

$n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 比值法在白鲳储存期间鲜度评价中的应用

黄国霞^{1,2,3}, 阎柳娟^{1,2,3}, 李军生^{*1,2,3}, 许艳桃¹

(1. 广西科技大学 生物与化学工程学院, 广西 柳州 545006; 2. 广西科技大学 广西糖资源绿色加工重点实验室, 广西 柳州 545006; 3. 广西科技大学 广西高校糖资源加工重点实验室, 广西 柳州 545006)

摘要: 作者通过运用三甲胺与氧化三甲胺的摩尔比值($n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$)对白鲳在储存期间的新鲜程度进行评价。研究表明,在 0、5、30 ℃ 条件下,随着贮藏时间的增加,储藏初期比值较小且上升平稳,到了后期感官评价为货架期初期后,出现明显的转折点,比值迅速上升。与传统的指标挥发性盐基氮值(TVB-N)、菌落总数(TVC)进行数理统计与相关性分析,发现显著相关,进一步说明以摩尔比值($n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$)作为白鲳鲜度指标具有合理性。

关键词: 水产品;新鲜度;TMA/TMAO 摩尔比值;挥发性盐基氮;菌落总数

中图分类号: S 965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2017)01-0093-05

Application of the Mole Ratio of TMA to TMAO to the Freshness Evaluation for Brachypomum

HUANG Guoxia^{1,2,3}, YAN Liujuan^{1,2,3}, LIU Junsheng^{*1,2,3}, XU Yantao¹

(1. College of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Green Processing of Sugar Resources, Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, China; 3. Key Laboratory for Processing of Sugar Resources of Guangxi Higher Education Institutes, Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, China)

Abstract: In order to evaluate the freshness of aquatic products simply and effectively, the usage of the mole ratio of TMA to TMAO ($n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$) was investigated during the storage of Brachypomum. Results showed that during the initial stage the ratios were small and increased steadily with extended storage, and a significant turning point appeared for the secondary freshness and the ratios then increased rapidly. Good correlations between $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ and TVB-N, TVC were observed and all correlation coefficients were larger than 0.900. Therefore, the mole ratio of TMA to TMAO could be used as an effective method to evaluate the freshness of aquatic products.

Keywords: aquatic product, freshness, the mole ratio of TMA to TMAO, TVB-N, TVC

收稿日期: 2015-04-14

作者简介: 黄国霞(1981—), 女, 广西贺州人, 理学硕士, 高级实验师, 主要从事生化分析研究。E-mail: 251493952@qq.com

* 通信作者: 李军生(1963—), 男, 广西临桂人, 理学博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事生物大分子的功能修饰。

E-mail: junshengle63@yahoo.com.cn

引用本文: 黄国霞, 阎柳娟, 李军生, 等. $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 比值法在白鲳储存期间鲜度评价中的应用[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(01): 93-97.

白鲳是为数不多出海后还能存活的海水鱼,且味道鲜美,深受消费者喜爱。与此同时,水产品尤其是海水水产品存活时间短,又因其蛋白特性易受微生物作用,脂质含量多易被氧化等^[1-6]。为了延长储藏时间,往往需要加入抗冻剂^[7],鱼体死后容易出现恶臭味等,故水产品储藏过程中的新鲜度备受瞩目。传统评价水产品新鲜度的方法有感官评定、挥发性盐基氮(Total volatile base nitrogen, TVB-N)法、K值、菌落总数(Total aerobic counts, TVC)等方法^[8-12],以上这些方法都只是从劣变成分的积累来做为指标的,以上这些成分因生物种类不同大有差异,因此不足以科学准确的表征产品的鲜度,也有一些人直接用三甲胺(TMA)作为指标评价鱼的新鲜程度^[13-14],这也同样存在样品差异较大的问题。另外,有研究表明电导率法也可以作为鲜度的指标^[15]。

研究表明:氧化三甲胺(TMAO)是大部分水生生物尤其是海水鱼的天然含有组分,具有特殊的鱼鲜味,是水产品鲜味的重要内因。当水生生物停止呼吸后,氧化三甲胺在微生物和酶的作用下被还原成具有恶臭味道的三甲胺,此外,生物体内的卵磷脂经微生物作用也分解产生三甲胺^[16]。三甲胺和氧化三甲胺作为臭味和鲜味的对立面,二者之间具有内在的转化关系^[17],故作者以TMA与TMAO的摩尔比值(n_{TMA}/n_{TMAO})作为评价指标,这样既能表征劣变程度,又能表征鲜味程度,弥补了传统方法的不足,更为科学合理。此前,作者已经对南美白对虾等水产品进行了评价^[18],应用这一方法对不同储藏条件下的白鲳进行鲜度评价追踪,旨在为水产品鲜度评价提供更多的实验依据。

表 1 鱼类感官评定打分表

Table 1 Criteria for the sensory evaluation of fish

指标	一级新鲜(E)	二级新鲜(A)	货架期(B)	腐败中后期(C)
体表	黏液透明,体色鲜艳	黏液变白,体色较暗	黏液淡黄色,体表无光泽	黏液变浑浊,体色完全消失
气味	较强的鱼腥味,蒸后有明显清香味	海腥味变弱,蒸后清香味变弱	轻微的腐臭味,蒸后有轻微异味	恶臭味,蒸后有明显的异味
鳃	鲜红色,无异味,鳃丝分明	红色变暗,无异味,鳃丝部分粘附	颜色变白,鱼腥气较重,鳃丝粘附在一起	黄灰色,较强的氨臭味,鳃丝完全粘附
肌肉	肉质紧实,有弹性,蒸后肉质紧致白嫩	坚硬,有弹性,蒸后肉质弹性稍差	弹性显著减弱,肉色较暗,蒸后肉质变软	严重形变,蒸后肉质松软糜烂,色泽偏黄

1.5 TVB-N 值的测定

根据 GB/T 5009.44-2003《肉与肉制品卫生标

1 材料与方法

1.1 试验材料及处理

鲜活白鲳:购自柳州市前进市场。用于TMA、TMAO、TVC、TVB-N各项指标的测定,感官评定则用整鱼贮藏观察,设置3个温度组,分别为0℃冰箱,5℃冰箱和30℃恒温箱。每个样设3组平行。

1.2 仪器与设备

LD4-2型低速离心机:北京医用离心机厂产品;UV-2012PC型紫外可见分光光度计:尤尼柯(上海)仪器有限公司产品;SPX-250B-Z型生化培养箱:上海博迅实业有限公司医疗设备厂产品;LRH-250A生化培养箱:广东省医疗器械厂产品;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产品。

1.3 试剂

Fe-EDTA溶液:称取2.78 g FeSO₄固体溶于100 mL脱氧水中,充分溶解后静置。称取3.77 g Na₂EDTA溶于100 mL脱氧水中,充分溶解后缓慢倒入盛有FeSO₄溶液的烧杯中,混合均匀,20℃恒温低速搅拌至澄清透明,避光保存备用。

苦味酸—甲苯溶液:准确称取0.04 g苦味酸固体置于烧杯中,经适量无水硫酸钠浸泡一夜后的甲苯量取200 mL加入苦味酸中,充分溶解静置备用。

1.4 感官评定

由6位感官评定小组成员对样品感官质量进行评分。分为4个等级:一级新鲜(E),二级新鲜(A),货架期(B)和腐败中后期(C)。具体评分标准见表1。

准的分析方法:挥发性盐基氮》,采用半微量定氮法测定。

1.6 菌落总数的测定

在规定时间内挑取部分鱼肉,根据 GB 4789.2-2010《食品微生物学检验:菌落总数测定》测定方法进行微生物试验。

1.7 TMA/TMAO 摩尔比值的测定

应用苦味酸比色法对鱼肉中的 TMA 和 TMAO 同时进行测定,以 Fe-EDTA 作为还原剂,根据 TMA 和 TMAO 的转换分别测出它们的含量,再计算出摩尔比值 $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$,步骤为取 5.0 g 左右鱼肉加 40 mL 质量分数 7.5% 的 TCA,充分研磨,离心 15 min (4 000 r/min)。各取 1 mL 上清液于两支 10 mL 比色管中,其中一支加入 1 mL Fe-EDTA 溶液,于 60 °C 恒温水浴锅恒温 15 min。两支比色管分别按顺序加入 0.4 mL 甲醛溶液,4 mL 甲苯,1 mL 氢氧化钾溶液,振荡器振荡 2 min,静置 2 min,用无水硫酸钠将甲

苯层进行震荡干燥,最后取 2 mL 上清液与 2 mL 苦味酸-甲苯溶液混合,在波长 410 nm 处进行比色。根据标准曲线的回归方程及二价铁还原前后差值计算出样品中 TMA 和 TMAO 含量。

2 结果与分析

2.1 3 种鱼在贮藏过程中的感官变化

鱼的感官评价结果见表二,鲜活的白鲢呈一级新鲜状态,随着贮藏时间的增加,在 5 °C、0 °C 和 30 °C 贮藏条件下,分别在第 2 d、4 d 和 4 h 进入二级新鲜阶段,在第 4 d、11 d 和 8 h 开始腐败,出现腥臭味,肌肉肉质变松散,黏液变为微黄色,鱼鳃发白,此时即为货架期终点,待测样品在第 5 d、第 12 d 和第 10 h 完全腐败,评价结果为腐败中后期。

表 2 白鲢在储藏期间感官评价表

Table 2 Criteria for the sensory evaluation during storage

评价项目	贮藏时间																				
	0 ℃/d									5 ℃/d						30 ℃/h					
	0	2	4	6	8	9	10	11	12	0	1	2	3	4	5	0	2	4	6	8	10
体表	E	E	E	A	A	A	B	B	C	E	E	E	A	B	C	E	E	E	A	B	C
气味	E	E	A	A	B	B	B	B	C	E	E	A	A	B	C	E	E	A	A	B	C
鳃	E	E	A	A	B	B	B	B	C	E	A	A	A	B	C	E	A	A	B	B	C
肌肉	E	E	E	A	B	B	B	B	C	E	E	E	A	B	C	E	E	E	A	B	C

2.2 TMA、TMAO 随贮藏时间的变化

TMA 随着贮藏时间的延长总体都保持积累,这是因为氧化三甲胺容易被腐败微生物分解,产生三甲胺,使得三甲胺含量在鱼肉中积累,这可以从图 1 的结果得到证实。图中结果还表明,储存温度会对样品中测得的 TMA 含量有较大的影响,到货架期终点时,在 30、5、0 °C 储存条件下三甲胺质量分数分别为 0.186、0.091、0.243 mg/g,可见,不能单纯的从三甲胺的含量来判断鱼体的新鲜程度。

2.3 $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 随时间的变化

水产品体内的氧化三甲胺含量因种类、生活环境、捕食习性、喂养等因素存在较大差异,因此,若单独通过氧化三甲胺或者三甲胺来表征水产品的新鲜程度,会有普遍性差、不够合理等情况出现。TMAO 和 TMA 是分别表示新鲜和腐败的两个重要组分,且两者之间存在一定的化学转换关系,可以用 $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 来衡量水产品的新鲜度,如图,刚开始时,样品中的氧化三甲胺还没有分解,几乎没有检

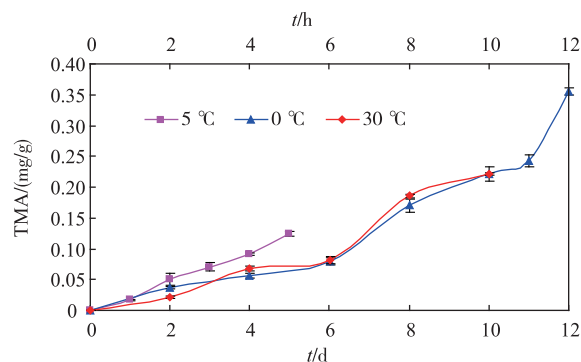


图 1 三甲胺含量随时间变化情况

Fig. 1 Change of the TMA content during storage

出三甲胺,此时比值为 0,贮藏初期的 $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 均呈缓慢上升趋势。30 °C 储存下,在 2 h 时, $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 为 0.52,8 小时以后迅速上升,至 11 h 时,比值为 11.38。5 °C 储存下,2 天内比值增加较为缓慢,之后上升明显,到货架期终点(第 4 d)时,比值为 8.76,到腐败后期(第 5 d)为 19.48。0 °C 储存下,6 小时内

比值都比较小,在 1.64 以下,6 h 以后上升明显,第 10 d 以后上升幅度最大。

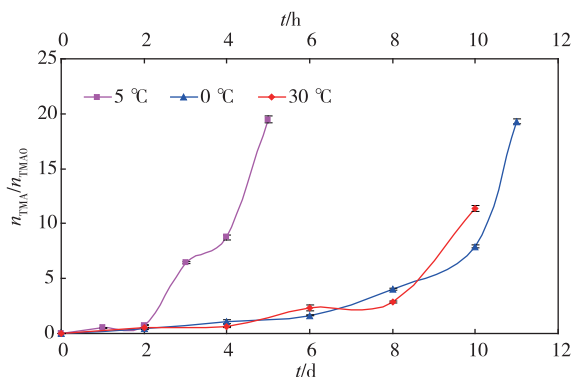


图 2 储存期内 $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 比值变化

Fig. 2 Chang of mole ratios of TMA to TMAO during storage

2.4 TVC 测定值的分析

水产品的腐败最大的原因是微生物的生长代谢,因此,测定不同储存时间的菌落总数也可以很好的了解水产品的新鲜程度。由图 3 可看出,随着时间的推移,微生物在不断的繁殖,刚开始时菌落总数的对数值均在 6 以内,分别在 30 °C、5 °C 和 0 °C 下到达货架期终点时,菌落总数的对数值为 9.07, 8.67, 9.05。

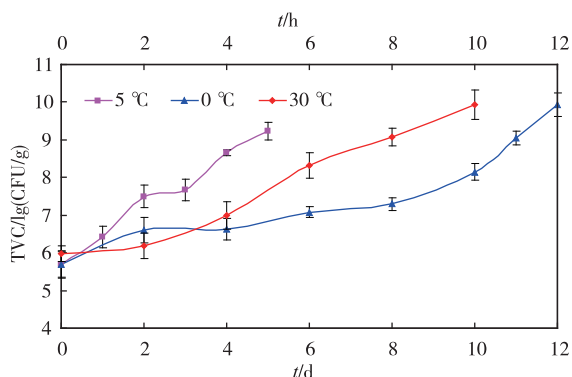


图 3 储存期内 TVC 含量

Fig. 3 Chang of the TVC content during storage

2.5 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,蛋白质被分解产生的氨及胺类等碱性物质,时间越长,蛋白质发生自溶,在微生物的作用下蛋白质被分解得越多,造成 TVB-N 含量与新鲜程度有明显的反比例对应关系,因此,也是一项评价水产品鲜

度的重要指标^[27]。如图 4,各种不同储存温度下鱼的 TVB-N 值随时间的延长而上升,与菌落总数的增长成同一趋势,符合在 30 °C、5 °C 和 0 °C 时,到达感官可食用极限即货架期终点的 TVB-N 值分别为 19.67 mg/hg (8 h)、21.42 mg/hg (4 d)、19.16 mg/hg (10 d),均在国标对海水鱼 TVB-N 的规定值(≤ 30 mg/hg)内^[28]。

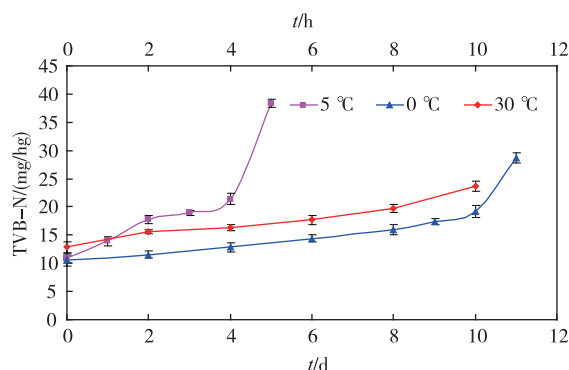


图 4 储存期内 TVB-N 含量变化

Fig. 4 Change of the TVB-N content during storage

2.6 $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 与 TVB-N、TVC 相关性分析

TVB-N、TVC 是常用的表征鱼产品新鲜程度的指标, $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 比值则是作者提出的一种新方法,通过与前两者做相关的数学统计分析,更有利于说明新方法的可行性、可靠性,因此,作者进行数理统计,将在 3 个温度下的 $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 对 TVB-N 进行拟合,得到 3 组线性,相关系数 r 分别为 0.897、0.910、0.919;对 TVC 进行了拟合,3 组线性相关系数 r 分别为 0.910、0.863、0.863。6 组线性中, $p < 0.01$ (极显著相关)的有 2 组,其余均为 $p < 0.05$ (显著相关)。以上结果表明, $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 与 TVB-N、TVC 的发展规律是相同的,说明鱼发生劣变的过程中,各种成分的变化是规律发展的,故都可以作为评价鲜度的指标。

3 结 语

综合分析了在 0、5 °C 和 30 °C 贮藏过程白鲳鱼肉的 TMA、 $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 、TVB-N、TVC、感官评分随贮藏时间的变化规律,并且用最小二乘法做相关性分析。结果表明:TMA、TMAO 变化趋势出现波动,不利于准确评定水产品新鲜度。相比之下, $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 均呈稳定的上升趋势,且与 TVB-N 值、TVC 存在显著的相关性。证明以 $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 作为水产品新鲜度判定指标的可行性较大。而 TVB-N 值和 TVC 值虽然也是

很好的表征新鲜度的指标,但由于测定 TVB-N 需要较长时间蒸馏,测定 TVC 也需要长时间的培养,因此,相对而言,利用 $n_{\text{TMA}}/n_{\text{TMAO}}$ 来作为判定新鲜度的指标是相对比较方便的方法。要想成为一个适用性

广的指标,还需要对更多的样品进行测定,另外,TMA 增多和 TMAO 减少的具体途径和机理的明确对于水产品鲜度评价也是非常重要的,这也是下一步需要继续探讨的内容。

参考文献:

- [1] WANG Xinhua. Development situation and development strategy of aquatic products in China [J]. **Journal of Hubei University of Education**, 2012, 29(9): 73-76. (in Chinese)
- [2] ZOU Yuping, XIA Wenshui. Study on application of nipagin esters in preservation for cooked fish [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 2(2): 167-171. (in Chinese)
- [3] XU Shuang, ZHANG Min, CHEN Huizhi. Study on the flavor changes of marinated fish with different desalting methods [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2013, 32(7): 713-717. (in Chinese)
- [4] WAN Juan, ZHANG Min, WANG Yongjun, et al. Study of shelf life and oil content in fried marinated fish [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(2): 176-182. (in Chinese)
- [5] WANG Jianhui, LIU Dongmin, ZHENG Anni, et al. Preliminary purification and distribution of lipoxygenase in grass carp [J]. **Advanced Materials Research**, 2012, 550-553: 1468-1472.
- [6] HWANG K T, KIM J E, KANG S G, et al. Fatty acid composition and oxidation of lipids in Korean catfish [J]. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 2004, 81(2): 123-127.
- [7] MA Yan, XIE Jing, ZHOU Ran, et al. Application of complex cryoprotectant on takifugu obscures during frozen storage [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(5). (in Chinese)
- [8] TANG Shengqiu, DONG Xiaoying, ZHOU Xiaoting. The research progress of trimethylamine oxide in animal nutrition [J]. **Feed Research**, 2003(8): 19-21. (in Chinese)
- [9] XU Chunlan, HU Xiaolei, WANG Yizhen. Research of Trimethylamine oxide on aquatic animal [J]. **China Animal Health**, 2004(7): 39-41. (in Chinese)
- [10] ZHANG Kun, PENG Kehuai, DU Hongfeng. Spectrophotometric method to determine volatile basic nitrogen in meat and meat products [J]. 2009, 25(1): 78-80.
- [11] ZHU Jinhu, HUANG Hui, LI Laihao. Development of sensory evaluation in food science [J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2012, 33(8): 8-405. (in Chinese)
- [12] WANG Shasha. The development and the research of fast detection technique of food microorganism [J]. **Life Science Instrument**, 2009, 7(10): 60-63. (in Chinese)
- [13] YAO Jiayan, ZHANG Jinjie, GU Weigang, et al. Effect of storage temperature on freshness of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [J]. **Journal of Zhejiang University (Agric & Life Sci)**, 2011, 37(2): 212-218. (in Chinese)
- [14] NOGUERAS S B, CID S B, NOGU S M T V, et al. Effects of previous frozen storage on chemical, microbiological and sensory changes during chilled storage of Mediterranean hake (*Merluccius merluccius*) after thawing [J]. **European Food Research Technology**, 2007, 226: 287-293.
- [15] 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.
- [16] LISTON J. Microbiology in fishery science. In: Connell, J.J. (Ed.), *Advances in Fishery Science and Technology*. Fishing News (Books), Farnham, UK, pp. 1980, 138-157.
- [17] RAPPERT S, MULLER R. Microbial degradation of selected odorous substances [J]. **Waste Management**, 2005, 25: 940-954.
- [18] HU Jinxing, LI Junsheng, YAN Liujuan, et al. Freshness of *Litopenaeus vannamei* based on mole ratio of TMA and TMAO [J]. **Modern Food Science and Technology**, 2013, 29(10): 2492-2497. (in Chinese)