



高铁肌红蛋白对腌腊鱼脂质氧化与挥发性风味的影响

顾赛麒^{1,2,3}, 王涣淇^{1,2,3}, 冯 媛^{1,2,3}, 黎君鸿^{1,3}, 周振毅^{1,2,3},
鲍嵘斌^{1,3}, 戴王力^{1,3}, 陈玉峰^{1,3}, 周绪霞^{1,2,3*}, 丁玉庭^{1,2,3}

(1. 浙江工业大学食品科学与工程学院, 浙江 杭州 310014;

2. 宁海县浙工大科学技术研究院, 浙江 宁海 315600;

3. 国家远洋水产品加工技术研发分中心, 浙江 杭州 310014)

摘要: 为探究高铁肌红蛋白(MMb)对腌腊鱼品质的影响, 实验在腌制草鱼肉中添加不同浓度MMb(0、0.1、0.2、0.4、0.8 mg/g)构建样品反应体系, 基于羰基化合物、脂质含量、脂肪酸组成及挥发性风味物等指标, 研究腌腊鱼传统加工中MMb促脂质氧化作用机制。结果显示, 随着MMb添加浓度的升高, 3种羰基化合物含量逐渐递增, 且增幅存在“4-羟基己烯醛>4-羟基壬烯醛>丙二醛”的趋势。与对照组相比, 添加0.8 mg/g MMb样品组总脂、甘油三酯和磷脂含量降幅最大(分别为18.95%、18.72%和31.83%), 而游离脂肪酸含量呈完全相反趋势(增幅为6.74%)。添加MMb浓度越高, 鱼肉样品中多不饱和脂肪酸(PUFA)越容易发生氧化降解, 亚油酸和花生四烯酸尤为显著(相对含量分别下降12.37%和16.27%)。本实验共检出6大类41种挥发性风味成分, 确定了戊醛等13种气味活性物质, 除癸醛外所有气味活性物质均与PUFA相对含量呈显著负相关, 表明MMb介导的脂质光氧化反应可能是传统腌腊鱼香气的主要形成机制。

关键词: 腌腊鱼; 高铁肌红蛋白; 脂质氧化; 羰基; 脂肪酸; 挥发性风味

中图分类号: S 986.1; TS 254.4

文献标志码: A

腌腊鱼是一种历史悠久、风味独特的腌制水产品, 深受中国各地消费者的青睐, 其加工工艺主要包含腌制和干制两大步骤, 多以草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)和鳙(*Aristichthys nobilis*)等淡水鱼作为加工原料。目前, 工业上通常采用冷风或热风干燥技术进行腌腊鱼加工, 但其成品香气品质逊于传统的晒干产品^[1]。干香、清香、脂香是腌腊鱼最显著的香气特征, 主要由一些小分子的醛、酮、醇、烷烃及杂环类挥发物构成, 其中不饱和烯醇和烯醛对腌腊鱼香气贡献显著, 它们主要源自鱼肉中不饱和脂肪酸的氧化降解反应。脂质的氧化

反应包括自动氧化、酶促氧化和光氧化三种类型, 有研究者推测, 光氧化可能是传统腌腊鱼制品拥有良好香气品质的重要原因, 而鱼肉中的肌红蛋白可作为光敏剂介导脂质光氧化反应的发生^[2]。

肌红蛋白(myoglobin, Mb)具有多种不同衍生类型, 包括脱氧肌红蛋白(deoxymyoglobin, DMb)、氧合肌红蛋白(oxy myoglobin, OMb)和高铁肌红蛋白(metmyoglobin, MMb), 它们共有的血红素(亚铁原卟啉)结构是使其拥有光敏活性的关键。在腌腊鱼加工过程中, 随着氧化程度的加深以及高铁肌红蛋白还原酶的活性减弱, 不同类型Mb中MMb的占比会不断升高。此外, 有研究

收稿日期: 2021-04-02 修回日期: 2021-07-13

资助项目: 宁波市自然科学基金(2017A610283); 国家自然科学基金(31601500); 浙江省公益性技术项目(2016C32056)

第一作者: 顾赛麒(照片), 从事水产品加工与贮藏研究, E-mail: gusaiqi@126.com

通信作者: 周绪霞, 从事食品营养与安全研究, E-mail: xzhou@zjut.edu.cn



者指出, Mb 在自动氧化过程中也会产生超氧阴离子自由基, 并进一步通过歧化反应生成 H_2O_2 ^[3], H_2O_2 可与 MMb 相互作用产生超铁肌红蛋白, 其对于脂质氧化有极大的促进作用, 但由于产生量小而且极不稳定, 它很容易自动还原为 MMb^[4]。另外, 在 Mb 的氧化过程中, MMb 会发生降解产生氯化血红素 (Hemin), 随着光氧化的继续进行, Hemin 也会逐渐降解, 游离出卟啉环中的铁离子。游离状态的血红素可将脂质前期形成的过氧化物转化为自由基, 从而极大地促进脂质氧化。综上所述可知, MMb 可能对腌腊鱼脂质光氧化反应具有十分重要的影响。本实验以腌制后的草鱼白色肉作为空白反应体系, 向其中添加不同浓度的 MMb 后进行光照干制加工, 探究 MMb 对鱼肉脂质氧化及挥发性风味的影响, 以为腌腊鱼加工企业提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

2 龄鲜活草鱼 [30 尾, 体长 (61.3±4.8) cm, 体重 (2.5±0.3 kg)], 2019 年 9 月中旬购于杭州市东新路农贸市场, 装入充水充氧的塑料桶中, 30 min 内运回实验室。

食盐购自杭州市下城区乐购超市; 肌红蛋白标准品 (99.8%)、2,4,6-三甲基吡啶、37 种脂肪酸甲酯混标、正己烷 (色谱纯) 购自西格玛奥德里奇贸易有限公司; 三氯甲烷、甲醇、氢氧化钠、氯化钾、异丙醇、冰乙酸、乙醚、对苯二酚 (分析纯) 购自国药集团化学试剂有限公司; 14% 三氟化硼-甲醇 (色谱纯) 购自德国 CNW 公司。

1.2 仪器与设备

FA 3204B 精密电子天平, 上海仪天科学仪器有限公司; HR 2860 高速碎肉机, 荷兰飞利浦公司; MRX-150E 人工气候箱, 江苏中和实验仪器制造有限公司; TRACE1300ISQQD 气相色谱-质谱联用仪, 赛默飞世尔科技公司; RE-2000A 旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; CR21 G II 高速冷冻离心机, 日本日立公司; PHS-3C pH 计, 上海精密科学仪器有限公司。

1.3 实验方法

样品制备 预处理。草鱼活鱼敲头即杀死, 剖开鱼腹, 去除头、尾、鳞、内脏和黑膜, 沿脊

椎骨剖开制得鱼片, 用清水洗净鱼片表面血污, 室温下沥干。实验过程中操作人员严格遵守实验动物伦理规范, 并按照浙江工业大学伦理委员会制定的规章制度执行。

腌制。根据前期优化方案^[5], 准确称取鱼肉重量 9% 的食盐均匀涂抹于鱼片周身, 将加盐后的鱼片整齐堆码于不锈钢盆中, 置于 4 °C 冰箱中进行腌制, 每隔 12 h 上下翻动 1 次, 共腌制 5 d。

MMb 溶液配制^[6]。将肌红蛋白标准品配成浓度为 1.6 mg/mL 的溶液, 添加 5 mg/μmol 的铁氰化钾并缓慢搅拌均匀, 静置 5 min 后, 于 4 °C 下 8 000 r/min 离心 10 min, 取其上清液。然后对溶液进行脱盐, 用 pH 7.0、10 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲液平衡 Gel P-6 脱盐柱, 再用上述缓冲液进行洗脱, 洗脱流速为 2 mL/min。

样品反应体系构建。腌制后鱼片去皮、剔刺、去除红肉, 将得到的白肉充分剁碎并混合均匀。参照草鱼肌肉中肌红蛋白的实际浓度范围 (0.3~0.5 mg/g)^[7], 每份取 500 g 白肉, 依次加入 250 mL 浓度为 0、0.3、0.6、1.2、2.4 mg/mL 的 MMb 溶液 (换算为 MMb 添加浓度分别为 0、0.1、0.2、0.4、0.8 mg/g), 浸泡 12 h, 充分搅拌均匀。

光照干制。各组添加不同浓度 MMb 的鱼肉样品置于直径 8 cm 的培养皿中, 放入人工气候箱中连续干制 20 h 制得样品。干制参数: 温度 50 °C、湿度 50%、光照强度 15 000 lx、风速 1 m/s。

羰基化合物 4-羟基己烯醛 (4-HHE)、4-羟基壬烯醛 (4-HNE) 测定^[8-9]。取鱼肉 5 g, 搅碎后加入 40 mL 50% 乙醇溶液, 不断搅拌后, 吸取 5 mL 上清液, 加入 5 mL pH 5.5 的缓冲液, 在充分混匀后吸取 2 mL, 加入 0.1 mL 的 O-(五氟苄基) 羟胺 [O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) hydroxylamine, PFBHA], 在 40 °C 下水浴 1 h。之后用 2 mL 正己烷萃取, 吸取上层溶液 1 mL 加入 0.1 mL 的 N, O-双 (三甲基硅基) 三氟乙酰酰胺 [N, O-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide, BSTFA]、0.1 mL 吡啶和 0.8 mL 正己烷, 充分混匀后在 80 °C 下水浴 10 min, 反应结束后经 0.45 μm 滤膜过滤后转移至进样瓶, 自动进样器精确抽取 1.0 mL 进样。

GC-MS 测定。进样口选择分流模式, 分流比 1 : 30, 温度为 240 °C, 隔垫吹扫 5 mL/min, 载气为氦气, 流速控制为 2 mL/min。GC 条件: DB-5 (60 m×0.32 mm, 1.00 μm)。升温程序: 起始温度 40 °C 保持 5 min, 再以 20 °C/min 的速率升

至 300 °C, 保持 15 min, 总运行时间为 33 min。质谱仪选择 EI 模式, 离子源温度: 250 °C; 传输线温度: 250 °C; 电离能量: 70 eV。全扫描模式下 (m/z 40~500) 进行分析物鉴定。

丙二醛 (MDA) 的测定参照 Ulu^[10] 的方法。

总脂提取 参考 Folch 等^[11] 的方法并稍作修改。称取 10.0 g 切碎的鱼肉于 250 mL 锥形瓶中, 加入 150 mL 氯仿-甲醇 (2 : 1, 体积比) 溶液, 避光磁力搅拌 12 h 后过滤, 取滤液加入约 0.2 倍体积的生理盐水中, 在 4 °C 下 3 000 r/min 离心 15 min, 吸净上层含有杂质的水-甲醇混合液, 下层脂质溶液转移至干燥称重过的旋转蒸发瓶中, 在 40 °C 下水浴真空旋蒸, 得到浓缩脂质, 称重。

脂质分离 参考 Kaluzny 等^[12] 的方法稍作修改。准确称取 (10.0±0.1) mg 总脂溶解于 0.5 mL 氯仿, 转移入 500 mg 氨丙基固相萃取小柱内 (事先以 5 mL 正己烷活化), 先用 4 mL 氯仿 : 异丙醇溶液 (2 : 1, 体积比) 洗脱出甘油三酯, 再用 4 mL 2% 乙酸 : 乙醚溶液 (重量比) 洗脱出游离脂肪酸, 最后用 4 mL 无水甲醇溶液洗脱出磷脂, 将各部分洗脱液于 40 °C 下氮吹至干并称重。

脂肪酸测定 脂肪酸甲酯化。参照 Regueiro 等^[13] 的方法并稍作修改。取 (10.0±0.1) mg 总脂, 加入 1 mL 0.5 mol/L 氢氧化钠-甲醇溶液, 在 80 °C 水浴中加热振荡 5 min, 冷却至室温, 加入 1 mL 14% 三氟化硼-甲醇 (体积比) 溶液和 0.3 mL 0.1% 对苯二酚溶液, 80 °C 水浴振荡 2 min, 冷却至室温, 再加入 0.2 mL 生理盐水, 振荡 10 s, 最后加入正己烷 1 mL, 振荡 10 s, 待静置分层后吸取上清液, 无水 Na₂SO₄ 干燥后通过 0.22 μm 有机微孔滤膜过滤, 精确抽取 1.0 mL 进样。

GC-MS 测定。进样口采用分流模式, 分流比 1 : 30, 温度为 240 °C, 隔垫吹扫 5 mL/min, 载气为高纯氦气, 流速 2 mL/min。脂肪酸甲酯采用 INNOWAX 弹性毛细管柱 (60 m × 0.32 mm, 0.5 μm) 分离, 起始温度 90 °C, 保留 5 min, 再以 15 °C/min 升至 200 °C, 最后以 1 °C/min 升至 240 °C, 保留 10 min。质谱仪选择 EI 模式, 离子源温度 250 °C, 传输线温度 250 °C, 全质量扫描范围 35~450 amu, 间隔时间 0.2 s。定性方法采用与脂肪酸甲酯标品出峰时间进行对比, 定量方法采用峰面积归一化法。

挥发性风味物质 精确称取 (2.00±0.01) g 绞碎后的鱼肉样品, 装入 15 mL 顶空进样瓶中。

将已活化的 75 μm CAR/PDMS 萃取头置于顶空瓶中样品正上方, 于 40 °C 恒温水浴锅中萃取 60 min。萃取完毕后手动取出萃取头, 插入 GC-MS 进样口热解析进样。仪器参数、挥发物含量和气味活性值 (odor activity value, OAV) 计算方法均参照顾赛麒等^[14] 的报道。

1.4 数据分析

采用 Origin 9.0 软件进行作图, 采用 SPSS 24.0 软件进行数据分析, 差异显著性分析由单因素方差分析中的最小显著差异法完成。

2 结果

2.1 MMb 添加浓度对腌腊鱼羰基化合物的影响

随着 MMb 添加浓度的升高, 各组样品中 MDA、4-HHE 和 4-HNE 这 3 种脂质氧化羰基产物的含量不断递增。与未添加 MMb 的对照组相比, 0.8 mg/g MMb 添加组样品 4-HHE 增幅最高 (77.03%), 4-HNE 次之 (27.92%), 而 MDA 最低 (26.04%) (图 1)。

2.2 MMb 添加浓度对腌腊鱼脂质成分的影响

各组样品中总脂含量随着 MMb 添加浓度的升高不断降低。与对照组相比, 0.1 mg/g 添加组降幅较小 (1.81%), 而 0.2~0.8 mg/g 添加组降幅较大 (14.23%~18.95%)。各类脂质成分中, 磷脂和甘油三酯其含量随 MMb 添加浓度的升高而下降, 游离脂肪酸 (FAA) 含量变化趋势与之相反 (各浓度样品间差异不显著, $P>0.05$) (图 2-b~d)。3 种脂类成分中, FAA 含量最低 (图 2), 其较易发生氧化降解。

2.3 MMb 添加浓度对腌腊鱼总脂肪酸的影响

脂肪酸按其不饱和键数目, 可分为饱和脂肪酸 (SFA)、单不饱和脂肪酸 (MUFA) 和多不饱和脂肪酸 (PUFA)。随着 MMb 添加量的增加, SFA 和 MUFA 的相对含量不断升高, 而 PUFA 相对含量逐渐下降 (表 1)。与对照组相比, 0.4 和 0.8 mg/g 添加组 PUFA 含量下降趋势更为显著, 降幅分别达 6.92% 和 14.66%。从脂肪酸构成来看, 与对照组相比, 相对含量下降较多的两种 PUFA 为亚油酸 (C18:2n6) 和花生四烯酸 (C20:4n6)。油酸 (C18:1n9) 和软脂酸 (C16:0) 分别为 MUFA 和 SFA 中相对含量最高的两种脂肪酸, 随着 MMb 添加浓度的增加, 其相对含量呈不断递增的趋势。

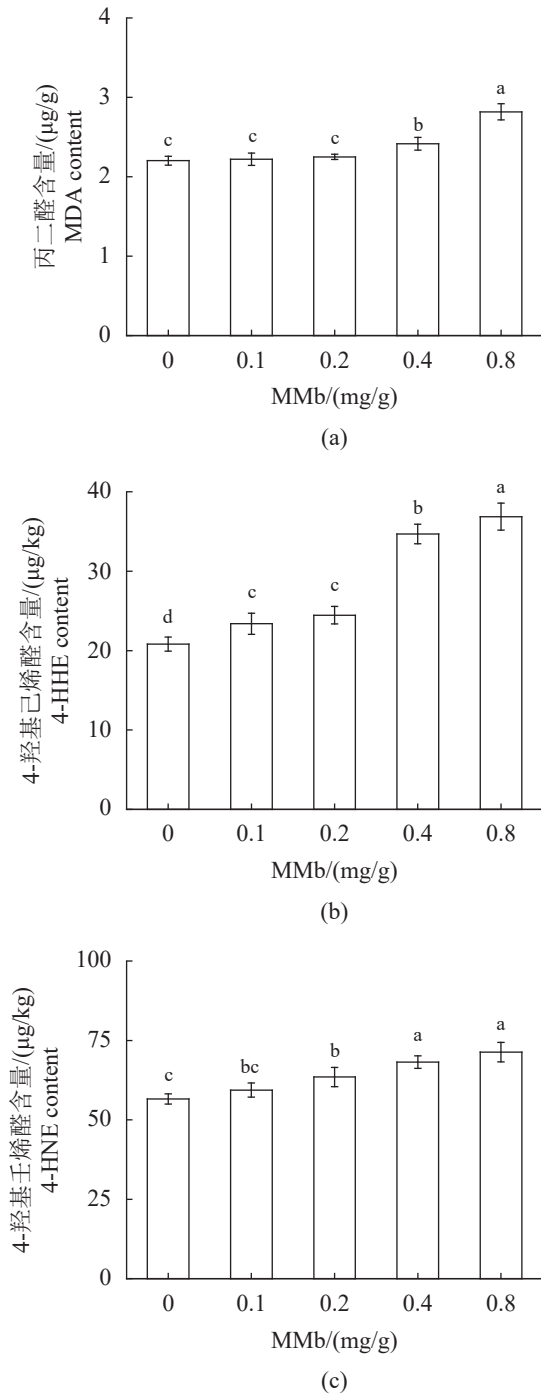


图1 添加不同浓度MMb腌腊鱼中三种羰基化合物含量
不同小写字母表示不同组间差异显著, $P < 0.05$, 下同。

Fig. 1 Contents of three carbonyl compounds in cured fish with different addition concentrations of MMB

Different lowercase letters indicate significant difference between different groups, $P < 0.05$, the same below.

2.4 MMB添加浓度对腌腊鱼挥发性风味成分的影响

对添加不同浓度MMb的鱼肉样品进行

SPME-GC-MS分析,共检测出6大类41种挥发性风味成分,主要为醛类、酮类、醇类、芳香类、烃类和酯类。随着MMb添加浓度的升高,各组样品挥发物总浓度与气味活性值(OAV值)总和均呈显著增加趋势。与对照组相比,0.8 mg/g MMB添加组样品挥发物总浓度和OAV值总和分别增加了1447.55和448.86 ng/g,增幅分别达8.0倍和12.7倍,证实MMb作为光敏剂对传统腌腊鱼制品挥发性风味的形成具有重要影响(表2)。

本实验中共有11种醛类被检出具有气味活性,包括6种直链醛(戊醛、己醛、庚醛、辛醛、壬醛和癸醛)、3种烯醛(2-辛烯醛、2-壬烯醛和2-癸烯醛)和2种二烯醛(2,4-壬二烯醛和2,4-癸二烯醛)(表2)。与对照组相比,0.8 mg/g MMB添加组的OAV值增加了11.7倍。

本实验共检出2,3-丁二酮和1-辛烯-3-酮两种具有气味活性的酮类物质,分别呈奶香味和蘑菇香味,随着MMb添加浓度的升高,鱼肉样品中酮类生成量增加,尤其当添加浓度超过0.4 mg/g时,两种气味活性酮类的浓度和OAV值增幅显著。鱼肉中1-辛烯-3-醇含量随着MMb添加浓度的升高呈先增后降的趋势,而1-辛烯-3-酮含量始终呈递增趋势,推测可能在高浓度MMb作用下,促使部分1-辛烯-3-醇氧化生成了1-辛烯-3-酮。本实验中检测出6种芳香类物质,其OAV均小于1,对传统腌腊鱼香气的贡献可能较小。

基于13种气味活性物质的OAV值进行热图分析,发现随着MMb添加浓度的升高,所有气味活性物质在热图中的颜色统一加深,表明其OAV值呈不断递增趋势,且在高添加浓度(0.4~0.8 mg/g)情况下更为显著。除癸醛外的5种直链醛可聚为一类,而2-癸烯醛等多种不饱和醛类物质可聚为一类(图3)。

2.5 不饱和脂肪酸与气味活性物质的相关性分析

将13种气味活性物质与不饱和脂肪酸进行相关性分析,发现PUFA与除癸醛外的12种气味活性物质均呈显著负相关,且二者负相关系数绝对值达0.9以上, MUFA与PUFA的相关系数符号完全相反(表3),推测腌腊鱼肉中气味活性物质主要来源于PUFA氧化降解,且其在氧化降解过程中可能进一步分解成MUFA。亚油酸(C18:2n6)、 γ -亚麻酸(C18:3n6)、花生四烯酸(C20:4n6)与多数

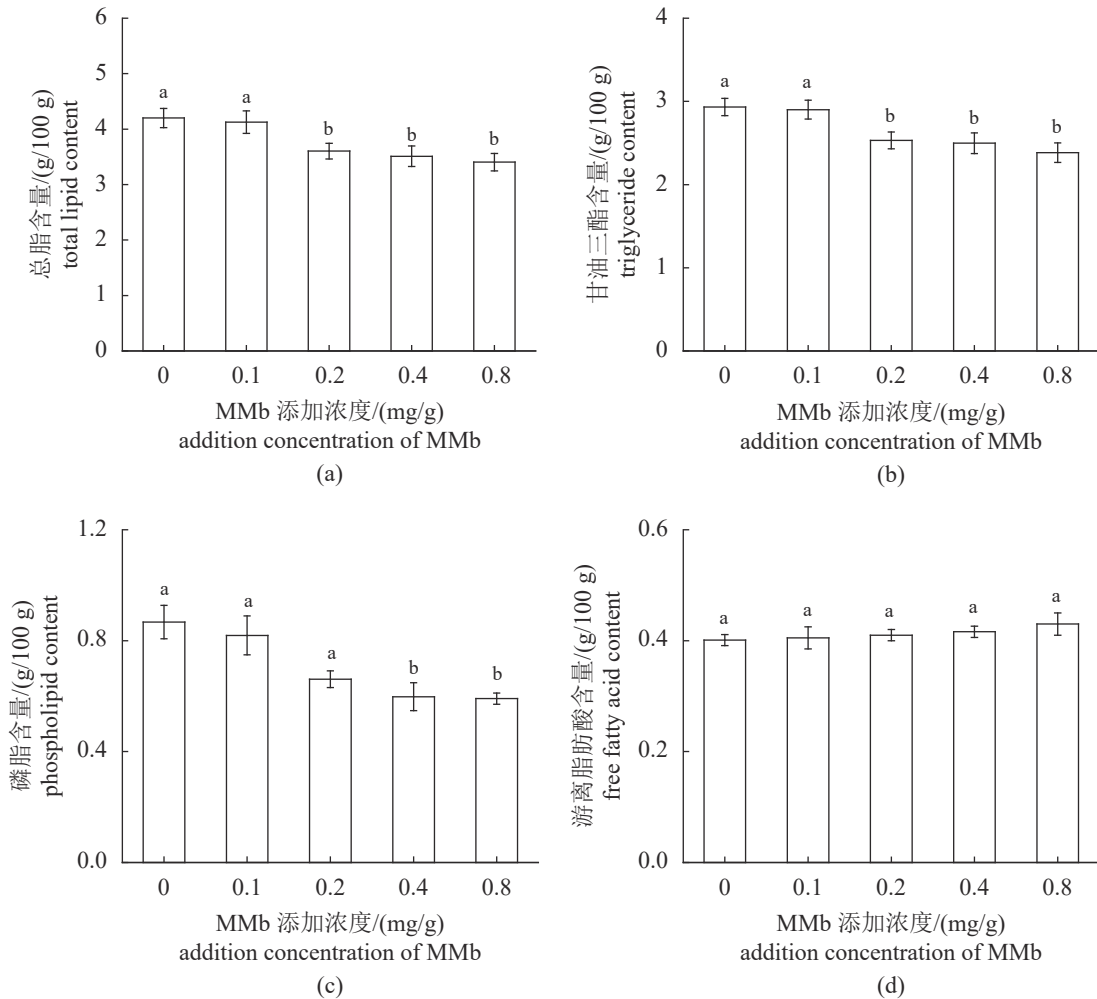


图 2 添加不同浓度 MMb 腌腊鱼中总脂与三种脂质成分含量

Fig. 2 Contents of total lipid and three lipid components in cured fish with different addition concentrations of MMb

气味活性物质呈显著负相关, 而油酸 (C20:1n9) 与多数气味活性物质呈显著正相关(表 3), 结果与上述推论相符。

3 讨论

随着 MMb 添加浓度的升高, 各组样品中 MDA、4-HHE 和 4-HNE 等 3 种脂质氧化羰基产物的含量不断递增。4-HHE 和 4-HNE 均是脂质氧化的中间产物, 有研究发现, 其可以改变 MMb 空间构象, 使血红素辅基暴露甚至游离出来, 游离状态的血红素可将脂质前期形成的过氧化物转化为自由基, 从而极大促进脂质氧化^[15]。在较高 MMb 添加浓度 (0.4~0.8 mg/g) 下, 脂质氧化中间产物 4-HHE 和 4-HNE 的增幅均较大, 这可能与它们自身促脂质氧化特性有关。另一方面, 脂肪氧化程度越高, 其氧化终产物 MDA 的含量也越大。

各组样品中的总脂含量随着 MMb 添加浓度的升高不断降低。推测原因可能与鱼肉中发生的脂质光氧化反应有关, MMb 等光敏剂含量越高, 其介导的脂质氧化作用越剧烈。3 种脂类成分中, FAA 含量最低, 其较易发生氧化降解, 据报道磷脂和甘油三酯在氧化过程中会不断水解生成新的 FAA, 若其生成速率大于降解速率, 总体上会导致 FAA 含量略有上升^[16]。据刘昌华等^[17]报道, 对鲈风干处理 3 d 后, 其游离脂肪酸含量由 0 d 时的 21.9% 增至 31.7%。

从脂肪酸构成来看, 与对照组相比, 相对含量下降较多的 2 种 PUFA 即亚油酸 (C18:2n6) 和花生四烯酸 (C20:4n6), 前者被报道是最重要的风味前体物质之一^[18], 而后者是构成细胞膜磷脂的重要脂肪酸之一^[19]。在高浓度 MMb 等光敏剂作用下, 上述 2 种 PUFA 氧化降解反应显著。顾赛麒等^[5]报道腌制草鱼晒制 4 d 后, 鱼肉中二十二碳六

表 1 添加不同浓度 MMb 的腌腊鱼中总脂肪酸相对含量

Tab. 1 Relative content of total fatty acids in cured fish with different addition concentrations of MMb %

脂肪酸 fatty acid	MMb					显著性 significance
	0 mg/g	0.1 mg/g	0.2 mg/g	0.4 mg/g	0.8 mg/g	
饱和脂肪酸 SFA						
C6:0	0.02±0.01 ^a	0.01±0.01 ^a	0.01±0.01 ^a	0.02±0.01 ^a	0.02±0.01 ^a	
C12:0	0.21±0.01 ^a	0.18±0.02 ^b	0.12±0.01 ^d	0.17±0.01 ^{bc}	0.15±0.01 ^c	***
C14:0	1.43±0.07 ^a	1.45±0.06 ^a	0.97±0.04 ^b	0.93±0.04 ^b	0.89±0.04 ^b	***
C15:0	0.28±0.02 ^a	0.20±0.01 ^b	0.19±0.01 ^b	0.22±0.02 ^b	0.19±0.01 ^b	***
C16:0	17.16±0.79 ^b	17.39±0.94 ^b	18.08±1.12 ^{ab}	19.07±0.95 ^{ab}	20.07±0.95 ^a	*
C17:0	0.17±0.01 ^b	0.11±0.01 ^d	0.13±0.01 ^{cd}	0.20±0.02 ^a	0.15±0.01 ^{bc}	***
C18:0	3.56±0.27 ^b	3.63±0.15 ^b	3.98±0.23 ^b	4.45±0.17 ^a	4.77±0.23 ^a	***
C20:0	0.08±0.01 ^d	0.04±0.01 ^c	0.12±0.01 ^b	0.21±0.01 ^a	0.10±0.01 ^c	***
单不饱和脂肪酸 MUFA						
C14:1n5	0.02±0.01 ^a	0.02±0.01 ^a	0.03±0.01 ^{ab}	0.05±0.01 ^a	0.03±0.01 ^{ab}	*
C16:1n7	2.48±0.16 ^a	2.11±0.15 ^b	1.64±0.13 ^c	1.63±0.11 ^c	1.88±0.13 ^{bc}	***
C18:1n9	21.49±1.04 ^c	22.15±1.14 ^{bc}	22.50±1.13 ^{bc}	23.88±1.06 ^{ab}	25.13±1.18 ^a	*
C20:1n9	0.58±0.03 ^b	0.57±0.03 ^b	0.63±0.04 ^b	0.74±0.05 ^a	0.63±0.03 ^b	*
C22:1n9	0.02±0.01 ^a	0.02±0.01 ^a	0.04±0.01 ^a	0.03±0.01 ^a	0.03±0.01 ^a	
多不饱和脂肪酸 PUFA						
C18:2n6	16.01±0.53 ^a	15.92±0.57 ^a	15.63±0.75 ^a	15.03±0.69 ^{ab}	14.03±0.61 ^b	*
C18:3n6	0.25±0.02 ^a	0.24±0.01 ^a	0.20±0.01 ^b	0.20±0.01 ^b	0.18±0.01 ^b	***
C18:3n3	0.95±0.05 ^a	0.90±0.03 ^{ab}	0.79±0.03 ^{bc}	0.86±0.04 ^{bc}	0.82±0.03 ^c	*
C20:2n6	0.79±0.05 ^b	0.85±0.04 ^{ab}	0.94±0.04 ^a	0.88±0.03 ^{ab}	0.70±0.04 ^b	***
C20:3n6	3.15±0.07 ^a	3.18±0.11 ^a	3.20±0.16 ^a	3.13±0.11 ^a	2.52±0.11 ^b	***
C20:4n6	9.59±0.53 ^a	9.44±0.44 ^a	9.31±0.40 ^a	8.73±0.53 ^{ab}	8.03±0.33 ^b	**
C20:5n3	0.50±0.03 ^a	0.31±0.02 ^b	0.20±0.01 ^c	0.25±0.01 ^c	0.21±0.02 ^c	***
C22:6n3	1.58±0.11 ^a	1.53±0.10 ^a	1.52±0.10 ^a	1.47±0.07 ^a	1.52±0.10 ^a	
ΣSFA	22.91±1.19 ^b	23.01±1.21 ^b	23.60±1.44 ^{ab}	25.27±1.23 ^{ab}	26.34±1.27 ^a	*
ΣMUFA	24.59±1.25 ^a	24.87±1.34 ^a	24.84±1.32 ^a	26.33±1.24 ^a	27.70±1.36 ^a	
ΣPUFA	32.82±1.39 ^a	32.37±1.32 ^a	31.79±1.52 ^a	30.55±1.49 ^{ab}	28.01±1.25 ^b	*
ΣPUFA(n-3)	3.03±0.19 ^a	2.74±0.15 ^b	2.51±0.16 ^b	2.58±0.12 ^b	2.55±0.15 ^b	*
ΣPUFA(n-6)	29.79±1.20 ^a	29.63±1.17 ^a	29.28±1.36 ^a	27.97±1.37 ^a	25.46±1.10 ^b	**
Σn-3/Σn-6	0.10±0.01 ^a	0.09±0.01 ^a	0.09±0.01 ^a	0.09±0.01 ^a	0.10±0.01 ^a	

注: 不同小写字母表示同一行内不同浓度样品数值间存在显著差异; * 差异显著($P<0.05$); ** 差异极显著($P<0.01$); *** 差异高度显著($P<0.001$), 下同。

Notes: SFA. saturated fatty acid, MUFA. monounsaturated fatty acid, PUFA. polyunsaturated fatty acid, different lowercase letters indicate that there are significant differences among the values of different sample groups in the same row; *, significant difference ($P<0.05$), **, extremely significant difference ($P<0.01$), ***, highly significant difference ($P<0.001$), the same below.

烯酸 (DHA) (C22:6n-3) 的相对含量为 8.74%, 而本研究中, 经光照干制后 DHA 相对含量仅约为 1.5%, 分析原因是与本研究较高的干制温度 (50 °C) 和光照强度 (15 000 lx) 有关。油酸 (C18:1n9) 和软脂酸 (C16:0) 分别是 MUFA 和 SFA 中相对含量最高的 2 种脂肪酸, 随着 MMb 添加浓度的增加, 其相对含量呈不断递增的趋势, 推测可能与

长链 PUFA 的氧化分解有关。

本研究筛选出 13 种气味活性物质, 与顾赛麒等^[5] 研究所得的传统日晒的气味活性物质相比发现, 加入高浓度 MMb 的腌腊鱼中的己醛、庚醛、辛醛和 2-辛烯醛等风味物质含量明显高于传统日晒所得的腌腊鱼。从挥发物类别分析, 醛类阈值较低, 主要源于不饱和脂肪酸的降解, 对传

表 2 添加不同浓度 MMB 腌腊鱼中挥发性风味物测定结果
Tab. 2 Determination of volatile flavor compounds in cured fish with different addition concentrations of MMB

化合物名称 compound name	保留 时间/min retention time	气味 阈值/(ng/g) odor threshold	气味描述 odor description	挥发物浓度/(ng/g) concentrations of volatile compounds				显著性 significance	挥发物气味活性值 OAVs of volatile compounds					
				0 mg/g	0.1 mg/g	0.2 mg/g	0.4 mg/g		0.8 mg/g	0 mg/g	0.1 mg/g	0.2 mg/g	0.4 mg/g	0.8 mg/g
醛类 aldehyde														
戊醛 pentanal ^a	11.68	9	果味、面包味	7.76±0.32 ^a	10.26±0.31 ^d	21.96±0.96 ^c	26.66±0.83 ^b	41.95±1.29 ^a	***	0.86	1.14	2.44	2.96	4.66
己醛 hexanal ^a	16.89	5	青草味、脂肪味	57.36±2.72 ^a	188.95±6.41 ^d	422.27±20.48 ^c	704.8±26.30 ^b	1020.85±31.81 ^a	***	11.47	37.79	84.45	140.96	204.17
2-己烯醛 2-hexenal ^a	19.94	19.2	杏仁味	0.25±0.00 ^c	0.14±0.00 ^d	0.29±0.01 ^b	0.33±0.01 ^a	0.25±0.02 ^c	***	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01
庚醛 heptanal ^a	22.74	2.8	鱼腥味	2.56±0.10 ^c	5.64±0.25 ^d	14.35±0.62 ^c	22.25±0.73 ^b	29.31±1.00 ^a	***	0.91	2.01	5.13	7.95	10.47
苯甲醛 benzaldehyde	27.16	41.7	杏仁味	0.22±0.03 ^c	0.42±0.01 ^d	0.97±0.04 ^c	1.31±0.04 ^b	3.39±0.12 ^a	***	0.01	0.01	0.02	0.03	0.08
辛醛 octanal ^a	29.31	0.587	水果香味	1.26±0.04 ^d	2.64±0.12 ^d	6.82±0.25 ^c	12.62±0.53 ^b	18.62±0.80 ^a	***	2.15	4.50	11.62	21.50	31.72
2-辛烯醛 2-octenal ^a	33.19	3	脂肪味、肉香味	0.22±0.01 ^d	0.44±0.01 ^d	1.08±0.04 ^c	4.07±0.19 ^b	9.47±0.30 ^a	***	0.07	0.15	0.36	1.36	3.16
壬醛 nonanal ^a	36.36	1.1	花香味	5.91±0.19 ^d	6.86±0.24 ^d	21.53±1.04 ^c	33.72±1.64 ^b	39.59±1.43 ^a	***	5.37	6.24	19.57	30.65	35.99
2-壬烯醛 2-nonenal ^a	40.39	0.08	脂肪味、青香味	0.10±0.01 ^d	0.12±0.01 ^d	0.30±0.01 ^c	0.82±0.02 ^b	0.93±0.04 ^a	***	1.25	1.50	3.75	10.25	11.63
4-癸烯醛 4-decenal	42.78	25	脂肪味	0.02±0.00 ^d	0.14±0.01 ^d	0.36±0.01 ^c	0.56±0.02 ^b	0.78±0.03 ^a	***	0.00	0.01	0.01	0.02	0.03
癸醛 decenal ^a	43.57	0.245	甜香、柑橘香	0.52±0.01 ^d	0.33±0.01 ^c	0.87±0.03 ^c	0.94±0.03 ^b	1.02±0.04 ^a	***	2.12	1.35	3.55	3.84	4.16
2,4-壬二烯醛 2,4-nadienal ^a	44.50	0.4	花果、油脂香	0.04±0.00 ^d	0.03±0.00 ^d	0.07±0.00 ^c	0.27±0.01 ^b	0.40±0.01 ^a	***	0.10	0.08	0.18	0.68	1.00
2-癸烯醛 2-decenal ^a	46.60	0.3	家禽肉香味	0.01±0.00 ^d	0.04±0.00 ^d	0.09±0.01 ^c	0.28±0.01 ^b	0.47±0.01 ^a	***	0.03	0.13	0.30	0.93	1.57
2,4-癸二烯醛 2,4-decadienal ^a	49.89	0.2	柑橘样的甜香	0.01±0.00 ^d	0.02±0.00 ^d	0.07±0.00 ^c	0.24±0.01 ^b	0.57±0.02 ^a	***	0.05	0.10	0.35	1.20	2.85
十二醛 dodecaldehyde	52.80	10	脂肪香气	0.23±0.02 ^b	0.07±0.01 ^d	0.18±0.02 ^c	0.46±0.01 ^a	0.24±0.02 ^b	***	0.02	0.01	0.02	0.05	0.02
小计 subtotal				76.47±3.45 ^c	216.1±7.39 ^d	491.21±23.52 ^c	809.33±30.38 ^b	1167.84±36.94 ^a	***	24.44	55.01	131.77	222.39	311.52
酮类 ketones														
2,3-丁二酮 2,3-butanedione ^a	7.65	1.1	奶香味	0.28±0.01 ^c	0.17±0.00 ^d	0.57±0.02 ^c	1.80±0.08 ^b	20.28±0.83 ^a	***	0.25	0.15	0.52	1.64	18.44
2-丁酮 2-butanone	7.82	35400	奶酸味	6.63±0.29 ^c	4.09±0.14 ^d	6.62±0.23 ^c	15.82±0.62 ^b	32.08±1.47 ^a	***	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
2-戊酮 2-pentanone	11.12	1380	酒味	14.87±0.54 ^b	9.83±0.35 ^c	20.64±0.80 ^c	0.06±0.00 ^d	0.15±0.00 ^d	***	0.01	0.01	0.01	<0.01	<0.01
3-戊酮 3-pentanone	11.53	40	辣味	4.18±0.20 ^b	1.23±0.04 ^d	2.32±0.10 ^d	3.83±0.13 ^c	6.66±0.23 ^a	***	0.10	0.03	0.06	0.10	0.17
3-羟基-2-丁酮 3-hydroxy-2-butanone	12.18	800	奶香气	0.15±0.00 ^d	0.01±0.00 ^d	0.29±0.02 ^c	12.54±0.54 ^b	47.37±2.09 ^a	***	<0.01	<0.01	<0.01	0.02	0.06
2-己酮 2-hexanone	16.19	560	化学刺激味	0.38±0.01 ^d	0.42±0.02 ^d	1.07±0.03 ^c	1.27±0.05 ^b	2.13±0.06 ^a	***	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
2-庚酮 2-heptanone	21.91	141	果实香味	4.23±0.20 ^c	5.13±0.21 ^c	13.07±0.4 ^c	13.32±0.51 ^b	18.36±0.90 ^a	***	0.03	0.04	0.09	0.09	0.13
1-辛烯-3-酮 1-octene-3-one ^a	27.52	0.05	蘑菇香气	0.49±0.02 ^d	0.51±0.02 ^d	1.16±0.03 ^c	3.45±0.16 ^b	7.58±0.34 ^a	***	9.80	10.20	23.20	69.00	151.60
2,3-辛二酮 2,3-octanedione	27.82	—	奶香味	3.72±0.17 ^c	9.51±0.38 ^d	25.90±0.91 ^c	71.69±2.47 ^b	208.12±6.41 ^a	***	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

·续表 2·

化合物名称 compound name	保留 时间/min retention time	气味 阈值/(ng/g) odor threshold	气味描述 odor description	挥发物浓度(ng/g) concentrations of volatile compounds				显著性 significance	挥发物气味活性值 OAVs of volatile compounds				
				0 mg/g	0.1 mg/g	0.2 mg/g	0.4 mg/g		0.8 mg/g	0 mg/g	0.1 mg/g	0.2 mg/g	0.4 mg/g
3-辛酮	28.04	21.4	果实香味	2.35±0.10 ^d	3.11±0.14 ^d	8.99±0.43 ^c	8.21±0.31 ^b	11.43±0.43 ^c	0.11	0.15	0.42	0.38	0.53
3-辛烯-2-酮	31.66	6.7	果实香味	0.25±0.02 ^e	0.44±0.01 ^d	0.71±0.02 ^c	3.03±0.10 ^b	4.73±0.17 ^c	0.04	0.07	0.11	0.45	0.71
小计 subtotal				37.53±1.56 ^d	34.45±1.31 ^d	81.34±2.99 ^c	135.02±4.97 ^b	358.83±12.93 ^a	10.35	10.64	24.41	71.68	171.64
醇类 alcohols													
3-戊醇	15.88	4125	青草味	0.42±0.01 ^d	0.34±0.01 ^c	0.69±0.02 ^b	0.60±0.02 ^c	0.78±0.02 ^c	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
己醇	28.99	5.6	青草味	0.09±0.01 ^d	0.09±0.01 ^d	0.22±0.01 ^c	0.41±0.01 ^b	0.51±0.01 ^a	0.02	0.02	0.04	0.07	0.09
1-辛烯-3-醇	32.25	1.5	蘑菇、青草味	0.32±0.01 ^d	0.26±0.01 ^c	0.87±0.03 ^a	0.69±0.02 ^b	0.63±0.03 ^c	0.21	0.17	0.58	0.46	0.42
小计 subtotal				0.83±0.03 ^c	0.69±0.03 ^d	1.78±0.06 ^b	1.70±0.05 ^b	1.92±0.06 ^c	0.23	0.19	0.62	0.53	0.51
芳香类 aromatics													
苯	10.35	3630	化学刺激味	0.70±0.02 ^c	0.63±0.03 ^c	1.88±0.07 ^a	1.91±0.07 ^a	1.63±0.06 ^b	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
甲苯	15.38	1550	化学刺激味	1.08±0.04 ^d	0.85±0.04 ^d	2.88±0.09 ^a	1.93±0.07 ^b	1.65±0.06 ^c	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
间二甲苯	20.68	1000	化学刺激味	0.31±0.01 ^b	0.26±0.01 ^c	0.56±0.02 ^a	0.56±0.01 ^a	0.33±0.01 ^b	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
1,3,5-三甲苯	27.43	500	有特殊气味	2.00±0.08 ^c	2.03±0.07 ^c	3.41±0.14 ^a	3.21±0.15 ^b	3.10±0.10 ^b	<0.01	<0.01	0.01	0.01	0.01
1,3,5-三甲苯	29.2	500	有芳香味	11.44±0.55 ^c	9.93±0.33 ^d	20.15±0.98 ^b	19.71±0.75 ^b	24.56±1.08 ^a	0.02	0.02	0.04	0.04	0.05
1,2,4-三甲苯	31.19	800	—	0.86±0.03 ^c	1.11±0.04	2.32±0.07 ^c	2.79±0.08 ^a	2.46±0.08 ^b	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
3-乙基甲苯				16.39±0.73 ^c	14.81±0.52 ^c	31.2±1.37 ^b	30.11±1.13 ^b	33.73±1.39 ^a	0.03	0.03	0.05	0.05	0.06
小计 subtotal													
烃类 hydrocarbons													
正己烷	7.95	1500	有特殊气味	26.05±0.90 ^c	11.74±0.50 ^b	26.71±0.94 ^b	25.21±0.83 ^b	30.62±1.47 ^a	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02
2-辛烯	17.61	2000	刺激性	0.22±0.00 ^d	0.59±0.02 ^c	1.57±0.06 ^a	0.76±0.03 ^b	0.26±0.02 ^c	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
十一烷	35.89	5600	—	1.12±0.04 ^d	0.94±0.04 ^d	2.06±0.07 ^b	2.07±0.08 ^b	2.79±0.11 ^a	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
小计 subtotal				27.39±0.94 ^d	13.27±0.56 ^d	30.34±1.07 ^b	28.04±0.94 ^c	33.67±1.60 ^b	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02
酯类 esters													
丙酸甲酯	8.9	350	香蕉味	8.94±0.36 ^b	4.79±0.15 ^d	9.32±0.40 ^a	8.05±0.34 ^c	8.35±0.34 ^c	0.03	0.01	0.03	0.02	0.02
丁酸甲酯	12.7	59	苹果味、奶酪味	12.43±0.44 ^d	10.79±0.36 ^c	19.11±0.70 ^b	17.2±0.56 ^c	20.43±1.01 ^a	0.21	0.18	0.32	0.29	0.35
己酸甲酯	23.92	70	菠萝味	0.98±0.04 ^d	0.81±0.04 ^c	2.12±0.08 ^c	2.5±0.08 ^b	3.74±0.15 ^a	0.01	0.01	0.03	0.04	0.05
小计 subtotal				22.35±0.84 ^d	16.39±0.55 ^d	30.55±1.18 ^b	27.75±0.98 ^c	32.52±1.50 ^b	0.25	0.21	0.38	0.35	0.42
总计 total				180.96±7.55 ^c	295.71±10.36 ^d	666.42±30.19 ^a	1031.95±38.45 ^b	1628.51±54.42 ^a	35.31	66.08	157.25	295.02	484.17

注：“▲”表示该化合物被确定为气味活性物质(OAV>1)；“—”表示相关数值未获取。
Notes: “▲” indicates that the compound is identified as an odor active substance (OAV>1); “—” means the relevant value is not obtained.

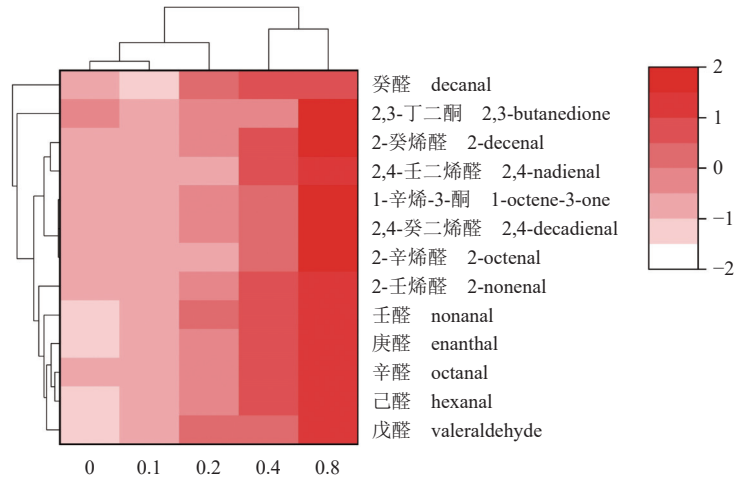


图 3 添加不同浓度 MMb 腌腊鱼中气味活性物质聚类热图

Fig. 3 Clustering heat map of odor active compounds in cured fish with different addition concentrations of MMb

表 3 不饱和脂肪酸与气味活性物质的相关性分析

Tab. 3 Correlation analysis between unsaturated fatty acids and odor active compounds

不饱和脂肪酸 UFA	戊醛 pentanal	己醛 hexanal	庚醛 heptanal	辛醛 octanal	2-辛烯醛 2-octenal	壬醛 nonanal	2-壬烯醛 2-nonenal	癸醛 decanal	2,4-壬二烯醛 2,4-nadienal	2-癸烯醛 2-decenal	2,4-癸二烯醛 2,4-decadienal	2,3-丁二酮 2,3-butanedione	1-辛烯-3-酮 1-octen-3-one
C _{14:1n5}	0.522	0.608	0.663	0.603	0.392	0.730	0.735	0.711	0.585	0.535	0.390	0.074	0.399
C _{16:1n7}	-0.625	-0.650	-0.703	-0.609	-0.374	-0.724	-0.611	-0.724	-0.465	-0.494	-0.380	-0.156	-0.378
C _{18:1n9}	0.947*	0.975**	0.966**	0.963**	0.904*	0.936*	0.930*	0.768	0.917*	0.946*	0.904*	0.769	0.901*
C _{20:1n9}	0.518	0.601	0.657	0.598	0.390	0.728	0.733	0.721	0.585	0.531	0.388	0.074	0.399
C _{22:1n9}	0.556	0.501	0.561	0.468	0.266	0.592	0.405	0.762	0.296	0.337	0.281	0.162	0.277
C _{18:2n6}	-0.974**	-0.975**	-0.955*	-0.984**	-0.994**	-0.928*	-0.940*	-0.800	-0.980**	-0.995**	-0.995**	-0.915*	-0.995**
C _{18:3n6}	-0.954*	-0.939*	-0.958*	-0.923*	-0.809	-0.953*	-0.868	-0.930*	-0.826	-0.859	-0.817	-0.680	-0.814
C _{18:3n3}	-0.726	-0.678	-0.711	-0.638	-0.483	-0.700	-0.534	-0.750	-0.464	-0.532	-0.495	-0.409	-0.486
C _{20:2n6}	-0.402	-0.380	-0.307	-0.424	-0.657	-0.252	-0.368	-0.104	-0.548	-0.544	-0.652	-0.790	-0.653
C _{20:3n6}	-0.825	-0.790	-0.739	-0.810	-0.937*	-0.682	-0.712	-0.548	-0.837	-0.866	-0.937*	-0.997**	-0.935*
C _{20:4n6}	-0.965**	-0.978**	-0.957*	-0.985**	-0.991**	-0.929*	-0.953*	-0.781	-0.987**	-0.999**	-0.990**	-0.896*	-0.990**
C _{20:5n3}	-0.737	-0.737	-0.759	-0.691	-0.534	-0.732	-0.618	-0.662	-0.538	-0.604	-0.540	-0.411	-0.531
C _{22:6n3}	-0.556	-0.646	-0.686	-0.616	-0.406	-0.708	-0.695	-0.589	-0.549	-0.544	-0.402	-0.120	-0.404
ΣMUFA	0.934*	0.957*	0.931*	0.968**	0.988**	0.903*	0.949*	0.735	0.990**	0.994**	0.986**	0.891*	0.987**
ΣPUFA	-0.974**	-0.973**	-0.949*	-0.978**	-0.994**	-0.916*	-0.924*	-0.779	-0.969**	-0.990**	-0.994**	-0.926*	-0.993**

统腌腊鱼香气贡献显著。据报道, C5~C10 的直链醛主要来自油酸、亚油酸、亚麻酸和花生四烯酸等的氧化降解^[5], 不饱和烯醛主要来自亚油酸酯和亚麻酸酯氢过氧化物的降解^[20]。随着 MMb 添加浓度的升高, 鱼肉样品中脂质氧化反应程度更加剧烈, 造成醛类物质浓度和 OAV 值均快速增加。

酮类主要通过脂肪酸的氧化降解以及醇类物质氧化生成, 其 OAV 占比仅次于醛类。由于其阈值较高, 一般都认为对腌腊鱼香气贡献程度较低。

有报道指出, 酮类对腌腊鱼成品风味具有一定的修饰作用^[21]。醇类主要由脂质二级过氧化物的分解、脂肪氧化酶作用以及羰基化合物的还原生成^[22]。醇类对腌腊鱼整体风味具有贡献。据报道, 腌制后鱼肉中 1-辛烯-3-醇含量占有挥发物的 5% 左右, 呈蘑菇味和青草味, 可使腌腊鱼具有一种类似植物的柔和清香^[23]。在本实验中发现, 1-辛烯-3-酮含量始终呈递增趋势, 推测可能在高浓度 MMb 作用下, 促使部分 1-辛烯-3-醇氧化生成了 1-辛烯-3-酮。

芳香类物质来源较为复杂,可能源自带苯环氨基酸的降解或者外部环境^[24]。其对传统腌腊鱼香气可能贡献较小。烃类可能由脂肪酸烷氧自由基的裂解产生,其阈值较高,一般对样品整体风味无显著影响。酯类可赋予腌腊鱼水果香气,本研究检出3种酯类,因其含量较低,均不具备气味活性。

热图分析结果显示,在高添加浓度(0.4~0.8 mg/g)情况下OAV值不断递增,证实了MMb等光敏剂可以促进腌腊鱼传统日晒品自身香气的生成。此外13种气味活性物质可以聚为两大类。除癸醛外的5种直链醛可聚为一类,而2-癸烯醛等多种不饱和醛等醛类物质可聚为一类,这可能与它们的自身结构特性以及反应形成机制有关。另外亚油酸、 γ -亚麻酸和花生四烯酸与多数气味活性物质呈显著负相关,其可能是MMb介导的脂质氧化的重要反应底物。

4 结论

随着MMb添加浓度的升高,腌腊鱼样品中羰基化合物和游离脂肪酸含量增加,总脂、甘油三酯和磷脂含量下降,且高浓度MMb添加组(0.4~0.8 mg/g)中上述指标变化趋势更显著。添加MMb可促进腌腊鱼中PUFA氧化降解,使得PUFA相对含量下降,SFA和MUFA相对含量升高,其中PUFA中降幅较大的是亚油酸和花生四烯酸。从各组样品中共检出6大类41种挥发性风味成分,确定了13种气味活性物质。0.8 mg/g MMb添加组挥发物总浓度和OAV值总和分别为对照组的8.0倍和12.7倍,热图分析结果显示,13种气味活性物质可以聚为两大类。亚油酸、 γ -亚麻酸和花生四烯酸与多数气味活性物质呈显著负相关,其可能是MMb介导的脂质氧化的重要反应底物。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Paul P C, Reza M S, Islam M N, *et al.* A review on dried fish processing and marketing in the coastal region of Bangladesh[J]. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*, 2018, 5(3): 381-390.
- [2] 史智佳, 张睿梅, 杨震, 等. 单色光照金枪鱼脂质和肌红蛋白氧化动力学研究[J]. *食品科学*, 2017, 38(11): 237-242.
- [3] Shi Z J, Zhang R M, Yang Z, *et al.* Kinetic studies of lipid and myoglobin oxidation in bigeye tuna muscle under monochromatic light conditions[J]. *Food Science*, 2017, 38(11): 237-242 (in Chinese).
- [4] Chen H H. Effect of cold storage on the stability of chub and horse mackerel myoglobins[J]. *Journal of Food Science*, 2003, 68(4): 1416-1419.
- [5] Kanner J, Harel S. Initiation of membran lipid peroxidation by activated metmyoglobin and methemoglobin[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1985, 237(2): 314-321.
- [6] 顾赛麒, 唐锦晶, 周绪霞, 等. 腌腊鱼传统日晒干制过程中品质变化与香气形成[J]. *食品科学*, 2019, 40(17): 36-44.
- [7] Gu S Q, Tang J J, Zhou X X, *et al.* Quality change and aroma formation in cured fish during traditional sun drying processing[J]. *Food Science*, 2019, 40(17): 36-44 (in Chinese).
- [8] Thiansilakul Y, Benjakul S, Park S Y, *et al.* Characteristics of myoglobin and haemoglobin-mediated lipid oxidation in washed mince from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*)[J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(2): 892-900.
- [9] 赵进, 葛凌燕, 孟怡璠, 等. 真空包装冷藏鲮鱼和草鱼鱼片肉质变化特性研究[J]. *中国食品学报*, 2013, 13(9): 217-226.
- [10] Zhao J, Ge L Y, Meng Y F, *et al.* Quality changes of *Mugil cephalus* and *Ctenopharyngodon idella* fillets stored under vacuum packaging at 0 °C[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2013, 13(9): 217-226 (in Chinese).
- [11] Matsunaga S, Kawamura K. Determination of α - and β -hydroxycarbonyls and dicarbonyls in snow and rain samples by GC/FID and GC/MS employing benzyl hydroxyl oxime derivatization[J]. *Analytical Chemistry*, 2000, 72(19): 4742-4746.
- [12] Rosiers C D, Rivest M J, Boily M J, *et al.* Gas-chromatographic-mass spectrometric assay of tissue malondialdehyde, 4-hydroxynonenal, and other aldehydes after their reduction to stable alcohols[J]. *Analytical Biochemistry*, 1993, 208(1): 161-170.
- [13] Ulu H. Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products[J]. *Meat Science*, 2004, 67(4): 683-690.

- 687.
- [11] Folch J, Lees M, Stanley G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 226(1): 497-509.
- [12] Kaluzny M A, Duncan L A, Merritt M V, *et al.* Rapid separation of lipid classes in high yield and purity using bonded phase columns[J]. *Journal of Lipid Research*, 1985, 26(1): 135-140.
- [13] Regueiro J A G, Gibert J, Díaz I. Determination of neutral lipids from subcutaneous fat of cured ham by capillary gas chromatography and liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 1994, 667(1-2): 225-233.
- [14] 顾赛麒, 周洪鑫, 郑皓铭, 等. 干制方式对腌腊草鱼脂肪氧化和挥发性风味成分的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(21): 1-10.
Gu S Q, Zhou H X, Zheng H M, *et al.* Effects of different drying methods on lipid oxidation and volatile flavor components of cured grass carp[J]. *Food Science*, 2018, 39(21): 1-10 (in Chinese).
- [15] Lynch M P, Faustman C. Effect of aldehyde lipid oxidation products on myoglobin[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(3): 600-604.
- [16] 楼乔明, 王玉明, 杨文鸽, 等. 南极磷虾粉脂质及脂肪酸组成分析[J]. *水产学报*, 2012, 36(8): 1256-1262.
Lou Q M, Wang Y M, Yang W G, *et al.* Lipid classes and fatty acid compositions of Antarctic krill meal[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(8): 1256-1262 (in Chinese).
- [17] 刘昌华, 章建浩, 王艳. 鲈鱼风干成熟过程中脂质分解氧化规律[J]. *食品科学*, 2012, 33(5): 13-18.
Liu C H, Zhang J H, Wang Y. Lipolysis and lipid oxidation in perch during curing and air drying ripening[J]. *Food Science*, 2012, 33(5): 13-18 (in Chinese).
- [18] 吴娜, 王锡昌, 陶宁萍, 等. 动物源食品中脂质氧化降解对香气物质形成的作用[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(7): 209-215.
Wu N, Wang X C, Tao N P, *et al.* Contribution of lipid oxidation and degradation to the formation of aroma compounds in animal-derived foods[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2016, 16(7): 209-215 (in Chinese).
- [19] 吉红, 田晶晶. 高不饱和脂肪酸(HUFAs)在淡水鱼类中的营养作用研究进展[J]. *水产学报*, 2014, 38(9): 1650-1665.
Ji H, Tian J J. Research progresses of the nutritional effects of highly unsaturated fatty acids (HUFAs) in the freshwater fish[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(9): 1650-1665 (in Chinese).
- [20] 张伟敏. 鼠尾草酸抑制油脂热加工过程中反式脂肪酸形成的机理研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2019.
Zhang W M. Study on inhibition mechanism of carnosic acid on formation of trans fatty acids in oils and fats during heat treatment[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [21] 刘昌华. 鲈鱼风干成熟工艺及其脂质分解氧化和风味品质特性研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
Liu C H. Tudy on drying-ripening process of Perchs, lipolysis-lipid oxidation and fleavour character during processing[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012 (in Chinese).
- [22] Sakai T, Yamauchi K, Kuwazuru S, *et al.* Relationships between 4-hydroxy-2-nonenal, 2-thiobarbituric acid reactive substances and n-6 polyunsaturated fatty acids in refrigerated and frozen pork[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1998, 62(10): 2028-2029.
- [23] 吴燕燕, 游刚, 李来好, 等. 低盐乳酸菌法与传统法腌干鱼制品的风味比较[J]. *水产学报*, 2014, 38(4): 601-612.
Wu Y Y, You G, Li L H, *et al.* Comparison of flavor components between low-salt lactic acid fermented fish and traditional salted fish[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(4): 601-612 (in Chinese).
- [24] 徐永霞. 脂肪控制氧化—热反应法制备猪肉风味基料的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
Xu Y X. Study on preparing pork flavour by lipid controlled oxidation and thermal reaction[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011 (in Chinese).

Effects of metmyoglobin on lipid oxidation and volatile flavor of cured fish

GU Saiqi^{1,2,3}, WANG Huanqi^{1,2,3}, FENG Yuan^{1,2,3}, LI Junhong^{1,3}, ZHOU Zhenyi^{1,2,3},
BAO Rongbin^{1,3}, DAI Wangli^{1,3}, CHEN Yufeng^{1,3}, ZHOU Xuxia^{1,2,3*}, DING Yuting^{1,2,3}

(1. College of Food Science and Technology, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China;

2. Ninghai ZJUT Academy of Science and Technology, Ningbo 315600, China;

3. National R & D Branch Center for Pelagic Aquatic Products Processing, Hangzhou 310014, China)

Abstract: The effects of metmyoglobin (MMb) on the quality of cured fish were studied by adding different concentrations of MMb into the cured grass carp to construct the sample reaction system. Based on the carbonyl compounds, lipid content, fatty acid composition and volatile flavor compounds, the mechanism of MMb promoting lipid oxidation in traditional processing of cured grass carp was studied. As a result, the contents of three carbonyl compounds increased gradually, and the increasing trend was "4-hydroxyhexenal > 4-hydroxynonenal > malondialdehyde" with the increase of MMb concentration. Compared with the control group, the contents of total lipids, triglycerides and phospholipids in the 0.8 mg/g MMb group decreased the most (18.95%, 18.72% and 31.83%, respectively). However, the content of free fatty acids showed a completely opposite trend (increased by 6.74%). The higher the concentration of MMb, the easier the oxidative degradation of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in fish samples, especially linoleic acid and arachidonic acid (the relative content decreased by 12.37% and 16.27%, respectively). Six categories and 41 kinds of volatile flavor components were detected, and 13 kinds of odor active compounds such as pentanal were identified. All the odor active compounds except decanal were significantly negatively correlated with the relative content of PUFA. It indicated that MMb-mediated lipid photooxidation may be the main mechanism of traditional cured fish aroma.

Key words: cured fish; metmyoglobin; lipid oxidation; carbonyl; fatty acid; volatile flavor

Corresponding author: ZHOU Xuxia. E-mail: xzhou@zjut.edu.cn

Funding projects: Natural Science Foundation of Ningbo City (2017A610283); National Natural Science Foundation of China (31601500); Public Welfare Technology Projects in Zhejiang Province (2016C32056)