

加工贮藏条件对乌贼内源性甲醛含量的影响

朱仁义, 李和生*, 王亚儿, 孔 静, 徐霄晴
(宁波大学海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘 要: 分别探讨在不同的加工和贮藏条件下, 乌贼中内源性甲醛(FA)含量的变化。结果表明, 水煮温度由50℃升高到100℃, 肉中FA含量由0.6mg/kg升高到2.16mg/kg, 在水煮加热25min时FA含量达到最大值2.41mg/kg; 焙烤乌贼时FA含量由100℃的1.14mg/kg持续上升至220℃的2.66mg/kg, 在180℃条件下焙烤不同时间, FA含量在20min前上升显著, 20min后不再增加。新鲜乌贼室温下放置5d, FA含量由1.03mg/kg迅速增加至12.36mg/kg, 4℃条件下贮藏时FA含量呈现先缓慢上升至3.73mg/kg后迅速上升至11.15mg/kg的趋势, 而在-20℃条件下贮藏时FA含量缓慢上升后趋于稳定。在冻藏过程中, 与完整的相比, 切碎后的乌贼肉中甲醛生成量显著较高。

关键词: 乌贼; 水煮; 焙烤; 贮藏; 内源性甲醛

Effect of Processing and Storage on Endogenous Formaldehyde Content in Cuttlefish

ZHU Ren-yi, LI He-sheng*, WANG Ya-er, KONG Jing, XU Xiao-qing
(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: Changes of endogenous formaldehyde (FA) content from cuttlefish under different conditions of processing and storage were investigated. The results showed that the formaldehyde content of cuttlefish increased from 0.6 to 2.16 mg/kg as the boiling temperature increased from 50 to 100 °C. The content reached a maximum of 2.41 mg/kg in 25 min. However, the FA content increased from 1.14 to 2.66 mg/kg continuously when the baking temperature increased from 100 to 220 °C. After baking for 10, 15, 20, 25 min and 30 min at 180 °C, the formaldehyde content increased significantly and reached a plateau in the early 20 minutes. FA content in fresh cuttlefish was elevated from 1.03 to 12.36 mg/kg at room temperature for 5 d. It tended to rise slowly until reaching 3.73 mg/kg and then sharply increased to 11.15 mg/kg during storage at 4 °C while it increased slowly and then reached a maximum when stored at -20 °C. Compared to the intact muscle, the minced muscle contained higher FA content when stored at -20 °C.

Key words: cuttlefish; boiling; baking; storage; endogenous formaldehyde

中图分类号: TS254.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)21-0339-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201321068

近些年来, 虽然人们的生活水平不断提高, 但是食品安全问题也日益凸显, 越来越成为人们关注的主要问题之一。水产品中的甲醛(formaldehyde, FA)问题是众多食品安全问题中的一个。FA^[1]是一种较高毒性物质, 对人的神经系统、肝、肾均有损害, 已经被世界卫生组织确定为致癌和致畸物质。

水产品中FA的来源除了人为添加等原因^[2], 水产品在工作^[3-4]和贮藏^[5]过程中, 可自身产生内源性FA, 而这部分FA也是不容忽视的。国外对水产品中FA产生机理和贮藏期间甲醛变化的研究较早, 国内近些年也有比较多的关

于其产生和控制方面的研究, 根据已有的研究结果^[6-7], 一般认为内源性FA的形成机制有两种: 一种为酶及微生物的参与的生物途径; 另一种为高温热分解的非酶途径。

乌贼作为一种富含矿物质, 维生素的高蛋白食品, 其口感鲜美, 生物利用率高, 已经成为倍受消费者喜爱的食品, 其需求量也占据了一定的市场。有文献[8]报道在贝类和乌贼等水产品自身体内含有一定量的FA, 对此本实验进行一系列关于乌贼在水煮、焙烤加工和常温、冷藏、冷冻条件下内源性FA的分析研究, 目的在于为该产品在江浙沿海一带加工贮藏提供技术支持。

收稿日期: 2012-10-20

基金项目: 浙江省优先主题计划项目(2009C03017-3); 宁波大学学科建设项目(XKL11D2107)

作者简介: 朱仁义(1987—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品生物技术。E-mail: zhuren-yi2010@sina.com

*通信作者: 李和生(1960—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为食品加工贮藏, 食品科学。E-mail: lihesheng@nbu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金乌贼 宁波市路林批发市场。

标准氧化三甲胺(TMAO) 美国 Sigma公司; 三甲胺(TMA)和二甲基胺(DMA)标准品、氢氧化钾、甲苯、苦味酸、二硫化碳、甲醛等为分析纯, 购于生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 仪器与设备

BSA-CW型分析天平 北京赛多利斯科学仪器有限公司; DS-1高速组织捣碎机 上海精科实业有限公司; 蒸馏装置(1000mL蒸馏烧瓶、冷凝管、蒸馏液接收装置) 北京奥普伟业科技有限公司; DK-S22型恒温水浴锅 金坛市万华实验仪器厂; CKF-30BS型烤箱 佛山市伟仕达电器实业有限公司; SHZ-82型气浴恒温振荡器 金坛市科析仪器有限公司; UV-759型可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 原料处理

将购来的新鲜乌贼去内脏, 去骨, 去皮后取可食部分胴体肉和头部, 然后进行称质量分装, 贴好标签, 分别放于室温、4℃和-20℃条件下贮藏备用, 另取部分新鲜胴体肉切碎称质量分装后冻藏。

1.3.2 水煮条件^[5]

取冷冻乌贼在室温下解冻后(不可用水清洗)剪成小块, 用组织捣碎机匀浆, 称取20g于样品袋中, 分别放置在50、60、70、80、90、100℃条件下水浴25min, 沸水浴中蒸煮15、20、25、30min进行水煮温度和时间实验, 将上述处理后的乌贼样品取出后冷却, 分别取10g肉进行FA、DMA、TMAO的测定。

1.3.3 焙烤条件^[5]

将冻藏乌贼于室温下解冻匀浆, 分别称取20g用锡箔纸包好放于烤箱中, 180℃条件下烤制10、15、20、25、30min, 在100、120、140、160、180、200、220℃条件下烤制25min进行焙烤时间和温度实验, 取出后冷却, 分别称量所得肉的质量后, 再分别取10g测定其FA、DMA、TMAO含量。

1.3.4 贮藏条件

取新鲜胴体乌贼肉室温(20℃左右)、4℃和-20℃条件下贮藏0、1、3、5、7、9、11、13、28、35、60、90d, 切碎后和未切碎新鲜乌贼胴体肉放于-20℃条件下贮藏0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12周, 在不同时间取出匀浆后称取10g测定FA、TMA、TMAO含量。

1.3.5 FA、DMA、TMA、TMAO的测定

将上述不同处理^[9]后的样品分别于圆底烧瓶中

混合均匀, 加入20mL蒸馏水, 用玻璃棒搅拌混匀, 浸泡30min后加10mL磷酸溶液(体积分数10%)后立即通入水蒸气蒸馏。接收管下口事先插入盛有20mL蒸馏水且置于冰浴的蒸馏液接受装置中。收集蒸馏液至200mL, 同时做空白对照实验。

FA含量测定采用乙酰丙酮法^[10], 略有修改, 取定容好的上清液10mL于10mL纳氏比色管中, 加入乙酰丙酮溶液1mL, 混合均匀, 在沸水浴中显色6min, 取出用自来水冷却至室温。以空白为参比, 于波长413nm处进行比色测定。

DMA含量测定参考文献[11], 吸取上清液5mL于25mL具塞试管中, 加入1mL铜氨试剂和5mL 5% CS₂-甲苯溶液, 50℃水浴5min, 涡流混合5min, 加入1mL 30%冰醋酸溶液, 涡旋振荡至甲苯层澄清, 将上层甲苯层吸取至另一试管中, 加入无水硫酸钠脱水, 在440nm波长处比色测定。

TMA测定采用苦味酸法^[7], 移取上清液4mL于25mL比色管中, 加入1mL 10%甲醛, 5mL甲苯, 3mL 25% KOH, 30℃水浴5min后, 30℃振荡彻底, 将甲苯层用无水硫酸钠脱水, 吸取2mL无水甲苯层与2mL苦味酸混合于波长413nm处比色测定。

TMAO测定^[12]是将0.5mL 1% TiCl₃加入到3.5mL上清液中, 80℃水浴90s, 将TMAO还原成TMA, 测定TMA含量, TMAO表示为还原后TMA减还原前TMA, 再计算TMAO的量。

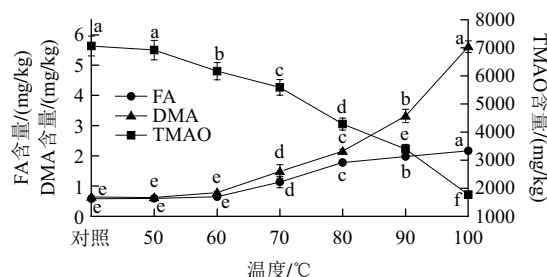
1.4 数据分析

以上每个样品作3个平行测定, 以其算术平均值为分析结果, 采用Origin8.5进行数据的处理和分析, 采用SPSS 17.0 ANOVA进行方差分析, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 水煮乌贼中FA含量变化

2.1.1 水煮温度对乌贼中FA、DMA、TMAO含量的影响



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

图1 水煮温度对乌贼中FA、DMA、TMAO含量的影响

Fig.1 Effect of boiling temperature on the contents of FA, DMA and TMAO in cuttlefish

由图1可知,随着温度的升高,乌贼胴体肉中FA和DMA含量逐渐增加,且温度越高,DMA含量比FA含量增加越多,温度由50℃升高到100℃,肉中FA含量由0.6mg/kg升高到2.16mg/kg,其中70~100℃水煮过程中FA上升显著($P<0.05$),但未超过NY5172—2002《无公害食品水发水产品》的安全指标10mg/kg,DMA含量由0.64mg/kg升高到5.61mg/kg,加热同样也可引起FA的挥发,且生成的FA与肌肉蛋白的结合,而DMA相对稳定,所以造成FA含量略低于DMA含量。相应地TMAO含量显著下降($P<0.01$)。加热条件下,由于肌肉中TMAOase失活,但底物TMAO可以在处理过程中发生热分解生成FA、DMA和TMA^[7],且温度越高,FA和DMA生成量越大,推测温度上升加速了热反应的速率。

2.1.2 水煮时间对乌贼中FA、DMA、TMAO含量的影响

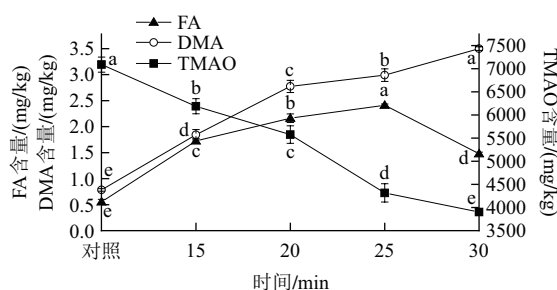


图2 水煮时间对乌贼中甲醛、二甲胺、氧化三甲胺含量的影响

Fig.2 Effect of boiling time on the contents of FA, DMA and TMAO in cuttlefish

由图2可知,随着时间的增加,FA含量先增加后呈现下降的趋势,DMA含量明显增加($P<0.05$),相应的TMAO含量随着加热时间的延长显著降低($P<0.01$),且在25min时FA含量明显上升至2.41mg/kg,有实验^[13]表明高温过程中内源性FA含量增加是由于TMAO在 Fe^{2+} 作用下,通过 $(CH_3)_3N \cdot$ 反应,生成FA和DMA,该热分解的体系存在于上清液中^[7],本实验发现在25min时胴体肉出水最大,此时底物生成FA达到最大效率,随后随着加热时间的延长,加热又促进FA与蛋白质的结合^[14],造成FA含量的下降。

2.2 焙烤乌贼中FA含量变化

2.2.1 焙烤时间对乌贼中FA、DMA、TMAO含量的影响

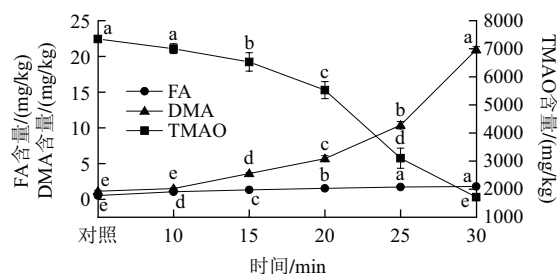


图3 焙烤时间对乌贼中甲醛、二甲胺、氧化三甲胺含量的影响

Fig.3 Effect of baking time on the contents of FA, DMA and TMAO in cuttlefish

焙烤是乌贼的一种常用食用方法,随着烤制时间的增加,乌贼肉开始慢慢变熟,在25min时肉已烤熟。由图3可知,焙烤过程中,FA含量呈现先上升后不变的趋势,在20min前上升显著($P<0.01$),在25min时含量为1.8mg/kg,DMA含量在20min内含量缓慢增加,20min后迅速增加,相应地TMAO含量在20min时热分解反应加快。TMAO化合物沸点为225~257℃,高温条件下很稳定,但焙烤处理时,在一些促进热分解物质的催化作用下,部分底物TMAO被分解生成DMA和FA,在0~20min之间,加热造成TMAO逐渐分解,FA含量显著上升,其间参与热分解反应的 Fe^{2+} 被氧化成 Fe^{3+} ,而随后 Fe^{3+} 对底物分解促进作用不大^[13],底物含量也大量减少^[15],造成FA含量没有增加。实验发现FA增加量低于DMA增加的含量,猜测是高温下随着时间的延长,FA与蛋白结合的越多。

2.2.2 焙烤温度对乌贼中FA、DMA、TMAO含量的影响

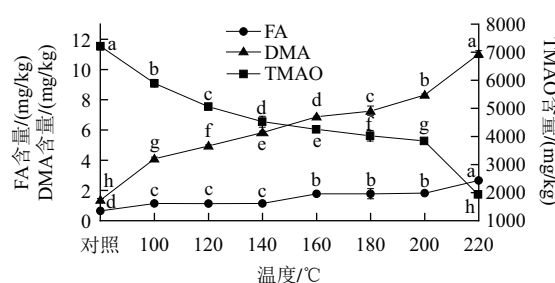


图4 焙烤温度对乌贼中甲醛、二甲胺、氧化三甲胺含量的影响

Fig.4 Effect of baking temperature on the contents of FA, DMA and TMAO in cuttlefish

由图4可知,将乌贼在不同的温度下烤制25min,发现随着温度的增加,肉开始慢慢成熟,在200℃开始烤熟,乌贼中FA含量呈现缓慢上升的趋势,由100℃的1.14mg/kg上升至220℃的2.66mg/kg,DMA含量显著上升($P<0.05$),由100℃的4.09mg/kg上升至220℃的11.02mg/kg,TMAO含量显著下降($P<0.05$)。随着温度的升高,自由基生成越多,TMAO热分解反应速率越剧烈。Lin等^[15]也发现了在200℃条件下加热TMAO热转化速率加快。

2.3 乌贼贮藏过程中FA、TMA、TMAO含量的变化规律

由图5可知,新鲜的乌贼在室温下放置5d内,胴体肉中FA和TMA含量均呈现上升趋势,其中FA含量由1.03mg/kg上升至12.36mg/kg,TMA含量由2.06mg/kg上升至10.11mg/kg;TMAO含量显著下降($P<0.05$),由于室温下放置微生物的增长更快,在酶和微生物的共同作用下,底物TMAO分解产生TMA和FA的含量迅速增加,5d后乌贼肉已完全腐败变质不可食用。放置在4℃冷藏条件下贮藏的乌贼胴体肉FA含量呈现上升的趋势,胴体肉在第7天开始出现腐败现象,FA含量缓慢升至3.73mg/kg,随后随着腐烂程度的增加,FA含量又急剧上升至

11.15mg/kg, TMA含量在第3天后显著上升, TMAO含量在第7天后迅速下降。造成这种现象的原因可能是前7d随着冷藏时间变化, 微生物增长受到一定的抑制, 相应的微生物催化TMAO的分解, 造成FA含量的缓慢升高, 在第7天之后由于腐败作用, 微生物本身及其生成的还原性细菌酶又将底物TMAO分解成TMA和FA^[16]。在-20℃条件下贮藏的乌贼肉则FA和TMA含量基本变化不大, 由最初的1.03mg/kg升高到贮藏末期的2.08mg/kg, 在低温贮存状态下, 微生物的生长受到了抑制^[17], 同时氧化三甲胺脱甲基酶(TMAOase)的活性也受到抑制^[18], 所以导致FA含量变化不大。

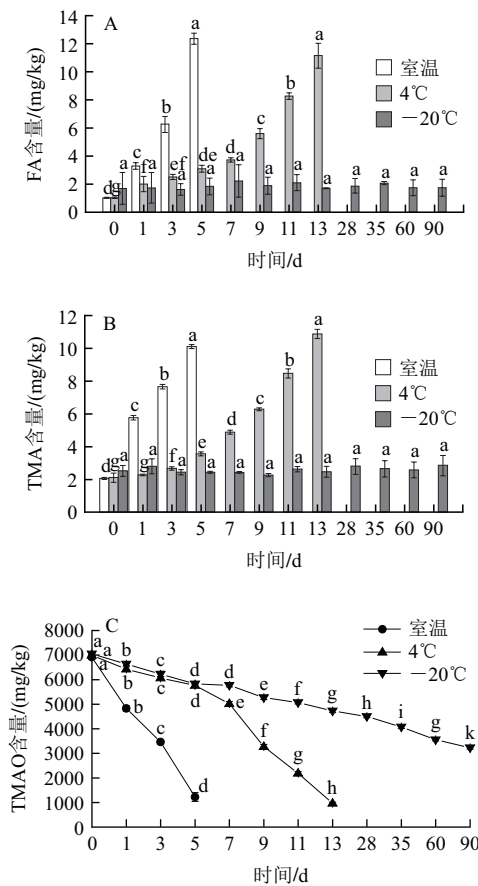


图5 乌贼贮藏条件下甲醛(A)、三甲胺(B)和氧化三甲胺(C)含量变化规律
Fig.5 Change of formaldehyde (A), TMAO (B) and TMA (C) content in cuttlefish during storage

2.4 不同形态乌贼肉贮藏时FA含量的变化

由图6可知, 将完整的和切碎成丁状的乌贼肉贮藏在一20℃条件下一段时间分别测定FA含量, 相比发现, 切碎后的乌贼肉中FA的生成速度明显比完整的快($P<0.05$), 其中切碎后的乌贼肉在第1周测定FA含量为1.62mg/kg, 比完整的乌贼肉高0.6倍, 其中完整的乌贼肉在冷冻过程中, FA含量变化相对比较稳定, 而切碎后的乌贼肉中FA含量表现出迅速上升后保持稳定的趋势。

Babbitt等^[19]研究发现了完整状态的肉中FA与肌原纤维蛋白结合, 造成肉质变化, 但是从碎肌肉里可提取的总蛋白含量大量减少, 所以碎乌贼肉里FA含量高于完整状态的。Sotelo等^[20]也对鳕鱼碎肉和未切成片的肉在-5、-12℃和-20℃条件下贮藏进行了研究, 观察其FA的变化, 发现相似的变化。

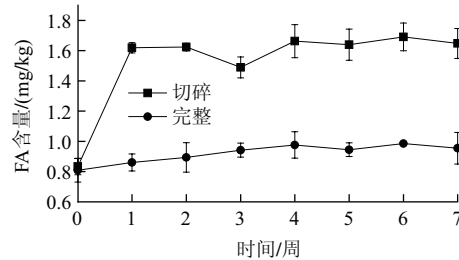


图6 不同状态乌贼贮藏时甲醛含量变化
Fig.6 Changes of formaldehyde content in cuttlefish during storage

3 结论

对乌贼经过水煮处理时发现随着温度升高, 肉中FA含量升高; 随着时间的增加, FA含量先增加后下降, 在水煮加热25min时FA含量达到最大值。焙烤乌贼时发现FA含量由100℃的1.14mg/kg持续上升至220℃的2.66mg/kg, 在180℃条件下分别焙烤5~25min, FA含量呈现先上升后不变的趋势, 在20min前上升显著。在对乌贼进行室温贮藏5d发现FA含量不断上升; 冷藏放置13d胴体肉在第7天开始出现腐败现象, FA含量缓慢上升, 随后随着腐烂程度的增加, FA含量又迅速上升; 冷冻3个月贮藏发现内源性FA含量缓慢上升后不变。与完整的乌贼肉相比, 切碎成丁状后冷冻贮藏乌贼肉中FA的生成量明显增多。

参考文献:

- [1] IARS/WHO. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human Volume 88: Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol[R]. World Health Organization, 2006.
- [2] 李颖畅, 朱军莉, 励建荣. 水产品中内源性甲醛产生和控制研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(8): 406-408.
- [3] 朱军莉, 励建荣. 鱿鱼及其制品加工贮存过程中甲醛的消长规律研究[J]. 食品科学, 2010, 31(5): 14-17.
- [4] 苗林林, 朱军莉, 励建荣. 梭子蟹贮藏和加工过程中内源性甲醛含量的变化[J]. 食品科学, 2010, 31(5): 1-4.
- [5] BIANCHI F. Fish and food safety: determination of formaldehyde in 12 fish species by SPME extraction and GC-MS analysis[J]. Food Chemistry, 2007, 100: 1049-1053.
- [6] LEELAPONGWATTANA K, BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, et al. Physicochemical and biochemical changes during frozen storage of minced flesh of lizardfish (*Saurida micropectoralis*)[J]. Food Chemistry, 2005, 90: 141-150.
- [7] 朱军莉. 秘鲁鱿鱼内源性甲醛生成机理及其控制技术研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2009: 39-65.

- [8] 段文佳. 水产品中甲醛的暴露评估与风险管理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011: 6.
- [9] SC/T 3025—2006 水产品中甲醛的测定[S].
- [10] NY 5172—2002无公害食品水发食品[S].
- [11] 靳肖, 周德庆, 孙永. 鱿鱼丝氧化三甲胺热分解模拟体系的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(3): 106-108.
- [12] YAMADA K, HARADA K, AMANO K. Biological formation of formaldehyde and dimethylamine in fish and shellfish-VII. Requirement of cofactor in the enzyme system[J]. Bull Jap Soc Scient Fish, 1969, 35: 227-231.
- [13] 贾佳. 秘鲁鱿鱼中氧化三甲胺热分解生产甲醛和二甲基胺机理的初步研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2009: 47-48.
- [14] 吴富忠, 黄丽君. 鱿鱼及制品中甲醛来源与产生规律探索[J]. 中国公共卫生管理, 2006, 22(3): 256-258.
- [15] LIN J K, HUMG D C. Thermal conversion of trimethylamine-*N*-oxide to trimethylamine and dimethylamine in squids[J]. Food and Chemical Toxicology, 1985, 23(6): 579-583.
- [16] dos SANTOS J P, IOBBI-NIVOL C, COUILAULT C, et al. Molecular analysis of the trimethylamine *N*-oxide (TMAO) reductase respiratory system from a *Shewanella* species[J]. Molecular Biology, 1998, 284: 421-433.
- [17] SUBRAMANIAN T A. Effect of processing on bacterial population of cuttle fish and crab and determination of bacterial spoilage and rancidity development on frozen storage[J]. Food Processing and Preservation, 2007, 31: 13-31.
- [18] BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, THONGKAEW C, et al. Effect of frozen storage on chemical and gel-forming properties of fish commonly used for surimi production in Thailand[J]. Food Hydrocolloids, 2005, 19: 197-207.
- [19] BABBITT J K, CRAWFORD D L, LAW D K. Decomposition of trimethylamineoxide and changes in protein extract ability during frozen storage of minced and intact hake muscle[J]. Food Chemistry, 1972, 20(5): 1052-1054.
- [20] SOTELO C, GALLARDO M J, PINEIRO C. Trimethylamine-oxide and derived compounds changes during frozen storage of hake[J]. Food Chemistry, 1995, 53: 61-65.