

HPLC测定不同热处理方式对镜鲤鱼中呈味核苷酸的影响

曹伟,许晓曦*

(东北农业大学食品学院,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:采用高效液相色谱法(HPLC)测定了镜鲤鱼的生鲜、煮制、蒸制,三种处理方式的鱼肉中的呈味核苷酸的含量。色谱柱为Ultimate AQ-C₁₈(4.6×250mm,5μm),流动相:A为甲醇溶液,B为0.05mol/L磷酸二氢钾溶液(pH4.1),等度洗脱,流速1mL/min,检测波长为260nm,柱温为30℃。结果表明:5种呈味核苷酸分离较好,5'-CMP、5'-GMP和5'-IMP含量在煮制和蒸制条件下与生鲜鱼肉存在显著差异,而煮制和蒸制热处理镜鲤鱼中这两种核苷酸没有显著差异。其中5'-UMP在生鲜鱼肉中被检出,在煮制和蒸制条件下未检出,5'-AMP在三种条件下均未被检出。

关键词:高效液相色谱,镜鲤鱼,呈味核苷酸

Determination of the different heat treatment in mirror carp meat flavor nucleotides by HPLC

CAO Wei, XU Xiao-xi*

(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The highly effective liquid phase chromatography was used to determine the mirror carp to live fresh, boiled, steams, in three kind of processing ways' fish flesh assumed the taste nucleotide the content. The chromatographic column is Ultimate AQ-C₁₈(4.6×250mm, 5μm), the mobile phase: A: methyl alcohol solution, B: 0.05mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (pH4.1), isocratic elution 1mL/min, detection wavelength 260nm, column temperature was 30℃. The results showed that 5 kinds of flavor nucleotides separating well, 5'-CMP, 5'-GMP and 5'-IMP content in the cooked and steamed conditions were very different and fresh. The cooking and steaming heat mirror carp had no significant differences between the two nucleotides. The 5'-UMP was detected in fresh fish, under the boils and steams system condition not to pick out, the 5'-AMP has not been picked out under three kind of conditions.

Key words: HPLC; mirror carp; flavor nucleotides

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)03-0136-03

在新鲜的肉制品及水产品中,5'-腺苷酸二钠(AMP)、5'-胞苷酸二钠(CMP)、5'-肌苷酸二钠(IMP)、5'-鸟苷酸二钠(GMP)和5'-尿苷酸二钠(UMP)这些核苷酸类化合物起到强烈的呈鲜味作用^[1-2],也决定着肉制品的口感、风味及鲜度。呈味核苷酸类化合物在水产品中含量丰富,不仅具有显著的增鲜作用,而且对于水产品的各种滋味具一定的增减作用。近年来,人们对食品的鲜味进行了广泛的研究,鲜味与甜味、苦味、酸味、咸味一样同属于基本味,是食品的一种重要风味。故测定水产品及肉类食品中核苷酸含量对研究肉类食品风味及呈味物质之间的相互关系有着重要意义。目前,国内外对不同肉类如猪肉、鸡肉、蟹肉等核苷酸

含量变化进行了大量研究^[3-5],而对镜鲤鱼中呈味核苷酸研究相对较少。本实验采用高效液相色谱法对不同热处理方法下镜鲤鱼中呈味核苷酸进行分离测定,建立测定水产品中呈味核苷酸简便、准确的方法,并对不同热处理方法对呈味核苷酸数量影响进行对比。

1 材料与amp方法

1.1 材料与仪器

镜鲤鱼 市售 5'-AMP、5'-CMP、5'-IMP、5'-GMP、5'-UMP(标准品) Sigma-Aldrich公司;甲醇(色谱纯) 天津市光复精细化工研究所;磷酸二氢钾(分析纯) 天津市风船化学试剂科技有限公司;磷酸(分析纯) 天津市天丽化学试剂有限公司;三氯乙酸(分析纯) 天津市天大化学试剂厂。

HP1100型高效液相色谱仪 美国安捷伦公司;超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;LD4-2A型台式离心机 北京医用离心机厂。

收稿日期:2010-11-16 * 通讯联系人

作者简介:曹伟(1984-),男,硕士研究生,研究方向:农产品加工及储藏。
基金项目:东北农业大学创新团队项目(CXZ011-01)。

1.2 实验方法

1.2.1 标准品制备 分别准确称取5种标准品60mg,用水溶解置于100mL容量瓶中并定容至刻度。此标准溶液浓度为0.6mg/mL。绘制标准曲线时使用混合标准溶液逐级稀释,标准溶液及流动相必须当天配制。

1.2.2 样品处理 实验样品鱼经屠宰去骨后,准确称取背部肌肉10g,做为对照组。再准确称取10g在100℃下水煮熟10min。最后准确称取10g在100℃下水蒸熟10min。测定时,将鱼肉剪碎放入匀浆器内,加入20mL 5%的TCA(三氯乙酸)溶液打浆2min,超声波处理5min,然后4000r/min离心5min。取上清液转入100mL容量瓶中,得到的沉淀物用5% TCA溶液再进行浸提、超声处理、离心等操作两次,合并上清液定容。使用前用针管和0.45 μ m精密滤膜过滤到进样瓶。

1.2.3 HPLC工作条件 色谱柱:Ultimate AQ-C₁₈(4.6 \times 250mm 5 μ m) 检测器:紫外检测器 检测波长:260nm,柱温:30℃。流动相:A为甲醇溶液,B为0.05mol/L磷酸二氢钾溶液(用磷酸调pH至4.1),等度洗脱,流速1mL/min。进样前用甲醇冲洗色谱柱30min,之后用流动相平衡色谱柱30min,至基线平稳。进样量5 μ L,测定三次,取平均值。

2 结果与分析

2.1 标准品测定结果

配制一定浓度的标准品溶液,采用1.2.3中色谱工作条件,得到5种呈味核苷酸的标准样品HPLC图谱。见图1。

由图1可以看出在紫外检测器在260nm,柱温为30℃时,以甲醇和0.05mol/L磷酸二氢钾溶液混合做为流动相时,在等度洗脱条件下,可以使各呈味核苷酸很好的分离,无杂质峰、无色谱峰拖尾及分离不完全现象。

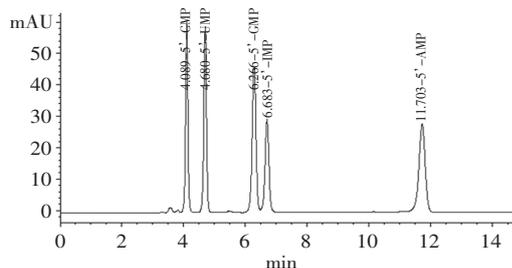


图1 呈味核苷酸标准HPLC图谱

Fig.1 HPLC chromatogram of standard saporous nucleotides

2.2 标准曲线

将配制好的一系列不同浓度的呈味核苷酸标准样品混合溶液分析其含量,以混合溶液的浓度为横

表1 各呈味核苷酸标准曲线的回归方程及线性相关系数
Table 1 Regression equations, correlation coefficients and detection limits of five flavor nucleotides

核苷酸种类	回归方程	线性相关系数	最小检测限 (mg/mL)
5'-CMP	Y=5684.2X-3.1533	0.9903	0.72 \times 10 ⁻³
5'-UMP	Y=6145.7X-2.4286	0.9972	0.83 \times 10 ⁻³
5'-GMP	Y=6873.9X-1.5905	0.9982	3.21 \times 10 ⁻³
5'-IMP	Y=4420.9X-1.1067	0.9930	1.67 \times 10 ⁻³
5'-AMP	Y=6855.4X-4.3867	0.9973	2.15 \times 10 ⁻³

坐标,以峰面积为纵坐标作图。得到各呈味核苷酸的标准曲线,标准曲线的回归方程及线性相关系数见表1,由表1可见标准图谱的峰面积与呈味核苷酸溶液浓度具有良好的相关性。

2.3 镜鲤鱼中呈味核苷酸的测定

根据实验方法1.2对镜鲤鱼背部肌肉的呈味核苷酸进行了提取和检测,得到镜鲤鱼HPLC图谱,见图2~图4。

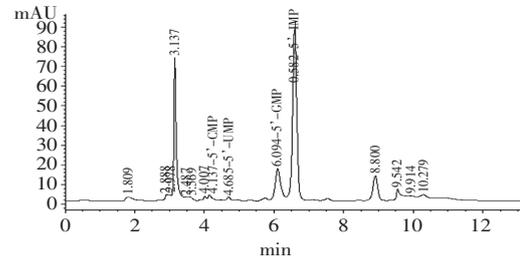


图2 镜鲤鱼生鲜肉中呈味核苷酸的HPLC图谱

Fig.2 HPLC chromatogram of five flavor nucleotides mirror carp raw meat

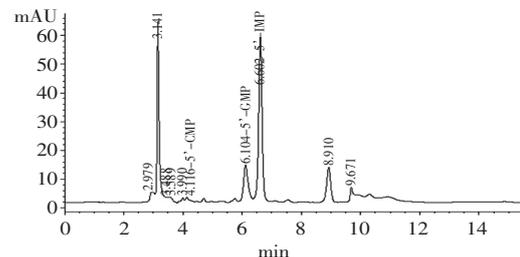


图3 镜鲤鱼煮熟肉中呈味核苷酸的HPLC图谱

Fig.3 HPLC chromatogram of five flavor nucleotides mirror carp cooked meat

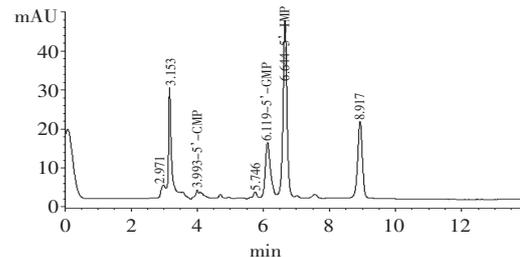


图4 镜鲤鱼蒸熟肉中呈味核苷酸的HPLC图谱

Fig.4 HPLC chromatogram of five flavor nucleotides mirror carp steamed meat

以上HPLC图谱经安捷伦化学工作站分析比较,得到镜鲤鱼中呈味核苷酸的含量,结果见表2。

表2 镜鲤鱼中各种呈味核苷酸含量

Table 2 Mirror carp flavor nucleotides content

呈味核苷酸种类	生鲜鱼肉含量 (mg/100g)	煮制鱼肉含量 (mg/100g)	蒸制鱼肉含量 (mg/100g)
5'-CMP	5.15 \pm 0.42 ^a	3.63 \pm 0.38 ^b	3.29 \pm 0.31 ^b
5'-UMP	2.86 \pm 0.39	-	-
5'-GMP	27.18 \pm 2.12 ^a	22.37 \pm 3.09 ^b	21.42 \pm 2.84 ^b
5'-IMP	166.43 \pm 10.13 ^a	93.26 \pm 5.36 ^b	87.16 \pm 6.17 ^b
5'-AMP	-	-	-

注:-表示HPLC未检出;同行中标注同样字母的表示差异不显著($p>0.05$) 标注不同字母的表示差异显著($p<0.05$) 表3同。

(下转第203页)

- [7] 张水华. 食品感官鉴定[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2001: 91.
- [8] 沈辉. 酸乳发酵凝乳过程中的理化性质和生物活性[J]. 无锡轻工业大学学报, 2000, 19(5): 443-445.
- [9] 吉宏武, 丁霄霖. 百合化学成分及其淀粉粒结构与一般特性[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(2): 33-43.
- [10] Joel I, ZHANG G N. Production and evaluation of some physicochemical parameters of peanut milk yoghurt[J]. Food Science and Technology, 2009, 42(6): 1132-1138.
- [11] 陈培侨, 周洋, 陈英华. 非脂乳固体和脂肪含量影响酸牛奶粘度的研究[J]. 食品科学, 1998, 19(7): 9-11.

- [12] 范宇, 陈历俊, 赵常新. 酸奶质构影响因素研究进展[J]. 中国乳品工业, 2009, 37(7): 30-34.
- [13] Hassan A N, Ipsen R, Janzen T, et al. Microstructure and rheology of yogurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharides[J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(5): 1632-1638.
- [14] Sandova C O, Lobato C C, Aguirre M E. Microstructure and texture of yoghurt as influenced by fat replacers [J]. International Dairy Journal, 2004, 14: 151-159.
- [15] 赵谋明, 卢延辉, 林伟锋, 等. 乳清蛋白对脱脂发酵乳的流变特性及贮存稳定性的影响[J]. 中国乳品工业, 2006, 34(2): 4-6.

(上接第137页)

由表2可知, 生鲜鱼肉与煮熟鱼肉和蒸熟鱼肉中核苷酸物质含量差异显著($p < 0.05$)。煮熟后 5'-CMP、5'-GMP、5'-IMP含量降低显著($p < 0.05$)。而蒸熟后 5'-CMP、5'-GMP、5'-IMP和生鲜鱼肉比较, 含量降低更加明显。5'-UMP只在生鲜鱼肉中被检出, 在煮制和蒸制过程中未被检出。在检测过程中5'-AMP在三种加工过程中均未被检测出来, 这可能与水产品中5'-AMP含量极少有关。

加热导致镜鲤鱼肉中核苷酸类物质的变化主要来自于加热过程汁液的流失和核苷酸类物质自身热降解^[6]。C.O. Mohan等^[7]在对加热后鱼肉中核苷酸类物质的变化研究, 发现与本实验相一致的变化趋势。5'-IMP在受热过程容易降解^[8], 并且热稳定性较差。研究表明, 猪肉^[9]和蘑菇^[10]等食品中, 5'-IMP含量在加热过程中也会大幅降低。

呈味强度值(taste activity value, TAV), 是指呈味物质在样品中的含量与该化合物的味道阈值之比。考察物质对滋味的贡献大小不是取决于呈味核苷酸含量的高低, 而是取决于其TAV。如果某物质的TAV大于1, 则说明该物质对滋味有重要贡献。镜鲤鱼中呈味核苷酸的呈味强度值见表3。

表3 镜鲤鱼中呈味核苷酸的呈味强度值
Table 3 Mirror carp flavor nucleotides TAV

呈味核苷酸种类	味道阈值 ^[11] (mg/100mL)	生鲜鱼肉	煮制鱼肉	蒸制鱼肉
		呈味强度值 TAV	呈味强度值 TAV	呈味强度值 TAV
5'-GMP	12.5	2.17±0.17 ^a	1.79±0.25 ^b	1.71±0.23 ^b
5'-IMP	25	6.66±0.41 ^a	3.73±0.21 ^b	3.49±0.25 ^b

由表3可见, 生鲜鱼肉与煮熟鱼肉和蒸熟鱼肉呈味强度值差异显著($p < 0.05$)。5'-GMP和5'-IMP的呈味强度值在各种条件下均大于1。5'-IMP含量是衡量水产品新鲜程度的重要指标, 在生鲜鱼肉中含量高于煮制和蒸制条件, 并且5'-IMP含量在生鲜鱼肉中达到6.66, 说明5'-IMP对镜鲤鱼滋味有极其重要贡献。由于5'-CMP和5'-UMP的味道阈值数据尚未见文献报道, 所以本实验不讨论这二种核苷酸的呈味强度值。

3 结论

采用C₁₈液相色谱柱, 以甲醇和0.05mol/L磷酸二氢钾溶液pH为4.1条件下, 做为流动相。在紫外检测

器波长为260nm下, 以流速1mL/min等度洗脱, 可以将5种呈味核苷酸很好地分离。5'-GMP和5'-IMP对镜鲤鱼滋味有重要贡献。该方法简单、操作简便, 测定结果准确, 可以应用于肉类食品及水产品的呈味核苷酸的分析检测。

参考文献

- [1] 温泉, 吴轶. 采用高效液相色谱法测定猪肉中的呈味核苷酸[J]. 现代食品科技, 2010, 26(1): 117-118.
- [2] MS Madruga, JS Elmore, et al. Determination of some water-soluble aroma precursors in goat meat and their enrolment on flavour profile of goat meat[J]. Food Chemistry, 2010, 123(2): 514-516.
- [3] 张克英, 陈代文, 胡祖禹. 次黄嘌呤核苷酸和胶原蛋白与猪肉品质的关系研究[J]. 四川农业大学学报, 2002, 20(1): 56-59.
- [4] 李家胜, 王友明. 高效液相色谱法测定鸡肉中核苷酸及其降解物[J]. 科技通报, 2002, 18(4): 324-325.
- [5] 陈德慰. 熟制大闸蟹风味及冷冻加工技术的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2007.
- [6] M Flores, E Armero, M C Aristoy, et al. Sensory characteristics of cooked pork loin as affected by nucleotide content and post-mortem meat quality[J]. Meat Science, 1999, 51(1): 53-56.
- [7] CO Mohan, CN Ravishankar, TK Srinivasa Gopal, et al. Nucleotide breakdown products of seer fish (*Scomberomorus commerson*) steaks stored in O₂ scavenger packs during chilled storage[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2009, 10(2): 272-278.
- [8] VM Gorbatov, YuN Lyaskovskaya. Review of the flavour-contributing volatiles and water-soluble non-volatiles in pork meat and derived products[J]. Meat Science, 1980, 4(3): 209-213.
- [9] Lene Meinert, et al. Flavour formation in pork semimembranosus: Combination of pan-temperature and raw meat quality[J]. Meat Science, 2008, 80(2): 249-258.
- [10] Isolde Sommer, et al. Effect of gamma-irradiation on flavour 5'-nucleotides, tyrosine, and phenylalanine in mushrooms (*Agaricus bisporus*) [J]. Food Chemistry, 2010, 123(1): 171-174.
- [11] Chen D W, Zhang M. Non-volatile taste active compounds in the meat of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Food Chemistry, 2007, 104(3): 1200-1205.