

## 基于高温非酶途径的秘鲁鱿鱼内源性甲醛的控制

朱军莉, 励建荣\*, 苗林林, 李学鹏

(浙江工商大学食品与生物工程学院, 浙江省食品安全重点实验室, 浙江 杭州 310035)

**摘要:**以甲醛(FA)为指标筛选确定了秘鲁鱿鱼抑制剂种类,分析了抑制剂作用特性,采用单因素和正交试验设计优化了FA抑制剂组合和作用浓度。结果表明,柠檬酸(CA)、CaCl<sub>2</sub>、MgCl<sub>2</sub>、茶多酚(TP)、桑叶黄酮(MF)能有效抑制秘鲁鱿鱼肌肉和上清液高温FA形成,Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>、Fe<sup>2+</sup>+Asc、Fe<sup>2+</sup>+Cys促进鱿鱼FA的生成。低浓度CA、CaCl<sub>2</sub>和TP能减少鱿鱼上清90%以上的FA,最佳抑制浓度分别为10 mmol/L、10 mmol/L和0.1%。抑制剂CA、CaCl<sub>2</sub>、MgCl<sub>2</sub>能显著减少鱿鱼高温氧化三甲胺(TMAO)分解生成FA、二甲胺(DMA)和三甲胺(TMA),而TP和MF能有效结合鱿鱼高温生成的FA。通过正交试验确定了最佳FA抑制剂组,即为0.04% TP、10 mmol/L CaCl<sub>2</sub>。该复合抑制剂能显著降低鱿鱼片中的FA和DMA含量,对蛋白含量无显著影响。结果表明,复合抑制剂对鱿鱼等水产品加工中FA控制具有一定的应用前景。

**关键词:**鱿鱼; 甲醛; 非酶途径; 抑制剂; 茶多酚

**中图分类号:**TS 254.1; S 917

**文献标识码:**A

随着海洋环境的变化和捕捞资源的衰退,头足类、虾蟹类及低值鱼类已成为我国水产品加工和出口创汇的主要品种。秘鲁鱿鱼(*Dosidicus gigas*)是美洲大赤鱿的俗称,具有体形大、生命周期短、资源丰富、营养价值高的特点,是鱿鱼丝生成加工的重要原料。然而,近年来频频报道鱿鱼丝等制品中甲醛(formaldehyde, FA)含量较高问题,成为产品销售和出口贸易的主要技术壁垒,严重影响了鱿鱼及水产加工产业的发展。

目前,国外对海产品内源性FA生成机理进行了大量报道,认为主要有两条生成途径:一为酶催化分解,二为非酶途径生成。研究主要集中在鳕鱼科等冷冻储藏过程中酶催化生成FA<sup>[1-3]</sup>,而对软体动物的FA生成机理报道较少<sup>[4]</sup>。课题组对秘鲁鱿鱼内源性FA的形成进行了系列研究,跟踪了秘鲁鱿鱼丝加工工艺FA的动态变化<sup>[5]</sup>,并证明了秘鲁鱿鱼高温FA产生的非酶机理中存在(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>N·自由基反应<sup>[6]</sup>。Odziejaska等<sup>[7]</sup>报道蒸煮后的阿根廷滑柔鱼冷冻胴体样品FA和

DMA(dimethylamine)生成明显,而加热的波罗的海鳕(*Iuex argentinus*)DMA和FA只有微量的改变。180℃高温蒸煮和焙烤的鳕鱼样品FA含量明显下降<sup>[8]</sup>。Fu等<sup>[9]</sup>也发现了热处理工艺促进鱿鱼丝FA生成,其中温度是关键因素。可见,不同于鳕鱼科的酶催化生成途径,高温热分解途径是鱿鱼制品内源性FA生成的重要来源。

目前,针对内源性FA主要来源的非酶途径仍没有有效的控制方法,本研究基于秘鲁鱿鱼FA形成的高温非酶途径,拟筛选和优化有效的复合抑制剂,有效阻断秘鲁鱿鱼高温FA生成,并探讨抑制剂的作用途径,旨从生成机理层面实现控制内源性FA的目的,为秘鲁鱿鱼等水产加工业提出切实可行的FA控制技术提供基础。

### 1 材料与amp;方法

#### 1.1 材料

试剂 标准TMAO购于Sigma公司,半胱氨酸(Cys)和抗坏血酸(Asc)购于上海生物工程

收稿日期:2009-11-09 修回日期:2009-12-08

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2007AA091806);浙江省自然科学基金项目(Y3090246);浙江省教育厅科研项目(Z09-11)

通讯作者:励建荣, Tel:0571-88056656, E-mail:lijianrong@zjgsu.edu.cn

公司,TP(纯度60%)购于浙江大学茶叶研究所, MF为本实验室自制,标准FA溶液购于国家环境保护总局标准样品研究所;TMA和DMA标准品、KOH、甲苯、苦味酸、二硫化碳及添加物质等为分析纯,购于华东医药公司和汇普化工公司。

**仪器** 紫外分光光度计 UV-2550: 岛津 Shimadzu 公司; Foss Kjeltac 2100 全自动凯氏定氮仪: 丹麦 Foss 公司; 质构仪 TA-XT2i: 英国 Stable Micro System 公司; 色差仪 CR-400: CHROMA MOETER。

## 1.2 样品处理

**原料处理** 将秘鲁鱿鱼从冰箱取出,室温解冻,去皮去内脏,将鱼肉切成小块,捣碎,取碎秘鲁鱿鱼肉,以1:2(G:V)与Tris-乙酸缓冲液(pH 7.0)混合,匀浆,离心(3 000 × g, 12 min),取上清液,沉淀再以1:1缓冲液混合,匀浆,重复两次,上清液混合,为提取的秘鲁鱿鱼上清液,4 °C冷藏备用。

## 1.3 添加物质对FA生成的影响

**抑制剂筛选** 将氨基酸、还原剂、氧化剂、金属离子、螯合剂、酸性物质、糖类、植物提取物等9类25种物质按一定的浓度配制,其中TP、MF、没食子酸试剂现配现用,与碎鱿鱼肉和上清液以等体积混合(G:V),以加入蒸馏水的样品作为对照,100 °C处理15 min,冷却,1 mL 7.5%三氯乙酸终止反应,测定处理后样品FA含量变化。

**复合抑制剂的优化** CA、Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>单因素作用浓度为0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、10.0、50.0 mmol/L,TP和MF为0%、0.05%、0.1%、0.5%、1.0%,与鱿鱼上清液混合,100 °C处理15 min,冷却,TCA终止反应,测定FA含量。经过单因素实验后,确定TP(A)、CaCl<sub>2</sub>(B)和CA(C)设计三因素三水平的组合实验,采用L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交试验设计,测定鱿鱼上清液FA和DMA含量。

**抑制剂作用特性** 将抑制剂在最佳抑制浓度下分别与鱿鱼上清液在100 °C作用15 min,测定反应前后FA、DMA、TMA和TMAO含量。同时与标准FA(5 μg/mL)以等体积(v:v)混合,以水处理作为对照,在60 °C和100 °C作用15 min,测定FA含量。

**复合抑制剂的验证试验** 将鱿鱼肌肉解冻,切片为3~4 mm,将鱿鱼片直接蒸煮为对照,并分别与水、复合抑制剂在4 °C条件浸泡12 h,蒸

煮(100 °C, 10 min),测定3组鱿鱼片的FA和DMA、蛋白质、质构和色差。

## 1.4 FA、DMA、TMA和TMAO测定

FA以测定自由型FA,用Nash试剂测定,在波长413 nm比色;DMA测定方法采用本实验室建立的气相色谱(GC)法<sup>[10]</sup>,取2 mL三氯乙酸提取液,定容至5 mL,加入2 mL 65% KOH,对甲苯磺酰氯-甲苯溶液2 mL,60 °C水浴加热1h,取出冰浴冷却,振荡3 min后,GC-FID分析;苦味酸法测定TMA,在波长410 nm比色;TMAO测定用1% TiCl<sub>3</sub> 80 °C 90 s将TMAO还原为TMA,测定TMA含量,TMAO表示为还原后TMA减还原前TMA,再计算为TMAO的量。

## 1.5 数据处理

所有试验均重复3次,结果表达为均值±标准偏差。采用SAS软件对数据处理,试验数据采用ANOVA进行多重比较分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 秘鲁鱿鱼高温FA抑制剂的筛选

为了有效控制高温加工过程鱿鱼制品的FA含量,分析了25种物质对秘鲁鱿鱼肉和上清液高温FA生成的影响(表1),结果显示,化学物质对鱿鱼肉和上清液FA的影响表现相似,上清液FA变化更明显。TMAO、Fe<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>+Cys、Fe<sup>2+</sup>+Asc、Na<sub>2</sub>S、Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>、碘乙酸和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>具有促进FA生成的趋势(P<0.05),其中Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>最明显,Fe<sup>2+</sup>+Cys、Fe<sup>2+</sup>+Asc次之。Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>能强烈地促进鱿鱼FA的生成,肌肉和上清液分别增加27倍和42倍,Na<sub>2</sub>S也表现微弱的促进作用,而同类含硫化合物Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>却对FA含量没有影响。同样,含Cys和Asc的Fe<sup>2+</sup>均能显著促进FA的生成(P<0.05),而单一Asc促进作用较小,Cys有降低FA的作用,可见Fe<sup>2+</sup>对高温FA分解反应起重要作用。碘乙酸、乙酸、磷酸等酸性物质和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可能促进FA的分解反应。而葡萄糖、乳糖、蔗糖糖类,Na盐,Asc、Arg,EDTA,Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>物质对鱿鱼FA生成无影响。TP、MF、没食子酸、CA、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Cys具有降低鱿鱼FA含量的作用(P<0.05),其中TP、Ca<sup>2+</sup>和CA抑制效果明显。TP、MF、没食子酸均为多酚类物质,可以结合FA。

表 1 添加物质对鱿鱼肌肉高温 FA 生成的影响  
Tab.1 Effects of different additives on FA formation in the squid at high temperature

添加剂 additives	浓度 (mmol/L) concentration	FA 含量(%)FA content		添加剂 additives	浓度 (mmol/L) concentration	FA 含量(%)FA content	
		肌肉 muscle	上清液 supernatant			肌肉 muscle	上清液 supernatant
H <sub>2</sub> O	-	1.00 <sup>j</sup>	1.00 <sup>lm</sup>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	50	1.54 <sup>g</sup>	2.47 <sup>f</sup>
TMAO	20	1.44 <sup>g</sup>	1.71 <sup>h</sup>	Ca <sup>2+</sup>	10	0.22 <sup>no</sup>	0.14 <sup>p</sup>
asc	2	1.05 <sup>ij</sup>	1.30 <sup>ij</sup>	Mg <sup>2+</sup>	10	0.41 <sup>ml</sup>	0.39 <sup>o</sup>
cys	2	0.70 <sup>k</sup>	0.83 <sup>n</sup>	Na <sup>+</sup>	10	1.01 <sup>j</sup>	1.05 <sup>km</sup>
arg	2	1.15 <sup>hi</sup>	1.16 <sup>ijkl</sup>	CA	10	0.30 <sup>mn</sup>	0.13 <sup>op</sup>
Fe <sup>2+</sup>	0.2	3.21 <sup>d</sup>	3.58 <sup>e</sup>	AA	10	1.19 <sup>h</sup>	1.31 <sup>ij</sup>
Fe <sup>2+</sup> + asc	0.2 + 2	14.24 <sup>b</sup>	22.06 <sup>c</sup>	PA	10	1.22 <sup>h</sup>	1.26 <sup>jk</sup>
Fe <sup>2+</sup> + cys	0.2 + 2	14.02 <sup>c</sup>	22.79 <sup>b</sup>	glucose	10	0.98 <sup>j</sup>	0.91 <sup>nm</sup>
EDTA	50	1.04 <sup>ij</sup>	1.04 <sup>km</sup>	saccharose	10	1.04 <sup>ij</sup>	1.37 <sup>i</sup>
Na <sub>2</sub> S	10	1.68 <sup>f</sup>	4.84 <sup>d</sup>	lactose	10	1.01 <sup>j</sup>	1.14 <sup>jk</sup>
Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	10	27.26 <sup>a</sup>	42.80 <sup>a</sup>	MF	0.05%	0.43 <sup>l</sup>	0.25 <sup>o</sup>
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10	0.97 <sup>i</sup>	1.18 <sup>ijkl</sup>	TP	0.1%	0.15 <sup>o</sup>	0.05 <sup>p</sup>
IA	10	2.26 <sup>e</sup>	2.18 <sup>g</sup>	GA	10	0.40 <sup>lm</sup>	0.20 <sup>p</sup>

注:不同字母间表示差异显著(P<0.05),下同。IA 为碘乙酸,AA 为乙酸,PA 为磷酸,GA 为没食子酸。  
Notes: different letters show significant difference (P<0.05), the same below. IA is idoacetic acid, AA is phosphoric acid, PA is acetic acid, GA is gallic acid.

2.2 抑制剂对鱿鱼 FA 含量的影响

将 CA、CaCl<sub>2</sub>、MgCl<sub>2</sub>、TP、MF 5 种物质为鱿鱼 FA 抑制剂,优化了单一抑制剂的最佳作用浓度(图 1)。结果显示,5 种抑制剂低浓度均能有效减少高温作用的鱿鱼 FA 含量(P<0.05),其中 TP 和 CA 效果最明显,CaCl<sub>2</sub> 次之,MP 和 MgCl<sub>2</sub> 较差。低浓度的 CA 表现很强的抑制活性,随着浓度增加,抑制效果逐步增强,高于 10 mmol/L 抑制率达到 98%。CaCl<sub>2</sub> 也具有较好的抑制作用,高于 10 mmol/L 抑制率达到 92%。Mg<sup>2+</sup> 抑制作用明显低于 CA 和 Ca<sup>2+</sup>,低浓度的 Mg<sup>2+</sup> 无促进作用,随着浓度的增加,抑制作用逐步增强,

50 mmol/L 时抑制率达到 58%。TP 和 MF 表现良好的 FA 抑制效果,其中 TP 优于 MF,0.5% 作用浓度时 FA 减少率分别达到 97% 和 80%。试验中发现,由于 TP 和 MF 均为植物多酚类,其溶解性随浓度增加而下降,反应液颜色变深,影响鱼肉的色泽,特别是 MF。可见,5 种 FA 抑制剂在低浓度下能有效的减少鱿鱼 FA 含量,其中 CA、TP 和 CaCl<sub>2</sub> 效果较佳,MgCl<sub>2</sub> 和 MF 次之。CA、CaCl<sub>2</sub>、MgCl<sub>2</sub>、TP、MF 的最佳作用浓度分别为 10.0 mmol/L、10.0 mmol/L、50.0 mmol/L、0.1%、0.05%。

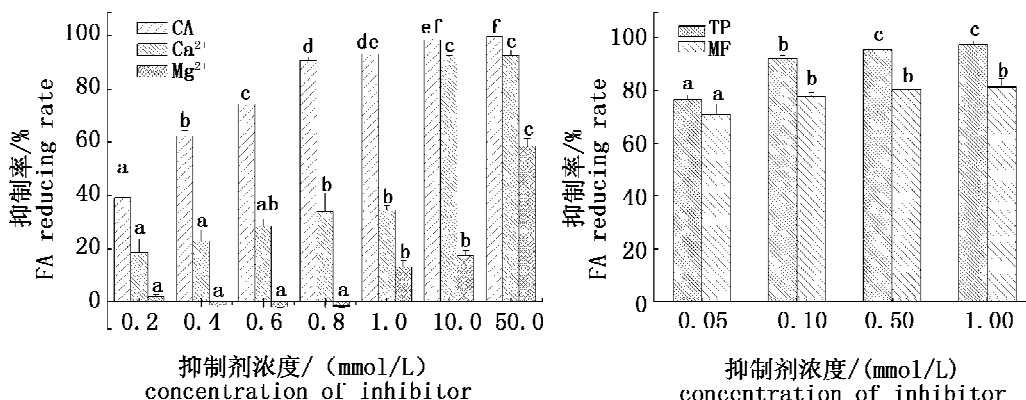


图 1 FA 抑制剂的最佳作用浓度优化

不同字母间表示差异显著(P<0.05),下同。

Fig.1 The optimal concentration of five kinds of inhibitors in the supernatant of squid

Diferent letters show significant difference (P<0.05), the same below.

### 2.3 抑制剂的作用特性

抑制剂对鱿鱼上清液 TMAO 分解的影响  
 研究分析了高温过程 5 种抑制剂对鱿鱼上清液 FA、DMA、TMA 和 TMAO 含量的影响(图 2), 结果显示, 抑制剂能有效的降低上清液中 FA 含量 ( $P < 0.05$ ), 其中 CA、TP 和  $Ca^{2+}$  效果较好,  $Mg^{2+}$  和 MF 次之, 与单因素结果一致。抑制剂 CA、 $Ca^{2+}$  和  $Mg^{2+}$  能显著降低上清液中 DMA 含量

( $P < 0.05$ ), 减少率达到 75.2% 以上, 而 TP 和 MF 作用微弱。抑制剂还能减少 TMA 的生成 ( $P < 0.05$ ), 其中 CA 和  $Ca^{2+}$  抑制效果达到了 22.6% 以上, 而  $Mg^{2+}$  和 TP 的减少率分别为 16.6% 和 11.2%, MF 最差。相应的, CA、 $Ca^{2+}$  和  $Mg^{2+}$  能延缓 TMAO 的热分解, 效果显著 ( $P < 0.05$ ), CA 和  $Ca^{2+}$  抑制作用分别为 18.6% 和 10.8%, TP 和 MF 对 TMAO 热分解影响不显著。

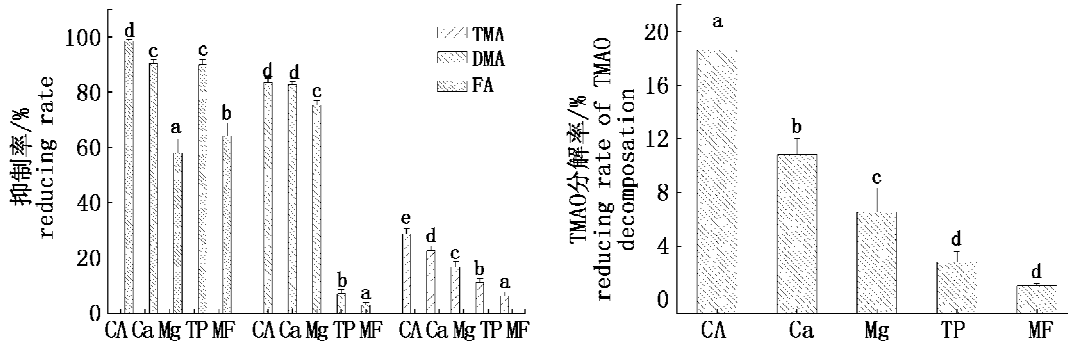


图 2 抑制剂对高温鱿鱼 FA、DMA、TMA 生成和 TMAO 分解的影响

Fig. 2 Effect of inhibitors on TMAO decomposition to FA, DMA, and TMA at high temperature

抑制剂对 FA 结合的作用 进一步分析了高温条件下最佳作用浓度抑制剂对标准 FA 溶液含量的影响(图 3), 结果显示, TP 和 MF 对 FA 溶液表现明显的结合作用, 其中 TP 效果最佳, MF 次之, CA 有微弱的作用,  $Ca^{2+}$  和  $Mg^{2+}$  无影响。温度可以提高 TP 和 MF 捕获 FA 作用, 相对于 60 °C, 100 °C 时 TP 结合 FA 作用从 56.6% 增强到 81.7%。结果表明, 高温有效提高抑制剂 TP 和 MF 结合 FA 的能力。

### 2.4 抑制剂 TP、CaCl<sub>2</sub> 和 CA 三因素正交组合试验

3 种物质 TP、CaCl<sub>2</sub> 和 CA 在鱿鱼高温中具有良好的抑制作用, 进行了三因素三水平的正交优化(表 2), 结果显示, TP、CaCl<sub>2</sub> 和 CA 9 组对鱿鱼上清液高温 FA 和 DMA 含量均有良好的抑制作用, 但是各组间 FA 和 DMA 的 P 值均大于 0.05, 说明 3 种抑制剂不同组合均无显著性差异。方差分析结果可知, 抑制剂中 CA 对鱿鱼上清液 FA 和 DMA 的影响相对较大, 反应体系中 CA 存在时 FA 含量较高。俞其林等<sup>[11]</sup>显示 TP 与 FA 溶液作用 pH 在 4~10 时, 随着 pH 值增大, FA 减少量显著增加, 说明在酸性条件下不利于 TP 与 FA 的结合, 因此含有 CA 的复合抑制剂 FA 结合率较低。第 1 组仅添加 0.2% 的 TP, FA 含量显著减少, 而 DMA 含量高于其它组, 可能是 TP 主要捕获 FA, 而对高温 TMAO 非酶分解途径影响不大。而 TP 和 CaCl<sub>2</sub> 组合在 FA 和 DMA 抑制效果均最好, 考虑 TP 自身颜色对鱿鱼制品色泽的影响, 因此选择低浓度 TP 和钙离子的组合, 即 0.04% TP 和 10 mmol/L CaCl<sub>2</sub> 组合确定为最佳组。

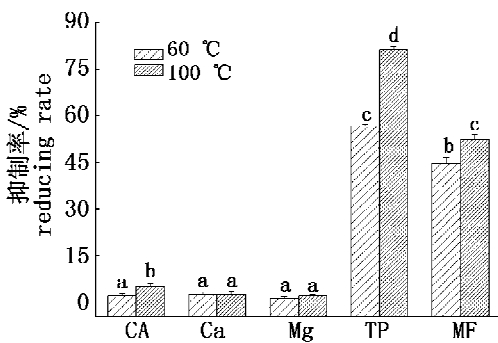


图 3 高温条件下抑制剂对 FA 标准溶液的结合作用

Fig. 3 Reactivity of the inhibitors with FA standard solution at high temperature

表 2 正交实验设计与结果  
Tab. 2 Orthogonal experiment design and result

实验号 ordinal	TP (%)	CaCl <sub>2</sub> (mmol/L)	CA (mmol/L)	FA	DMA
1	1(0.02%)	1(0)	1(0)	1.66	13.29
2	1	2(5)	2(5)	5.16	5.83
3	1	3(10)	3(10)	1.64	7.02
4	2(0.04%)	1	2	3.29	6.57
5	2	2	3	4.28	8.00
6	2	3	1	0.47	7.17
7	3(0.06%)	1	3	3.21	7.13
8	3	2	1	1.17	7.18
9	3	3	2	5.64	6.17
FA	K <sub>1</sub>	8.46	8.16	3.3	T=26.53
	K <sub>2</sub>	8.04	10.61	14.09	
	K <sub>3</sub>	10.02	7.75	9.13	
	R	0.66	0.96	3.60	
DMA	K <sub>1</sub>	26.14	26.99	27.64	T=68.36
	K <sub>2</sub>	21.74	21.01	18.57	
	K <sub>3</sub>	20.48	20.36	22.15	
	R	1.88	2.21	3.02	

### 2.5 复合抑制剂在鱿鱼片中的验证

直接切片、水和复合抑制剂浸泡的鱿鱼片蒸煮后的 FA 和 DMA 含量、蛋白质含量、质构及色差变化的实验结果显示,0.04% TP 和 10 mmol/CaCl<sub>2</sub> 处理组能明显降低 FA 和 DMA 含量,FA 含量从 12.09 mg/kg 下降到 2.81 mg/kg, DMA 含量从 70.65 mg/kg 下降到 32.60 mg/kg,表明复合抑制剂具有降低蒸煮过程 FA 和 DMA 的生成。而水浸泡组也可以减少部分的 FA 和 DMA 含量,由于鱿鱼体内 FA 和二甲胺盐可以溶解水。

并发现 0.04% TP 和 10 mmol/CaCl<sub>2</sub> 复合抑制剂浸泡后鱿鱼片中蛋白含量与对照差异不显著,而水浸泡组蛋白含量显著降低,可能是由于复合抑制剂 TP 能与蛋白质进行络合,使蛋白质结构相对稳定<sup>[12]</sup>。复合抑制剂处理组能显著增加鱿鱼片的硬度( $P < 0.05$ ),而弹性和咀嚼性无显著影响,鱿鱼片明度  $L^*$  值和红度  $a^*$  值有显著差异( $P < 0.05$ ),而黄度  $b^*$  值 3 组相似。结果显示,复合抑制剂能有效降低 FA 和 DMA 含量,而对鱿鱼片硬度和色差有一定影响。

表 3 复合 FA 抑制剂对蒸煮鱿鱼片蛋白含量、质构和色差的影响  
Tab. 3 Effects of compound inhibitors on the content of FA, DMA and protein, texture and colour of cooked squid slice

处理组 treated group	FA (mg/kg)	DMA (mg/kg)	蛋白含量 (%) protein content	质构特性 texture			色差 color		
				硬度 hardness	弹性 springness	咀嚼性 chewiness	$L^*$	$a^*$	$b^*$
对照 control	12.19 <sup>a</sup>	72.06 <sup>a</sup>	38.71 <sup>a</sup>	178.34 <sup>b</sup>	2.03	242.86	84.43 <sup>a</sup>	-1.20 <sup>b</sup>	15.82
水浸泡 soak in water	11.78 <sup>a</sup>	53.65 <sup>b</sup>	36.49 <sup>b</sup>	184.01 <sup>b</sup>	1.93	251.70	85.36 <sup>a</sup>	-1.05 <sup>b</sup>	15.20
抑制剂浸泡 soak in inhibitor	2.83 <sup>b</sup>	33.52 <sup>c</sup>	37.43 <sup>ab</sup>	256.67 <sup>a</sup>	1.92	243.28	79.88 <sup>b</sup>	0.37 <sup>a</sup>	15.79

### 3 讨论

我国已成为水产品生产大国,但是水产品内源性 FA 问题使鱿鱼制品产业受到了严重的冲击。解决海产品 FA 问题,尤其是有效的控制鱿

鱼 FA 含量已成为迫切需要解决的难题。本试验针对鱿鱼内源性 FA 的主要来源于高温非酶途径,筛选了 5 种良好的 FA 抑制剂,正交优化获得了一种有效的复合抑制剂,初步阐明了抑制剂的作用机制。

添加物对鱿鱼肉和上清液 FA 含量的影响相似,上清液更显著。 $\text{Na}_2\text{SO}_3$  和  $\text{Fe}^{2+}$  能明显促进鱿鱼高温 FA 生成反应, $\text{Na}_2\text{SO}_3$  促进作用比  $\text{Fe}^{2+} + \text{Cys}$  和  $\text{Fe}^{2+} + \text{Asc}$  更高。与  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  比较, $\text{Na}_2\text{SO}_3$  具有很强的还原性,主要作为食品加工的漂白剂和防腐剂。研究结果显示,还原性物质 Cys 和 Asc 作用效果不显著,说明还原力可能不是激活 FA 生成的主要因素。Spinelli 等<sup>[13]</sup> 研究还原性离子  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Sn}^{2+}$  和  $\text{SO}_2$  能促进 TMAO 分解为 DMA,因此,与  $\text{SO}_2$  类似, $\text{SO}_3^{2-}$  (含  $\text{S}^{4+}$ ) 可能参与 TMAO 脱甲基反应<sup>[13]</sup>。Kimura 等<sup>[2]</sup> 报道存在还原性因子有效提高  $\text{Fe}^{2+}$  的作用,在 TMAOase 催化过程中  $\text{Fe}^{2+}$  在 TMAO 脱甲基过程起主要作用。可见, $\text{Fe}^{2+}$  在鱿鱼高温 FA 生成中起重要作用,Cys 和 Asc 的作用可能是维持  $\text{Fe}^{2+}$  活化形式<sup>[2]</sup>。Cys 能抑制鱿鱼体系 FA 含量,可能与 FA 结合有关,已报道 Cys 具有结合香菇中内源性 FA<sup>[14]</sup>。

本研究主要对能有效降低鱿鱼中内源性 FA 含量的抑制剂进行了深入分析。5 种 FA 抑制剂高温过程对鱿鱼上清液 TMAO 热分解作用和 FA 溶液捕获作用的差异,表明抑制剂具有两种不同的 FA 抑制特性。 $\text{CA}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  通过抑制鱿鱼上清液中 TMAO 的热分解反应,减少产物 FA、DMA 和 TMA 的生成,从而降低鱿鱼中的 FA 含量,其中 CA 抑制效果最好, $\text{Ca}^{2+}$  次之, $\text{Mg}^{2+}$  较差。而 TP 和 MF 对上清液中 TMAO 热分解无显著影响,减少 DMA 和 TMA 含量程度明显弱于  $\text{CA}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  作用,并且能显著降低标准 FA 含量,说明 TP 和 MF 主要通过捕获上清液中积累的产物来降低鱿鱼中 FA 含量。上述两个现象相互验证了抑制剂的作用方式。本课题组发现 TP 具有很强的 FA 捕获作用,TP 主要组分是以儿茶素为主的黄烷醇类化合物,其中 EGCg、ECg 结合 FA 的能力显著高于 C,EC,EGC<sup>[11]</sup>。TP 和 MF 均为多酚类物质,含有儿茶素类 A 环间苯三酚结构与 FA 结合<sup>[11]</sup>,从而使 FA 含量降低。CA 分子有 3 个羧基的多元酸,羧基中的氧原子能提供孤对电子,它能与可接受电子的金属离子相结合形成稳定的环状螯合物<sup>[15]</sup>,CA 高温过程可以与鱿鱼上清液中多种金属离子螯合,特别是  $\text{Fe}^{2+}$ ,从而抑制 TMAO 分解,减少 FA 和 DMA 含量。而低浓度的  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  可能与鱼肉中的  $\text{Fe}^{2+}$  竞争,

影响 TMAO 的分解,其机理有待于进一步研究。

复合抑制剂浸泡能显著减少 FA 和 DMA 含量,对营养成分无显著影响,但是复合抑制剂对鱿鱼片质构特性和色差有一定影响。鱿鱼硬度的增加可能与抑制剂中  $\text{Ca}^{2+}$  含量有关,而 0.4% 低浓度 TP 对色泽仍有一定的影响,可能是鱿鱼片残留的 TP 中酚类物质氧化生成醌,使鱿鱼片带上颜色。鱿鱼丝是鱿鱼制品中重要的休闲食品,在焙烤、拉丝、调味和干燥加工后,鱿鱼丝硬度明显增加、色泽加深,可以在一定程度上降低复合抑制剂对质构和色差的影响。因此,复合抑制剂对鱿鱼制品等内源性 FA 的控制有一定的应用前景。

#### 参考文献:

- [1] Rey-Mansilla M, Sotelo C G, Morán R M. Partial purification and biochemical characterization of TMAOase from kidney of European hake (*Merluccius merluccius*) [J]. European Food Research and Technology, 2004, 218(3): 262 - 268.
- [2] Kimura M, Seki N, Kimura I. Occurrence and some properties of trimethylamine-N-oxide de-methylase in myofibrillar fraction from walleye pollack muscle [J]. Fisheries Science, 2000, 66(4): 725 - 729.
- [3] 朱军莉, 励建荣. 海产品甲醛的形成及其对鱼肉品质的影响[J]. 水利渔业, 2007, 6(27): 110 - 111.
- [4] Fu X Y, Xue C H, Miao B C, et al. Purification and characterization of trimethylamine-N-Oxide de-methylase from jumbo squid (*Dosidicus gigas*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(3): 968 - 972.
- [5] 励建荣, 朱军莉. 秘鲁鱿鱼丝加工过程甲醛产生控制的研究[J]. 中国食品学报, 2006, 6(1): 200 - 203.
- [6] 励建荣, 曹科武, 贾佳, 等. 利用电子自旋共振 (ESR) 技术对秘鲁鱿鱼中甲醛生成非酶途径中相关自由基的研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(1): 201 - 226.
- [7] Odziejaska I K, Niecikowska C, Sikorski Z E. Dimethylamine and formaldehyde in cooked squid (*Illex argentinus*) muscle extract and mantle [J]. Food Chemistry, 1994, 50(3): 281 - 283.
- [8] Bianchi F, Careri M, Musci M, et al. Fish and food sa-fety: Determination of formaldehyde in 12 fish species by SPME extraction and GC-MS analysis

- [J]. Food Chemistry, 2007, 100(3):1049-1053.
- [9] Fu X Y, Xue C H, Miao B C, *et al.* Effect of processing steps on the physico-chemical properties of dried-seasoned squid [J]. Food Chemistry, 2007, 103(2): 287-294.
- [10] 贾佳, 朱军莉, 励建荣. 气相色谱-氢火焰离子检测器检测海产品中的二甲胺[J]. 食品科学, 2009, 30(6): 167-170.
- [11] 励建荣, 俞其林, 胡子豪, 等. 茶多酚与甲醛的反应特性研究[J]. 中国食品学报, 2008, 8(2): 52-57.
- [12] 杨贤强, 王岳飞, 陈留记. 茶多酚化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003:373-383.
- [13] Spinelli J, Koury B J. Nonenzymic formation of dimethylamine in dried fishery products[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1979, 27(5): 1104-1108.
- [14] 丁晓雯, 刁恩杰. 半胱氨酸对香菇甲醛含量控制及控制机理[J]. 食品科学, 2006, 27(8): 133-136.
- [15] 陈效兰, 雷钢铁. 柠檬酸在食品工业中的应用[J]. 食品研究与开发, 2000, 21(3):6-7.

## Control on the intrinsic formaldehyde content in jumbo squid based on the non-enzymatic thermal pathway

ZHU Jun-li, LI Jian-rong<sup>\*</sup>, MIAO Lin-lin, LI Xue-peng  
(College of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University,  
Food Safety Key Lab of Zhejiang Province, Hangzhou 310035, China)

**Abstract:** The objective of this study was to assess the control on formation of formaldehyde (FA) during the heating processing in jumbo squid by compound inhibitors. The substances inhibiting the formation of FA were selected in the squid, and the property of inhibitors to reduce FA was analyzed. The compound inhibitors was optimized by single factor experiment and orthogonal experiment. The results showed that the amount of FA decreased significantly in the squid treated by citric acid (CA), CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, tea polyphenolic (TP), mulberry flavonoids (MF), whereas, it increased greatly treated by Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, Fe<sup>2+</sup> in presence of the reductants of cysteine and ascorbate. The low concentration of inhibitors, CA, CaCl<sub>2</sub> and TP, could reduce more than 90% of the amount of FA in supernatant of squid, and the optimal inhibiting concentrations were 10 mmol/L, 10 mmol/L and 0.1%, respectively. The thermal decomposition of trimethylamine-N-oxide (TMAO) to FA, dimethylamine (DMA) and trimethylamine (TMA) was significantly inhibited by CA, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, while, the amount of FA could be reacted effectively by TP and MP in the squid at high temperature. Then the amount of FA and DMA dropped significantly, and the content of protein was not affected for the squid slice treated by the optimal compound inhibitors, 0.04% TP and 10 mmol/L CaCl<sub>2</sub>. Therefore, the compound inhibitors of FA have a potential application in the control of the amount of FA in squid processing.

**Key words:** *Dosidicus gigas*; formaldehyde; non-enzymatic pathway; inhibitor; tea polyphenolic

**Corresponding author:** LI Jian-rong. E-mail: lijianrong@zjgsu.edu.cn