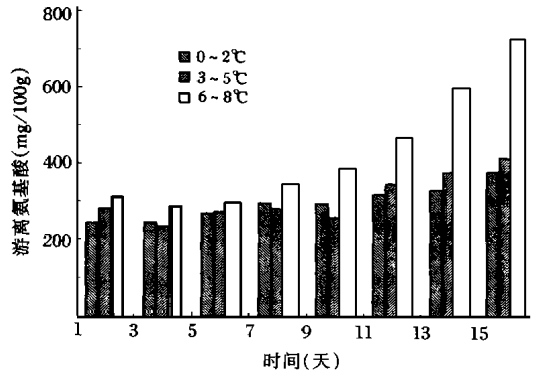


图 7 僧帽牡蛎在低温贮藏中 FAA 总量的变化
Fig. 7 Changes of total FAA of *O. plicatula* stored in low temperature

从图 4~6 可以看出僧帽牡蛎的谷氨酸、丙氨酸和甘氨酸的含量都比较高, 在贮藏初期其含量分别为 40~53mg/100g 左右, 这些氨基酸都是牡蛎中主要的呈味物质。在贮藏中僧帽牡蛎的丙氨酸含量有较大幅度的增加, 在 C 组中, 15 天贮藏增加至 88.7mg/100g, 增幅达 77%; 而谷氨酸的含量一开始则有所减少, 在 C 组中从初始的 60.2mg/100g, 到第三天下降至 45.4mg/100g, 在 A 组和 B 组中也均有所下降, 而后才逐渐增加。分析其原因, 一般认为丙氨酸是一种形成渗透压的物质, 也是碳水化合物缺氧呼吸的主要终产物, 在此过程, 它是通过丙酮酸和谷氨酸之间的转氨基作用而产生的, 这可能是促使牡蛎死后组织中丙氨酸上升, 谷氨酸减少的缘故[Michiyo 1986]。脯氨酸和精氨酸在贮藏中变化不明显, 基本保持在 10mg/100g 左右和 20~30mg/100g 范围内上下波动。苯丙氨酸、天门冬氨酸、酪氨酸在 A 组中变化不大, 而在 B 组和 C 组中有较大的上升, 这说明贮藏温度升高对这三种氨基酸有较大的影响。半胱氨

酸在贮藏中有轻微下降趋势, 丝氨酸开始略有下降, 而后稍有上升, 其变化的原因还有待探讨。

游离氨基酸中的 8 种人体必需氨基酸含量, 在贮藏初始除赖氨酸和苏氨酸分别在 25mg/100g 和 10mg/100g 以上, 其余都在 10mg/100g 以下。在贮藏中, 一开始赖氨酸略有下降, 3 天内到达最低点, 此后开始上升。赖氨酸是细胞壁的组成成分, 属碱性带正电荷的 R 基氨基酸, 在生物体内易乙酰化、甲基化和羟基化[沈同等 1980], 这是否是促使其在贮藏前期下降的因素还有待探讨。色氨酸、苏氨酸在贮藏中相对较为稳定, 蛋氨酸受温度影响较大, 在 0~2℃变化不明显, 6~8℃上升较快, 有报道说, 苏氨酸、色氨酸及含硫氨基酸都有较强的抗氧化性, 因此较不易被分解[梶本五郎 1979]。僧帽牡蛎的组氨酸含量相对较低, 仅在 2~12mg/100g 范围内, 其在贮藏中极易被组氨酸酶分解成尿酸和氨。缬氨酸在贮藏中, A 组和 B 组中从 5mg/100g 上升至约 16mg/100g, 增加三倍多, 在 C 组中上升至 37.2mg/100g, 增加 6.3 倍, 亮氨酸和异亮氨酸也有较大的升幅, 这三种氨基酸的含量在贮藏前期上升较慢, 后期有较大幅度的上升。其原因, 从 VB-N 的变化情况来看, 可能与微生物的活动有关, 当然也不能排除有关肌肉酶促进 FAA 的生成和对 FAA 的分解之间动态平衡的变动[Morihiko 1984]。

参 考 文 献

- 关志苗. 1995. K 值-判定鱼品鲜度的新指标. 水产科学, (1): 33~35.
- 沈同, 王镜岩, 赵邦娣编. 1980. 生物化学. 北京: 人民教育出版社, 64~216.
- 内山均. 1974. 鱼类肌肉核酸のフェノール法による抽出. 水产生物化学·食品学实验书, 65~69.
- 今堀和友, 山川民. 1986. 生化学辞书. 东京化学同人, 769~776.
- 加藤登, 内山均. 1974. イノシン, ヒポキサンサチン, 尿酸およびヌクレチドのカラムクロマトグラフィー. 水产生物化学·食品学实验书, 32~36.
- 岩本宗昭. 1991. 种种の贮藏温度におけるイタヤガイ闭筋中のATP 关连代谢物の消长. 日本水产学会志, 57(1): 153~156.
- 梶本五郎. 1979. 数种のアミノ酸代谢产物の抗酸化性について. 营养と粮食, 32(1): 41~46.
- Michiyo M. 1986. Changes in Contents of Free Amino Acids, Trimethylamine and Nonprotein Nitrogen of Oyster during Ice Storage. Bull Jap Soc Sci Fish, 52(11): 1975~1980.
- Morihiko S. 1984. Changes in Free Amino Acid Juvenile Macherel Scobmer Japonicus Muscle during ice storage. Bull Jap Soc Sci Fish, 50(2): 323~329.

CHANGES OF FREE AMINO AND TAURINE OF *OSTREA PLICATULA* DURING FRESH REPESEVATION

WU Cheng-Ye LIU Zhi-Yu CHEN Bing

(Fujian Fisheries Research Institute, Xiamen 361012)

ABSTRACT Changes of freshness index, free amino acids and taurine during storage and fresh preservation of *Ostrea Plicatula* in low temperature were studied in this experiment. The experimental results show that when stored in 0~2℃ and 3~5℃, VBN increased gently with 15.2mg/100g and 20.6mg/100g respectively after 15days storage. Their freshness almost maintained in better quality. However, when stored in 6~8℃,

VBN changed faster than the above, and the quality of oyster entered an initial decomposition stage after 15 days storage. In oyster extracts solution the maximum content of taurine was reduced slightly and kept the fluctuation in the range of 357mg/100g ~ 387mg/100g during storage. The amounts of free amino acids in Ala, Gly, and Glu were higher than those of Ser, Arg, Lys, whereas the initial amounts of other amino acids were relatively low. Changes of amount in free amino acids were different when stored in various temperatures, but they showed their own change pattern.

KEYWORDS *Ostrea plicatula*, Preservation, Free amino acids, Taurine