

研究简报

# 海产品中呈味成份甜菜碱的测定

## MEASUREMENT OF BETAINE AS FLAVOURING COMPONENT IN SEAFOOD PRODUCTS

黄丽贞

(上海水产大学, 200090)

Huang Li-zhen

(Shanghai Fisheries University, 200090)

**关键词** 海产品, 呈味成份, 甜菜碱

**KEYWORDS** seafood product, flavouring component, betaine

甜菜碱(Betaine)是指甘氨酸甜菜碱 $[(\text{CH}_3)_3\text{NCH}_2\text{COO}^-]$ ,  $\beta$ -丙氨酸甜菜碱 $[\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-]$ , 龙虾肌

碱 $[\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{CH}_2\text{COO}^-]$ 等一类化合物。根据国外文献报导, 日本对水产品中呈味物质的研究较多。若干学者对

虾、蟹、贝类海产动物肌肉中甜菜碱含量的测定方法作过研究[Konosu, 1975; Hayashi, 1977, 1978; 须山三千三等, 1992年汉译本], 表明甜菜碱类化合物在海产甲壳类、软体类肌肉中含量丰富, 是这些海产品的主要呈味物质之一, 也是海产品具有甜味的原因, 但在国内对该呈味物质的系统研究报导较少。近年来人们在水产品深加工方面及模拟海鲜食品的研究上, 对甜菜碱类物质的呈味作用产生浓厚的兴趣和重视, 因而, 作者认为需要对水产品及其加工产品中呈味物质甜菜碱的定量方法建立一种较为正确的方法。

关于甜菜碱的定量方法, 国外已有报导[Focht, 1956], 这种方法是采用水萃取法处理样品, 然后将萃取液中的甜菜碱以雷氏盐形式在酸性溶液中结晶析出, 最后于525 nm处对雷氏盐离子进行比色。它不仅提供测定甜菜碱含量的简单、精确的方法, 并且可以推广到自然资源中其他物质内甜菜碱的测定。

以七种不同加工方法的海产品作样品测定甜菜碱的含量。由于水产品组成较为复杂, 如含有蛋白质等, 故采用水作为萃取溶剂是否适用于水产品试样值得探讨, 为此作者在实验中用不同的前处理方法进行比较。通过试验证实用乙醇萃取法处理样品较水萃取法好。萃取液甜菜碱用雷氏盐显色, 在525 nm进行比色, 用试剂空白作参比, 方法简便易行。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

对虾(头部)购自奉贤养殖场, -40℃保藏; 三疣梭子蟹(冻品)购自上海农贸市场; 贻贝(冻品)产地浙江嵊泗; 杂色蛤仔(蒸煮袋包装食品)产地大连; 虾米(淡盐干品)、扇贝(干贝)、贻贝(淡干品)产地均为浙江鄞县。

### 1.2 试剂与amp;仪器

试剂(AR级) 标准甜菜碱(甘氨酸甜菜碱), 雷氏盐溶液, 70%丙酮溶液, 乙醚洗涤液, 活性炭。

仪器 分光光度计(721型), 离心机(LD4-2A), 旋转蒸发仪(2FQ-81-I型), 捣碎机(Z型)。

### 1.3 测定方法

#### 1.3.1 水产品中甜菜碱萃取一试样的制备

①水萃取法 精确称取捣碎样品20 g, 加蒸馏水40-50 ml, 搅拌, 离心, 分离, 蒸馏水洗涤沉淀, 合并上清液, 用蒸馏水定容至100 ml。移取上述溶液10 ml, 加蒸馏水35-40 ml, 用浓盐酸调节pH至1.0。加活性炭0.25 g, 煮沸, 振摇, 热过滤, 热蒸馏水洗涤沉淀, 合并滤液。冷却至室温, 再以浓盐酸调节pH至1.0。滤液用蒸馏水定容至100 ml。即为试样制备液, 冰箱冷藏备用。

②乙醇萃取法 精确称取捣碎样品20 g, 加蒸馏水40-50 ml, 搅拌, 高压蒸煮, 冷却至室温。加入95%乙醇286 ml, 4℃冷藏过夜。次日, 离心, 分离, 用80%乙醇洗涤沉淀, 合并上清液, 减压浓缩, 用蒸馏水定容。即为试样制备液, 冰箱冷藏备用。

#### 1.3.2 标准曲线的绘制

吸取1、2、3、4、5 ml 甜菜碱标准溶液(1 mg/ml), 分别置于具塞试管中, 依次加入4、3、2、1、0 ml 蒸馏水, 用冰浴冷却15分钟后, 滴加雷氏盐溶液5 ml, 振摇, 放回冰浴, 0℃-4℃保藏至少3小时。从冰浴中取出试管, 轻微摇动, 便结晶悬浮。用3#研芯漏斗抽滤, 再用乙醚洗涤液洗涤结晶。然后, 用70%丙酮溶液溶解甜菜碱雷氏盐结晶, 滤液收集于25 ml 比色管中, 用70%丙酮溶液定容, 在721型分光光度计上, 于525 nm处用1 cm比色皿, 以试剂空白为参比测定吸光度。

#### 1.3.3 比色测定

移取试样制备液5 ml, 用冰浴冷却15分钟, 再用浓盐酸调节pH至1.0。以下操作同标准曲线绘制。

#### 1.3.4 回收率测定

在试样制备液5 ml 中加入10 ml(1.0 mg/ml)标准甜菜碱溶液, 用蒸馏水定容至50 ml。移取定容液5 ml, 用冰浴冷却15分钟, 再用浓盐酸调节pH至1.0。以下操作同标准曲线绘制。

## 2 结果与amp;讨论

按实验方法制作的标准曲线, 甜菜碱浓度在0.2-1.0 mg/ml 范围内有良好的线性关系, 回归方程为:

$$Y = 0.1325X + 0.0132 \quad (r = 0.996)$$

由表1可见, 用试剂空白和用70%丙酮溶液作参比, 分别测定E值, 测定结果是两者E值差别较大。计算试样甜菜碱含量的相对偏差高达19%。故作者认为选用试剂空白作参比溶液为好。

由表2可见, 水萃取法测得甜菜碱含量, 数值偏高, 乙醇萃取法测得甜菜碱含量, 接近文献值[Hayashi等, 1978]。从分析结果比较, 水萃取法的相对误差大(相对偏差为16.4%), 乙醇萃取法的相对误差小(相对偏差为8.4%)。作者认为, 水萃取法不能很好地去除水溶性蛋白, 在实验过程中, 先用浓盐酸调节pH到1.0, 再加入活性炭脱色, 便部分蛋白质水解生成氨基酸等物质。据文献报导, 游离氨基酸等物质存在, 对雷氏盐有干扰作用, 甚至会使测得甜菜碱含量不规则地提高[Shimidu等, 1956; Konosu等, 1961]。而乙醇萃取法, 用高压蒸煮使蛋白质凝固, 加入乙醇静置过夜, 使蛋白质凝聚并吸附固体杂质, 再经离心、分离等实验步骤, 均能使蛋白质

等杂质去除较彻底。回收率的测定也说明上述情况,乙醇萃取法回收率为92%,水萃取法回收率为115%。试验结果表明,乙醇萃取法比水萃取法合理,测定结果可靠。

作者还对本方法的适用范围进行试验,由表3可见,采用乙醇萃取法处理样品的比色分析法,可适用于不同加工方法的水产品中甜菜碱的含量测定。

表1 采用不同参比溶液对E值测定的影响

Table 1 Effect of various references on extinction value (E)

E 值	标准溶液	浓度 (mg/ml)	浓度					试样
			0.200	0.400	0.600	0.800	1.000	
参 比 溶 液	70%丙酮溶液		0.063	0.101	0.134	0.163	0.190	0.085
	试剂空白溶液		0.026	0.061	0.095	0.125	0.151	0.052

表2 乙醇萃取法与水萃取法甜菜碱测定结果比较

Table 2 Comparison of betaine contents obtained by ethanol extraction and water extraction

	对虾头7号	对虾头8号	相对偏差 (%)	回收率 (%)
	甜菜碱含量(mg/ml)			
水抽提法	1335	1133	16.4	115
乙醇抽提法	1049	958	8.4	92

表3 七种海产品中呈味物质甜菜碱含量的测定结果

Table 3 Betaine contents in several seafood products

样品名称	甜菜碱含量(mg/100g)
虾头	958
三疣梭子蟹	1047
虾米	233
干贝	133
干贻贝	167
冻贻贝	667
杂色蛤仔	94

### 3 总结

(1)甜菜碱的标准曲线绘制,应选用试剂空白作参比溶液,测定结果可靠。

(2)水产品中呈味物质甜菜碱的二种萃取法的比较结果,乙醇萃取法比水萃取法合理。采用乙醇萃取法处理样品能较彻底去除杂质和不产生干扰因素,使分析测定结果满意。

(3)本研究建立的乙醇萃取法处理样品,以雷氏盐与甜菜碱显色后进行比色的测定方法,适用于不同加工方法的水产品中甜菜碱含量的测定,也可作为水产品深加工和模拟海鲜制品中甜菜碱含量的分析测定手段。

## 参 考 文 献

- [1] 须山三千三等(吴光红等译),1992.水产食品学,70-75,112-119.上海科学技术出版社。
- [2] Focht, R. L. *et al.*, 1956. Colorimetric determination of betaine in glutamate process and liquor. *J. Agric. Food Chem.*, **4**:546-548.
- [3] Hayashi, T. *et al.*, 1977. Quaternary ammonium bases in the adductor muscle of fan-mussel. *Bull. Jar. Soc. Sci. Fish.*, **43**(3): 343-348.
- [4] ——, 1978. Studies on flavor components in boiled crabs — I Nucleotides and organic bases in the extracts. *ibid*, **44**(12): 1357-1362.
- [5] Konosu, S. U. *et al.*, 1961. Muscle extracts of aquatic animals — II On the method for determination of betaine and its content of the muscle of some marine animals *ibid*, **27**: 194-198.
- [6] ——, 1975. Determination of  $\beta$ -alanine betaine and glycine betaine in some marine invertebrates. *ibid*, **41**(7):743-745.
- [7] Shimidu, W. *et al.*, 1956. Studies of muscle of aquatic — X X IV The determination of betaine nitrogen. *ibid*, **22**: 413.