

青岛地区部分水产品中氧化三甲胺含量的测定

姜城子, 崔洁, 周苗苗, 高翔, 徐杰, 薛长湖, 王玉明*

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 青岛 266003)

摘要: **目的** 优化建立水产品中氧化三甲胺(trimethylamine-*N*-oxide, TMAO)离子色谱法测定的前处理方法, 并对青岛地区常见水产品的氧化三甲胺含量进行测定。**方法** 考察了三氯乙酸(TCA)法、Tris-TCA法、Tris-乙腈法三种常用的前处理方法对离子色谱测定结果的影响并进行了优化, 收集了青岛常见水产中具有代表性的品种, 采用非抑制性离子色谱法对氧化三甲胺含量进行了测定。**结果** 测定了头足类、硬骨鱼类、贝类和甲壳类等21种青岛地区常见水产品中的氧化三甲胺含量。其中, 阿根廷鱿鱼 TMAO 含量最高, 为 8791.89 mg/kg; 硬骨鱼 TMAO 含量范围为 350~2300 mg/kg; 甲壳类除了刀额新对虾以外, 含量均在 1700 mg/kg 之上; 贝类 TMAO 含量均在 500 mg/kg 之下。**结论** 所测水产品中, 头足类、甲壳类的氧化三甲胺含量较高, 贝类含量较低, 大致呈现头足类>甲壳类>硬骨鱼类>贝类的趋势。

关键词: 青岛; 氧化三甲胺; 水产品; 离子色谱法

Determination of trimethylamine-*N*-oxide content in common aquatic products in Qingdao

JIANG Cheng-Zi, CUI Jie, ZHOU Miao-Miao, GAO Xiang, XU Jie,
XUE Chang-Hu, WANG Yu-Ming*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

ABSTRACT: Objective The pretreatment procedure for trimethylamine-*N*-oxide (TMAO) detection in aquatic products by ion chromatography was established, and TMAO contents of common aquatic products from Qingdao local market was also measured in this study. **Methods** In this research, three pretreatments based on trichloroacetic acid, tris and trichloroacetic acid, tris and methyl cyanide were compared to investigate the effect of them on ion chromatography determination. Some of the most common aquatic products in Qingdao were collected for TMAO contents determination, which was conducted by non-inhibitory ion chromatography. **Results** Twenty-one aquatic products commonly seen in Qingdao were analyzed, and the test samples consisted of teleost, crustacea, shellfish and cephalopod. The content of TMAO in *Illex argentinuscastellanos* was shown to be the highest (8791.89 mg/kg). TMAO contents varied from 350 mg/kg to 2300 mg/kg in teleost. All crustaceans except *Metapenaeus ensi* contained TMAO with contents over 1700 mg/kg. All shellfishes contained TMAO with contents under 500 mg/kg. **Conclusion** In the twenty-one aquatic products analyzed, TMAO contents were high both in cephalo-

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD33B07)、国家自然科学基金项目(31371757)。

Fund: Supported by Key Projects in the National Science & Technology Pillar Program during the Twelfth Five-year Plan Period (2012BAD33B07)the National Natural Science Foundation of China (31371757);

*通讯作者: 王玉明, 博士, 教授, 主要研究方向为水产食品营养学。E-mail: wangyuming@ouc.edu.cn

*Corresponding author: WANG Yu-Ming, PhD, Professor, College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China. E-mail: wangyuming@ouc.edu.cn

Pods and crustaceans, while lower in shellfishes. The general TMAO content trend might be concluded as cephalopods>crustaceans>teleost>shellfish.

KEY WORDS: Qingdao; trimethylamine *N*-oxide (TMAO); aquatic products; ion chromatography

1 引言

氧化三甲胺(trimethylamine-*N*-oxide, TMAO)是水产品中含量丰富的物质,在海洋食品中含量尤高,约为湿重的 0.2%~1.7%。TMAO 是水产品的天然风味成分,具有特殊的鲜味和爽口的甜味^[1]。此外,TMAO 在水生生物体内有重要的生理功能,包括维持生物体细胞蛋白的结构和功能,抵抗尿素对蛋白质的变性作用^[2],降低鱼类血液凝固点,提高水生生物对寒冷环境的适应能力^[3]等,是水生生物维持正常生命活动所需的重要物质。TMAO 可以被内源性酶和某些微生物降解,转变为三甲胺和二甲胺,两者均是鱼腥恶臭的主要成分^[2],因此 TMA 是衡量新鲜程度的一个重要指标^[3]。

TMAO 在水生生物体内的分布具有组织差异和物种差异的特点,并受到季节变化、水温、潮汐、食物和微生物等多种因素的影响。在一些高 TMAO 含量食品的加工过程中,TMAO 可能有一些不利影响。如鱿鱼制品被检测出甲醛超标与鱿鱼原料中 TMAO 含量高有关。海洋食品富含 DHA、EPA 等多不饱和脂肪酸,世界卫生组织有关预防心脑血管疾病的膳食建议推荐,每周摄入 2~3 次海产品替代其他动物性蛋白。海洋食品具有高蛋白、低饱和脂肪、多含生物活性物质的特点,符合人类健康饮食需求,人类对海洋来源食品的摄入量呈现上升的趋势。但是,最新的研究结果显示,TMAO 与机体代谢之间存在关联,过多的摄入可能会影响健康^[4,5]。目前有关海产品中 TMAO 含量的研究结果较少,尚未见到系统的研究报道。

目前已有的 TMAO 检测方法包括比色法、气相色谱法、气质联用法、离子色谱法等^[6],但无论采用何种方法,水产品中 TMAO 的测定均需要先对样品进行前处理。研究发现,不同前处理方法对 TMAO 的检测结果影响较大,有必要进行优化。本文对水产品中 TMAO 测定的前处理方法进行了比较和优化,随后用非抑制性离子色谱对青岛地区常见的水产品中的 TMAO 含量进行了测定。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

阿根廷鱿鱼(*Illex argentinuscastellanos*)胴体,由青岛海通集团贸易有限公司提供。

漠斑牙鲆(*Paralichthys lethostigma*)、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)、银鲳(*Pampus argenteus*)、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)、半滑舌鳎(*Cynolossus semilaevis* Gunther)、刀额新对虾(*Metapenaeus ensi*)、口虾蛄(*Oratosquilla oratoria*)、褶牡蛎(*Crassostrea plicatula*)、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)、毛蚶(*Scapharca kagoshimensis*)、缢蛏(*Sinonovacula constricta*)、脉红螺(*Rapana venosa*),其中,口虾蛄、褶牡蛎、菲律宾蛤仔、毛蚶、缢蛏、脉红螺购买时为鲜活状态,漠斑牙鲆、凡纳滨对虾、银鲳、牙鲆、半滑舌鳎、刀额新对虾为冻鲜状态,均购自青岛市南山水产品批发市场。

蓝点马鲛(*Scomberomorus niphonius*)、带鱼(*Trichiurus lepturus*)、三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)、短蛸(*Octopus ocellatus*)、金乌贼(*Sepia esculenta*)、日本枪乌贼(*Loligo japonica*),其中,带鱼和金乌贼为冻鲜状态,其他水产为冰鲜或鲜活状态,购自青岛市北利群超市。

小黄鱼(*Larimichthys polyactis*)、远东拟沙丁鱼(*Sardinops melanosticta*),购买时为冻鲜状态,购自青岛市北沃尔玛超市。

所有样品购买或收到后立即保存在冰箱冷冻室直到进行检测。

二水合氧化三甲胺(纯度>99%,北京中生瑞泰科技有限公司);甲磺酸(纯度 99%,美国 Acros Organics 公司);乙腈(色谱纯, Lichrosolv 公司);其余试剂均为国产分析纯。

2.2 仪器与设备

CP224C 型电子天平(奥豪斯上海有限公司);ICS-2000 离子色谱仪、Dionex Ionpac CS 17(4×250 mm)分离柱、Dionex Ionpac GS 17(4×50 mm)保护柱

(美国 Dionex 公司); IKA T18 basic 高速分散机(德国 IKA 公司); GI-20G-II 超速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂)。

2.3 样品前处理条件的确定

2.3.1 三氯乙酸(TCA)法

阿根廷鱿鱼解冻、剪碎后, 称取三份样品, 每份重量 1 g 左右, 分别置于 10 mL 离心管中。向每管内加入 2 mL 7.5% TCA, 冰浴匀浆 1 min。匀浆液在 4 °C 下 10,000 r/min 离心 10 min。重复提取一次, 合并两部分上清液, 经 0.22 μm 水性滤膜过滤后, 贮于 4 °C 待上机使用。

2.3.2 Tris-乙腈法

阿根廷鱿鱼解冻、剪碎后, 称取三份样品, 每份重量约 1 g, 分别置于 10 mL 离心管中。向每管内加入 2 mL Tris-乙酸(pH 7.0), 冰浴匀浆 1 min。匀浆液在 4 °C 下 10,000 r/min 离心 10 min。重复提取一次, 合并两部分上清液。取 1 mL 合并后的上清液, 加入 3 mL 乙腈, 振摇, 随后在 4 °C 下 10,000 r/min 离心 10 min。取上清液, 经 0.22 μm 水性滤膜过滤后, 贮于 4 °C 待上机使用。

2.3.3 Tris-TCA 法

阿根廷鱿鱼解冻、剪碎后, 称取三份样品, 每份重量 1 g 左右, 分别置于 10 mL 离心管中。向每管内加入 2 mL Tris-乙酸(pH 7.0), 冰浴匀浆 1 min。匀浆液在 4 °C 下 10000 r/min 离心 10 min。重复提取一次, 合并两部分上清液。取 1 mL 合并后的上清液, 加入 1 mL 7.5% TCA, 振摇, 随后在 4 °C 下 10000 r/min 离心 10 min。取上清液, 经 0.22 μm 水性滤膜过滤后, 贮于 4 °C 待上机使用。

2.4 离子色谱条件

采用 ICS-2000 非抑制型离子色谱, 分离柱为 Dionex Ionpac CS 17 (4 mm×250 mm); 保护柱为

Dionex Ionpac GS 17 (4 mm×50 mm); 淋洗液为 3 mmol/L 甲磺酸溶液, 流速 1 mL/min, 进样体积 25 μL。采用非抑制器程序、用电导检测。程序设置时间为 20 min; 数据采集速率为 5.0 Hz, 柱温 30 °C, 电导池温度为 35 °C; 柱压最低值为 200 psi, 最高值为 3000 psi。

2.5 检测限实验

配制一系列低浓度的 TMAO 标准溶液, 将这些低浓度标准溶液进行离子色谱分析, 色谱条件如 2.4。

2.6 TCA 法回收率实验

取阿根廷鱿鱼胴体, 分别加入与鱿鱼本身所含 TMAO 量相同或相当于本身 TMAO 含量 1.5 倍和 2 倍的 TMAO 标准品, 按 2.3.1 和 2.4 条件进行前处理和离子色谱测定。

3 结果与分析

3.1 不同前处理方法的 TMAO 测定结果

三种不同前处理方法处理样品后, 用离子色谱测定 TMAO 含量的结果如表 1 所示。由表 1 可见, Tris-乙腈法和 Tris-TCA 法的 TMAO 测定值较低, 相对标准偏差大, 稳定性差, 均不如 TCA 直接沉淀蛋白的方法。

3.2 检测限实验

按照色谱峰高是基线噪音三倍计算检测限, 即 $S/N=3$ 条件下相对应的浓度为检测限, 为 0.1 mg/L, 灵敏度较高, 符合一般检测要求。

3.3 回收率实验

按 2.6 所述测定的 TCA 法 1 倍、1.5 倍、2 倍加标回收率为 86.77%、81.31%、80.49%, 此方法具有较好的适用性和可行性。

表 1 不同前处理方法对阿根廷鱿鱼 TMAO 含量测定的影响($n=3$)

Table 1 The influence of different pretreatments on TMAO determination of *Illex argentinuscastellanos* ($n=3$)

沉淀蛋白质的方法	测定值(mg/g)	平均值(mg/g)	相对标准偏差(%)
TCA 法	8.44、8.98、8.96	8.79	3.47
Tris-TCA 法	5.43、5.56、7.37	6.12	17.71
Tris-乙腈法	2.75、3.08、3.02	2.95	5.95

3.4 青岛地区常见水产品的 TMAO 含量测定

TCA 法测定值在文献参考范围^[7]内,是三种前处理方法中较好的一种,因此后续实验均采用 TCA 法进行样品前处理。

3.4.1 青岛常见硬骨鱼中 TMAO 的含量

测定了 8 种青岛地区常见的硬骨鱼中 TMAO 的含量,结果如表 2 所示。

表 2 青岛常见硬骨鱼 TMAO 的含量($n=3$)
Table 2 TMAO contents in the common teleost fishes in Qingdao ($n=3$)

品种	TMAO 含量(mg/kg)
漠斑牙鲆	2014.56±82.80
蓝点马鲛	873.16±43.00
小黄鱼	1570.53±38.96
带鱼	577.48±35.33
半滑舌鳎	2279.74±242.06
银鲳	1321.29±113.24
牙鲆	1872.70±79.14
远东拟沙丁鱼	357.97±16.90

可见,硬骨鱼 TMAO 含量范围为 350~2300 mg/kg,含量最低的是远东拟沙丁鱼,为 357.97 mg/kg。漠斑牙鲆和半滑舌鳎,两种鱼均为鲽形目,即俗称的“比目鱼”,属于底栖鱼类,TMAO 含量最高均超过 2000 mg/kg。

3.4.2 青岛常见甲壳类中 TMAO 的含量

对 4 种青岛地区常见的甲壳类中 TMAO 含量进行了测定,结果如表 3 所示。所测甲壳类中,除刀额新对虾以外,TMAO 含量均在 1700 mg/kg 以上。刀额新对虾的 TMAO 含量最低,仅为 48 mg/kg。

表 3 青岛常见甲壳类 TMAO 的含量($n=3$)
Table 3 TMAO contents in some common crustaceans in Qingdao ($n=3$)

品种	TMAO 含量(mg/kg)
凡纳滨对虾	1714.99±273.28
刀额新对虾	48.00±7.38
三疣梭子蟹	3563.32±335.66
口虾蛄	4365.48±135.16

3.4.3 青岛常见头足类中 TMAO 的含量

测定了金乌贼、阿根廷鱿鱼、短蛸和日本枪乌贼 4 种青岛地区常见的头足类水产品中 TMAO 的含量,结果如表 4 所示。其中,阿根廷鱿鱼的 TMAO 含量最高,达到 8791.89 mg/kg,是所测水产品中 TMAO 含量最高的品种,而日本枪乌贼含量最低,不同头足类 TMAO 含量差异显著。

表 4 青岛常见头足类 TMAO 的含量($n=3$)
Table 4 TMAO contents in some common cephalopods in Qingdao ($n=3$)

品种	TMAO 含量(mg/kg)
金乌贼	3296.5±58.63
阿根廷鱿鱼	8791.89±305.43
短蛸	857.56±70.87
日本枪乌贼	53.77±3.27

3.4.4 青岛常见贝类中 TMAO 的含量

对青岛地区常见贝类的 TMAO 含量进行了测定,结果如表 5 所示。其中,褶牡蛎为全部组织匀浆后进行测定,TMAO 含量仅有 50 mg/kg。缢蛏、菲律宾蛤仔和毛蚶取其斧足匀浆后进行测定,脉红螺取腹足匀浆后测定。所有贝类测得的 TMAO 含量均在 500 mg/kg 以下,含量较低。

表 5 青岛常见贝类 TMAO 的含量($n=3$)
Table 5 TMAO contents in some common shellfishes in Qingdao ($n=3$)

品种	TMAO 含量(mg/kg)
褶牡蛎	50.80±6.04
缢蛏	170.76±8.62
菲律宾蛤仔	292.60±4.13
毛蚶	255.26±11.35
脉红螺	490.29±15.94

4 讨论与结论

在前处理条件的选择中,除了 TCA 法外,另有高氯酸、磺基水杨酸抽提前处理法和乙醇沉蛋白前处理法^[6]和乙腈处理法等。根据文献报道,乙醇法 TMAO 提取率约为 TCA 法提取率的 78%,磺基水杨酸和高氯酸法的提取率分别约为 TCA 法提取率的 66%和 47%^[6]。本实验中,设计了 Tris-TCA 法和 Tris-

乙腈法, 两种不同蛋白质沉淀剂分别在各自沉淀能力最强的体积和浓度下对样品进行前处理, 结果发现乙腈法测定稳定性较差, 因此 TCA 是更适用的蛋白质沉淀剂。随后比较了 Tris-TCA 法和 TCA 法, 结果发现, 采用 TCA 作为蛋白质沉淀剂能充分地提取水产品组织中的 TMAO, 获得稳定的测定结果。

本文采用 TCA 法对青岛地区常食水产品进行了检测。结果发现, 硬骨鱼 TMAO 含量在 350~2300 mg/kg, 此前文献报道的硬骨鱼 TMAO 含量在 1502.2~5257.7 mg/kg^[7], 本实验的结果与之相符。所测硬骨鱼中, 有三种鱼的 TMAO 含量均在 1500 mg/kg 以上, 即牙鲆、漠斑牙鲆和半滑舌鲷。这三种鱼同属鲽形目, 都是底栖鱼类, 其中牙鲆喜欢栖息在沙质海底。据文献报道^[8], 硬骨鱼肌肉中的 TMAO 含量和栖息深度呈现正相关。本实验中, 底栖的鲽形目鱼 TMAO 含量高于非底栖的其他硬骨鱼, 此结果与文献一致。所测甲壳类水产品中, 除刀额新对虾以外, TMAO 含量均在 1000 mg/kg 以上。刀额新对虾俗名“基围虾”, 是我国重要的养殖对虾经济品种^[9]。刀额新对虾为广盐性、杂食性虾类, 其在盐度 35‰ 直至淡水中皆可存活^[10]。由于淡水养殖成本低廉、养殖效益高, 目前市场上的刀额新对虾大部分为淡水养殖品种。淡水渗透压较海水低, 而 TMAO 是一种渗透压调节剂, 淡水水产通常较海产品 TMAO 含量低。也有研究结果显示^[11], 川鲽(*Platichthys flesus*)和三刺鱼(*Gasterosteus aculeatus*)从海水转淡水养殖后, 肌肉中 TMAO 含量有降低的趋势。因此推测, 本实验所测的刀额新对虾极可能是淡水养殖的品种。

所测定的头足类中, 阿根廷鱿鱼 TMAO 含量最高, 也是所测全部水产品中最高的一种, 达到 8791.89 mg/kg。阿根廷鱿鱼属于十腕目头足类, 金乌贼和短蛸属于八腕目头足类, 阿根廷鱿鱼的 TMAO 含量比金乌贼和短蛸的 TMAO 含量分别高 1.6 倍多和 9 倍多, 该结果与文献报道的结果接近^[6]。头足类 TMAO 含量除了与种类有关外, 还与生存环境中海水盐度有关。文献表明, 十腕目头足类栖息的海水盐度通常高于八腕目头足类^[12]。另外, 青岛地区常见贝类中 TMAO 含量均较低, 这一结果与文献中双壳纲动物 TMAO 含量较低的结论一致^[13]。

本文讨论了三种不同前处理条件对 TMAO 测定结果的影响, 对水产品 TMAO 含量测定的前处理条件进行了选择和优化, 并首次对青岛地区部分常见

水产品中的 TMAO 含量进行了测定。综合已测得的数据, TMAO 含量总体上呈现头足类>甲壳类>硬骨鱼类>贝类的趋势。本文研究结果对了解沿海地区居民日常饮食中 TMAO 摄入量提供了科学依据。

参考文献

- [1] 陈军, 周海霞. 浅谈氧化三甲胺(TMAO)[J]. 科技创新导报, 2012, 19: 143-144.
Chen J, Zhou HX. Brief Talk on Trimethylamine N-oxide (TMAO)[J]. Sci Technol Innovation Herald, 2012, 19: 143-144.
- [2] Zeisel SH, daCosta KA, Youssef M, et al. Conversion of dietary choline to trimethylamine and dimethylamine in rats: Dose-response relationship [J]. J Nutr, 1989, 119(5): 800-804.
- [3] 秦辉, 夏文水. 顶空气相色谱法测定河蟹中三甲胺的含量[J]. 食品工业科技, 2008, 29(5): 280-282.
Qin H, Xia WS. Determination of trimethylamine in Chinese mitten-handed crab by headspace gas chromatographic method[J]. Sci Technol Food Ind, 2008, 29(5): 280-282.
- [4] Koeth RA, Wang ZN, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat promotes atherosclerosis[J]. Nature, 2013, 19(5): 576-585.
- [5] Wang ZN, Klipfell E, Bennett BJ, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease[J]. Nature, 2011, 472: 57-63.
- [6] 李丰. 水产品中氧化三甲胺、三甲胺、二甲胺检测方法及其鱿鱼丝中甲醛控制研究[D]. 河北农业大学, 2010.
Li F. Studies on the Analysis of trimethylamine-n-oxide, trimethylamine and dimethylamine and control of formaldehyde in shredded squid[D]. Agricultural University of Hebei, 2010.
- [7] 徐春兰, 胡晓蕾, 汪以真. 氧化三甲胺对水产动物作用的研究[J]. 中国动物保健, 2004, 7: 39-41.
Xu CL, Hu XL, Wang YZ. The Effect of trimethylamine N-oxide on aquatic animals[J]. China Animal Health, 2004, 7: 39-41.
- [8] Seibel BA, Walsh PJ. Trimethylamine oxide accumulation in marine animals: relationship to acylglycerol storage[J]. J Exp Biol, 2002, 205: 297-306.
- [9] 郭清剑. 刀额新对虾淡水养殖技术[J]. 水产养殖, 2010, 10: 17-18.
Guo QJ. Technics on freshwater culture of *Metapenaeus ensi*[J]. J Aquaculture, 2010, 10: 17-18.
- [10] 孙清秀, 王荣星, 吴守栋. 精养罗非鱼池混养刀额新对虾试验[J]. 内陆水产, 1999, 3: 4-5.
Sun QX, Wang RX, Wu SD. Trial for polyculture of tilapia and *Metapenaeus ensi*[J]. Inland Fisheries, 1999, 3: 4-5.
- [11] Kelly RH, Yancey PH. High contents of trimethylamine oxide

correlating with depth in deep-sea teleost fishes, skates and decapod crustaceans[J]. Biol Bull, 1999, 196 (1): 18–25.

- [12] 董正之. 青岛沿岸两种八腕类的初步调查和养殖问题的探讨[J]. 动物学杂志, 1959, 3: 110–114.

Dong ZZ. Initial investigation and culture consideration on two kinds of Octopoda in Qingdao[J]. Chin J Zool, 1959, 3: 110–114.

- [13] 黄国霞, 赖春华, 李军生, 等. 6 种水产动物中氧化三甲胺的提取与含量测定[J]. 食品科技, 2012, 37: 305–307.

Huang GX, Lai CH, Li JS, *et al.* The extract and determined of trimethylamine N-oxide in six sort aquatic animals [J]. Food Sci Technol, 2012, 37: 305–307.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



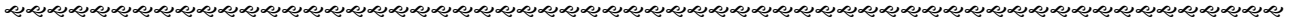
姜城子, 硕士研究生, 主要研究方向为水产食品营养学。

E-mail: emuss@126.com



王玉明, 博士, 教授, 主要研究方向为水产食品营养学。

E-mail: wangyuming@ouc.edu.cn



关于作者单位修改的说明

本刊第 4 卷第 6 期(2013 年 12 月), 1885 页, 标题为《海南产即溶咖啡粉中丙烯酰胺的膳食暴露风险评估》的文章, 作者单位修改为:

赵亚南^{1,2}, 曾绍东², 杨春亮², 王明月^{2*}

(1. 华中农业大学 食品科学与技术学院, 武汉 430070; 2. 中国热带农业科学院 农产品加工研究所, 农业部农产品加工质量安全风险评估实验室, 湛江 524001)