

带鱼腌制加工过程理化指标、微生物 和生物胺的动态变化及相关性

吴燕燕^{1*}, 陈玉峰^{1,2}, 李来好¹, 杨贤庆¹, 林婉玲¹, 杨少玲¹, 王锦旭¹

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所,农业部水产品加工重点实验室,
国家水产品加工技术研发中心,广东 广州 510300;
2. 上海海洋大学食品学院,上海 201306)

摘要:为初步探明鱼类腌制过程中生物胺的形成机理,本实验研究了带鱼在腌制加工过程中盐度、水分含量、水分活度(Aw)、pH、蛋白质水解指数(P.I.)、非蛋白氮(NPN)、游离氨基酸、微生物和生物胺的动态变化及相关性。结果显示,pH在腌制阶段增加但在干燥阶段下降;盐度、P.I.和微生物(菌落总数、乳酸菌、葡萄球菌和微球菌)在整个加工过程持续上升,水分含量和Aw则持续下降。整个加工过程发生了明显的蛋白质降解反应,NPN和游离氨基酸在干燥阶段含量显著上升;总生物胺含量增加了2.26倍,其中尸胺含量显著增加了157倍,其次是组胺。带鱼腌制过程中,游离氨基酸与生物胺显著正相关,作为生物胺前体物质对生物胺的形成影响较大,微生物则起到了促进和抑制生物胺的作用,生物胺的形成还受pH、盐度、Aw等因素的共同影响,是一个极其复杂的过程。

关键词:带鱼;腌制加工;理化指标;微生物;生物胺;相关性

中图分类号:TS 254.1

文献标志码:A

带鱼(*Trichiurus lepturus*, hairtail),地方俗称刀鱼、牙带、白带鱼,是我国重要的海洋经济鱼类之一,富含脂肪、蛋白质和多种矿物质等,其肉质细腻、易于消化,深受广大消费者喜爱。在我国南方地区,人们常常将带鱼用食盐进行腌制,不仅可以延长其贮藏期,而且可以形成独特的风味。但长期以来关于咸鱼等传统腌制鱼类的加工技术和质量安全缺乏系统研究,随着消费者食品质量安全意识提高,对咸鱼等传统鱼类腌制品的安全性和品质的要求越来越高。近几年,国内外有不少学者开展了这方面的研究,如丁丽丽等^[1]研究了咸带鱼加工过程中挥发性风味成分的变化,张婷等^[2]研究了不同贮藏条件下咸鱼的品质变化,吴燕燕等^[3-5]研究了从咸鱼中分离到具有降解亚硝酸盐的乳酸菌,建立了一种利用乳酸菌腌制鱼肉的方法,并

与传统腌制方法比较,结果表明其既能有效降低鱼类腌制品中亚硝酸盐含量,同时又能缩短加工时间和提升风味。Ren等^[6]研究了咸带鱼在25~35℃干燥过程中的等温吸湿动力学模型。但对于咸鱼在加工过程中生物胺的变化及控制技术的研究尚未有报道。

生物胺是一类具有生物活性,含氮的低分子量有机化合物的总称,适量的生物胺可以调节细胞生长、作为神经传递以及炎症介质^[7-8]。而过量的生物胺则会引起许多不良的生理反应,食物中毒的发作和某些毒理学特性与组胺和酪胺关系最为密切,同时某些二胺以及多胺的存在会抑制组胺、酪胺的代谢,增强其毒性^[9]。本实验通过研究带鱼在腌干加工过程中理化指标、微生物、生物胺的变化及生物胺与其他指标的相关性,初步揭示咸带鱼腌干过程中生物胺的形成机理,为将

收稿日期:2015-03-21 修回日期:2015-05-22

资助项目:国家自然科学基金(31371800);国家科技支撑计划(2012BAD28B05);广东省海洋渔业科技推广专项(A201301C01)

通信作者:吴燕燕,E-mail:wuyyg@163.com

来研究咸带鱼生产过程中生物胺的控制提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

冻带鱼:体长 70 ~ 100 cm,体质量 1 000 ~ 1 300 g,由台山市李贵记食品有限公司提供。

主要试剂:丙酮、三氯乙酸(TCA)、氢氧化钠、碳酸氢钠、25%氨水、乙酸铵等均为国产分析纯;TTC 营养琼脂、MSA 培养基、MRS 培养基,广东环凯微生物科技有限公司;乙腈(色谱纯)和甲醇(色谱纯)购自上海安谱科学仪器有限公司;丹磺酰氯、16种游离氨基酸标准品和8种生物胺标准品购自美国 Sigma 公司。

1.2 主要仪器与设备

Agilent 1100 高效液相色谱仪,美国 Agilent 公司;日立 L-8900 高速氨基酸分析仪,日本 HITACHI 公司;Avanti J-26 XP 冷冻离心机,美国 BECKMAN COULTER 公司;kjlttecTM 2300 蛋白质自动分析仪,丹麦 FOSS 公司;FE 20 pH 计、HG 53 水分测定仪,瑞士 METTLER TOLEDO 公司;msl set aw 水分活度仪,瑞士 Novisina 公司;809 Titrand 自动电位滴定仪,瑞士 Metrohm 公司;SPX 型生化培养箱,宁波东南仪器有限公司。

1.3 实验方法

咸带鱼加工方法 取冷冻带鱼在常温下自然解冻,去内脏,用流动水冲洗干净后,放入腌制槽中,加入带鱼总重 25% 的食盐均匀涂抹鱼体表面和内部,层鱼层盐,再加入饱和食盐水稍浸没鱼体腌制 24 h 后取出,用清水浸泡约 3 h,每 1 h 换水 1 次,浸泡脱盐后取出,晾晒约 6 h 至表面干,再移入(28 ± 2) °C 的温控烘箱中进行干燥,24 h 后翻转鱼体位置 1 次,然后继续干燥约 48 h,取出称量、包装,即为咸鱼成品。

检测样品预处理 取咸带鱼加工过程中 6 个阶段的产品的中间部分作为试材,每阶段抽 3 条鱼,将鱼肉绞碎混匀,备用。

6 个阶段以 A、B、C、D、E 和 F 分别表示。A:新鲜带鱼;B:腌制 24 h 后的样品;C:浸泡脱盐后的样品;D:晾晒 6 h 至表面干的样品;E:干燥第一阶段的样品(冷风干燥 24 h);F:成品(冷风

干燥 48 h,即干燥第二阶段样品)。

理化指标的测定 取约 3 g 的样品,分别用水分测定仪和水分活度仪对水分含量和水分活度进行测定。依照国标 GB/T 9695.5 - 2008^[10],取 5 g 样品加入 10 倍的 0.1 M KCl 溶液均质后,测定 pH 值。取 10 g 样品,炭化、灰分后,用去离子水洗入容量瓶定容至 100 mL,过滤,用电位滴定仪进行盐分的测定。非蛋白氮(NPN)的测定根据章建浩等^[11]的方法略作修改,称取约 2 g 的样品(精确到 0.001 g),加入 20 mL 超纯水,40 °C 振荡 1 h,再加入 20 mL 10% TCA 振荡 30 min,然后 10 000 r/min 离心 15 min,上清液过滤至消化管中,再加入 2 勺无水硫酸铜和 12 mL 浓硫酸,消化至管内为淡蓝色透明液体,冷却后,蛋白质自动分析仪测定。取 0.4 g 的样品(精确到 0.001 g),加入 12 mL 浓硫酸于消化管中 420 °C 消化 40 min,蛋白质自动分析仪测定总氮。

蛋白质水解指数(P.I.,%) = 非蛋白氮(%) / 总氮(%) × 100%

游离氨基酸(FAAs)的测定依照国标^[12]进行样品前处理,再根据国标^[13]规定的方法,利用氨基酸自动分析仪进行测定。

微生物的测定 依据国标^[14]进行测定。菌落总数利用 TTC 培养基 37 °C 培养 48 h,乳酸菌利用 MRS 培养基 30 °C 培养 48 h,葡萄球菌和微球菌利用 MSA 培养基 30 °C 培养 48 h。

生物胺的测定 生物胺采用柱前衍生反相高效液相色谱法测定,按照陈玉峰等^[15]方法略作修改:准确称量 5.00 g 样品于离心管中,加入 15 mL 5% TCA 溶液,均质并于 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,再加入 8 mL TCA 溶液重复 1 次,合并 2 次上清液并定容至 25 mL。取 1 mL 样液,加入 200 μL 2 mol/L NaOH、300 μL 饱和碳酸氢钠以及 2 mL 丹磺酰氯溶液,与 40 °C 避光衍生反应 45 min,加入 100 μL 25% 氨水避光保存 30 min 以终止反应,然后用乙腈定容至 5 mL,于 3 000 r/min 离心 5 min,上清液过 0.22 μm 滤膜,贮藏于 4 °C 备用。检测条件:柱温 40 °C;进样量 10 μL;流速 1 mL/min;荧光激发波长 350 nm,发射波长 520 nm,流动相 0.1 mol/L 乙酸铵溶液、乙腈和超纯水进行梯度洗脱(表 1)。采用外标法测定各生物胺的含量。

表 1 梯度洗脱程序表 (%)
Tab. 1 HPLC gradient elution program for biogenic amines

| 流动相 flowing phase | 洗脱时间/min elution time | | | | | | |
|--------------------------------|-----------------------|----|----|----|----|----|----|
| | 0 | 5 | 15 | 20 | 24 | 28 | 30 |
| 0.1 mol/L 乙酸铵 ammonium acetate | 10 | 20 | 15 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 乙腈 acetonitrile | 60 | 60 | 70 | 80 | 90 | 60 | 60 |
| 超纯水 ultrapure water | 30 | 20 | 15 | 10 | 0 | 30 | 30 |

总胺量(mg/kg) = 色胺 + 苯乙胺 + 腐胺 + 尸胺 + 组胺 + 酪胺 + 亚精胺 + 精胺

单胺(mg/kg) = 色胺 + 苯乙胺 + 组胺 + 酪胺

二胺(mg/kg) = 腐胺 + 尸胺

多胺(mg/kg) = 精胺 + 亚精胺

生物胺指数 (biogenic amine index, BAI) (mg/kg) = 腐胺 + 尸胺 + 组胺 + 酪胺

质量指数 (quality index, QI) = (腐胺 + 尸胺 + 组胺) / (1 + 亚精胺 + 精胺)

数据分析 采用 Excel 和 SPSS 19.0.0 进行数据统计,所有样品均作 3 次平行,实验数据采用 ANOVA 进行 Tukey HSD 显著性差异分析,采用 Person 相关系数进行双侧相关性分析, $P < 0.01$ 表示差异极显著, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与讨论

2.1 带鱼腌制加工过程理化指标分析

pH、盐度、水分含量、Aw 的变化分析 pH 值在腌制阶段呈上升趋势,由原料时 6.28 上升至 6.34,主要是由于在腌制过程中鱼肉内的微生物和酶的作用,使鱼肉中产生了一些碱性的含氮物质^[16]; pH 值在干燥阶段呈明显的下降趋势,由漂洗结束时的 6.36 下降至成品时的 6.26,这是因为带鱼脂肪含量高,在干燥过程,体内的脂肪酶作用使得脂肪不断水解成了游离脂肪酸^[17],另一方面,咸鱼干制过程中乳酸菌为优势菌种^[18],适宜的温度促进了乳酸菌的产酸作用,从而进一步降低了鱼肉的 pH 值(图 1)。带鱼的盐度在整个加工过程中除浸泡脱盐阶段略有下降外,其余时期不断上升,并在成品时盐度达到 78.8。

水分含量和 Aw 总体呈下降趋势,并呈明显的正相关性 ($P < 0.05$) (图 2)。在腌制阶段,由于食盐的渗透作用,导致了鱼体内的水分渗出而略有降低。干燥过程中,水分含量呈明显的下降趋势,并在成品时处于 50% 以下。Aw 在腌制阶

段略有下降,这与食盐的渗透作用有关;在浸泡脱盐阶段又略有上升,这可能与部分食盐被洗去以及温度有关;而在干燥时, Aw 呈明显下降趋势,干燥 24 h 后为 0.86,下降最大,变化差异最为显著 ($P < 0.05$),而后继续下降,直至 Aw 为 0.82。龚丽等^[19]对咸鱼水分活度的研究指出,当盐度低于 75.0 时, Aw 与盐度呈显著的负相关性,本实验研究与其相符。

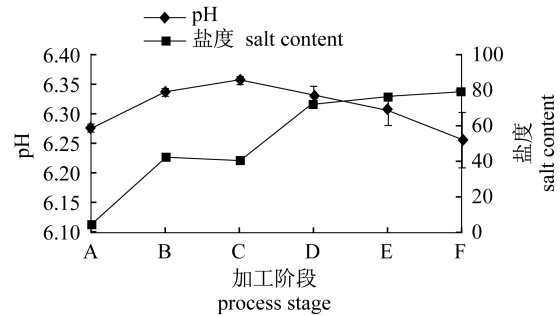


图 1 带鱼腌干过程中的 pH 和盐度变化

A: 新鲜带鱼; B: 腌制 24 h; C: 浸泡脱盐; D: 晾晒 6 h; E: 冷风干燥 24 h; F: 冷风干燥 48 h, 下同

Fig. 1 Changes of pH and salinity in hairtail during pickling and drying

A: fresh hairtail; B: pickled for 24 h; C: water desalination; D: sun drying for 6 h; E: cold drying for 24 h; F: cold drying for 48 h, the same as below

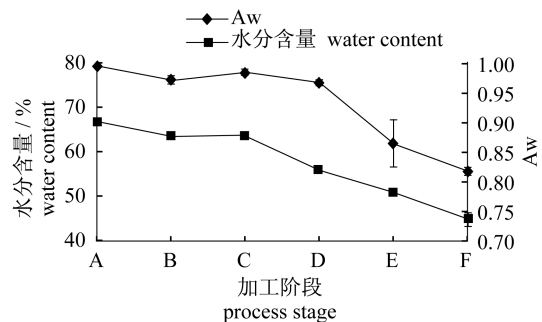


图 2 带鱼腌干过程中的水分含量和 Aw 变化

Fig. 2 Changes of water content and Aw in hairtail during pickling and drying

带鱼腌干过程中 NPN、P. I. 的变化分析

在腌制过程中, NPN 的含量下降至 4.98 mg N/g, 这是由于食盐的渗入造成鱼肉细胞内外渗透压差异, 导致鱼肉体液大量析出, 将大量鱼肉中的 NPN 带入了腌制液中而流失(图 3)。在干燥阶段, NPN 由漂洗结束时的 5.47 mg N/g 上升至成品时的 7.26 mg N/g, 这主要是在干制过程中, 鱼体内的蛋白质在组织蛋白酶、氨肽酶等内源酶的作用下发生了不同程度的水解。NPN 在干燥后期较干燥前期上升缓慢, 可能是乳酸菌产酸作用导致某些蛋白酶的活性降低所致, 但蛋白质的水解仍在不断进行, 这与曾令彬等^[20]研究腊鱼加工中 NPN 变化的结论相一致。

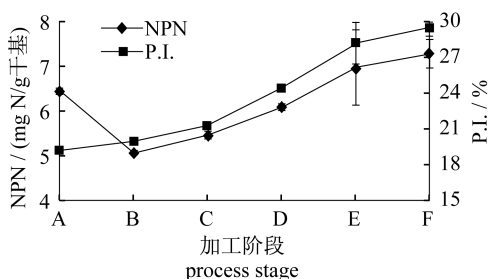


图 3 带鱼腌干过程中的 NPN 和 P. I. 变化
Fig. 3 Changes of NPN and P. I. in hairtail during pickling and drying

在整个加工过程中, P. I. 值由原料时的 19.19% 到成品时的 29.41%, 呈明显上升趋势(图 3), 在腌制阶段, 由于盐分向肌肉内部渗透, 破坏肌肉蛋白质的结构, 蛋白酶更易作用于蛋白质, 使其降解程度增大^[21], 腌制结束后 P. I. 值比原料时增加了 3.97%; 浸泡脱盐后, P. I. 值显著上升($P < 0.05$), 干燥结束后, P. I. 值相比原料带鱼升高了 34.74%。在干燥 24 h 后, P. I. 的升高速率开始放缓, 这一发现可以用来说明 NPN 含量在干燥 48 h 阶段减慢的现象, 造成 P. I. 放缓的原因是多方面的, 与 Aw、pH 值降低以及离子浓度升高均有关系。

带鱼腌干过程主要游离氨基酸的含量变化

游离氨基酸是生物胺形成的前体物质, 有文献报道精氨酸可通过精氨酸亚胺酶脱羧途径形成鸟氨酸, 再脱羧形成腐胺^[22], 也可以直接脱羧产生精胺和亚精胺; 赖氨酸、组氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸分别在酶作用下脱羧形成尸胺、组胺、2-苯乙

胺和酪胺^[23]。表 2 显示了主要生物胺前体物质 5 种游离氨基酸和总游离氨基酸含量的变化情况。在腌制阶段, 除 Lys 外, 主要游离氨基酸均有不同程度的上升, 其中, His 的变化幅度最大, 增加了 4 倍多, 其次, Phe、Tyr 和 Arg 含量也上升了 17.95%~37.50%。在浸泡脱盐阶段, 主要游离氨基酸均发生了不同程度的下降, 其中 His 和 Arg 较腌制阶段分别下降了 75.00% 和 27.27%, 下降最为明显, 这可能是由于漂洗的作用, 使得鱼肉内的部分游离氨基酸随着流动水而流失。在晾晒 6 h 过程中, 除 Lys 和 His 外, 其余游离氨基酸均继续下降, 而在干燥阶段, 5 种主要游离氨基酸均发生了明显的上升($P < 0.05$), 表现为蛋白质水解指数不断增加, 具体表现为此温度下活性较高的氨肽酶等将肌浆蛋白、肌原纤维蛋白等蛋白逐渐分解, 从而出现氨基酸等小分子物质的累积^[24], 另外, 在干燥后期, Lys 发生了下降, 可能原因是其参与了风味物质的形成^[25]。与原料相比, 干制后的咸带鱼中主要游离氨基酸含量都提高了 2~3 倍。总游离氨基酸在整个加工过程中呈现先上升后下降再上升的趋势, 这一变化趋势与非蛋白氮的变化趋势不符, 同时与曾令彬^[20]的结论不符。此外, 在整个晾晒、干燥过程中 Arg 始终处于较低的含量, 这可能由于其具有与还原性化合物进行强烈美拉德反应的特点所致^[26]。

2.2 带鱼腌干过程中微生物的变化分析

作为咸鱼中主要微生物的乳酸菌、葡萄球菌和微球菌含量以及菌落总数, 在咸鱼整个加工过程中总体呈上升趋势(图 4), 其中, 在腌制期间, 由于温度始终处于 4 °C, 且食盐的影响使得微生物生长缓慢; 在晾晒 6 h 过程中, 由于适宜的温度、足够的水分促进了它们的快速生长, 所以增加明显($P < 0.05$); 在冷风干制过程中, 菌落总数基本无变化, 乳酸菌在干燥后期开始下降, 但葡萄球菌、微球菌不断上升, 说明咸鱼干燥过程中理化特性的变化影响了菌相的变化, 在这个阶段, 虽然温度适宜它们的生长, 但由于盐度不断增加, Aw 不断降低, 从而抑制了细菌、乳酸菌的生长, 而对耐盐性的葡萄球菌和微球菌则影响不大。

2.3 带鱼腌干过程中生物胺及其相关性指标的变化分析

除原料中未检测出色胺外, 8 种生物胺广泛存在于咸带鱼加工的各个阶段, 除亚精胺、精胺

表 2 带鱼腌干过程中主要游离氨基酸含量变化
Tab.2 Changes of main free amino acids in hairtail during pickling and drying

| 游离氨基酸 free amino acid | A | B | C | D | E | F |
|------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 酪氨酸 Tyr | 0.005 0 ^B | 0.006 0 ^B | 0.005 0 ^B | 0.003 0 ^B | 0.003 0 ^B | 0.010 0 ^A |
| 苯丙氨酸 Phe | 0.0195 ^D | 0.023 0 ^A | 0.021 0 ^C | 0.017 0 ^E | 0.017 0 ^E | 0.036 0 ^A |
| 赖氨酸 Lys | 0.028 0 ^C | 0.025 5 ^D | 0.021 0 ^F | 0.023 0 ^E | 0.053 0 ^A | 0.048 0 ^B |
| 组氨酸 His | 0.003 0 ^C | 0.014 0 ^A | 0.003 5 ^C | 0.004 0 ^C | 0.003 0 ^C | 0.010 0 ^B |
| 精氨酸 Arg | 0.004 0 ^B | 0.005 5 ^A | 0.004 0 ^B | 0.001 0 ^C | 0.001 0 ^C | 0.003 0 ^B |
| 总游离氨基酸 total free amino acid | 0.210 0 ^C | 0.240 0 ^B | 0.200 0 ^C | 0.165 0 ^D | 0.210 0 ^C | 0.400 0 ^A |

注:同行数据的不同字母表示差异显著($P < 0.05$);总游离氨基酸含量为 16 种常见游离氨基酸含量之和

Notes: values in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$); total free amino acid content is the sum of 16 kinds of common free amino acid

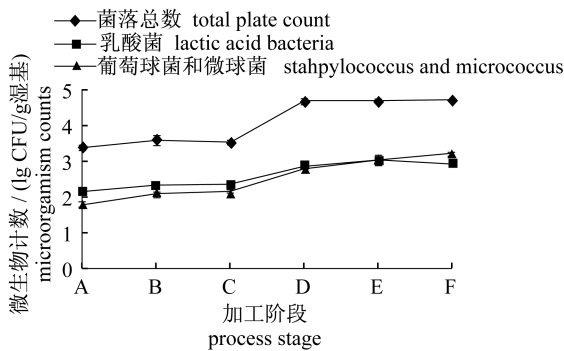


图 4 带鱼腌干过程中的主要微生物变化

Fig. 4 Changes of main microorganism in hairtail during pickling and drying

外,其余 6 种生物胺及总生物胺含量在加工过程中均发生了不同程度的改变(表 3)。成品中的色胺含量较腌制后增加量超过 200%, 2-苯乙胺在腌制后的每个阶段的含量均较原料发生了不同程度的增加,这一点在腐胺和酪胺中也可以看出,并且这 2 种胺的含量随着加工的进行不断增加,但同时色胺、2-苯乙胺、腐胺和酪胺在整个过程中的含量处于较低的值(均低于 3.2 mg/kg)。亚精胺和精胺在肉制品中自然存在,是鱼肉的组成性胺类^[27],二者的含量始终处于一个稳定且较低的值(均低于 1.5 mg/kg,表 3)。

表 3 带鱼腌干过程中 8 种生物胺和总生物胺含量变化

| 加工阶段 process stage | 色胺 tryptamine | 2-苯乙胺 2-phenylethylamine | 腐胺 putrescine | 尸胺 cadaverine | 组胺 histamine | 酪胺 tyramine | 亚精胺 spermidine | 精胺 spermine | 总生物胺 total biogenic amines |
|--------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| A | nd ^D | 0.64 ± 0.01 ^B | 0.64 ± 0.02 ^C | 0.40 ± 0.01 ^F | 21.33 ± 1.26 ^{BC} | 1.89 ± 0.01 ^C | 0.68 ± 0.01 ^A | 1.38 ± 0.03 ^A | 26.98 ± 1.24 ^D |
| B | 0.67 ± 0.07 ^C | 0.72 ± 0.16 ^{AB} | 0.69 ± 0.04 ^C | 0.59 ± 0.02 ^E | 26.49 ± 4.83 ^{AB} | 2.08 ± 0.05 ^{BC} | 0.71 ± 0.00 ^A | 1.27 ± 0.02 ^B | 33.22 ± 4.76 ^{BCD} |
| C | 0.68 ± 0.07 ^C | 0.83 ± 0.02 ^{AB} | 0.78 ± 0.06 ^C | 1.16 ± 0.02 ^D | 37.20 ± 0.76 ^A | 2.35 ± 0.14 ^{AB} | 0.72 ± 0.01 ^A | 1.23 ± 0.03 ^{BC} | 44.95 ± 0.63 ^B |
| D | 0.53 ± 0.00 ^C | 0.82 ± 0.01 ^{AB} | 0.77 ± 0.02 ^C | 1.64 ± 0.05 ^C | 21.23 ± 0.39 ^{BC} | 2.43 ± 0.09 ^{AB} | 0.74 ± 0.03 ^A | 1.20 ± 0.00 ^{BCD} | 29.37 ± 0.47 ^{CD} |
| E | 1.13 ± 0.07 ^B | 1.04 ± 0.04 ^A | 1.37 ± 0.06 ^B | 13.76 ± 0.04 ^B | 18.82 ± 3.79 ^{BC} | 2.54 ± 0.06 ^{AB} | 0.72 ± 0.02 ^A | 1.13 ± 0.01 ^D | 40.51 ± 3.92 ^{BC} |
| F | 2.33 ± 0.15 ^A | 0.94 ± 0.13 ^{AB} | 3.14 ± 0.05 ^A | 63.55 ± 0.00 ^A | 13.38 ± 4.26 ^C | 2.66 ± 0.11 ^A | 0.73 ± 0.01 ^A | 1.17 ± 0.01 ^{CD} | 87.90 ± 4.06 ^A |

注:同列数据的不同字母表示差异显著($P < 0.05$); nd 表示未发现

Notes: values in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$); nd: not detected

随着加工的进行,尸胺含量显著增加($P < 0.05$),从原料时的(0.40 ± 0.01) mg/kg 增加到成品时的(63.55 ± 0.00) mg/kg,增长了 150 多倍,尸胺也是冷风干燥 2 个阶段的主要胺类物质,所占总生物胺的比例分别达到 33.97% 和 72.30%,在干燥后期增加最快。组胺是咸带鱼整个加工过程中

最主要的胺类物质,其所占总生物胺的比例范围为 15.22% ~ 82.76%。从腌制到脱盐过程中,组胺的含量不断上升;从晾晒到成品过程中,组胺的含量则不断下降,并在成品时达到最低值(13.38 ± 4.26) mg/kg,这可能是由于此阶段微生物的快速生长导致了微生物间的拮抗作用,从而抑制了产组

胺菌的生长。总生物胺量由腌制时(26.98 ± 1.24) mg/kg 上升到脱盐后(44.95 ± 0.63) mg/kg,在晾晒 6 h 后含量下降至(44.95 ± 0.63) mg/kg,冷风干燥阶段含量则继续上升,总生物胺在原料状态时含量最低,在成品时含量达到最大,总体变化趋势与总游离氨基酸一致。

单胺是加工过程中最主要的胺类,从原料到脱盐阶段,含量由(23.86 ± 1.27) mg/kg 上升至(41.06 ± 0.67) mg/kg,而后含量不断下降,到成品时为(19.31 ± 4.10) mg/kg(图 5);二胺在冷风干燥阶段为最主要的胺类,其含量在冷风干燥前处于较低的水平(低于 2.5 mg/kg),冷风干燥后急剧增加,并在成品时达到最大值(66.69 ± 0.05) mg/kg,比原料状态时增加了约 60 倍。刘寿春等^[28]指出二胺的变化与微生物的生长密切相关,而在本实验中这个关联性并不明显;多胺作为鱼肉基本组成部分,在整个加工过程中始终处于一个较低且稳定的含量(低于 2.5 mg/kg)。

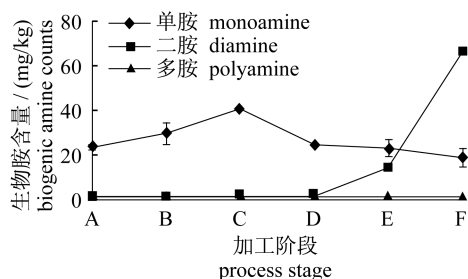


图 5 带鱼腌干过程中的单胺、二胺和多胺变化

Fig. 5 Changes of monamine, diamine and polyamine in hairtail during pickling and drying

BAI 和 QI 含量在加工过程中总体呈上升趋势(图 6),并且 BAI、QI 与总生物胺量的变化趋势相似,这一结果与钟赛意等^[29]研究结果一致。同时,由于尸胺、组胺和酪胺是主要生物胺,因此涵盖其三者的 BAI 与总生物胺量非常相近,BAI 在一定程度上可以替代总生物胺量。另外,Veciana 等^[30]提出 BAI 和 QI 限值随着温度的升高而升高,本实验基本体现了这一结论。

2.4 生物胺与理化、微生物指标相关性分析

Tkachenko 等^[31]指出某些特定的菌株为了克服或者减少温度、NaCl 以及其他生物、化学和物理因素影响所引起细胞的应激反应,产生了相应的某些生物胺。低 pH 的环境可以提高细菌产生生物胺的能力,但同时也会抑制其他微生物的活性,

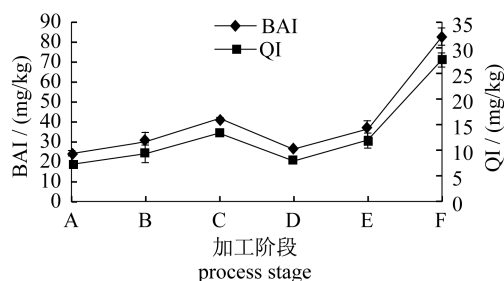


图 6 带鱼腌干过程中的 BAI 和 QI 含量变化
Fig. 6 Changes of BAI and QI in hairtail during pickling and drying

本实验中,咸带鱼的 pH 在 6.25 ~ 6.35 之间波动,处于弱酸的状态,可以看出 pH 与组胺、单胺成明显的正相关($P < 0.05$),可能的原因是产组胺菌在弱酸下活性较强。NaCl 影响生物胺的形成是因为高浓度的 NaCl 会使发酵体系形成高渗透压,抑制微生物的生长,

但同时一些耐高盐菌种的脱羧酶的活性会增强,本实验中盐度与 2-苯乙胺显著正相关($P < 0.05$),与酪胺和亚精胺正相关性极显著,与精胺和多胺负相关性也极显著($P < 0.01$)。可以看出,在高盐环境中,2-苯乙胺、酪胺的形成与耐盐菌种有关,同时食盐的添加降低了鱼体中组成性胺类的水分含量,并且 A_w 的降低可以抑制微生物的生长,这一点从主要微生物干燥阶段的变化情况可以看出,它们与色胺、2-苯乙胺、腐胺和尸胺等成显著的负相关性($P < 0.05$),而与组胺的正相关性不显著($P > 0.05$)。可见,咸鱼加工过程中生物胺的形成是一个不断积累的过程,虽在干燥阶段水分含量和 A_w 下降明显,但由于产生生物胺菌的存在,生物胺仍在原来的基础上不断产生,而菌体产生生物胺的效率却开始下降。

蛋白质水解受到干制工艺、干燥温度、盐度、 A_w 以及酶活性等多方面的影响,其中,酶活性对蛋白质水解影响较大。Elías 等^[32]研究表明组织蛋白酶在 20 ~ 35 °C 范围内显示较好的酶活特性,大部分氨肽酶的最适温度为 20 ~ 35 °C,实验中采用的 25 °C 晾晒以及 30 °C 冷风干燥,温度恰好接近于水解蛋白酶的最适温度,导致了 NPN 和 P. I. 值在干燥阶段的不断上升,促进了色胺、2-苯乙胺和酪胺的生成。

Phe、Lys、His、Tyr 和 Arg 与其对应的生物胺均没有明显的相关性($P > 0.05$,表 4),可见主要

胺类中组胺和酪胺的形成是一个极其复杂的过程,除了通过游离氨基酸的脱羧基产生途径外,同时也可以通过醛或酮的氨基化和转氨作用产生。而总游离氨基酸与总生物胺、腐胺、尸胺、BAI 以及 QI 则极显著正相关($P < 0.01$),又表明了游离氨基酸作为前体物质对生物胺的形成有一定的影响。腌制阶段和干燥阶段为咸鱼中生物胺产生的主要阶段,腌制阶段中,在氨肽酶等的作用下,鱼肉中的蛋白质,小肽等降解生成的游离氨基酸含

量不断上升,同时主要生物胺及其相关生物胺指标和总生物胺量也在此阶段不断上升,可见游离氨基酸的形成为生物胺的生成提供了足够的原料;在干燥阶段,适宜的温度下,高度的组织蛋白酶活性使得游离氨基酸含量进一步上升,游离氨基酸脱羧、脱氨则产生了胺类物质或进一步反应生成醛、酮等物质,醛、酮等物质进而通过转氨等作用产生生物胺,使得生物胺含量在干燥阶段进一步上升。

表 4 生物胺与理化、微生物指标之间的皮尔逊相关系数

Tab. 4 Pearson correlation coefficients for biogenic amines and chemical, protein, microorganism properties

| | 色胺 trypta- mine | 2-苯乙胺 2-phenyle- thylamine | 腐胺 putre- scine | 尸胺 cada- verine | 组胺 hista- mine | 酪胺 tyra- mine | 亚精胺 spermi- dine | 精胺 sper- mine | 总生物胺 total biogenic amines | 单胺 monoa- mine | 二胺 diami- ne | 多胺 polya- mine | BAI | QI |
|---|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|------------------------|---------------------|-------------------------------------|----------------------|--------------------|----------------------|---------|---------|
| pH | -0.49 | -0.126 | -0.686 | -0.711 | 0.842* | -0.134 | 0.108 | -0.08 | -0.533 | 0.840* | -0.71 | -0.069 | -0.534 | -0.533 |
| 盐度 salt content | 0.727 | 0.850* | 0.59 | 0.545 | -0.431 | 0.929** | 0.923** | -0.956** | 0.514 | -0.332 | 0.547 | -0.916* | 0.504 | 0.515 |
| 水分含量 water content | -0.887* | -0.834* | -0.864* | -0.835* | 0.709 | -0.899* | -0.737 | 0.812* | -0.751 | 0.612 | -0.836* | 0.791 | -0.744 | -0.753 |
| Aw | -0.922** | -0.816* | -0.910* | -0.882* | 0.702 | -0.798 | -0.519 | 0.721 | -0.809 | 0.605 | -0.883* | 0.738 | -0.801 | -0.811 |
| NPN | 0.58 | 0.589 | 0.723 | 0.708 | -0.813* | 0.536 | 0.226 | -0.365 | 0.553 | -0.773 | 0.709 | -0.384 | 0.549 | 0.555 |
| P. I. | 0.841* | 0.902* | 0.809 | 0.77 | -0.659 | 0.920** | 0.72 | -0.850* | 0.695 | -0.561 | 0.772 | -0.842* | 0.686 | 0.697 |
| 苯丙氨酸 Phe | 0.815* | 0.176 | 0.864* | 0.890* | -0.392 | 0.393 | 0.257 | -0.187 | 0.916* | -0.314 | 0.889* | -0.158 | 0.919** | 0.914* |
| 赖氨酸 Lys | 0.703 | 0.78 | 0.715 | 0.679 | -0.708 | 0.597 | 0.235 | -0.583 | 0.563 | -0.643 | 0.681 | -0.646 | 0.555 | 0.567 |
| 组氨酸 His | 0.388 | -0.153 | 0.3 | 0.327 | -0.133 | -0.028 | 0.108 | -0.029 | 0.339 | -0.105 | 0.326 | -0.007 | 0.338 | 0.336 |
| 酪氨酸 Tyr | 0.723 | 0.041 | 0.79 | 0.825* | -0.336 | 0.249 | 0.114 | -0.039 | 0.855* | -0.272 | 0.824* | -0.018 | 0.859* | 0.853* |
| 精氨酸 Arg | -0.199 | -0.668 | -0.198 | -0.153 | 0.453 | -0.629 | -0.593 | 0.622 | -0.033 | 0.425 | -0.155 | 0.598 | -0.024 | -0.035 |
| 总游离氨基酸 total FAAs | 0.864* | 0.292 | 0.920** | 0.939** | -0.532 | 0.433 | 0.229 | -0.249 | 0.924** | -0.455 | 0.938** | -0.242 | 0.925** | 0.923** |
| 菌落总数 total plate count | 0.653 | 0.799 | 0.613 | 0.576 | -0.674 | 0.858* | 0.825* | -0.828* | 0.458 | -0.602 | 0.577 | -0.787 | 0.448 | 0.459 |
| 乳酸菌 lactic acid bacteria | 0.666 | 0.881* | 0.593 | 0.547 | -0.600 | 0.892* | 0.814* | -0.895* | 0.452 | -0.519 | 0.548 | -0.871* | 0.442 | 0.455 |
| 微球菌和葡萄球菌 micrococcus and staphylococcus | 0.805 | 0.882* | 0.747 | 0.708 | -0.628 | 0.937** | 0.823* | -0.891* | 0.633 | -0.532 | 0.709 | -0.864* | 0.624 | 0.635 |

注:**在0.01水平(双侧)上显著相关,*在0.05水平(双侧)上显著相关

Notes:** correlation is significant at the 0.01 level(2-tailed),* correlation is significant at the 0.05 level(2-tailed)

具有氨基酸脱羧酶的微生物是生物胺的制造者。相关报道表明乳酸菌、葡萄球菌和微球菌均有产生物胺的能力^[33],但也可起到降解的作用,例如 García 等^[34]报道的酒中乳酸菌有潜在降解生物胺的作用以及 Mah 等^[35]报道的葡萄球菌接种到鱼体中对生物胺的抑制作用。由表 3 可知,乳酸菌、葡萄球菌和微球菌与 2-苯乙胺、酪胺有显著正相关性,与精胺、多胺有显著负相关性($P < 0.05$),可见乳酸菌在一定程度上具有产苯丙氨酸和酪氨酸脱羧酶的能力,同时对鱼体中组织胺类物质具有一定的降解作用。菌落总数与酪胺正相关,与精胺有显著负相关性($P < 0.05$),菌落总数和酪胺含量在咸鱼加工过程中总体呈不断上升的趋势,可见腌干鱼中的优势菌均具有产

生酪胺的能力,因此,酪胺是腌干鱼制品质量安全监控中一个很重要的安全考察指标。

3 结论

咸带鱼加工过程中,理化指标中的 pH、水分含量和 Aw 总体持续下降,盐度、P. I. 值、尸胺、菌落总数、乳酸菌、葡萄球菌和微球菌总体则持续上升,NPN 先降后升,主要游离氨基酸和总游离氨基酸则呈先上升后下降再上升的趋势,与总生物胺的变化一致,组胺则呈现先升后降的趋势;咸带鱼中生物胺的形成是一个极其复杂的过程,受 pH、盐度、水分含量、Aw 等环境因素的共同影响,鱼肉中蛋白质的水解作用促进了色胺、2-苯乙胺和酪胺的形成,Phe、Lys、His、Tyr 和 Arg 与其对应

的生物胺均没有明显的相关性 ($P > 0.05$), 但总游离氨基酸与生物胺的形成密切相关, 其含量越高, 主要胺类物质腐胺和尸胺以及总生物胺量越高。同时, 乳酸菌、葡萄球菌、微球菌以及其他优势菌对主要胺类物质酪胺的生成有促进作用, 而对组织性胺类物质有抑制作用。

参考文献:

- [1] Ding L L, Wu Y Y, Li L H, *et al.* Changes of volatile flavor compounds during salted hairtail (*Trichiurus haumela*) processing [J]. Food Science, 2011, 32(24): 208 - 212. [丁丽丽, 吴燕燕, 李来好, 等. 咸带鱼加工过程挥发性风味成分的变化. 食品科学, 2011, 32(24): 208 - 212.]
- [2] Zhang T, Wu Y Y, Li L H, *et al.* Correlation analysis of sensory with instrumental texture measurement of salted fish [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(2): 303 - 310. [张婷, 吴燕燕, 李来好, 等. 咸鱼品质的质构与感官相关性分析. 水产学报, 2013, 37(2): 303 - 310.]
- [3] Wu Y Y, Liu F J, Li L H, *et al.* Isolation and identification of nitrite - degrading lactic acid bacteria from salted fish [J]. Advanced Materials Research, 2012, 393 - 395: 828 - 834.
- [4] You G, Wu Y Y, Li L H, *et al.* Study on mixed starter cultures of lactobacillus for salted fish process [J]. Advances in Electrical and Electronics Engineering, 2014, 92: 695 - 701.
- [5] Wu Y Y, You G, Li L H, *et al.* Comparison of flavor components between low - salt lactic acid fermented fish and traditional salted fish [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(4): 601 - 612. [吴燕燕, 游刚, 李来好, 等. 低盐乳酸菌法与传统法腌干鱼制品的风味比较. 水产学报, 2014, 38(4): 601 - 612.]
- [6] Ren Z Y, Wu Y Y, Duan Z H, *et al.* Experimental study and modeling of moisture sorption isotherms of salted largehead hairtail (*Trichiurus lepturus*) at 25 and 35 °C [J]. Advanced Materials Research, 2014, 1033 - 1034: 681 - 689.
- [7] Zhang Y M, Bao Y L, Luo Y K, *et al.* Changes of biogenic amines and quality indicators of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) during chilled storage and effect on biogenic amines during thermal processing [J]. South China Fisheries Science, 2013, 9(4): 56 - 61. [张月美, 包玉龙, 罗永康, 等. 草鱼冷藏过程鱼肉品质与生物胺的变化及热处理对生物胺的影响. 南方水产科学, 2013, 9(4): 56 - 61.]
- [8] Cai Q X, Li L H, Chen S J, *et al.* Changes of biogenic amines in liquid-smoked tilapia stored at 25 °C [J]. South China Fisheries Science, 2010, 6(5): 1 - 6. [蔡秋杏, 李来好, 陈胜军, 等. 液熏罗非鱼片在 25 °C 贮藏过程中生物胺的变化. 南方水产科学, 2010, 6(5): 1 - 6.]
- [9] Wu Y Y, Chen Y F. Research progress in formation and control of the biogenic amine in salted aquatic product [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(14): 396 - 400. [吴燕燕, 陈玉峰. 腌制水产品中生物胺的形成及控制技术研究进展. 食品工业科技, 2014, 35(14): 396 - 400.]
- [10] GB/T 9695.5 - 2008. Meat and meat products - Measurement of pH [S]. Beijing: China Standards Press, 2009. [GB/T 9695.5 - 2008. 肉与肉制品 pH 测定. 北京: 中国标准出版社, 2009.]
- [11] Zhang J H, Zhu J H, Wang S F, *et al.* Correlation study between proteolysis and processing of Jinhua ham [J]. Food Science, 2004, 25(10): 173 - 177. [章建浩, 朱健辉, 王思凡, 等. 金华火腿工艺过程蛋白质水解及其相关性研究. 食品科学, 2004, 25(10): 173 - 177.]
- [12] GB/T 22729 - 2008. Oligopeptides powder of marine fish [S]. Beijing: China Standards Press, 2009. [GB/T 22729 - 2008. 海洋鱼低聚肽粉. 北京: 中国标准出版社, 2009.]
- [13] GB/T 5009.124 - 2003. Determination of amino acids in foods [S]. Beijing: China Standards Press, 2004. [GB/T 5009.124 - 2003. 食品中氨基酸的测定. 北京: 中国标准出版社, 2004.]
- [14] GB 4789.2 - 2010. National food safety standard food microbiological examination: Aerobic plate count [S]. Beijing: Ministry of Health of the People's Republic of China, 2010. [GB 4789.2 - 2010. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2010.]
- [15] Chen Y F, Wu Y Y, Li L H, *et al.* Optimizing the analyzing method for determining 8 biogenic amines in salted-dried fish [J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2014, 4(4): 41 - 48. [陈玉峰, 吴燕燕, 李来好, 等. 腌干鱼制品中 8 种生物胺测定方法的优化. 中国渔业质量与标准, 2014, 4(4): 41 - 48.]
- [16] Bozkurt H, Erkmen O. Effects of some commercial additives on the quality of sucuk (Turkish dry - fermented sausage) [J]. Food Chemistry, 2007, 101(4): 1465 - 1473.
- [17] Fu Y H, Ma C W. Study on lipolysis and oxidation

- during the processing of Chinese bacon [J]. Food Science and Technology, 2004, 29 (1): 42 - 44. [傅樱花, 马长伟. 腊肉加工过程中脂质分解及氧化的研究. 食品科技, 2004, 29 (1): 42 - 44.]
- [18] Liu F J, Wu Y Y, Li L H, *et al.* Nitrite degradation characteristics of lactic acid bacterium from salted fish [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2012, 39 (1): 94 - 97. [刘法佳, 吴燕燕, 李来好, 等. 降解咸鱼中亚硝酸盐的乳酸菌降解特性研究. 广东农业科学, 2012, 39 (1): 94 - 97.]
- [19] Gong L, Su j, Liu Q H, *et al.* Research on water activity in half - dry salted fish [J]. Science and Technology of Food Industry, 2006, 27 (4): 55 - 56. [龚丽, 苏建, 刘清化, 等. 半干咸鱼水分活度的研究. 食品工业科技, 2006, 27 (4): 55 - 56.]
- [20] Zeng L B, Xiong S B, Wang L. Changes in microbe quantity and physico - chemical properties during processing of cured silver carp [J]. Food Science, 2009, 30 (3): 54 - 57. [曾令彬, 熊善柏, 王莉. 腊鱼加工过程中微生物及理化特性的变化. 食品科学, 2009, 30 (3): 54 - 57.]
- [21] Li M T. Physicochemical characteristics of dry - cured meat cut [D]. Beijing: China Agricultural University, 2005. [李美桃. 干腌肉块理化特性的研究. 北京: 中国农业大学, 2005.]
- [22] Virgili R, Sacconi G, Gabba L, *et al.* Changes of free amino acids and biogenic amines during extended ageing of Italian dry cured ham [J]. LWT - Food Science and Technology, 2007, 40 (5): 871 - 878.
- [23] Wang X, Lu S L, Xu X L, *et al.* Review of biogenic amines formation and influencing factors in fermented meat products [J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 11: 133 - 136. [王翔, 卢士玲, 徐幸莲, 等. 发酵肉制品中生物胺的形成及影响因素研究进展. 食品与发酵工业, 2010, 11: 133 - 136.]
- [24] Ji W W, Zang M W, Zhang Y Y. Proteolysis and free amino acid in Langshan chicken during curing and air drying ripening [J]. Food Science, 2014, 35 (7): 72 - 76. [纪韦韦, 臧明伍, 张迎阳. 狼山鸡腌制风干成熟过程中蛋白质分解及游离氨基酸变化规律. 食品科学, 2014, 35 (7): 72 - 76.]
- [25] Beriain M, Lizaso G, Chasco J. Free amino acids and proteolysis involved in salchich on processing [J]. Food Control, 2000, 11 (1): 41 - 47.
- [26] Cordoba J J, Antequera T, Carcia C, *et al.* Evolution of free amino acids and amines during ripening of Iberian cured ham [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1994, 42 (10): 2296 - 2301.
- [27] Patsias A, Chouliara I, Paleologos E K, *et al.* Relation of biogenic amines to microbial and sensory changes of precooked chicken meat stored aerobically and under modified atmosphere packaging at 4 °C [J]. European Food Research and Technology, 2006, 223 (5): 683 - 689.
- [28] Liu S C, Zhong S Y, Ma C W, *et al.* Assessment of spoilage progress for chilled tilapia fillets according to biogenic amines changes [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, 28 (14): 277 - 282. [刘寿春, 钟赛意, 马长伟, 等. 以生物胺变化评价冷藏罗非鱼片腐败进程. 农业工程学报, 2012, 28 (14): 277 - 282.]
- [29] Zhong S Y, Liu S C, Qin X M, *et al.* Relationship of biogenic amines with microbial growth of vacuum-packed tilapia during cold storage [J]. Food Science, 2013, 34 (10): 322 - 326. [钟赛意, 刘寿春, 秦小明, 等. 真空包装罗非鱼冷藏过程生物胺生成与微生物生长的相互关系. 食品科学, 2013, 34 (10): 322 - 326.]
- [30] Veciana N M T, Mariné F A, Vidal C M C. Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna, relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptic changes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45 (6): 2036 - 2041.
- [31] Tkachenko A, Nesterova L, Pshenichnov M. Role of putrescine in the regulation of the expression of the oxidative stress defense genes of Escherichia coli [J]. Microbiology, 2001, 70 (2): 133 - 137.
- [32] Elías R, Fidel T, José F. Effect of dry-curing process parameters on pork muscle cathepsin B, H and L activity [J]. European Food Research And Technology, 1991, 193 (6): 541 - 544.
- [33] Landete J M, de Las R B, Marcobal A, *et al.* Molecular methods for the detection of biogenic amine-producing bacteria on foods [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 117 (3): 258 - 269.
- [34] García R A, González R E M, Bartolomé B, *et al.* Potential of wine-associated lactic acid bacteria to degrade biogenic amines [J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 148 (2): 115 - 120.
- [35] Mah J H, Hwang H J. Inhibition of biogenic amine formation in a salted and fermented anchovy by *Staphylococcus xylosus* as a protective culture [J]. Food Control, 2009, 20 (9): 796 - 801.

**Dynamic change and correlation of physicochemical components,
microorganism and biogenic amines in hairtail (*Trichiurus lepturus*)
during pickled and dried processing**

WU Yanyan^{1*}, CHEN Yufeng^{1,2}, LI Laihao¹, YANG Xianqing¹, LIN Wanling¹,
YANG Shaoling¹, WANG Jinxu¹

(1. Key Lab of Aquatic Product Processing, Ministry of Agriculture; National Research and
Development Center for Aquatic Product Processing;

South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;

2. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: To discuss formation mechanism of biogenic amines in fish during pickling and drying preliminarily, dynamic change and the mutual relationship of salinity, moisture content, Aw, pH, protein hydrolysis index (P. I.), Non-protein nitrogen (NPN), free amino acid, microorganism, biogenic amines and relevant biogenic amine indices in hairtail (*Trichiurus lepturus*) during pickled and dried processing were studied. The results showed that, the pH in curing phase increases but fell in a dry stage. Salinity, P. I., total plate counts, lactic acid bacteria, micrococcus and staphylococcus contents increased generally during process stage but moisture content and Aw continued to decline. There has been a marked protein degradation reaction, the content of NPN and free amino acids considerably increase, the total biogenic amine content increased 2.26 times, which cadaverine content significantly increased by 157 times, followed by histamine during whole process stage. Free amino acid and biogenic amines was significantly positive correlation, as the biogenic amine precursor to influence on the formation of biogenic amines, the microbes have played an important role in promoting and inhibition of biogenic amines, the formation of biogenic amines are affected by factors such as pH, salinity, Aw, mutual influence, is an extremely complex process in hairtail pickling and drying process.

Key words: *Trichiurus lepturus*; pickled and dried processing; physicochemical components; microorganism; biogenic amines; correlation

Corresponding author: WU Yanyan. E-mail: wuyygd@163.com