

6种鱼类肌肉组织肌苷酸的检测分析

刘旭, 王军, 张文, 杜佳莹, 苏永全

(厦门大学海洋与环境学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 采用高效液相色谱技术, 在国内首次测定了条纹斑竹鲨(*Chiloscyllium plagiosum*)、大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)、鳙(*Siniperca chuatsi*)、青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)和乌塘鳢(*Bostrichthys sinensis*)等6种鱼类新鲜和冻存肌肉组织中肌苷酸含量。结果表明:(1)不同鱼类肌肉组织中肌苷酸质量比不同, 牙鲆新鲜肌肉组织中肌苷酸质量比最高, 为4.214 mg/g, 其余5种鱼类为2.365~3.634 mg/g。(2)10 d冻存试验中, 经-70℃超低温冻存, 6种鱼类冻存肌肉组织中肌苷酸质量比均高于新鲜肌肉组织, 大黄鱼肌肉组织冻存1 d肌苷酸质量比达最大值, 鳙肌肉组织冻存10 d肌苷酸质量比呈上升态势未出现最大值, 其余5种鱼类肌肉组织肌苷酸质量比均在冻存第5天达到最大值。长时间的冻存将会降低食用鱼肉中肌苷酸质量比, 导致鲜味下降, 但经1周左右短时间的冻存后可明显提高鱼肉中肌苷酸质量比, 增加鲜味, 提高食用价值。

关键词: 鱼类肌肉组织; 肌苷酸; 冻存; 高效液相色谱

中图分类号: Q524

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)02-0022-03

近年来, 许多学者对肉类及其制品的鲜味研究发现, 对鲜味贡献最大的两类物质为氨基酸和肌苷酸。肌苷酸, 又称次黄嘌呤核苷酸(Inosine Mono-2-phosphate, IMP), 是体内物质代谢过程中的中间产物, 广泛分布于体内, 具有生物活性, 能透过细胞膜进入细胞内提高多种酶的活性, 参与调节生物能量代谢。在食品中肌苷酸又是一种风味物质, 能增强肉质风味, 对肉的品质有较大影响。用核苷酸降解产物来评价鱼肉鲜度和质量已受到广泛的重视, 测定IMP的积累量, 已被证明可作为衡量海鲜鲜度的指标^[1,2]。鉴于目前国内尚未见对鱼类肌苷酸的研究报道, 本实验采用高效液相色谱技术对6种常见重要经济鱼类新鲜和冻存肌肉组织中肌苷酸含量及其变化进行了检测分析, 研究结果将为鱼肉品质检测评估以及鱼产品的加工保存提供参考资料。

1 材料与方 法

1.1 材料

选用不同生态习性的条纹斑竹鲨(*Chiloscyllium plagiosum*)、大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)、鳙(*Siniperca chuatsi*)、青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)和乌塘鳢(*Bostrichthys sinensis*)为试验鱼, 活鱼标本均购于厦门渔市场。每种鱼分别取新鲜肌肉样品5份, 每份又分别取3个平行样。每种鱼的5份样品中, 1份用于新鲜肌肉组织肌苷酸检测, 另4份冻存于-70℃超低温

冰箱, 分别于冻存1, 3, 5和10 d后检测冷冻肌肉组织肌苷酸质量比。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件

仪器: Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪, 紫外检测器($\lambda=254$ nm)。色谱柱: 0.4 cm @25 cm 径向加压柱, 内装5 μ m C₁₈ 填料。流动相 A: 0.12 mol/L KH₂PO₄ 和 0.18 mol/L K₂HPO₄ 用 0.1 mol/L KOH 调 pH 到 7。流动相 B: 甲醇。流动相速率: 1 mL/min。洗脱程序: 0 min, 100% A, 0% B; 8 min, 100% A, 0% B; 9 min, 70% A, 30% B; 13 min, 70% A, 30% B; 再经过 10 min 回到原始状态, 达到稳定。

1.2.2 样品前处理

称取 10 g 待测肌肉样放入培养皿中用剪刀剪碎, 置于匀浆管中。加 5 mL 0.6 mol/L HClO₄, 用高速组织匀浆机打成浆状。加入 10 mL 0.6 mol/L HClO₄, 匀浆 3 次, 每次 40 s。将匀浆液转至 50 mL 离心管中, 在室温下 3 500 r/min 离心 10 min。将上清液过滤于 50 mL 烧杯中, 沉淀用 10 mL 0.6 mol/L

收稿日期: 200709219; 修回日期: 200712209

基金项目: 国家 863 计划项目(2002AA603021); 厦门市科技项目(3502Z20063022)

作者简介: 刘旭(1980), 男, 福建厦门人, 硕士研究生, 主要从事海洋生物生化遗传方面的研究, 电话: 059225100325, E-mail: liu_xu99@163.com; 苏永全, 通讯作者, 电话: 05922182501, E-mail: yqsu@xmu.edu.cn

HClO₄ 振荡 10 min 后再离心, 合并上清液, 用 0.6 mol/L HClO₄ 定容至 25 mL。取 10 mL 上清液用 1 mol/L KOH 调 pH 至 6.5~6.8, 在 4℃ 下静置 30 min, 过滤除去 KClO₄, 以磷酸盐缓冲液 (pH=7.0) 定容至 25 mL, 摇匀后用 0.45 μm 滤膜过滤, 上清液用于 HPLC 分析。

2 结果

2.1 肌苷酸标准曲线

以 50 μL 肌苷酸 (IMP)、二磷酸腺苷 (ADP)、肌苷 (HxR) 混合标准液进行高效液相色谱 (HPLC) 分析, 得色谱图 (图 1)。图 1 峰形清晰, 第 2.828 分钟出现的为 IMP, 第 4.794 分钟出现的为 ADP, 第 11.883 分钟出现的为 HxR。再以肌苷酸标准品分别进样 5, 10, 20, 30, 40 和 50 μL 分析做出一条浓度曲线, 即肌苷酸标准曲线 (图 2)。

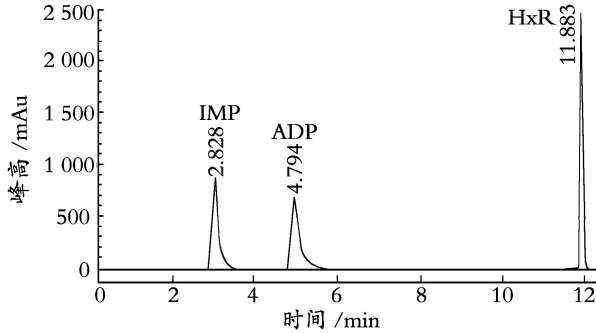


图 1 IMP, ADP 和 HxR 标准物色谱图

Fig. 1 Standard chromatogram of IMP, ADP and HxR

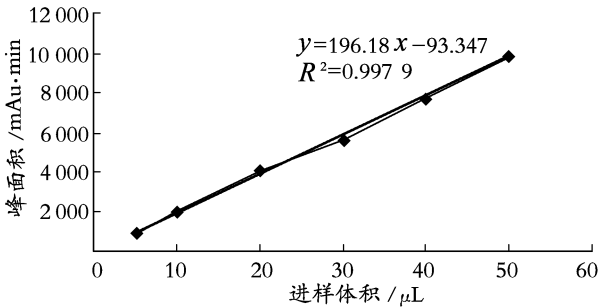


图 2 肌苷酸峰面积与进样体积标准曲线

Fig. 2 Standard curve between peak area and sampling volume of IMP

2.2 不同种鱼类肌肉肌苷酸质量比的比较

表 1 中可见, 6 种鱼类肌肉组织中的肌苷酸质量比不同。牙鲆新鲜肌肉组织中肌苷酸的质量比最高, 为 4.214 mg/g, 其后依次是青石斑、鳎、乌塘鳢和条纹斑竹鲨。新鲜肌肉组织中肌苷酸质量比最低的是大黄鱼, 为 2.365 mg/g, 与最高含量相差 1.849 mg/g。冷冻保存 10 d, 牙鲆冷冻肌肉组织中的肌苷酸质量比仍

然最高, 为 7.725 mg/g, 其后依次是青石斑、鳎、大黄鱼、条纹斑竹鲨, 乌塘鳢的肌苷酸质量比最低, 为 4.294 mg/g, 与最高质量比相差 3.431 mg/g。表 1 中还可见, 软骨鱼类条纹斑竹鲨新鲜和冻存肌肉组织中肌苷酸质量比均较低, 同为鲈科, 生活在淡水中的鳎的新鲜和冻存肌肉组织中肌苷酸的质量比均低于生活在海水中的青石斑鱼 (青石斑鱼的色谱图见图 3)。

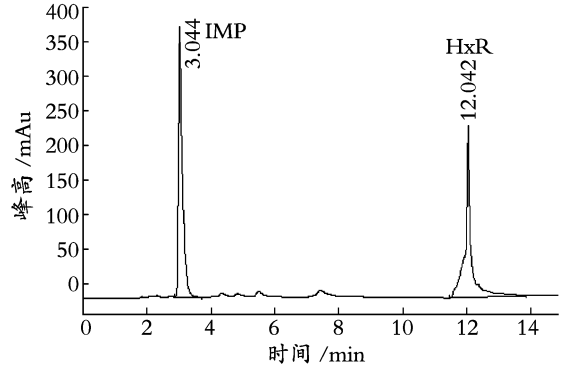


图 3 青石斑鱼 IMP 与 HxR 色谱图

Fig. 3 IMP and HxR chromatograms of Epinephelus awara

表 1 6 种鱼类肌肉组织肌苷酸质量比

Tab. 1 IMP content in musculature of 6 kinds of fish

鱼类名称	肌苷酸质量比 (mg/g)				
	新鲜	冻存 1 d	冻存 3 d	冻存 5 d	冻存 10 d
条纹斑竹鲨	2.385	3.433	4.373	4.517	4.400
大黄鱼	2.365	6.942	6.710	6.640	5.805
青石斑鱼	3.634	6.573	7.320	7.729	6.432
牙鲆	4.214	5.484	7.225	7.731	7.725
鳎	2.458	4.421	5.371	5.691	5.805
乌塘鳢	2.429	3.659	4.337	4.912	4.294

2.3 同种鱼类新鲜与冻存肌肉组织肌苷酸质量比的变化

从表 1 和图 4 中可以看出, 6 种鱼类新鲜肌肉组织中所含的肌苷酸质量比均明显低于经过冷冻保存后肌肉组织中肌苷酸的质量比, 虽然每种鱼类冻存肌肉组织中的肌苷酸质量比增幅不尽相同, 但在冻存第一天肌苷酸质量比的增幅都是最大的。大黄鱼肌肉组织在冻存 1 d 后肌苷酸质量比迅速增加, 达到最大值, 为新鲜肌肉组织的 2.9 倍。鳎冻存肌肉组织中肌苷酸质量比在冻存试验的 10 d 内一直保持稳步上升, 试验期间未达到最高值而有别于其他 5 种试验鱼。条纹斑竹鲨、青石斑鱼、牙鲆和乌塘鳢冻存肌肉组织中肌苷酸质量比均在第 5 天达到最大值, 在第 10 天, 牙鲆的略为下降, 条纹斑竹鲨、青石斑鱼

和乌塘鳢的则表现为明显下降。图 4 中还可见, 软骨鱼类条纹斑竹鲨新鲜与冻存肌肉组织中肌苷酸质量比变化幅度小于其他 5 种硬骨鱼类, 淡水鱼鳊肌肉组织中肌苷酸质量比变化幅度小于其他海水硬骨鱼类。

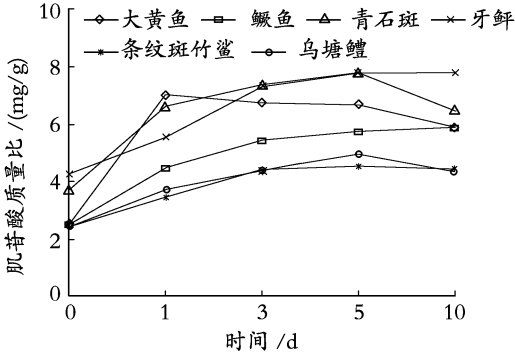


图 4 6 种不同鱼类肌苷酸质量比变化
Fig. 4 Change of IMP content in 6 kinds of fish

3 讨论

肌苷酸多含于动物肌肉中, 影响其质量比变化的因素很多, 包括代谢过程中所涉及的各种酶类、动物的品种、个体差异、组织部位、屠宰及屠宰后处理等。刘望夷等人 1980 年曾用薄层层析法测定了猪、鸡和其他动物肌肉中肌苷酸的质量比, 发现品种、性别、日龄及组织等均对肌苷酸质量比有不同程度的影响。近年来, 陈国宏等^[3]用反相高效液相色谱法对不同地方鸡种肌肉中肌苷酸质量比进行了比较研究, 发现泰和乌骨鸡肌苷酸质量比很高, 这一结论从客观上提示了乌骨鸡鲜味优于其他鸡种的原因所在。李慧芳等^[4]对泰和乌骨鸡肌苷酸质量比变化规律进行了统计分析, 发现不同的个体在同样的条件下所形成的肌苷酸的质量比差异很大, 他们还发现泰和乌骨鸡肌肉组织中肌苷酸质量比随年龄和体质量的增加而逐渐减少。李家胜等^[5]通过高效液相色谱法测定 畜禽肌肉组织中的肌苷酸质量比, 也发现不同种类的畜禽肉间肌苷酸质量比相差较大。本试验采用高效液相色谱技术检测了包括软骨鱼类、淡水硬骨鱼类和海水硬骨鱼类在内的 6 种不同鱼类肌肉组织的肌苷酸质量比, 结果也表明不同鱼类肌肉组织的肌苷酸质量比有明显的差别, 种类和生态习性都可能影响鱼类肌肉组织中肌苷酸的质量比。

许多学者对肉类及其制品的鲜味研究发现, 对鲜味贡献最大的两类物质为氨基酸和肌苷酸。肌苷酸在鱼肉、牛肉、鸡肉中的质量比较为丰富, 是肌肉鲜味的标志。肉类的鲜味是在动物死亡后肌肉变化的基础上形成的^[6]。当动物死亡时, 细胞内的糖原在酶的作用下发生无氧酵解而产生乳酸。这时动物体僵直, 组织硬化, 肌肉持水性下降, 没有鲜味物质

产生。经过一段时间后, 僵直消除, 组织软化。在这一过程中, 除了肌肉中的基本成分在酶的作用下降解成氨基酸、还原糖等各种水溶性低分子物质外, 肌肉中的 ATP 也会在酶的催化下完成由三磷酸腺苷 (ATP) y 二磷酸腺苷 (ADP) y 单磷酸腺苷 (AMP) y 肌苷酸 (IMP) 的分解, 形成鲜味物质肌苷酸。肌苷酸在动物死亡后的初始阶段是边生成, 边降解, 当酶失活时即停止生成。由于这个过程中生成快, 降解慢, 因此肌苷酸经历一定时间后达到高峰^[7]。本试验结果也表明, 不同鱼类新鲜肌肉组织中肌苷酸质量比均远低于冷冻保存肌肉组织中的肌苷酸质量比。在 -70℃ 超低温保存的条件下, 6 种鱼类肌肉组织的肌苷酸质量比均从死亡后开始上升, 并多在 5 d 左右达到最高峰。也即, 长时间的冻存将会降低食用鱼肉中肌苷酸质量比, 导致鲜味下降, 但经 1 周左右短时间的冻存后可明显提高鱼肉中肌苷酸质量比, 增加鲜味, 提高食用价值。

近年来, 测定动物体内肌苷酸质量比一般都用高效液相色谱法^[8]。该方法与以往所采用的其他方法如薄层层析法相比, 具有简便可靠的优点。本试验采用高效液相色谱法, 色谱图的峰形尖锐, 图谱清晰无干扰, 肌苷酸 2 min 出峰且与肌苷分离完全, 获得很好的分离效果。

参考文献:

- [1] Suzuki A N, Homma A, Fukuda T, et al. Effect of high pressure treatment on the flavo2related compo2nents in meat[J]. J Meat Sci, 1994, 37(3): 362-379.
- [2] Furjmurra S. Identification of tast2active components in the meat of the Japanese native chicken : Hinaidori and broils, and the effect of feeding treatments on tast2active components[J]. Ani Food Sci, 1998, 50(2): 92-158.
- [3] 张海艳, 于太永, 关伟军. 肌苷酸形成机理及其含量影响因素浅析[J]. 中国农业科技导报, 2004, 6(3): 12-21.
- [4] 张学余, 李慧芳, 苏一军, 等. 乌骨鸡肌肉肌苷酸含量[J]. 中国兽医学报, 2003, 23(3): 261-262.
- [5] 李家胜, 陈民利. 高效液相色谱法测定畜禽肌肉中的肌苷酸含量[J]. 浙江农业大学学报, 1998, 24(3): 292-296.
- [6] 孙玉民, 罗明. 禽畜肉品学[M]. 济南: 山东科技出版社, 1993.
- [7] 陈继兰, 文杰, 李建军, 等. 不同贮藏条件下鸡肉肌苷酸生成与降解规律的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2004, 35(3): 272-279.
- [8] Veciana2Nogues M T, Izquierd2Pulido M, Vida2Carou M C. Determination of ATP related compounds in fresh and canned tuna fish by HPLC[J]. Food Chemis2try, 1997, 59(3): 467-472.

(下转第 35 页)

(上接第 24 页)

Analysis of inosine monophosphate in six fish musculatures

LIU Xu, WANG Jun, ZHANG Wen, DU Jia2ying, SU Yong2quan

(College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Received: Sep., 19, 2007

Key words: fish musculature; inosine monophosphate; cold storage; high pressure liquid chromatography(HPLC)

Abstract: Inosine monophosphate(IMP) contents of six fishes, *Chilocyllium plagiosum*, *Pseudosciaena crocea*, *Siniperca chuatsi*, *Epinephelus awoara*, *Paralichthys olivaceus* and *Bostrichthys sinensis*, collected in Xiamen fishery market were tested by high2pressure liquid chromatography(HPLC) in the present paper. The results showed: (1) IMP amounts of the musculatures varied with the different fishes, and the IMP quantity (4.214 mg/g) in fresh sample of *P. olivaceus* was higher than those in others (2.365~3.634 mg/g). (2) IMP contents of six pieces of fish meats frozen in -70℃ were all higher than those of fresh ones in 10 days cold storage. IMP of frozen samples in *P. crocea* reached tiptop after 24 h cold storage, that of *S. chuatsi* still got up by the end of the test, while those of the other fishes got the highest at the 5th day. IMP contents of fish meat reduced in a longtime cold storage and resulted in lowering down fresh. But the IMP contents obviously increased and the fresh and edibility seemed improved in cold storage in the first week.

(本文编辑: 刘珊珊)