

研究简报

对虾头中呈味物质的抽提和分析

THE EXTRACTION AND ANALYSIS OF FLAVOR COMPONENTS IN THE PRAWN'S HEAD

贺玲斐 黄金陵
(上海水产大学)

He Lingfei and Huang Jinling
(Shanghai Fisheries University)

关键词 对虾, 呈味物质, 抽提

KEYWORDS prawn, flavor components, extraction

随着对虾养殖业的发展,对虾加工的废弃物——对虾头(约占整只对虾30%~40%(W/W))的数量也随之大增。因此,如何充分而有效地利用它,提高其利用价值,是一个值得研究的课题。目前国内大部份地区仅利用虾头制造鱼粉,作为饲料、饵料甚至肥料,利用价值很低;也有少数地区利用虾头生产“虾味素”、“虾黄素”和“虾酱”等制品。但对于这些制品的化学组成份,尤其是呈味成份的分布及含量尚未作过系统而全面的研究。因此,要在生产工艺和成品质量上作有效的控制甚为困难。

国外早在七十年代就曾对一些名贵水产品(如鲍鱼、柔鱼、蟹、对虾和龙虾等)中的主要呈味成份进行研究[Konosu, S. (1979)],并以此为依据研制出多种模拟的海味食品。Hujita, M.等(1972)曾测定了甲壳类中游离氨基酸含量,并指出对虾中甘氨酸等四种游离氨基酸的大量存在与对虾具有特殊的甜味有关。Asakawa, A.等(1981)也曾研究了小虾的呈味成份。藤卷正生等(1987)认为呈味成份是用热水或温水从天然原料中所提取的浸提物。呈味成份可分为提取成份和非提取成份两类。提取成份一般是从食品原料的热水提取物中除去蛋白质、多糖和脂类等物质以后,残留在水溶液中的成份。所以提取成份是易溶于水,分子量在500以下的低分子化合物,而非提取成份对于呈味一般不起直接的、主要的作用。

材料和方 法

(一) 材 料

中国对虾。1987年10月13日于上海南汇养殖场起塘,加冰装箱。当天运回实验室,去头,将虾头用塑料袋小包装,贮藏于-35℃电冰箱备用。对虾个体重量:平均20克/尾。虾头占对虾个体重量的40%:平均8克/只。

(二) 呈味物质的抽提方法

参考国内外有关鱼及甲壳类中呈味物质的抽提方法,获得虾味浓缩液,然后分别测定它们的总氮及α-氨基氮的含量,进行比较,从中选择一种最佳抽提方法,作为抽提物的制备方法。分组如下:

收稿年月:1989年8月;1990年1月修改。

I—III组:参考 Konosu, S. (1975)方法,直接用60%、70%、80%乙醇抽提。

IV—VI组:参考 Komota, Y. 等(1962)方法,加水匀浆抽提,然后分别用60%、70%、80%乙醇沉淀蛋白质。

VII—VIII组:参考 Takeshita, M. (1982)方法,热水抽提和加压短时水煮抽提,然后用70%乙醇沉淀蛋白质。

IX组:参考 Konosu, S. 等(1974)方法,加水匀浆抽提,然后用5%三氯乙酸沉淀蛋白质。

X组:参考葛云山⁽¹⁾方法,非蛋白质氮测定方法(5%三氯乙酸萃取法)。

(三) 呈味物质的测定方法

1. 游离氨基酸及结合氨基酸 采用 Water 公司的 HPLC 氨基酸分析仪,以羟脯氨酸为内标的内标法测定。结合氨基酸的水解条件:105°C水解2小时。

2. ATP 及其相关物 采用 Water 公司 HPLC 高压达 1200Psi 反相液相色谱法。

3. 甜菜碱 采用 Robert, L. 等(1956)比色测定法。

4. 氧化三甲胺 参考日本食品工业学会(1985)和 Bystedt, J. 等(1959),在试样的高氯酸或三氯乙酸抽提液中添加三氯化钛,并加热(或放置3小时),使 TMAO 还原为 TMA,测定总的 TMA 含量,减去试样中原有的 TMA 含量,即为 TMAO 含量。TMA 含量测定方法:(1)常规的苦味酸法⁽²⁾。(2)氨选择电极法(郭大均(1989))

5. 有机酸 采用日立气相色谱仪,测定条件:(1)柱:填充5%PDEGA(己二酸二乙醇聚酯)Chromosorb W Aw (DMCS)60~80目,3mm×2m的玻璃柱(自填)。(2)分析条件:进样口、FID均为250°C,氮气70ml/min,柱温:80°C恒温3min,然后分别以8°C/min上升到140°C。

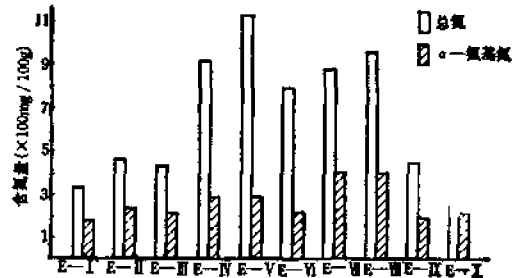
6. 无机离子 阳离子:Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺采用珀金—埃尔默公司2280原子分光光度计测定。阴离子:Cl⁻采用法杨司法、PO₄³⁻采用钼蓝比色法(金有坤(1984))。

结果和讨论

(一) 抽提物的制备

从上述十种方法获得的抽提液中的总氮及 α -氨基氮含量如附图所示。

抽提方法优选的依据是总氮及 α -氨基氮相应较高,且要求味感良好,易于测定。E-VII(热水抽提)和E-VIII(加压短时水煮抽提)的 α -氨基氮含量基本相同,可以排除加压情况下蛋白质水解引起氨基酸含量的明显改变,且考虑到加压短时水煮,总氮含量略高,可降低对呈味有贡献的低分子化合物的挥发损失。故确定一种比较合理的抽提液的制备方法如下:30g样品加60ml水匀浆2min,转移到长颈烧瓶中,在高压锅中短时蒸煮(120°C,5min),然后抽滤,30ml水洗沉淀三次,上清液合并,用蒸



附图 十种抽提方法获得的虾头抽提液中总氮及 α -氨基氮的含量

Attached figure Total nitrogen and α -amino nitrogen of prawn head by mean of ten extractions

(1) 葛云山,1985.水质质量测定方法.东海水产研究所。

(2) 同本文的(1)。

馏水定容到 100ml。100ml 合并液加 280ml 95%乙醇（最终浓度70%），放置于 4℃冰箱中过夜，离心（5,000rpm, 15min），沉淀用70%乙醇洗，合并上清液，减压浓缩（温度控制在40℃~50℃），用蒸馏水定容到 50ml，贮藏于 -35℃冰箱中备用。以下各试验所用提取试样均采用此法。

（二）主要呈味物质

原料虾头的组成份是：水分80.4%，粗蛋白质11.8%，粗脂肪2.4%，总灰分 5.4%。虾头抽提液中主要呈味成份如表 1 所示，单位是每 100g 虾头中的毫克数。

表 1 对虾头抽提液中主要呈味物质(mg/100g)
Table 1 Main taste components in the extracts of prawn head

游离氨基酸(结合氨基酸)				ATP 相关物		有机碱			
精氨酸	563	—	谷氨酸	44	(524)	AMP	34	氧化三甲胺	26
赖氨酸	249	(56)	异亮氨酸	44	(90)	IMP	145	甜菜碱	739
甘氨酸	206	(88)	苏氨酸	37	(112)	H _x R	259	无机离子	
丙氨酸	124	(124)	甲硫氨酸	37	(46)	H _x	91	Na ⁺	58
脯氨酸	110	(113)	组氨酸	34	(59)	有机酸		K ⁺	142
亮氨酸	101	(131)	天门冬氨酸	13	(318)	乳酸(参见表 2)		Mg ²⁺	18
酪氨酸	82	(50)	丝氨酸	33	(117)	丙酮酸(参见表 2)		Ca ²⁺	106
苯丙氨酸	79	(88)	胱氨酸	3	(12)	丁二酸(参见表 2)		Cl ⁻	464
缬氨酸	52	(111)				糖(未测)		PO ₄ ³⁻	+

注：表中括号内数字为结合氨基酸。

1. 游离氨基酸 对虾头中游离氨基酸总量达到 1813 ± 93mg/100g。以精氨酸、赖氨酸、甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸为主，占 17 种游离氨基酸总量的 79%，其中精氨酸占31%，赖氨酸占14%，甘氨酸占 11%，丙氨酸占7%，脯氨酸占6%。与中国对虾肌肉中游离氨基酸的含量相比较，赖氨酸含量，虾头略高于生肌肉；甘氨酸、脯氨酸含量，虾头略低于生肌肉。但总的来说，精氨酸、赖氨酸、甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸含量都较高。

2. 结合氨基酸 虾头抽提液水解后，总的游离氨基酸增加了一倍，其中以谷氨酸、天门冬氨酸增加最为明显。这些结果与 Asakawa, A. (1981)以及 Konosu, S. (1978)分析甲壳类抽提液中游离氨基酸增加情形相似。另外，由于甲壳类缺乏 AMP 脱氢酶，故形成的 IMP 量不多，它们的鲜味主要来自氨基酸、肽、酰胺等成份的味感综合，其中 L-谷氨酸、L-天门冬氨酸的钠盐及酰胺都具有鲜味，L-谷氨酸二肽也有类似谷氨酸的鲜味。本实验水解后产生大量谷氨酸、天门冬氨酸是否对鲜味有贡献，也是一个值得探讨的问题。

3. ATP 及其相关物 自发现 IMP 是一种重要的鲜美成份以来，海产品中核苷酸引起了食品化学家的兴趣。Kuninaka, A 证实了 IMP、GMP 与谷氨酸结合显示了鲜味增效作用，ATP 单独存在时被认为是无味的，但它在海洋无脊椎动物中，起着一个重要作用，即对谷氨酸的增效作用。ATP 及其相关物是风味的重要组成份，但由于原料、提取条件及贮藏条件不同，ATP 及其相关物的含量也随之而变化。在本实验条件下，虾头抽提液中 ATP、ADP 几乎不存在，对鲜味有贡献的 IMP、AMP 含量占整个相关物的28%和6%，略带苦味的 H_xR 和 H_x 分别占49%和17%。

4. 甜菜碱 本实验中甜菜碱含量是以比色法测得的量，是各类甜菜碱，如 β-丙氨酸甜菜碱，甘氨酸

酸甜菜碱和龙虾肌碱的总和,这类化合物在鱼肌肉中含量很少,但在甲壳类及软体动物中却很丰富,被认为是这些海产品甜味的来源之一。对虾中以甘氨酸甜菜碱为主。虾头抽提液中甜菜碱平均含量是 $799 \pm 89.8 \text{ mg}/100\text{g}$,若以甘氨酸甜菜碱计算(分子量117),相应的含氮量应是 $89 \text{ mg-N}/100\text{g}$,约占整个呈味物质中含氮化合物的10%左右,应是一个比较重要的呈味含氮物质。

5. 氧化三甲胺 苦味酸法与氮选择电极法测得的 TMAO、TMA 含量,由于二种测定方法的取样方法不同而略有不同, TMA 含量:氮选择电极法测得量($6.98 \pm 0.7 \text{ mg}/100\text{g}$)高于苦味酸法($2.0 \pm 0.1 \text{ mg}/100\text{g}$);TMAO含量:氮选择电极法测得量($22.4 \pm 1.6 \text{ mg}/100\text{g}$)小于苦味酸法($26.0 \pm 1.9 \text{ mg}/100\text{g}$)。然而总的 TMA 含氮量(即 TMAO 在还原剂三氯化钛作用下完全转化成 TMA 时的 TMA 含氮量)却是接近的,苦味酸法测得量是 $5.3 \pm 0.34 \text{ mg-N}/100\text{g}$,氮选择电极法测得量是 $5.8 \pm 0.15 \text{ mg-N}/100\text{g}$ 。

6. 抽提液中各类含氮化合物的含量及分布 据上述分析结果可列出各类含氮化合物的含量及分布。确定了抽提液90%的含氮化合物,其余部份包括氨、牛磺酸(未测),以及一些未知的微量含氮化合物。分析结果令人满意,而且每 100g 虾头约能获得含氮呈味物质 5072mg,得率5%左右。

表2 虾头抽提液中有有机酸含量
Table 2 Organic acids in the extracts of prawn head

有机酸	保留时间 (分钟)	中国对虾头 (相对峰面积)	日本龙虾 (mg/100g)	日本对虾 (mg/100g)
乳酸	2.77	1365	232	130
丙酮酸	2.16, 4.95	226	4	7
丁二酸	8.55	162	27	6

7. 有机酸 本实验采用气相色谱法代替以前的薄层层析法,定性分析了虾头抽提液中有有机酸的组成,表2列出了三种主要有有机酸在本实验条件下的保留时间,作为定性分析的依据,其中丙酮酸有

二个异构体 ($\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{COOH}$, $\text{CH}_2=\overset{\text{OH}}{\text{C}}-\text{COOH}$),故出现二个峰,保留时间分别为 2.16分、4.95分,从峰面积来看,乳酸含量比较高,丁二酸、丙酮酸次之,这与表上引用的日本对虾和日本龙虾的肌肉中有有机酸含量(Konosu, S. 等(1967)结果相似,即对虾中乳酸是一种主要的有机酸。

8. 无机离子 Sidwell, V. D.(1977) 从营养学角度出发测定了鱼贝类灰分中的无机离子含量;本实验从风味角度出发测定了对虾头抽提液中无机离子含量,阳离子中 K^+ 、 Ca^{2+} 含量较高,阴离子中 Cl^- 含量较高,一般认为 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、 PO_4^{3-} 等对风味起着不可缺少的作用[Hayashi, T. (1978)、(1981)]

综上所述,表1数据可以作为指定合成抽提液的依据。建议以后通过删减品尝试验,确认各呈味成份所起的作用,以及它们之间的依赖关系。这对于抽提和强化对虾头中呈味物质,和模拟虾味制品的研制,都有一定的参考价值。

参 考 文 献

- [1] 日本食品工业学会编(郑州粮食学院译),1985. 食品分析化学(下),56~65. 四川科学出版社(蓉)。
- [2] 金有坤,1984. 淡水渔业水质分析,52~91. 上海科学出版社。
- [3] 郭大钧等,1989. 用三甲胺特效电极对海产鱼虾作质量评定. 水产学报,13(3):248~253.
- [4] 藤卷正生(夏云译),1987. 香料化学,308~320. 轻工业出版社(京)。

- [5] Asakawa, A. *et al.*, 1981. Taste-active components of shrimp (*Pandalus borealis*). *J. Jap. Soc. Food Sci. & Techn.*, **28**(11):594-599.
- [6] Bystedt, J. *et al.*, 1959. Determination of trimethylamine oxide in fish muscle. *J. Sci. Food. Agric.*, **10**(6): 301-304.
- [7] Hayashi, T., 1978. Studies on flavour components in the extracts of boiled crabs meat. *Annu. Meeting of the Jap. Soc. of Scientific Fisheries*. P. 122. Abstr.
- [8] —, 1981. Sensory analysis of taste-active components in the extracts of boiled snow crab meat. *J. Food Sci.*, **46**: 479-488.
- [9] Hujita, M. *et al.*, 1972. Studies on muscle of aquatic animals. XXXXVI. Free amino acid, trimethylamine oxide and betaine in shrimp muscle. *Mem. Fac. Agric. Kinki Univ. Kinki Daigaku Nogakubu Kiyo*, **5**: 61-67.
- [10] Komota, Y. *et al.*, 1962. Studies on the extractive of "UN1" I: Free amino acid composition. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **28**: 623-629.
- [11] Konosu, S. *et.* 1979. *The taste of fish and shellfish*. In "Food Taste Chemistry". J. C. Boudren (Editor). Acs Symp Ser. 115(185-203).
- [12] Konosu, S. & Hayashi, T., 1975. Determination of α -alanine betaine and glycine in some marine invertebrates. *Ibid*, **41**: 743-746.
- [13] Konosu, S. *et al.*, 1967. Concentration of organic acid in shellfish with particular reference to succine acid. *J. Jpn. Soc. Food Nutr.*, **20**: 186-189.
- [14] Konosu, S. *et al.*, 1974. Distribution of nitrogenous constituents in the muscle extracts of eight species of fish. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **40**: 909-915.
- [15] —, 1978. Studies on flavour components in boiled crabs I: Amino acid and related components in the extracts. *Ibid*, **44**: 505-510.
- [16] Robert, L. *et al.*, 1956. Colorimetic determination of betaine in glutamate process and liquor. *J. Agr. Food Chem.*, **4**: 546-548.
- [17] Sidwell, V. D. *et al.*, 1977. Composition of the edible portion of raw (fresh or frozen) crustaceans finfish and mollusk Macroelements: Sodium, Potassium, Chlorine, Calcium, Phosphorus and Magnesium. *Mar. Fish. Rev.*, **39**: 1-11.
- [18] Takeshita, M., 1982. Preparation of a shrimp flavour extract from waste product. *Infomative Annual da Faculdade de Engenharia de Alimentos e agricola.*, **10**: 27-30.