

鲍鱼热处理对 5-HMF 的形成与褐变的影响

郝帅¹, 秦磊^{1,2}, 王妍¹, 徐献兵^{1,2}, 刘宏伟^{1,2}, 冯婷婷¹, 周大勇^{1,2}, 董秀萍^{1,2}

(1. 大连工业大学食品学院, 辽宁大连 116034) (2. 国家海洋食品工程技术研究中心, 辽宁大连 116034)

摘要: 热加工鲍鱼美拉德反应程度对产品品质影响较大, 本文对鲍鱼热处理过程中美拉德反应中间产物 5-羟甲基糠醛 (5-HMF) 的形成及其对鲍鱼褐变的影响进行了研究。新鲜鲍鱼通过不同加工温度和时间处理后, 采用液相色谱串联质谱法测定其 5-HMF 含量变化, 并同时测定了褐变强度、荧光强度、游离氨基酸和还原糖的变化。结果显示, 经 60、70 °C 加热 2 h 的鲍鱼 5-HMF 增加不明显, 在 90 °C 加热 2 h, 鲍鱼中 5-HMF 的含量从 4.05 ng/g 增加到 17.56 ng/g, 5-HMF 的变化趋势与鲍鱼的褐变及荧光强度变化具有正相关性; 还原糖与游离氨基酸的含量随着加热温度的升高和加热时间的延长逐渐减少, 在 80 °C 加热 8 h, 还原糖含量从 1.25 mg/g 减少到 0.69 mg/g, 游离氨基酸含量从 18.14 mg/g 减少到 14.03 mg/g。因此, 控制鲍鱼热加工过程中美拉德反应变化, 可有效控制体系中有害物质的产生以及营养物质的损失, 为提高热加工鲍鱼品质提供重要依据。

关键词: 热处理; 鲍鱼; 美拉德反应; 5-羟甲基糠醛

文章编号: 1673-9078(2016)10-182-189

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.10.028

Effect of Thermal Treatment on Browning and 5-Hydroxymethylfurfural Formation in Abalone

HAO Shuai¹, QIN Lei^{1,2}, WANG Yan¹, XU Xian-bing^{1,2}, LIU Hong-wei^{1,2}, FENG Ting-ting¹, ZHOU Da-yong^{1,2},
DONG Xiu-ping^{1,2}

(1. School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

(2. National Engineering Research Center of Seafood, Dalian 116034, China)

Abstract: The extent of Maillard reaction has an important impact on product quality during the thermal treatment of abalone. This study investigated the effect of thermal treatment temperature and time on the formation of a Maillard reaction intermediate, 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF), and the browning of abalone. Fresh abalone samples were treated for different durations at different temperatures; the change in the 5-HMF content was measured using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS), and the changes in browning intensity, fluorescence intensity, free amino acid content, and reducing sugar content were monitored. The results indicated that 5-HMF did not significantly increase in abalone when the sample was treated at 60 °C or 70 °C for 2 h, but increased significantly from 4.05 ng/g to 17.56 ng/g when the sample was heated at 90 °C for 2 h. The change in 5-HMF content was positively correlated with abalone fluorescence intensity and browning intensity. Meanwhile, the content of reducing sugars and free amino acids in heat-treated abalone gradually decreased as the heating temperature and time increased. When the sample was heated at 80 °C for 8 h, the reducing sugar content decreased from 1.25 mg/g to 0.69 mg/g, and the free amino acid content decreased from 18.14 mg/g to 14.03 mg/g. Consequently, controlling the Maillard reaction during thermal treatment of abalone can effectively control the production of harmful substances and the loss of nutrients. This study provides important insights for improving the quality of heat-treated abalone.

Key words: heat treatment; abalone; Maillard reaction; 5-hydroxymethylfurfural

我国蕴藏着丰富的海洋生物资源, 海洋食品具有特殊生理功能的活性物质, 颇受大众喜爱。鲍鱼 (*Haliotis discus hannai* Ino) 是我国四大养殖贝类之

收稿日期: 2015-11-25

基金项目: “十二五” 国家科技支撑计划课题 (2014BAD04B09); 海洋公益性行业科研专项经费课题 (201505029)

作者简介: 郝帅 (1989-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工及贮藏

通讯作者: 秦磊 (1984-), 男, 讲师, 研究方向: 水产品加工理论与技术

一, 以其浓厚的传统文化背景、较高的营养价值和独特的风味质地被誉为“海味之冠”。鲍鱼收获的季节性较强, 加工季节一般是夏秋两季, 此时鲍鱼较肥, 便于捕捞。市场上鲍鱼产品主要包括新鲜鲍鱼、干制鲍鱼、即食鲍鱼、速冻鲍鱼、鲍鱼调味品及鲍鱼营养保健品等。通常鲍鱼食用之前都要经过加热处理, 加热可以改变鲍鱼的营养价值, 口感以及风味等^[1]。

肉品中风味的形成途径主要包括: 硫胺素的热降

解,氨基酸的 Strecker 降解,羰基化合物与氨基酸之间的美拉德反应以及各种降解产物之间的反应。美拉德反应对肉品加热过程中风味的形成起主要作用,对肉品的色泽和营养价值等方面亦产生重要影响。芳香族化合物(杂环类化合物)是肉品最重要的呈香物质,其来源于氨基酸和还原糖之间的美拉德反应,高温是形成美拉德产物的重要条件,多数杂环化合物具有肉香^[2]。5-羟甲基糠醛(5-HMF)是美拉德反应重要的中间产物,其积累与褐变有很大的相关性,5-HMF 可断裂形成 α -二羟基化合物,与胺反应产生类黑精物质,是导致食品风味和褐变的重要因素^[3]。噻吩类物质由美拉德反应前期阶段生成,主要由含硫氨基酸单独或者伴以葡萄糖或木糖的热降解产生,也可由肉类中的二硫化物和硫氨酸产生^[4]。因此,加热过程中美拉德反应的程度将直接影响到肉制品的品质。

本文探究热加工过程中鲍鱼腹足美拉德反应的中间产物 5-HMF 的变化与美拉德反应程度之间的关系,比较美拉德反应中发生反应的主要物质(还原糖、游离氨基酸)含量的变化情况,为深入研究热加工过程中鲍鱼腹足美拉德反应程度的研究提供理论依据,为即食鲍鱼规模化精深加工提供技术参考和理论支持。

1 材料与方法

1.1 主要材料

新鲜鲍鱼(*Haliotis discus hannai* Ino)购于大连水产市场(2013年春季,捕捞于大连海域),加冰,于当日运回实验室;5-HMF、¹³C₆-5-HMF、链霉菌蛋白酶购自美国 Sigma-Aldrich 公司;乙酸乙酯、正己烷、甲醇、甲酸、乙腈为色谱纯,其它试剂为分析纯。

1.2 样品处理方法

鲍鱼去壳、去内脏后洗净,为保持分析样品的均一性,切成约 5 mm×5 mm×5 mm 的小块,每 3 g 分装于 10 mL 离心管中,-80 °C 贮藏备用,便于后续分析使用。以《海珍品加工理论与技术的研究》^[5]一书中关于不同热加工条件对鲍鱼品质影响的研究为基础,分别在 60、70、80 和 90 °C 下加热 2 h;在此基础上,设置 80 °C 加热 0.5、1、2、4、6 和 8 h 处理,以新鲜鲍鱼腹足作对照组。加热后迅速用冰水冷却,每处理重复 3 次。

1.3 分析与测定

1.3.1 褐变指数测定

为探究不同热加工条件下鲍鱼腹足褐变指数的变

化,初步监测美拉德反应程度,采用 OD₄₂₀ 表示褐变指数^[6]。

取 3 g 样品加入 12 mL 去离子水,9000 r/min 匀浆 4 min,漩涡振荡后取上清液稀释至 0.016 g/mL(稀释 16 倍),于 4 °C、10000 g 离心 10 min。采用 PerkinElmer Lambda 35 紫外可见光谱仪测定 420 nm 下的吸光值。

1.3.2 荧光强度测定

取 3 g 样品加入 12 mL、0.1 mol/L pH 8.2 的硼酸钠缓冲溶液,9000 r/min 匀浆 4 min。取 8 mL 匀浆液,加入链霉菌蛋白酶至终浓度 0.375 mg/mL,40 °C 恒温振荡水浴酶解 38 h,酶解后于 4 °C、9000 g 离心 10 min。采用日立 F-2700 荧光分光光度计测定荧光强度,激发波长 EX: 347 nm,发射波长 EM: 420 nm^[3]。荧光强度(FI)定义:以 0.5 μg/mL 硫酸奎宁溶液(溶于 0.1 mol/L, H₂SO₄)的荧光强度为 100%。

1.3.3 液相色谱-质谱联用(LC-MS)同位素内标法测定 5-HMF 含量

1.3.3.1 样品预处理

样品前处理参看文献方法^[7],称取 3 g 样品,置于 50 mL 离心管中,加入 50 μL、2 μg/mL、¹³C₆-5-HMF 和 20 mL 去离子水,均质处理,加入 2 g 硫酸铵、1.1 g 亚铁氰化钾超声提取,以 4 °C、4000 r/min 离心 10 min。取上清液加入 6.5 g 氯化钠,涡旋 2 min。加入 20 mL 乙酸乙酯,振荡提取 2 min,以 4 °C、4000 r/min 离心 10 min。取上层乙酸乙酯至 50 mL 鸡心瓶中,35 °C 旋转浓缩至干,1 mL 去离子水溶解,超声 2 min,转移至 10 mL 尖底离心管。加入 3 mL 正己烷,涡旋混合 30 s,以 4000 r/min 离心 5 min,弃上层正己烷,加入 3 mL 正己烷重复去脂。移取 0.5 mL 水相过滤膜(0.22 μm),待 LC-MS 测定。以 ¹³C₆-5-HMF 为同位素内标,采用内标法定量。

1.3.3.2 仪器条件

表 1 MS/MS 定量离子对及 MRM 条件

	母离子(m/z)	子离子(m/z)	CE	DP	CXP
5-HMF	127.1	53.1*	32		8
		81.1	24	67	13
		109.2	15		5
¹³ C ₆ -5-HMF	133.1	115.1*	15	67	6
		86	24		7

注: *为定量离子。

液相色谱:岛津 LC-20AD 液相色谱, Synergi Fusion-RP C18 色谱柱(50 mm×2 mm, 2.5 μm), 等度洗脱(流动相 A: 5%甲醇, 95%超纯水, 0.1%甲酸;

流动相 B: 甲醇)。柱温 40 °C, 进样体积 10 μ L, 流速 0.2 mL/min。

质谱: AB 4000 Q TRAP 质谱, 使用多反应监测正离子操作模式(MRM), 离子源(ESI)入口电压(EP) 10V, 喷雾电压(IS) 5500 V, 离子源温度 600 °C, 源内气(GS I)及辅助气(GS II)的流速分别为 15 mL/min 和 18 mL/min。MS/MS 定量离子对如表 1 所示。

1.3.4 还原糖含量的测定

采用 3,5-二硝基水杨酸吸光光度法(DNS)测定鲍鱼腹足还原糖含量。DNS 法操作简便快速、试剂消耗少、重现性好、杂质干扰小、准确度能达到分析要求^[8]。葡萄糖标准曲线的制作: 以 OD₅₄₀ 为纵坐标, 葡萄糖含量为横坐标, 绘制标准曲线(见图 1)。样品加入去离子水, 9000 r/min 匀浆 4 min (冰浴), 取匀浆液于 50 °C 恒温振荡水浴 20 min, 2500 g 离心 10 min, 取上清液待测。还原糖含量测定: 取 1 mL 上清液于试管中, 分别加入 1 mL DNS 试剂, 沸水浴加热 5 min, 冷却后加入 8 mL 蒸馏水, 充分振荡, 静置, 待测 OD₅₄₀。

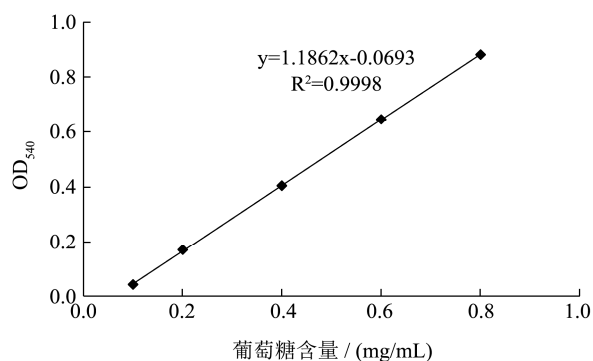


图 1 DNS 法测定葡萄糖标准曲线

Fig.1 Standard curve of glucose content determined by DNS

1.3.5 游离氨基酸含量的测定

采用 2,4-二硝基氟苯(DNFB)柱前衍生高效液相色谱法测定鲍鱼腹足游离氨基酸含量。称取 3 g 样品, 加入 15 mL 丙酮, 匀浆、振荡后静置片刻, 10000 r/min 离心 15 min, 取上清液过 0.45 μ m 微滤膜。取过膜后的上清液 3 mL 按照 Elite-AAK 氨基酸分析系统的衍生方法进行氨基酸衍生化, 过膜后使用高效液相色谱分析游离氨基酸。测定条件: Elite-AAK 氨基酸专用分析柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m), 柱温 27 °C, 进样体积 10 μ L, 流动相总流量 1.2 mL, 检测波长 360 nm。

1.3.6 数据处理

运用 Elite-AAK 氨基酸分析系统对游离氨基酸进行定性、定量分析; 数据显著性 ($p < 0.05$) 分析采用

SPSS 16.0 软件; 主成分分析(PCA)采用 Unscrambler 9.7 软件。

2 结果与讨论

2.1 OD_{420 nm} 褐变指数

美拉德反应属于非酶褐变反应, 羟醛缩合与聚合形成黑色素类物质, 其在 420 nm 处具有最大吸收波长。评价食品非酶褐变程度的方法包括褐变指数(BI)、色值、测定中间产物和终产物等。其中褐变指数(或褐变度)在国内外已被普遍使用, 并被认为是液态食品非酶褐变的指标。BI 越大, 表明褐变反应越严重。BI 的测定能很好地表达水溶性褐色素物质的含量, 常用 OD₄₂₀ 表达^[6]。

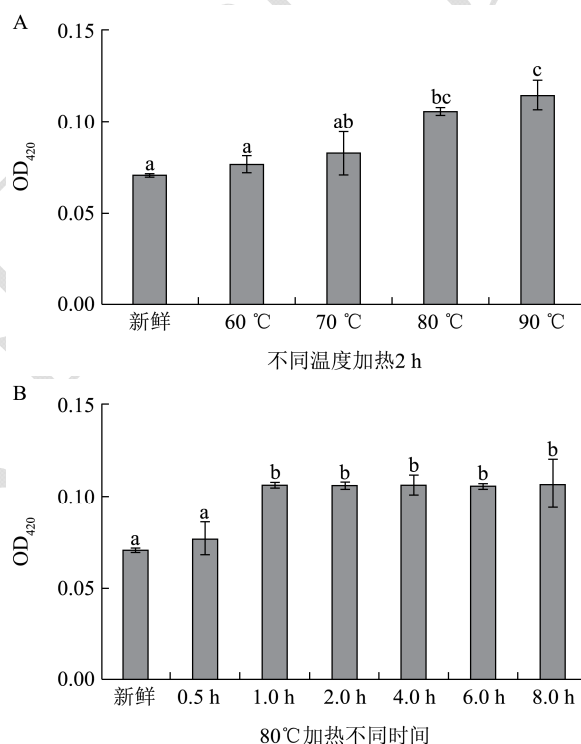


图 2 不同热处理条件下鲍鱼褐变指数变化

Fig.2 Abalone browning index under different heating conditions

注: A, 不同加热温度对鲍鱼褐变指数的影响; B, 80 °C 加热不同时间对鲍鱼褐变指数的影响; 不同小写字母表示显著性差异 ($p < 0.05$)。

升温处理后褐变程度逐渐递增, 60、70 °C 加热 2 h 后的鲍鱼腹足上清液, 其褐变程度与新鲜鲍鱼不存在显著性差异, 80 °C、90 °C 加热 2 h 后褐变程度变化显著 ($p < 0.05$)。80 °C 加热 0.5 h 褐变不显著; 80 °C 加热 1 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h 褐变强度逐渐趋于平稳, 均与新鲜鲍鱼腹足存在显著性差异(见图 2)。

升温处理对鲍鱼腹足的褐变程度影响较显著,

80 °C加热处理下,延长加热时间,褐变强度逐渐趋于平稳。这与吴慧玲^[9]等人的研究结果一致。

2.2 荧光强度

美拉德反应历程中会发生葡糖胺重排反应,产物经过脱水、裂变生成无色的还原酮与荧光物质,例如糠醛、脱氧邻酮醛糖等小分子的产生会使整个体系的荧光特性增强。美拉德反应产物具有荧光性,对产物进行酶解,可检测到与蛋白结合的总荧光产物,以荧光强度(FI)值表征美拉德反应产物的累积程度,以反映美拉德反应程度^[3]。并且荧光物质可能是色素物质的前体,荧光物质被提议为美拉德反应的指示剂,因为它们灵敏地反映了美拉德反应的早期过程。

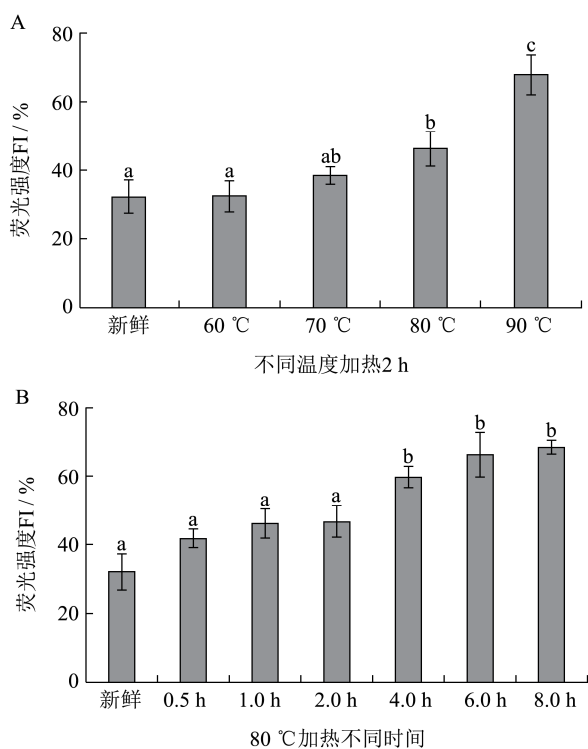


图3 不同热处理条件下鲍鱼荧光强度变化

Fig.3 Abalone fluorescence intensity under different heating conditions

注: A, 不同加热温度对鲍鱼荧光强度的影响; B, 80 °C加热不同时间对鲍鱼荧光强度的影响; 不同小写字母表示显著性差异 ($p < 0.05$)。

升温处理后美拉德反应产物逐渐递增,60 °C加热2 h后的鲍鱼腹足上清液,其荧光强度与新鲜鲍鱼不存在显著性差异,70 °C、80 °C加热2 h后荧光强度变化显著,90 °C加热2 h后荧光强度达到67.35%。80 °C加热0.5 h、1 h和2 h美拉德反应产物积累较少,加热4 h、6 h和8 h美拉德反应产物逐渐累积,荧光强度变化显著,均与新鲜鲍鱼腹足存在显著性差异(见图3)。

升温对美拉德反应产物的形成与积累影响较显

著,80 °C随着加热时间的延长,美拉德反应产物累积趋于平稳。

2.3 美拉德反应中期产物 5-HMF 含量

通过 LC-MS/MS 测得 5-HMF 含量。加热过程中美拉德反应中期产物 5-HMF 含量的增加,可表征加热过程中鲍鱼腹足美拉德反应的程度。

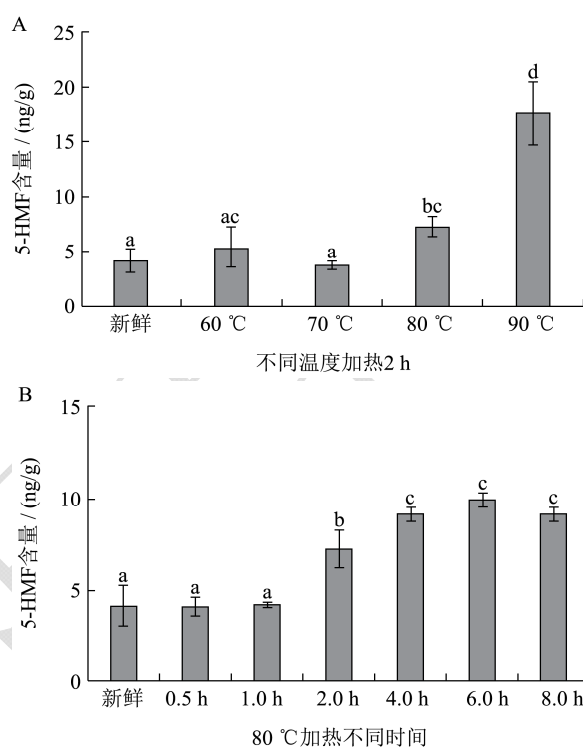


图4 不同热处理条件下鲍鱼 5-HMF 含量变化

Fig.4 Changes in abalone 5-HMF content under different heating conditions

注: A, 不同加热温度对鲍鱼 5-HMF 含量的影响; B, 80 °C加热不同时间对鲍鱼 5-HMF 含量的影响; 不同小写字母表示显著性差异 ($p < 0.05$)。

5-羟甲基糠醛(5-HMF)被认为是一种弱致癌物质,可引起眼睛、呼吸道、皮肤和黏膜过敏,其LD 50为3.1 g/kg,本身毒性很低,但在体内可代谢为毒性更强的羟甲基糠醛酸和羟甲基糠醛次硫酸盐,两者具有较强的致癌活性和致突变活性。同时,5-HMF有一定的抗心肌缺血作用、抗氧化作用,具有Ca²⁺拮抗活性,能改善血液流变学,影响甘草酸代谢^[10,11]。

未加热鲍鱼 5-HMF 含量为4.05±1.23 ng/g,升温过程中 5-HMF 含量递增,80 °C、90 °C加热2 h后含量显著增加至7.19±1.08 ng/g和17.56±2.98 ng/g。80 °C随着加热时间的延长,美拉德反应中间产物 5-HMF 含量趋于平稳,80 °C加热6 h后的5-HMF的含量增加至9.84±0.44 ng/g(见图4)。

糖在高温下会发生焦糖化反应戊糖生成糠醛,己

糖生成羟甲基糠醛，进一步加热产生醇类、脂肪烃和芳香烃。热加工过程中 5-HMF 含量的增加可推测：升温过程中，鲍鱼腹足美拉德反应程度逐渐增强，90 °C 加热 2 h 高温条件下反应程度加剧。其含量的增加也可能受高温条件下焦糖化反应的影响。热加工对 5-HMF 含量变化的影响与荧光强度、褐变指数一致。其变化趋势可由范特霍夫 (Van't Hoff) 经验规则-温度对反应速率的影响解释。

2.4 还原糖含量

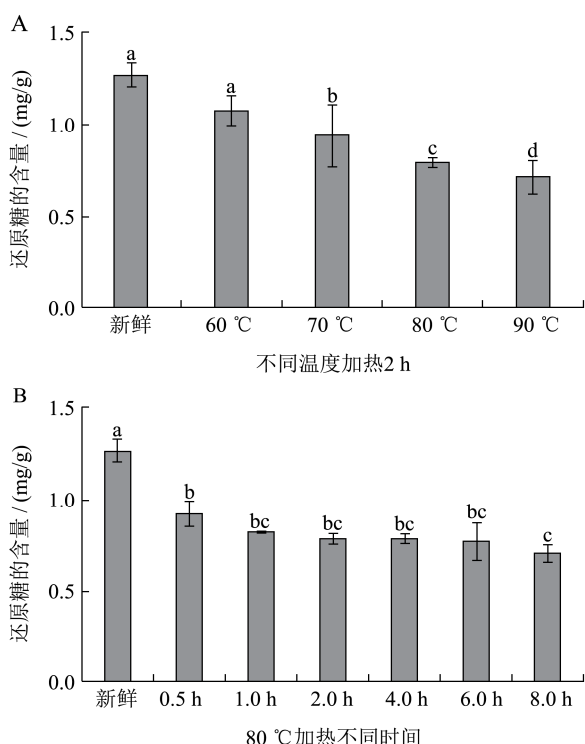


图5 不同热处理条件下鲍鱼还原糖含量变化

Fig.5 Changes in abalone reducing sugar content under different heating conditions

注: A, 不同加热温度对鲍鱼还原糖含量的影响; B, 80 °C

加热不同时间对鲍鱼还原糖含量的影响; 不同小写字母表示显著性差异 ($p < 0.05$)。

升温处理后美拉德反应产物逐渐递增, 60 °C 加热 2 h 后鲍鱼腹足还原糖含量与新鲜鲍鱼不存在显著性差异, 70 °C、80 °C、90 °C 加热 2 h 后还原糖含量变化显著 ($p < 0.05$), 还原糖的含量在 90 °C 加热 2 h 含量较不加热的减少 0.55 mg/g。80 °C 不同加热时间处理后的鲍鱼腹足, 还原糖含量趋于平稳, 在 80 °C 加热 8 h 后还原糖的含量较不加热的减少 0.56 mg/g (见图 5)。

朱蓓薇等^[12]采用 GC 分析纯化后的鲍鱼腹足多糖水解后的组成 (葡萄糖:半乳糖=1:1)。热加工过程中鲍鱼腹足还原糖含量的减少, 推测其可能参与了美拉德反应, 形成棕色色素, 导致褐变指数增加。同时, 糖类是生成香味物质的重要前体物质, 温度高于 300 °C, 糖类化合物在单独热解时 (糖的焦糖化反应) 会生成许多种香味物质, 其中最显著的是呋喃衍生物类, 酮类和芳香族烃类。因此, 热加工过程中鲍鱼腹足还原糖含量的降低, 可能是糖类化合物自身发生了焦糖化反应。

2.5 游离氨基酸含量

热处理鲍鱼的游离氨基酸分析结果见表 2 和表 3。在新鲜的鲍鱼腹足样品 (0 h) 中共检测出 19 种游离氨基酸, 其总含量约为 18.14 mg/g, 其中牛磺酸 (Tau) 的含量最大, 精氨酸 (Arg) 和甘氨酸 (Gly) 的含量也很高, 含量最少的为 Asp。在所有样品中均未检测到半胱氨酸 (Cys)。在表 2 中, 低温加热对鲍鱼腹足的游离氨基酸的含量影响较小, 但温度为 90 °C、加热时间为 2 小时的时候, 游离氨基酸的总含量有明显的增加。在表 3 中, 在加热温度 80 °C、时间 6 h 后游离氨基酸的总含量有明显的减少, 蛋氨酸 (Met) 的含量在加热到 6 h 的时候明显减少。

表 2 不同热处理温度对鲍鱼游离氨基酸含量影响 (mg/g)

Table 2 Effect of different heating temperatures on abalone free amino acid content (mg/g)

序号	氨基酸	0 h	60~2 h	70~2 h	80~2 h	90~2 h
1	Asp	0.01±0.01 ^{ab}	0.01±0.00 ^a	0.03±0.01 ^{bc}	0.02±0.01 ^{ab}	0.05±0.01 ^c
2	Glu	0.37±0.03 ^a	0.41±0.02 ^a	0.44±0.07 ^a	0.36±0.05 ^a	0.49±0.07 ^a
3	Hyp	0.25±0.05 ^a	0.36±0.05 ^a	0.34±0.08 ^a	0.26±0.04 ^a	0.34±0.08 ^a
4	Ser	0.60±0.03 ^a	1.12±0.10 ^b	1.02±0.36 ^{ab}	0.86±0.04 ^{ab}	0.87±0.18 ^{ab}
5	Arg	1.53±0.08 ^a	1.70±0.13 ^a	1.46±0.01 ^a	1.35±0.38 ^a	1.58±0.22 ^a
6	Gly	1.49±0.16 ^a	1.79±0.05 ^a	1.57±0.33 ^a	1.34±0.16 ^a	1.80±0.31 ^a
7	Thr	0.65±0.05 ^a	0.68±0.06 ^a	0.71±0.17 ^a	0.55±0.05 ^a	0.77±0.19 ^a
8	Tau	10.22±0.20 ^a	10.11±0.66 ^a	9.70±0.97 ^a	9.01±1.36 ^a	10.40±0.75 ^a
9	Pro	0.48±0.02 ^a	0.53±0.03 ^a	0.52±0.12 ^a	0.44±0.01 ^a	0.55±0.12 ^a

转下页

接上页

10	Ala	0.62±0.05 ^a	0.66±0.06 ^a	0.61±0.12 ^a	0.49±0.04 ^a	0.60±0.14 ^a
11	Val	0.23±0.03 ^a	0.24±0.01 ^a	0.28±0.10 ^a	0.20±0.01 ^a	0.28±0.09 ^a
12	Met	0.14±0.01 ^a	0.12±0.02 ^a	0.16±0.04 ^a	0.12±0.01 ^a	0.10±0.06 ^a
13	Ile	0.11±0.01 ^{ab}	0.13±0.01 ^{ab}	0.14±0.03 ^{ab}	0.09±0.01 ^a	0.15±0.05 ^b
14	Leu	0.21±0.01 ^a	0.22±0.03 ^a	0.23±0.09 ^a	0.17±0.03 ^a	0.22±0.12 ^a
15	Trp	0.25±0.16 ^a	0.32±0.03 ^a	0.25±0.12 ^a	0.24±0.04 ^a	0.34±0.08 ^a
16	Phe	0.21±0.04 ^a	0.17±0.05 ^a	0.13±0.09 ^a	0.17±0.08 ^a	0.27±0.12 ^a
17	His	0.10±0.05 ^a	0.10±0.07 ^a	0.12±0.06 ^a	0.13±0.03 ^a	0.15±0.05 ^a
18	Lys	0.14±0.03 ^{ab}	0.18±0.03 ^{ab}	0.14±0.01 ^{ab}	0.11±0.04 ^a	0.19±0.02 ^b
19	Tyr	0.53±0.18 ^a	0.59±0.11 ^a	0.48±0.10 ^a	0.44±0.13 ^a	0.64±0.19 ^a
20	Cys	- ^a	-	-	-	-
总量/(mg/g)		18.14±1.06 ^{ab}	19.40±1.26 ^{ab}	18.31±2.26 ^{ab}	16.35±2.00 ^a	19.77±2.14 ^b

注：同行不同字母表示平均值在 $p < 0.05$ 水平显著性差异；^{-a} 表示未检出。

表 3 不同热处理时间对鲍鱼游离氨基酸含量影响 (mg/g)

Table 3 Effect of different heating times on the abalone free amino acid content (mg/g)

序号	氨基酸	0 h	80~0.5 h	80~1 h	80~2 h	80~4 h	80~6 h	80~8 h
1	Asp	0.01±0.01 ^a	0.03±0.02 ^a	0.03±0.02 ^a	0.02±0.01 ^a	0.04±0.03 ^a	0.03±0.01 ^a	0.02±0.00 ^a
2	Glu	0.37±0.03 ^{ab}	0.42±0.06 ^{ab}	0.40±0.04 ^{ab}	0.36±0.05 ^{ab}	0.44±0.16 ^b	0.26±0.03 ^{ab}	0.24±0.02 ^a
3	Hyp	0.25±0.05 ^a	0.30±0.03 ^a	0.30±0.09 ^a	0.26±0.04 ^a	0.33±0.05 ^a	0.19±0.07 ^a	0.30±0.06 ^a
4	Ser	0.60±0.03 ^a	1.02±0.12 ^b	0.92±0.17 ^b	0.86±0.04 ^b	0.83±0.22 ^b	0.51±0.08 ^a	0.53±0.06 ^a
5	Arg	1.53±0.08 ^a	1.55±0.28 ^a	1.47±0.17 ^a	1.35±0.31 ^a	1.78±0.66 ^a	1.03±0.08 ^a	0.98±0.10 ^a
6	Gly	1.49±0.16 ^{ab}	1.61±0.13 ^b	1.62±0.27 ^b	1.34±0.16 ^{ab}	1.52±0.21 ^{ab}	0.95±0.20 ^a	1.29±0.36 ^{ab}
7	Thr	0.65±0.05 ^a	0.61±0.08 ^a	0.59±0.10 ^a	0.55±0.05 ^a	0.60±0.14 ^a	0.43±0.09 ^a	0.54±0.08 ^a
8	Tau	10.22±0.20 ^a	9.49±2.03 ^a	9.40±1.18 ^a	9.01±1.36 ^a	9.50±1.78 ^a	7.72±0.58 ^a	7.97±0.47 ^a
9	Pro	0.48±0.02 ^a	0.47±0.05 ^a	0.42±0.07 ^a	0.44±0.01 ^a	0.47±0.10 ^a	0.33±0.06 ^a	0.41±0.05 ^a
10	Ala	0.62±0.05 ^b	0.51±0.07 ^{ab}	0.50±0.06 ^{ab}	0.49±0.04 ^{ab}	0.54±0.12 ^{ab}	0.40±0.06 ^a	0.43±0.04 ^a
11	Val	0.23±0.03 ^a	0.22±0.14 ^a	0.16±0.01 ^a	0.20±0.01 ^a	0.11±0.06 ^a	0.06±0.04 ^a	0.05±0.10 ^a
12	Met	0.14±0.01 ^a	0.13±0.02 ^a	0.11±0.02 ^{ab}	0.12±0.01 ^{ab}	0.13±0.02 ^a	0.08±0.01 ^b	0.10±0.01 ^{ab}
13	Ile	0.11±0.01 ^a	0.11±0.01 ^a	0.09±0.03 ^a	0.09±0.01 ^a	0.10±0.03 ^a	0.07±0.02 ^a	0.04±0.07 ^a
14	Leu	0.21±0.01 ^a	0.19±0.02 ^a	0.13±0.07 ^a	0.17±0.03 ^a	0.21±0.04 ^a	0.09±0.10 ^a	0.08±0.11 ^a
15	Trp	0.25±0.16 ^a	0.29±0.04 ^a	0.29±0.05 ^a	0.24±0.04 ^a	0.17±0.06 ^a	0.23±0.03 ^a	0.25±0.04 ^a
16	Phe	0.21±0.04 ^a	0.16±0.08 ^a	0.13±0.01 ^a	0.17±0.08 ^a	0.19±0.07 ^a	0.15±0.05 ^a	0.14±0.06 ^a
17	His	0.10±0.05 ^a	0.08±0.04 ^a	0.09±0.05 ^a	0.13±0.03 ^a	0.10±0.01 ^a	0.07±0.04 ^a	0.08±0.01 ^a
18	Lys	0.14±0.03 ^{ab}	0.16±0.02 ^{ab}	0.17±0.01 ^{ab}	0.11±0.04 ^{ab}	0.20±0.09 ^b	0.06±0.03 ^a	0.09±0.03 ^{ab}
19	Tyr	0.53±0.18 ^a	0.50±0.09 ^{ab}	0.54±0.02 ^a	0.44±0.13 ^{ab}	0.50±0.05 ^{ab}	0.30±0.08 ^b	0.50±0.20 ^{ab}
20	Cys	- ^a	-	-	-	-	-	-
总量/(mg/g)		18.14±1.06 ^a	17.85±2.99 ^a	17.36±1.41 ^a	16.35±2.00 ^{ab}	17.75±3.43 ^a	12.97±0.77 ^b	14.03±1.58 ^b

注：同行不同字母表示平均值在 $p < 0.05$ 水平显著性差异；^{-a} 表示未检出。

Jacek S 研究了烹饪和灭菌对大豆中游离氨基酸的影响,发现游离氨基酸含量在烹饪过程中变化不明显,在灭菌过程中损失较多。受热时蛋白或多肽发生热裂解,使游离氨基酸总量增加;同时其可能参与美拉德反应,也可能自身受热发生降解等反应导致含量降低;游离氨基酸含量受温度影响是多种反应动态平衡的综

合体现^[13]。

升温处理过程中,与新鲜鲍鱼腹足对比,60℃、70℃加热2h后游离氨基酸总量未发生显著变化,80℃加热2h后其含量显著降低,推测此条件下游离氨基酸可能参与了美拉德反应,也可能受热发生降解等反应。90℃加热2h后,游离氨基酸总量反而升高,

推测此条件下大量蛋白或多肽发生热裂解（见表2）。

80℃加热鲍鱼腹足，随着加热时间的延长，游离氨基酸总量呈递减趋势，与新鲜鲍鱼腹足相比，加热6h和8h后其总量显著降低，推测此条件下游离氨基酸主要参与美拉德反应或受热发生降解（见表3）。

主成分分析是将多个指标转化为少数综合指标的多元统计分析方法。在评价某一原始指标对整个信息的相对重要性时，主要评价的指标是主成分中的某个指标的载荷。某一组分在主成分中的载荷，是指该组分在主成分中特征向量的数值大小，即绝对值大小。载荷越高，说明该组分对主成分所起作用越大。

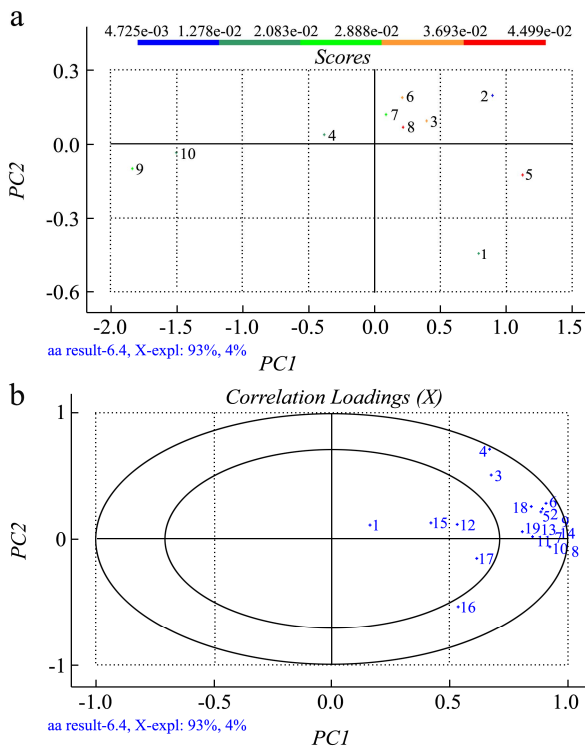


图6 鲍鱼腹足不同热处理条件下游离氨基酸含量PCA分析得分与载荷图

Fig.6 Score and loading plot of PC 1 vs. PC 2

注：a, 1. 新鲜鲍鱼腹足；2. 60℃加热2h；3. 70℃加热2h；4. 80℃加热2h；5. 90℃加热2h；6. 80℃加热0.5h；7. 80℃加热1h；8. 80℃加热4h；9. 80℃加热6h；10. 80℃加热8h；b, 1~19代表不同游离氨基酸种类，序号与表2.1相同。

表4 不同热处理条件下游离氨基酸含量在2个主成分中的载荷
Table 4 Loadings of free amino acid content on two principal components under different treatment conditions

	PC-01	PC-02		PC-01	PC-02
Asp	0.163	0.111	Val	0.854	0.139
Glu	0.896	0.242	Met	0.525	0.988
Hyp	0.677	0.5	Ile	0.871	0.581
Ser	0.668	0.712	Leu	0.916	0.461
Arg	0.887	0.211	Trp	0.422	0.129

Gly	0.908	0.28	Phe	0.533	-0.537
Thr	0.906	0.184	His	0.613	-0.155
Tau	0.998	-0.666	Lys	0.847	0.257
Pro	0.908	0.773	Tyr	0.808	0.624
Ala	0.925	-0.641			

采用 Unscrambler 9.7 软件对 10 种热加工条件下的游离氨基酸数据进行 PCA 分析，得到两个主成分，PC-01 贡献率为 93%，PC-02 贡献率为 4%。在 PC-01 主成分中新鲜鲍鱼腹足、60℃加热 2h 及 90℃加热 2h 处理条件下主成分得分较高，80℃加热 2h、6h、8h 得分较低（见图6）。

13 种游离氨基酸分别在 2 种不同主成分中的载荷为 0.8 以上（见图6，表4）。第一主成分中必需氨基酸苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸，鲜味氨基酸中谷氨酸、精氨酸、甘氨酸、丙氨酸以及缬氨酸、酪氨酸、脯氨酸含量变化显著，牛磺酸能够促进婴幼儿脑组织和智力发育、防止心血管病、增强人体免疫力，鲍鱼腹足牛磺酸含量较高，约占氨基酸总量的 56%，其含量受加热条件的影响明显。第二主成分中蛋氨酸含量变化显著，蛋氨酸含有 S 元素，不稳定，加热过程中会参与形成噻吩类等香味化合物。

3 结论

使用 LC-MS 同位素内标法能准确的检测到美拉德反应中间产物 5-HMF，经 60、70℃加热 2h 的鲍鱼 5-HMF 增加不明显，在 80、90℃加热 2h，鲍鱼中 5-HMF 的含量显著增加，超过 2h 后含量增加不明显，5-HMF 的变化趋势与鲍鱼的褐变及荧光强度变化具有正相关性。还原糖与游离氨基酸的含量随着加热温度的升高和加热时间的延长逐渐减小，70℃、80℃、90℃加热 2h 后还原糖含量较新鲜鲍鱼腹足还原糖含量变化显著 ($p < 0.05$)，80℃不同加热时间的鲍鱼腹足还原糖含量趋于平稳，游离氨基酸的总量在 80℃加热 2h 后其含量显著降低，在 80℃加热 6h 后游离氨基酸的总含量有明显的减少。

参考文献

[1] Xazela N M, Muchenje V, Marume U. Effects of different cooking methods on the consumer acceptability of chevon [J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(59): 12701-12705

[2] 王晓华, 赵保翠, 杨兴章, 等. 美拉德反应与食品风味[J]. 肉类工业, 2006, 6(6): 16-18

WANG Xiao-hua, ZHAO Bao-cui, YANG Xing-zhang, et al. Maillard reaction and food flavor [J]. Meat Industry, 2006,

- 6(6): 26-28
- [3] Ph G, Santé-Lhoutellier V, Portanguen S, et al. Use of meat fluorescence emission as a marker of oxidation promoted by cooking [J]. *Meat Science*, 2009, 83(4): 651-656
- [4] 赵景丽, 赵改名, 柳艳霞, 等. 含硫氨基酸美拉德反应在金华火腿挥发性风味物质形成中的作用[J]. *食品科学*, 2013, 19(19): 23-26
ZHAO Jing-li, ZHAO Gai-ming, LIU Yan-xia, et al. Analysis of volatile flavor compounds in jinhua ham as maillard reaction products of sulfur containing amino acids [J]. *Food Science*, 2013, 19(19): 23-26
- [5] 朱蓓薇. 海珍品加工理论与技术的研究[M]. 科学出版社, 2010
ZHU Bei-wei. Research on theory and technology of precious seafood processing [M]. Science Press, 2010
- [6] Hwang I G, Kim H Y, Woo K S, et al. Biological activities of Maillard reaction products (MRPs) in a sugar-amino acid model system [J]. *Food Chemistry*, 2011, 126(1): 221-227
- [7] Delgado-Andrade C, Seiquer I, Haro A, et al. Development of the Maillard reaction in foods cooked by different techniques. intake of maillard-derived compounds [J]. *Food Chemistry*, 2010, 122(1): 145-153
- [8] 舒馨, 刘雄民, 梁秋霞. 3,5-二硝基水杨酸吸光光度法测定八角残渣中总糖、还原糖含量[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(6): 341-343
SHU Xin, LIU Xiong-min, LIANG Qiu-xia. Spectrophotometric determination of total and reducing sugars in star anise residue with 3,5-dinitrosalicylic acid as color reagent [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2010, 31(6): 341-343
- [9] 吴惠玲, 王志强, 韩春, 等. 影响美拉德反应的几种因素研究[J]. *现代食品科技*, 2010, 26(5): 441-444
WU Hui-ling, WANG Zhi-qiang, HAN Chun, et al. Factors affecting the maillard reaction [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2010, 26(5): 441-444
- [10] 傅紫琴, 王明艳, 蔡宝昌. 5-羟甲基糠醛(5-HMF)在中药中的研究现状探讨[J]. *中华中医药学刊*, 2008, 26(3): 508-510
FU Zi-qin, WANG Ming-yan, CAI Bao-chang. Discussion of 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) in Chinese native medicine research presentsituation [J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2008, 26(3): 508-510
- [11] Capuano E, Ferrigno A, Acampa I, et al. Characterization of the Maillard reaction in bread crisps [J]. *European Food Research & Technology*, 2008, 228(2): 311-319
- [12] Zhu B W, Zhou D Y, Yang J F, et al. A neutral polysaccharide from the abalone pleopod, *Haliotis discus hannai* Ino [J]. *European Food Research & Technology*, 2009, 228(4): 591-595
- [13] Slupski J. Effect of cooking and sterilisation on the composition of amino acids in immature seeds of flageolet bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars [J]. *Food Chemistry*, 2010, 121(4): 1171-1176