

通过三甲胺/氧化三甲胺摩尔比值评价 南美白对虾的新鲜程度

胡金鑫, 李军生, 阎柳娟, 黄国霞

(广西科技大学生物与化学工程学院, 广西柳州 545006)

摘要: 为了简便而准确地对水产品的新鲜等级进行判别, 本文采用苦味酸比色法对样品中三甲胺和氧化三甲胺进行同时测定, 本文提出通过三甲胺/氧化三甲胺 (TMA/TMAO) 摩尔比值对 5、0、15 °C 贮藏过程中南美白对虾的新鲜程度进行测定, 并且同时对虾肉的挥发性盐基氮 (TVB-N)、pH 值、感官评分随贮藏时间的变化规律进行测定, 利用最小二乘法计算 TMA/TMAO 摩尔比值与挥发性盐基氮值 (TVB-N) 的相关性。结果表明: 随着贮藏时间的增加, TMA 和 TMAO、pH 变化趋势不稳定, 很难对南美白对虾做出准确的鲜度评价。但是 TMA/TMAO 摩尔比值随贮藏时间的延长呈稳定的上升趋势, 并且同一贮藏温度下 TMA/TMAO 摩尔比值与 TVB-N 值显著相关 ($P < 0.01$), 相关系数 r 均大于 0.936。说明 TMA/TMAO 摩尔比值作为判定南美白对虾的新鲜程度是可行的。

关键词: 南美白对虾; 新鲜度; TMA/TMAO 摩尔比值; 挥发性盐基氮

文章编号: 1673-9078(2013)10-2492-2497

Freshness of *litopenaeus vannamei* Based on Mole Ratio of TMA and TMAO

HU Jin-xin, LI Jun-sheng, YAN Liu-juan, HUANG Guo-xia

(Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Technology, Liuzhou 545006, China)

Abstract: Picric acid colorimetric method was conducted to measure TMA and TMAO of *Litopenaeus vannamei* in this research. Variations as the mole ratio of TMA and TMAO, total volatile basic nitrogen (TVB-N), pH value and sensory evaluation were detected to determine the freshness of *Litopenaeus vannamei* at the store temperature of 0, 5 and 15 °C. The result showed that TMA, TMAO and pH values grew unsteadily which were hardly to detect the freshness of sample whereas the mole ratio of TMA and TMAO and TVB-N increased steadily with the increasing storage time. Moreover, the mole ratio of TMA and TMAO and TVB-N were significantly correlation ($p < 0.01$), and all the correlation coefficients were greater than 0.936. Thus the mole ratio of TMA and TMAO was a feasible index for detection of the freshness of *Litopenaeus vannamei* simply and exactly.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; freshness; the mole ratio of TMA and TMAO; TVB-N

南美白对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 俗称基围虾, 也称白对虾、砂虾等, 隶属对虾科、新对虾属^[1]。该虾具有极高的营养价值^[2]。因该虾具有蛋白含量高、脂肪含量低, 维生素及矿物质含量丰富等优良品质, 所以成为广大消费者所青睐的水产品。但是, 目前市场缺乏对虾类产品完善的质量评价指标和质量评价方法, 造成大量的虾混装混淆^[3], 损害了消费者的利益。传统评价虾类产品鲜度的方法基本沿用 k 值、挥发性盐基氮 (TVB-N) 值、pH 值、电导率^[4]、细菌总数和感官评定等方法。上述的方法有的需要昂贵的仪器设备, 有些则耗费时间、人力, 还有一些评价手段不能有效的表征水产品的质量 and 新鲜程度的变化。

收稿日期: 2013-06-05

通讯作者: 李军生(1963-), 男, 博士, 教授, 硕士研究生导师

大量研究结果表明氧化三甲胺 (TMAO) 是许多水生生物的天然组分^[5], 是鱼类、虾类等的天然鲜味成分^[6]。当水产品停止呼吸后, 氧化三甲胺在细菌和酶的作用下被还原成具有显著恶臭味道的三甲胺 (TMA), 三甲胺是水产品腐败的恶臭成分^[7], 另一方面, 生物体内的卵磷脂经微生物作用也分解产生三甲胺。鉴于氧化三甲胺与三甲胺之间存在明显的相互转化关系, 提出以具有特殊转换关系的具有腐败特征的物质与具有鲜度特征的物质构成比例, 来评价水产品的鲜度。本文提出 TMA/TMAO 摩尔比值的方法。对于使用 TMA/TMAO 摩尔比值作为鲜度指示在国内外还尚未被报道。本文以南美白对虾作为研究对象, 分别在 0、5、15 °C 的贮藏温度下测定虾肉在贮藏过程中 TMA/TMAO 摩尔比值的变化规律; 另一方面, 结

合 pH 值、TMA、TMAO、感官评定、TVB-N 值对虾肉鲜度同时进行测定。最后, 经过分析 TMA/TMAO 摩尔比值与 TVB-N 值的线性相关性, 来验证 TMA/TMAO 摩尔比值作为南美白对虾鲜度评定方法的可行性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

养殖南美白对虾, 购于柳州市潭中菜市场, 整批虾清水冲洗后剔除死亡与损伤个体, 保留鲜活、大小均一的个体; 碎冰使虾休眠, 沥干后整只虾装入密封袋中, 分别 0、5、15 °C 的环境中贮藏。样品测定时取出整虾, 去头、去皮并剔除虾线, 然后把虾肉沥干, 虾肉待用以此进行不同鲜度指标的测定, 并且留取整虾用作感官评定。

1.2 试验仪器与设备

DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市予华仪器公司; LD4-2 型低速离心机, 北京医用离心机厂; PHS-25CW 微机型 pH/mV; UV-2012PC 型紫外可见分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; ZFD-A5040A 型全自动新型鼓风干燥箱, 上海智城分析仪器制造有限公司; SPX-250B-Z 型生化培养箱, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; JJ200 型电子天平, 常熟市双杰测试仪器厂; 半微量凯氏定氮蒸馏器; 冰箱。

1.3 测定方法

1.3.1 感官质量分析

由 7 位感官评定人组成感官评定小组对样品感官质量进行评分。参考由唐琳^[1]等人的感官评分标准, 具体评分标准见表 1。

表 1 南美白对虾感官评定打分表

Table 1 Criteria for the sensory evaluation of prawn

项目	80~100 一级新鲜	60~80 二级新鲜	40~60 腐败初期	0~40 腐败中后期
肉质组织 (30%)	肌肉纹理清晰有弹性, 肉与壳连接紧密	肌肉略有弹性不变色, 肉与壳连接松弛	肌肉弹性较差, 肉与壳连接松弛	肌肉组织松弛肉质发黄
体表色泽 (30%)	体表有光泽, 头胸甲与体节间紧密连接	壳有轻微红色或黑色, 头尾部出现黑斑	肌肉无固有色泽, 体表出现大面积黑斑	体表色泽灰暗, 甲壳与虾体分离
气味 (40%)	具有虾固有的气味无任何异味	略有异味	异味较强	强烈异味

1.3.2 pH 值的测定

参照 GB/T9695.5-2008《肉与肉制品 pH 测定》。

1.3.3 TVB-N 值的测定

参照水产行业标准 ST/T3032-2007《水产品中挥发性盐基氮的测定》。

1.3.4 TMA/TMAO 摩尔比值的测定

应用苦味酸比色法对同一样品中的 TMA 和 TMAO 同时测定, 方法参照李丰^[2]所用方法并稍作修改, 5 g 左右样品加 15 mL 5% 的三氯乙酸溶液, 充分研磨至肌肉组织破碎, 然后 4000 r/min 离心 20 min, 分别取 1 mL 样品液于两个 10 mL 具塞试管中, 其中一个加 1 mL Fe-EDTA 溶液, 于 60 °C 水浴中 15 min; 另一个只加入样品上清液的具塞试管用于对样品中原有 TMA 的定量分析。然后在这两只具塞试管依次分别加入 0.4 mL MgCO₃-甲醛溶液, 4 mL 甲苯, 1.2 mL 饱和 K₂CO₃ 溶液, 振荡 2 min, 静置 5 min, 将上层甲苯层移入含有 0.5 g 左右的无水硫酸钠的试管中, 移取 2 mL 上述除水后的

甲苯层溶液于干净试管中, 加入 2 mL 苦味酸-甲苯溶液, 充分振荡混匀, 同时做空白。于波长 410 nm 处进行比色。样品中 TMAO 和 TMA 含量测定结果以 mg/100 g 来表示。计算公式如下:

$$m(TMAO) = \frac{(A_1 - A_2)V_1/V_2}{m \times 10} \times 1.27$$

$$m(TMA) = \frac{A_2V_1/V_2}{m \times 10}$$

注: A₁-样品管中 TMAO 还原成 TAM 和原有 TMA 量的总和, 单位为 μg; A₂-样品管中原有 TMA 的量, 单位为 μg; V₁-提取液总体积, 单位为 mL; V₂-样品测定所取提取液的总体积, 单位为 mL; m-样品质量, 单位为 g; 1.27-1 mg 三甲胺相当于氧化三甲胺的量。

样品中 TMAO 和 TMA 含量测定结果以 mg/100 g 来表示。所得结果由三甲胺/氧化三甲胺摩尔比值公式来表示, 三甲胺/氧化三甲胺摩尔比值公式表达式为:

$$TMA/TMAO \text{ 摩尔比值} = \frac{m(TMA)}{m(TMAO)} \cdot \frac{M(TMAO)}{M(TMA)}$$

注: m(TMA)-样品中三甲胺含量, 单位为 10^{-2} mg/g;
m(TMAO)-样品中氧化三甲胺含量, 单位为 10^{-2} mg/g;
M(TMAO)-TMAO的相对分子质量; M(TMA)-TMA的相对分子质量。

1.4 数据处理

采用Origin (8.0) 软件对TMA/TMAO摩尔比值及各鲜度指标随贮藏时间的变化分析作图。利用SPSS (20.0) 软件分析TMA/TMAO摩尔比值与TVB-N值的相关性, 根据最小二乘法得到相关系数。

2 结果与分析

2.1 pH 测定值分析

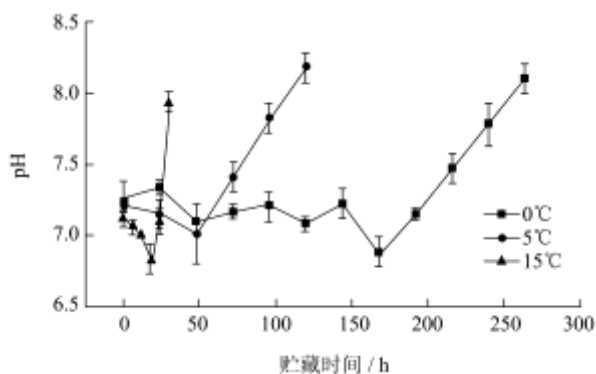


图1 不同贮藏温度下南美白对虾 pH 的变化曲线图

Fig.1 Changes of pH in prawn during storage at 0 °C, 5 °C and 15 °C

由图1所示, 南美白对虾的pH值在三个不同的温度条件下都呈先降后升的趋势。在0、5、15 °C贮藏条件下, pH 分别在第120 h、48 h、18 h达到最低, 贮藏初期虾肉中的糖原被分解产生乳酸所造成的pH的降低。但到了贮藏后期, 虾体内的微生物大量繁殖, 虾肉中的蛋白质、氨基酸等含氮物质被分解为氨、三甲胺、组胺等碱性物质, 使pH又上升。由图1可知, 0 °C条件下pH在第0~144 h出现了上下波动的现象, 在贮藏初期的pH变化不稳定。这可能是由于较低贮藏温度抑制了一部分腐败菌的生长繁殖, 因此一段时间内pH呈平稳或稍微下降的趋势, 但随着贮藏时间的延长, 适应较低温环境的嗜冷菌开始繁殖, 继而样品继续发生腐败, 使pH又开始上升。虽然pH值可反映虾肉中微生物的生长情况, 但pH值的变化受到很多因素的影响, 如虾的种类、生长环境等。因此, pH只可以作为辅助性的鲜度指标与其他表征手段共同对样品进行鲜度评价。

2.2 TMA 和 TMAO 随贮藏时间的变化

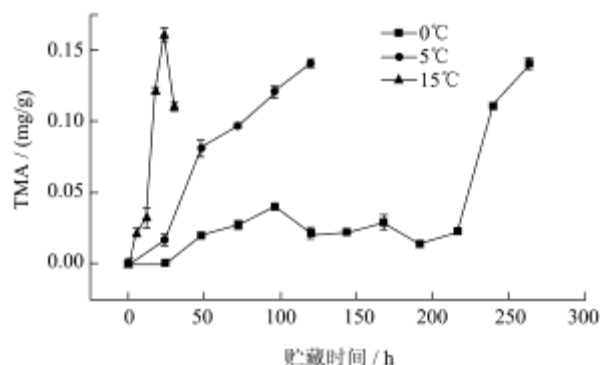


图2 不同贮藏温度下南美白对虾TMA的变化曲线图

Fig.2 Changes of TMA in prawn during storage at 0 °C, 5 °C and 15 °C

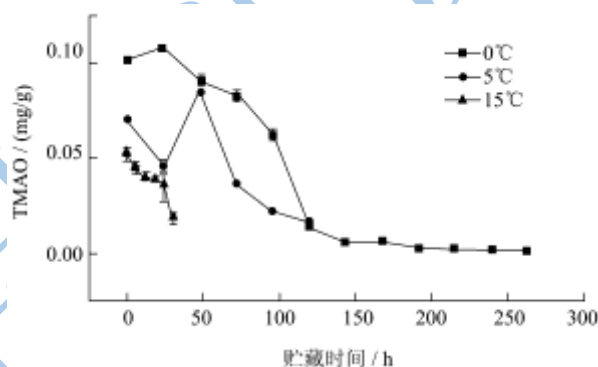


图3 不同贮藏温度下南美白对虾 TMAO 的变化曲线图

Fig.3 Changes of TMAO in prawn during storage at 0 °C, 5 °C and 15 °C

由图2所示, 在0、5、15 °C贮藏条件下, TMA随着贮藏时间的延长总体都呈持续积累状态, 但是0 °C条件下, TMA在第96至216 h时TMA的变化上升趋势不明显, TMA的变化发生了波动, 这可能是由于低温环境下的一些微生物的活性被部分抑制, 造成了在一定时间内虾体的腐败过程变得迟缓, 当随着贮藏时间的延长, 样品中的嗜冷菌大量繁殖, 继而样品继续发生腐败。在贮藏温度为15 °C下, 30 h时TMA的生成量下降, 这是由于较高温度时待测样品中的微生物更适合生长且繁殖代谢更快, 导致腐败产物TMA可能继续被降解为二甲胺、甲醛等更低级的脂肪胺。Dyer曾对虾体内TMA的变化规律进行测定, 发现该值只能对虾体的腐败程度进行指示, 不能对虾的新鲜程度进行评级^[10]。相反的, 由图3所示, 0、15 °C贮藏条件下的TMAO随着时间的增加呈下降趋势, 而5 °C条件下12 h时, TMAO又上升到了一个新的水平, 而后也呈下降趋势, 这可能是虾肉中还含有TMAO的合成途径, 并且5 °C可能在TMAO合成酶的最适反应温度范围内, 所以TMAO的变化规律不稳定。李丰^[8]曾对龙头鱼中TMAO变化规律

进行测定,发现TMAO含量在下降的过程中也会出现

某一时刻发生回升的情况。因此,单独使用TMA和TMAO对南美白对虾鲜度进行评价会在一定程度上造成一定误差。

2.3 TMA/TMAO 摩尔比值与感官质量随贮藏时间的变化

鉴于TMAO和TMA可以作为新鲜和腐败的代表组分,并且二者又存在着特殊的相互转换关系^[1]。所以,将其二者的摩尔质量构成比例关系,以摩尔比值的变化来反映虾内在品质与天然、原生态、鲜活时态的品质差异,即新鲜程度的判别。

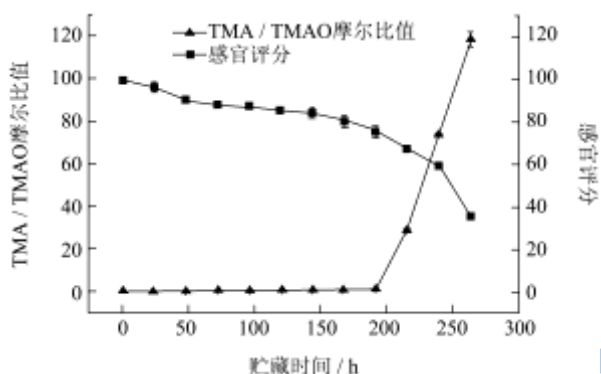


图4 0℃贮藏时南美白对虾的TMA/TMAO摩尔比值和感官评分的变化曲线图

Fig.4 Changes of TMA/TMAO mole ratio and sensory evaluation in prawn during storage at 0°C

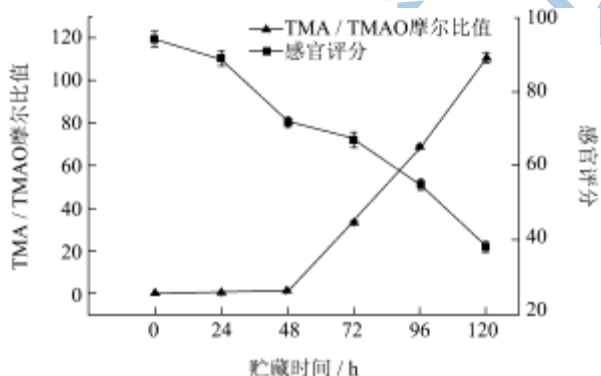


图5 5℃贮藏时南美白对虾的TMA/TMAO摩尔比值和感官评分的变化曲线图

Fig.5 Changes of TMA/TMAO mole ratio and sensory evaluation in prawn during storage at 5°C

在0、5、15℃贮藏条件下(图4、图5、图6),样品在贮藏初期TMA/TMAO摩尔比值都呈缓慢的上升趋势。并且随着贮藏温度的降低TMA/TMAO摩尔比值变化趋势会变得更加迟缓,这是因为嗜温微生物随贮藏温度的降低而被抑制。在0h时TMA/TMAO摩尔比值

为0,这是由于鲜活的虾体中几乎不存在TMA,并且在这一时刻虾肉中TMAO的含量较高,此时的虾肉呈透明状、无变色现象,肉质纹理清晰,虾壳与肉质连接紧密,虾体无异味,所以感官评定均为一级新鲜。随着贮藏时间的延长,感官评分逐渐走低。如图4、图5、图6所示,TMA/TMAO摩尔比值分别在28.70、33.25、39.08处,根据感官评定可知为二级新鲜终点。当TMA/TMAO摩尔比值分别在73.53、69.27、72.57时,虾肉发生变色,肉质弹性变差,有较大的腥臭味产生,在三个温度条件下的感官评分都到达腐败初期。这是因为虾体内的碱性厌氧菌的大量增殖,导致大部分TMAO还原成TMA;另一方面,虾体内的一些腐败微生物可以分解虾肉中的卵磷脂产生三甲胺。在0、5、15℃贮藏条件下,当TMA/TMAO摩尔比值分别达到118.53、111.13、116.42时感官评级为腐败中后期,已经发生腐败的虾体发生严重变色,虾壳与虾肉连接松弛,并且散发出浓郁的腐臭味。进入腐败期的虾肉,大量的腐败微生物快速增殖,经细菌的分解作用,TMAO大量被分解为TMA,以至于可被检出的TMAO的量很少,TMA含量很高,所以TMA/TMAO摩尔比值会增至很高的水平。

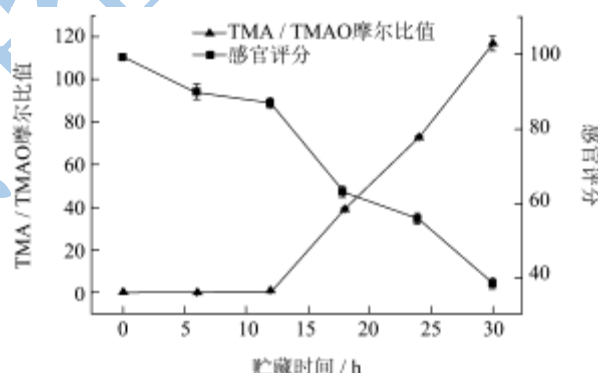


图6 15℃贮藏时南美白对虾的TMA/TMAO摩尔比值和感官评分的变化曲线图

Fig.6 Changes of TMA/TMAO mole ratio and sensory evaluation in prawn during storage at 15°C

2.4 TVB-N 测定值的分析

TVB-N 是指动物性食物由于酶和细菌的作用,蛋白质被分解产生氨及胺类等碱性物质^[12]。研究表明,在水产品贮藏过程中 TVB-N 值的变化与水产品的新鲜程度的变化有明显的对应关系,以感官评定作为参照可以看出,水产品鲜度越高,水产品的 TVB-N 值越低。因此,TVB-N 可以作为评价水产品鲜度的一项重要表征手段^[13]。

从图 7 可以看出,在不同的贮藏温度下,虾肉 TVB-N 值随贮藏时间的延长均呈上升趋势,并且随着

贮藏温度的升高 TVB-N 值的升高趋势就越明显,这是由于较高的温度有利于大多数微生物的生长繁殖,而微生物代谢出的蛋白酶与虾肉中的蛋白酶共同对蛋白质发生分解作用,从而引起了 TVB-N 值的升高。参照水产行业标准 SC3113-2002, TVB-N (10^2mg/g) $\leq 0.15\text{ mg/g}$ 为一级新鲜; $>0.15\text{ mg/g}$, $\leq 0.20\text{ mg/g}$ 为二级新鲜; $>0.20\text{ mg/g}$ 说明样品开始腐败。如图 7 所示,在 0、5、15 °C 条件下,保藏时间分别在第 168 h、24 h 和 6 h 时到达一级新鲜终点;保藏时间分别在第 216 h、72 h 和 18 h 时到达二级新鲜终点;保藏时间分别在第 240 h、96 h 和 24 h 时开始腐败。这一检测结果与刘丽媛等人^[14]所得到的结果相比,腐败期较为提前,这可能是由于南美白对虾的生存水域的不同,或者是初始的含菌量的高低有所不同所造成的。

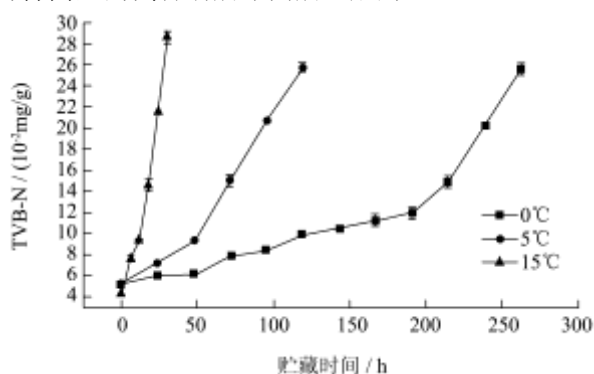


图 7 不同贮藏温度下南美白对虾 TVB-N 值的变化曲线图

Fig.7 Changes of TVB-N in shrimp during storage at 0 °C, 5 °C and 15 °C

2.5 TVB-N 测定值与 TMA/TMAO 摩尔比值的相关性分析

根据 TVB-N 测定值和 TMA/TMAO 摩尔比值的测定结果,用最小二乘法对 TMA/TMAO 摩尔比值与 TVB-N 值的相关性进行分析。在 0、5、15 °C 条件下, TMA/TMAO 摩尔比值与 TVB-N 值均随贮藏时间的增加而增加,且三个温度条件下的这两种表征方法间均存在着显著的相关性 ($p < 0.01$)。0、5、15 °C 贮藏条件下, TMA/TMAO 摩尔比值与 TVB-N 值的相关性回归方程分别为:

$$Y_1 = 0.150X_1 + 8.722 \quad (r = 0.936)$$

$$Y_2 = 0.172X_2 + 7.671 \quad (r = 0.980)$$

$$Y_3 = 0.189X_3 + 7.071 \quad (r = 0.984)$$

式中 X 表示 TMA/TMAO 摩尔比值, Y 表示 TVB-N 值,

r 表示相关系数。

3 结论

本研究综合分析了南美白对虾在 0、5、15 °C 贮藏过程中虾肉的 pH 值、TMA、TMAO、TMA/TMAO 摩尔比值、挥发性盐基氮 (TVB-N)、感官评分随贮藏时间的变化规律,并且用最小二乘法对 TMA/TMAO 摩尔比值与挥发性盐基氮值 (TVB-N) 的相关性进行分析。结果表明: pH、TMA、TMAO、变化趋势不稳定,很难对南美白对虾做出准确的鲜度评价。在三个不同贮藏温度 TMA/TMAO 摩尔比值呈稳定的上升趋势,并且同一贮藏温度下 TMA/TMAO 摩尔比值与 TVB-N 值存在显著的相关性 ($P < 0.01$), 相关系数 r 均大于 0.936。说明 TMA/TMAO 摩尔比值可以作为判定其新鲜度的指标。但是,要使 TMA/TMAO 摩尔比值作为检测南美白对虾的鲜度指标,还需要大批量的、多种温度条件下的试验才能使 TMA/TMAO 摩尔比值成为水产品规范化的指标,以此来建立更完善的水产品货架期的预测模型。

参考文献

- [1] 李卫东,陶妍,袁琪,等.南美白对虾在微冻保藏期间的鲜度变化[J].食品与发酵工业,2008,34(11):48-52
Li W D, Tao Y, Yuan Q. Changes in Freshness of *Penaeus vannamei* During Partial Freezing Storage [J]. Food and Fermentation Industries, 2008, 34(11): 48-52
- [2] 卢光涛,何绪刚,龚世园,等.南美白对虾肌肉品质的评价[J].水利渔业,2008,28(4):69-71
Lu G T, He X G, Gong S Y. Evaluation on the Meat Quality *Vannamei* [J]. Reservoir Fisheries, 2008, 28(4): 69-71
- [3] Laura Pastoriza, Marta Bema. Use of sterile and ozonized water as a strategy to stabilize the quality of stored refrigerated fresh fish [J]. Food Control, 2008, 19(2): 772-780
- [4] Rahul Sarma, Sandip Paul. Trimethylamine-N-oxide's effect on Solvation at high pressure: a molecular dynamics simulation study [J]. The Journal of Physical Chemistry, 2013, 117(18): 5691-5704
- [5] Stuart W Gibba, Angela D Hatton. The occurrence and distribution of trimethylamine-N-oxide in Antarctic coastal waters [J]. Marine Chemistry, 2004, 91(4): 65-75
- [6] 邓后勤,夏延斌,邓友光,等.三甲胺测定方法的研究进展[J].食品与发酵工业,2005,31(12):84-88
Deng H Q, Xia Y B, Deng Y G. Advances on the Method of Determination Trimethylamine [J]. Food and Fermentation Industries, 2005, 31(12): 84-88
- [7] Are V W. Biochemistry of non-protein nitrogenous compounds in fish including the use of amino acid for anaerobic energy production. comp [J]. Comparative

- Biochemistry and Physiology, 1988, 91(2): 207-228
- [8] 唐琳,屠康,潘磊庆,等.基于气味与颜色的脊尾白虾新鲜度评价[J].农业工程学报,2011,27(9):344-348
- Tang L, Tu K, Pan L Q. Evaluation of *E. carinicauda* Freshness Based on Odor and Color Models [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2011, 27(9): 344-348
- [9] 李丰.龙头鱼甲醛、二甲胺和氧化三甲胺含量的研究[D].广州:中山大学,2007
- Li F. Study on the Amount of formaldehyde, dimethylamine and trimethylamine oxide in *Harpadon nehereus* [D]. Guangzhou: SUN YAT-SEN UNIVERSITY, 2007
- [10] 王四维.虾类产品鲜度判定方法[J].保鲜与加工,2005,5(5): 42-44
- Wang S W. Determination methods on Freshness Shrimp Product [J]. Storage and Process, 2005, 5(5): 42-44
- [11] Rappert S, Muller R. Microbial degradation of selected odorous substances [J]. Waste Management, 2005, 25: 940-954
- [12] Liston J. Microbiology in fishery science advances in fishery science and technology [D]. Fishing News Farnham, 1980, 138-157
- [13] Pedro C, Juan C P P, Ma J C C, et al. Total volatile base nitrogen and its use to assess freshness in European sea bass stored in ice[J]. Food Control, 2006, 17(4): 245
- [14] 刘丽媛,谢晶,励建荣.预测南美白对虾品质变化的动力学模型的建立[J].食品工业科技,2009,30(6):278-281
- Liu L Y, Xie J, Li J R Y. Building of the Kinetics Model for prediction of the Quality Change of *Vannamei Boone* [J]. Science and Technology of Food Industry. 2009, 30(6): 278-281