

温度对褶牡蛎肉品质的影响

吴永沛

(厦门水产学院, 361021)

提 要 本文阐述贮藏在不同温度条件下的褶牡蛎, 其5%TCA可溶性总氮(TSN)、Folin-酚阳性物质、游离氨基氮(FAAN)、pH值及挥发性盐基氮(VBN)含量的变化规律, 并对热水抽提液中的多肽组份作了分离和分子量测定。结果发现, 5%TCA可溶性总氮和Folin-酚阳性物质都出现先下降后上升的现象。分子量在1000~3000MW的多肽相对含量, 在0°C及30°C均随贮存时间延长而增加。pH值和VBN含量的变化呈相反趋势, 即pH值随贮藏时间延长而降低, 而VBN含量却上升。利用阿累乌尼斯图(Arrhenius plot)原理对VBN含量的变化规律作了进一步的研究, 证明在22°C处该图有一折点。

关键词 多肽, pH值, 挥发性盐基氮

全世界的牡蛎种类约有100种。我国沿海各地牡蛎种类约有20种^[8]。由于养殖技术的提高, 年产量逐步提高, 仅福建省年产牡蛎4万余吨^[9]。牡蛎已成为重要的海产经济贝类。牡蛎是易腐败水产品, 冰藏保鲜或常温放置常有汁液流出, 造成品质严重下降^[11]。采用添加剂, 如糖类、盐类等物质制成溶液, 来漂洗牡蛎, 达到控制汁液流失现象已有不少报导^[1, 10, 11]。牡蛎汁液流失与自溶作用有关, 大分子蛋白质的降解是自溶作用的重要方面。本文将探讨温度对褶牡蛎肉蛋白质降解的影响情况, 并对牡蛎肉热水抽提液的多肽作了分子量测定, 以便深入了解牡蛎自溶作用的本质, 并对pH值和VBN含量的变化规律进行了研究。

材 料 和 方 法

1. 材 料 褶牡蛎(*Ostrea plicatula*)购自厦门市海域, 取样时间1990年3月—6月。

2. 样品处理 带壳牡蛎用手开壳取肉, 并立即运到实验室。用尼龙布滴十水滴(约10分钟)。称取蛎肉250克为一份, 并装入聚乙烯塑料袋, 封口后立即置于0、10、20、25、30°C温度中。QT-100型电子测控温度, 温差小于±1°C。定时取出样品, 用高速捣浆机捣成匀浆。取匀浆10g, 加蒸馏水10ml, 搅拌均匀后加入10%TCA 20ml。搅拌均匀后室温放置30分钟。离心3000r/min, 15min。取上清液测定5%TCA可溶性总氮(TSN)、VBN和Folin-酚反应阳性物质^[4]。另取匀浆10g, 加蒸馏水50ml, 加热至80°C, 10min。冷却后离心3000r/min, 15min。取上清液用甲醛滴定法测定游离氨基氮(FAAN)含量。

3. 方 法

(1) 5%TCA可溶性总氮(TSN)。微量凯氏定氮法测定^[4]。

(2) Folin-酚阳性物质。Folin-酚试剂能够与蛋白质、多肽、及个别氨基酸(如酪氨酸)呈兰色反

应。通过比色法测定则可作定量测定。实验表明, Folin-酚试剂与多肽、蛋白质的显色反应十分灵敏, 而对氨基酸则只有个别氨基酸才能起显色反应^[9]。在本实验过程中, 样品经过 5%TCA 处理, 蛋白质分子发生了凝固沉淀作用, 经过离心而除去。故用 Folin-酚反应能测定牡蛎提取液中多肽物质的含量。取上述液 1ml, 加入 Folin-酚试剂甲 5ml, 乙试剂 0.5ml。摇匀后放置 30min, 用 721 型分光光度计测定 $O\cdot D_{660}$ (本实验采用 660nm 波长测定 $O\cdot D$ 值, 是为了避开牡蛎肉抽提液中其它颜色物质的干扰)。

(3) 游离氨基氮 (FAAN)。用甲醛滴定法测定^[4]。

(4) 多肽的分离及测定。牡蛎 250g 为一份, 一组置于 0°C 条件下保藏, 另一组置于 30°C 条件下保藏。定时取出样品, 用高速捣浆机捣成匀浆。每组取出匀浆 10g, 加入蒸馏水 20ml。加热至 80°C, 10 min。冷却后离心 3000r/min, 15min。取上清液, 采用凝胶过滤法分离多肽组份并测定其分子量^[3]。

(5) 数据处理。每一数据均从 5~6 个实测数据, 按 Q 检验法取舍后, 取其平均值而得。5%TCA 可溶性总氮 (TSN)、游离氨基氮 (FAAN) 及 VBN 均换算成 mgN/100g 牡蛎肉。Folin-酚阳性物质则以 $O\cdot D_{660}$ 值表示。

结果和讨论

(一) 温度对自溶作用的影响

由图 1(A-E)可以看出, 在上述五种温度条件下, 5%TCA 可溶性总氮和 Folin-酚阳性物质都是随时间先下降后上升, 而游离氨基氮含量却无此现象。这一现象与鱼类自溶作用的研究不同^[12]。在鱼类的自溶作用过程中, 5%TCA 可溶性总氮和 FAAN 是随时间而增加的, 整个过程没有出现下降的现象^[12]。5%TCA 可溶性总氮和 Folin-酚阳性物质降低至最小值所需的时间随温度不同而异。即: 0°C 为 48 小时; 10°C 为 36 小时; 20°C 为 6 小时; 25°C 为 6 小时; 30°C 为 3 小时。10°C 以下和 20°C 以上之间所需的时间差异十分突出。即 10°C 以下为 36~48 小时, 而 20°C 以上为 3~6 小时。开壳取出的牡蛎肉在室温仍然能够存活一段时间, 这可能是引起 5%TCA 可溶性总氮及 Folin-酚阳性物质降低的原因。因为活着但受伤的牡蛎肉靠消耗体内低分子量营养物质维持生命。其结果使上述物质减少。此时期也有可能是类似于鱼类死亡以后的僵硬期。5%TCA 可溶性总氮及 Folin-酚阳性物质含量上升时, 牡蛎肉才真正发生了自溶作用。因此, 牡蛎肉的保鲜, 不仅需要考虑如何防止自溶作用及腐败微生物的作用问题, 而且必须考虑如何延长开壳后其生存时间或延长其僵硬期的问题。降低温度是相当重要的, 特别是要使温度保持在 10°C 以下。民间在开壳取肉后, 常将牡蛎肉浸泡在其自身流出的汁液中, 这样能够延长其保鲜期。这可能是使牡蛎肉仍然“生活”在其熟悉的生存环境(如渗透压)或继续提供代谢所需的低分子量物质有关。

抽提液中 5%TCA 可溶性总氮包括下列物质成份, 即低分子量的多肽、游离氨基酸, 以及其它小分子量含氮化合物(如嘌呤、嘧啶、胺等化合物)^[1]。在所实验的五种温度条件下, 5%TCA 可溶性总氮及 Folin-酚阳性物质几乎呈平行的上升或下降。说明抽提液中低分子量多肽含量的变化是引起总氮变化的主要因素。低分子量多肽来自于牡蛎蛋白

(1) 葛云山主编, 1985, 水产品质量评定方法。

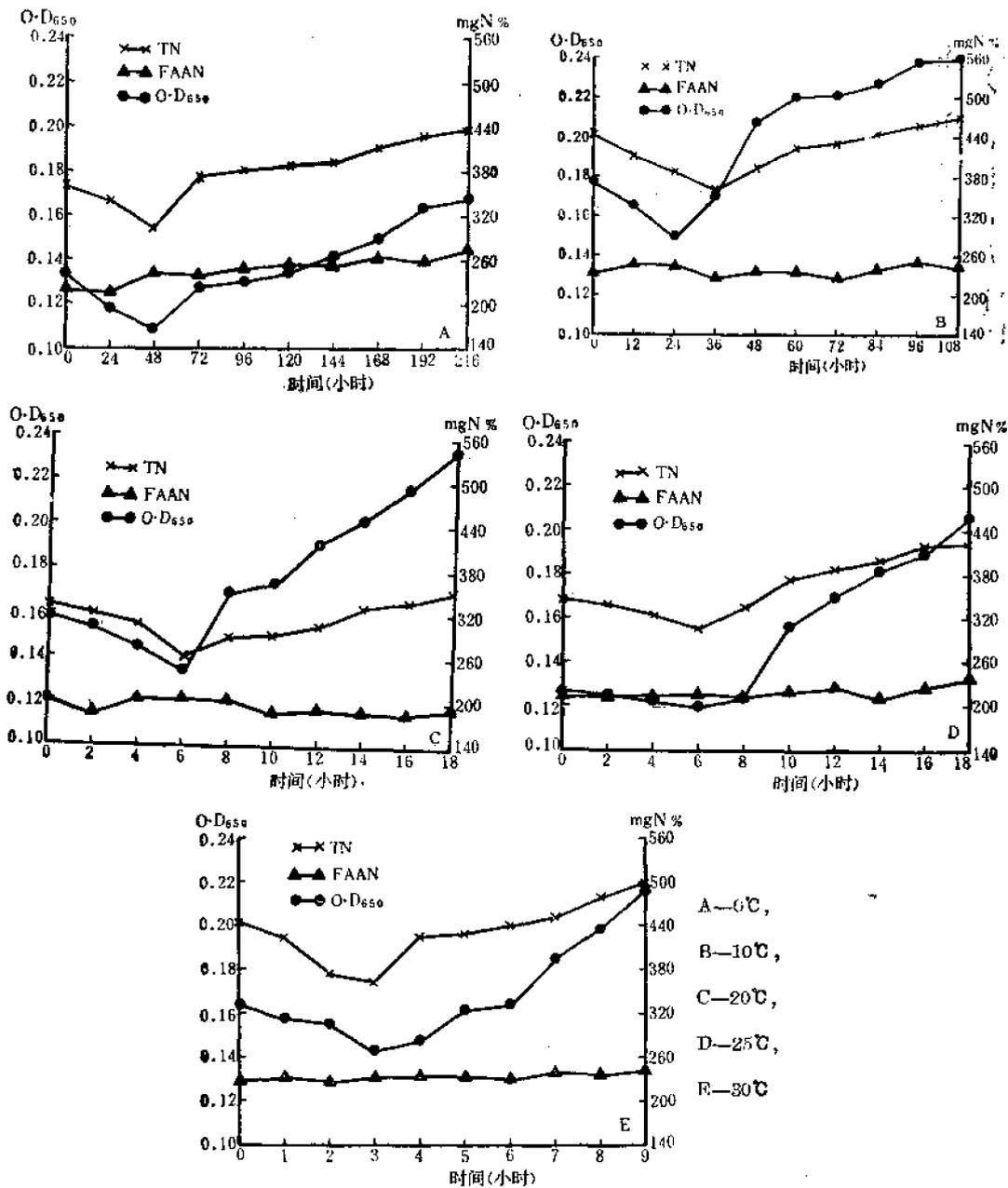


图1 提取液中5%TCA可溶性总氮(TSN)、Folin-酚阳性物质(O-D₅₅₀)、游离氨基氮(FAAN)含量的变化

Fig. 1 The changes of 5%TCA total soluble nitrogen(TSN)、Folin-phenol positive substance (O-D₅₅₀)、free amino nitrogen content(FAAN)in the extracts

质,在自溶作用发生过程中,由内切蛋白酶水解而形成。另一方面,它又受其它某些酶类或微生物的降解而形成小分子有机氮甚至无机氮。从实验结果可以看出,前一因素是主要的,也即多肽的生成速度大于其分解速度。所以随着时间的延长,其含量将逐步提高。

自溶作用发生以后, 温度对自溶作用速度的影响也是十分明显的。以 5%TCA 可溶性总氮作为指标计算, 提取液中每小时增加的总氮量为: 0°C 为 $0.521\text{mgN}\%$; 10°C 为 $0.972\text{mgN}\%$; 20°C 为 $6.375\text{mgN}\%$; 25°C 为 $7.66\text{mgN}\%$ 。从这些数值可以看出, 10°C 以下和 20°C 以上的差别是十分明显的。因此, 无论从延长牡蛎肉的存活时间, 还是减少自溶作用, 降低温度至 10°C 以下是至关重要的。但是, 即使在 0°C 条件下, 当牡蛎肉真正死亡以后, 或者其僵硬期过后, 自溶作用仍然发生, 这可能是冰藏保鲜牡蛎肉时发生汁液流失的原因。

(二) 热水提取液中多肽成份的变化

牡蛎热水提取液中含氮化合物是极其繁多的, 它们是牡蛎风味的主要来源。Itiro Takagi (1963a, 1963b) 分别测定了三种牡蛎 (*Magki*, *Common oyster*, *Ostrea laperousei*) 提取液中低分子量含氮成份。结果发现其含量有季节性变化, 并与牡蛎的风味好坏密切相关。

在本研究过程中, 将多肽组份分离时的凝胶层析液分成三组, 即: (1) 分子量为 <1000 MW, (2) 分子量 $1000\sim3000$ MW, (3) 分子量 >3000 MW。为了叙述上的方便, 上述多肽组份分别称为低分子量多肽 (<1000 MW)、中分子量多肽 ($1000\sim3000$ MW)、及高分子量多肽 (>3000 MW)。三种组份在未保藏的原料牡蛎肉的热热水提取液中的相对含量各为: (1) 组为 32%, (2) 组为 28%, (3) 组为 40%。说明原料牡蛎肉中以高分子量多肽占主要。经 0°C 及 30°C 保藏以后, 多肽组份相对含量的变化见图 2(A、B)。采用 0°C 及 30°C 是因为前者是冰藏保鲜的温度, 而后者可以认为是近似于室温。

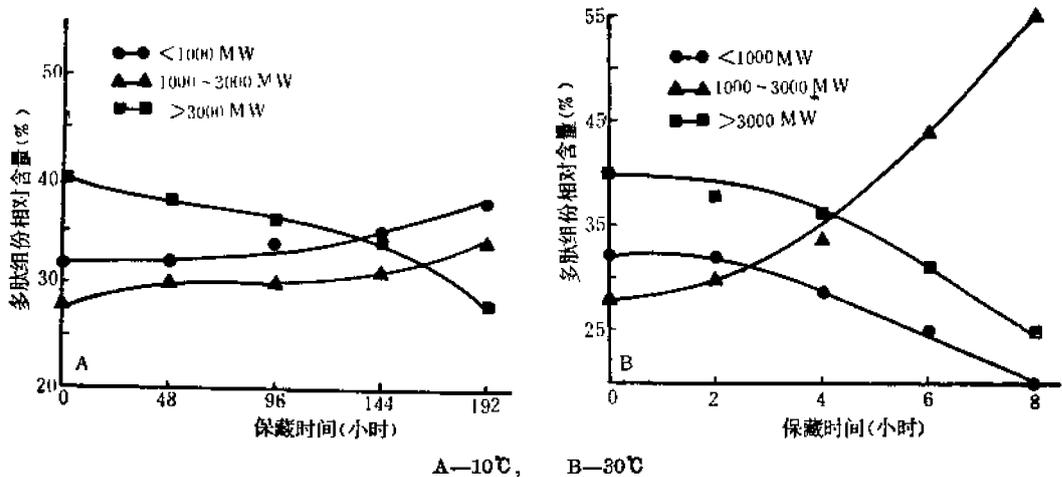


图 2 保藏过程多肽组份相对含量的变化

Fig. 2 The relative contents of peptide ingredients during the storage period

从图 2(A、B)可以看出, 贮藏过程牡蛎肉热水抽提液中多肽组份的相对含量发生了变化。高分子量多肽 (>3000 MW) 在两种温度条件下都发生下降, 而中分子量多肽 ($1000\sim3000$ MW) 在两种温度条件下都发生上升现象。低分子量多肽 (<1000 MW) 的相对含量在 0°C 时上升, 而在 30°C 时却下降。由于牡蛎热水提取液中的多肽是牡蛎体内发

生自溶作用时,大分子蛋白质受内切蛋白酶的水解而形成。与此同时,多肽受外切蛋白酶(如羧肽酶 A)的作用而生成游离氨基酸,生成的游离氨基酸有可能被微生物利用而生成挥发性盐基氮等成份。由于在 0°C 及 30°C 温度的贮藏过程中,分子量为 1000~3000MW 的多肽相对含量逐步上升。说明这一成份是自溶作用的主要产物。有人将胰蛋白酶添加到鳕鱼肌肉进行水解蛋白质。结果在其水解产物的可溶性成份中,分子量 <1000MW 和 >10000MW 的两种多肽随时间延长而减少,而分子量 1000~3000MW 的多肽却随时间延长而增加^[2],这与本文实验结果十分相似。由此推测引起牡蛎体内自溶作用的蛋白酶可能类似于胰蛋白酶。

牡蛎在保藏保鲜过程中,汁液流失率可达其重量的 20%^[11]。汁液流失与自溶作用有关。由于大分子蛋白质被降解,生成的较低分子量多肽随水分流动而流失,同时引起牡蛎肉弹性下降,这是引起保藏保鲜牡蛎品质下降的原因。由于在自溶作用过程中,分子量为 1000~3000MW 的多肽组份明显增加,若能有效地控制产生该多肽的酶类的作用,将能够减少保藏过程中牡蛎品质的下降。

(三) 贮藏过程 pH 值和 VBN 含量的变化

实验结果见图 3(A-E)。由图 3 可以看出,褶牡蛎在上述五种温度条件中,其 pH 值随时间而逐渐下降,没有出现类似鱼类先升后降的现象^[16]。VBN 随贮藏时间延长而逐渐上升,与 pH 值的变化呈明显的负相关性。两者的变化速率受温度的影响是明显的。

pH 值作为牡蛎的鲜度指标已有不少报导。对太平洋牡蛎的研究表明,原料牡蛎肉的 pH 值为 6.4,冰藏保鲜允许最低的 pH 值为 6.0, pH 5.8~6.0 即视为腐败。新鲜牡蛎肉冻结贮藏 12 个月后其 pH 值变化不大(Fredrick, W.wheaton, 1985)。在本文所做的实验中,虽然取样的具体时间不同,但新鲜褶牡蛎肉的 pH 值却都保持在 6.4。这一情况对于 pH 值作为其鲜度指标是十分有益的。

经统计方法计算,五种温度条件下褶牡蛎肉 pH 值的变化与时间的关系如下:

$$\begin{aligned} 0^{\circ}\text{C}: & y = -0.0015x + 6.44 & r = 0.925 \\ 10^{\circ}\text{C}: & y = -0.0135x + 6.49 & r = 0.992 \\ 20^{\circ}\text{C}: & y = -0.0923x + 6.58 & r = 0.992 \\ 25^{\circ}\text{C}: & y = -0.1019x + 6.49 & r = 0.992 \\ 30^{\circ}\text{C}: & y = -0.1058x + 6.48 & r = 0.972 \end{aligned}$$

在以上列 5 式中, x 为时间(小时); y 为 VBN(mgN%)。从上面公式可以看出,在 0°C~30°C 范围内, pH 值与时间呈很好的线性关系。通过比较方程式的斜率可知,在 0~20°C 范围内, $Q_{10} = 7 \sim 9$ 。也就是说,温度每升高 10°C, pH 值的变化速度增加 7~9 倍。而在 20~30°C 范围, $Q_{10} = 2$ 。也就是说,温度每升高 10°C, pH 值的变化速度增加 2 倍。因此,在 20°C 以下的温度,温度变化对褶牡蛎肉的 pH 值具有重大的影响,而在 20°C 以上时,这种影响就显得小得多。

牡蛎是高糖原贝类生物,其含糖量可高达 5%^[15]。即使在 -3°C 条件下贮藏,糖原含量也会逐渐降低^[8]。糖原在无氧条件下(牡蛎死亡或开壳后无法呼吸)经酵解代谢而生成乳酸,这是牡蛎肉 pH 值降低的原因之一。牡蛎所污染的微生物中,有乳酸杆菌、酵母菌

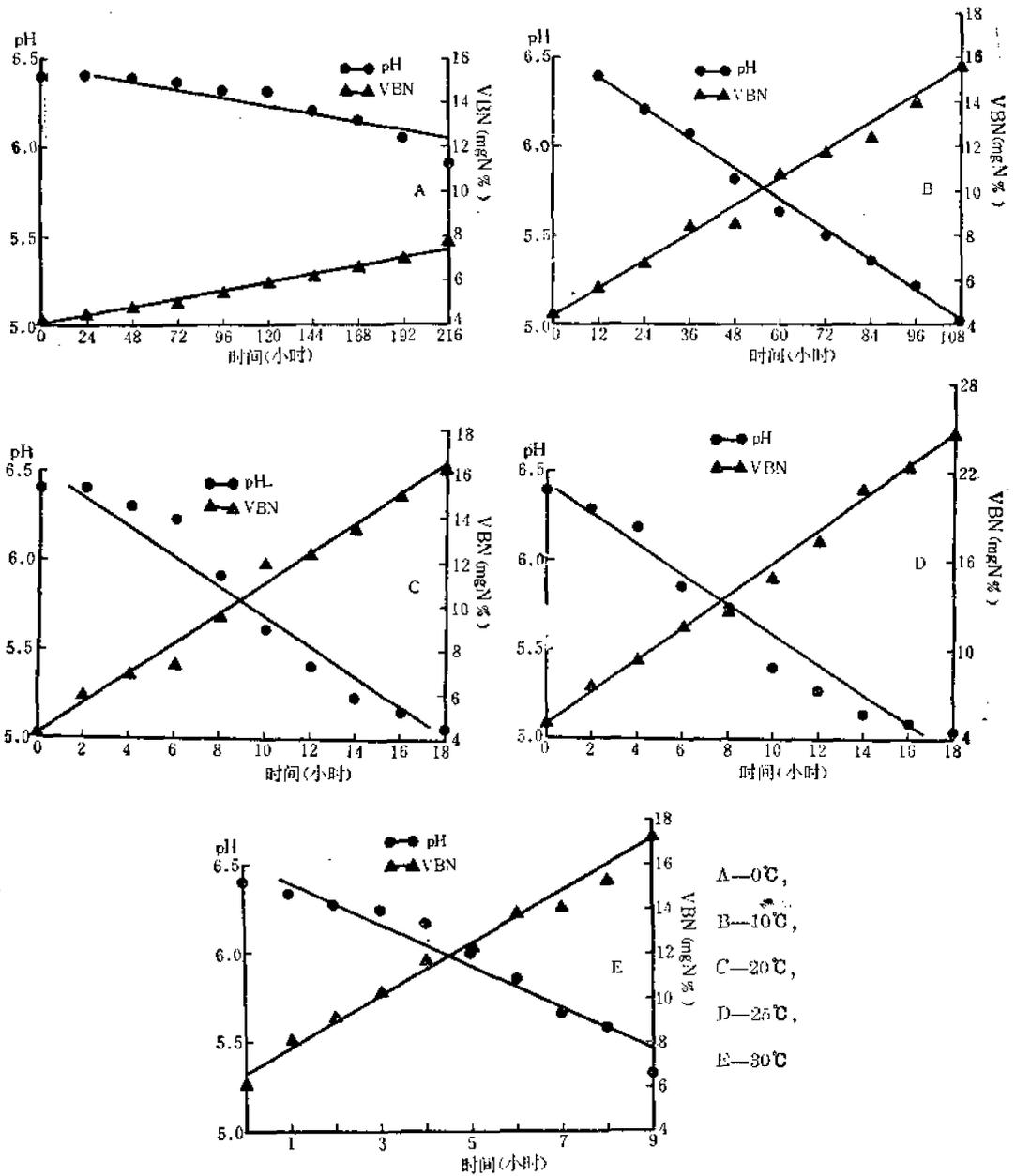


图3 贮藏过程 pH 值和 VBN 含量的变化

Fig. 3 The change of pH values and VBN contents during the storage period

等产酸菌^[14],这也是引起 pH 值下降的另一原因。

VBN 含量与 pH 值的变化呈相反趋势,也即 VBN 含量随时间而增加。经统计方法处理,VBN 生成量与时间的关系如下:

$$0^{\circ}\text{C}: y = 0.0145x + 4.06 \quad r = 0.993$$

$$10^{\circ}\text{C}: y = 0.2020x + 4.56 \quad r = 0.988$$

$$20^{\circ}\text{C}, y = 0.6845x + 4.17 \quad r = 0.988$$

$$25^{\circ}\text{C}, y = 1.012x + 5.17 \quad r = 0.987$$

$$30^{\circ}\text{C}, y = 1.140x + 6.71 \quad r = 0.988$$

在上列5式中, x 为时间(小时); y 为 VBN(mgN%)。

根据 VBN 的生成速率常数 k , 经取其 $\log k$, 并对 $\frac{1}{T} \times 10^3$ 作阿累乌尼斯图, 得表 1 和

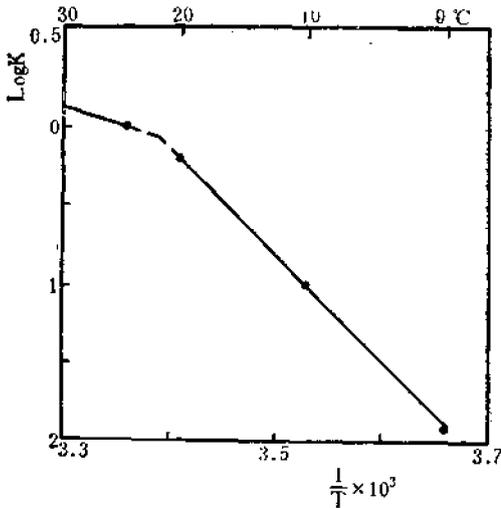


图 4 VBN 速率常数 k 的阿累乌尼斯图

Fig. 4 The Arrhenius plot for constants k of VBN rate

图 4。

从图 4 可以看出, 在 $20 \sim 25^{\circ}\text{C}$ 之间有一折点。经计算, 折点发生在 22°C 之处。由于存在着折点, 作图得出两条直线, 它们的方程式为:

$$y = -2.1167x + 7.292 \quad (22 \sim 30^{\circ}\text{C})$$

$$y = -6.9275x + 23.469 \quad (0 \sim 22^{\circ}\text{C})$$

上两式中, x 为 $\frac{1}{T} \times 10^3$, y 为 $\log k$ 。

产生这一折点的原因是由于在不同的温度范围, 牡蛎的腐败由不同的微生物引起的缘故。一般来说, 一种微生物都具有一个最适的生长温度。在此温度范围, 繁殖速率与温度的关系也具有上述关系。当超过或低于此温度范围时, 繁殖速率以对数差减少。邱思魁(1982)研究

了台湾剑虾 (*Parapenaopsis hardwickii*)^[6]、及红虾 (*Solenocera prominentis*)^[7] 也出现类似的结果。但在该图中的转折点分别发生在 17°C 和 33°C 处。可以有根据地推测, 褶牡蛎肉所产生的折点与上述台湾剑虾及红虾的不同, 是由于生物种类及所污染的微生物的差异所致。

表 1 温度及相对应的 VBN 速率常数 k

Table 1 The temperatures and related to constants k of VBN rate

温 度 (T)	$\frac{1}{T} \times 10^3$	k	$\log k$
273K (0°C)	3.66	0.0125	-1.903
288K (10°C)	3.53	0.1040	-0.983
293K (20°C)	3.41	0.6750	-0.171
298K (25°C)	3.36	1.0270	-0.012
303K (30°C)	3.30	1.3860	0.142

参 考 文 献

- [1] 江善宗等, 1979. 牡蛎之冻结贮藏研究 I. 减轻冻结牡蛎在解冻时滴液流失试验. 台湾水产加工研究报告, (9):122-132.

- [2] 邢诒鉴译(原作者佚),1981. 酶技术在肉和鱼加工中的应用。上海食品科技,(4):25—28,48。
- [3] 任维栋等,1987. 酶解明胶制备多肽化合物。食品科学,(5):30—32
- [4] 张龙翔等,1981. 生化实验方法和技术,155—164. 人民教育出版社出版(京)。
- [5] 张 玺、楼子康,1959. 牡 蛎,8—17,124—125. 科学出版社出版(京)。
- [6] 邱思魁,1982_a. 温度对剑虾冻结原料虾肉质分解之影响及其动力学预估。台湾水产学会刊,9(12):72—80。
- [7] ———,1982_b. 温度对红虾肉质分解之影响及其动力学预估。台湾水产学会刊,9(12):81—91。
- [8] 吴永沛,1989. 微冻条件下几种保鲜剂对褶牡蛎的保鲜效果。食品科学,(11):54—57。
- [9] 菅原浩、副岛正美(张 旭译),1981. 蛋白质的定量法,108—151. 农业出版社出版(京)。
- [10] Coor, D. W. *et al.*, 1988. Liquid loss in shucked oyster (*Crassostrea virginica*) meats during ice storage. *J. Food Science*, 53(6): 1671—1678.
- [11] Fredrick, W. Wheaton, 1985. *Processing aquatic food products*, 258—259. Public. New York.
- [12] Hideaki Manita, 1969. Aseptic autolysis of mackerel muscle. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 35 (10): 1027—1033.
- [13] Itiro, Takagi, 1963_a. Studies on muscle of aquatic animals—XXXV. Seasonal variation of chemical constituents and extractive nitrogens in some species of shellfish. *Ibid*, 29(1): 66—70.
- [14] ———, 1963_b. Studies on muscle of aquatic animals —XXXVI. Change in chemical components in oyster during storage in relation to the taste. *Ibid*, 29(1): 71—74.
- [15] Wu Tze-hua *et al.*, 1989. The influence of storing temperatures on the lowering in freshness of fish. *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Nagasaki University*, No. 65.

EFFECT OF TEMPERATURE ON QUALITY OF OYSTER (*OSTREA PLICATULA*)

Wu Yongpei

(Xiamen Fisheries College, 361021)

ABSTRACT In this paper the changes of Total Soluble Nitrogen (TSN) in 5% TCA extracts, Folin-Phenol Positive Substance, Free Amino Nitrogen (FAAN), pH value and Volatile Basic Nitrogen (VBN) were studied for the quality of oyster (*Ostrea plicatula*) stored under different temperatures. Moreover, the peptides in hot water extract were separated, and the molecular weights of them were measured. The experimental results showed that TSN values in 5% TCA solution and Folin-Phenol positive substance increased initially, then decreased afterwards. The relative content of peptides with molecular weight ranging from 1000—3000 MW increased as the storage period at 0°C or 30°C was prolonged. The pH value descended whereas the VBN content ascended with the prolongation of the storage time. By using Arrhenius plot's principle, the change of VBN content was further studied, showing that there was an inflection point on the plot at the temperature of 22°C

KEYWORDS peptide, pH value, VBN