

溴苯酚对凡纳滨对虾海洋风味的贡献

陈霞, 马长伟

(中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要:测定了凡纳滨对虾 (*Penaeus vannamei*) 和中国明对虾 (*Penaeus chinensis*) 中 5 种溴苯酚物质 2-溴苯酚 (2-BP)、4-溴苯酚 (4-BP)、2,4-二溴苯酚 (2,4-DBP)、2,6-二溴苯酚 (2,6-DBP) 和 2,4,6-三溴苯酚 (2,4,6-TBP) 的含量, 根据两种对虾的差异设计向凡纳滨对虾中添加不同浓度的溴苯酚, 进一步研究溴苯酚对凡纳滨对虾风味的影响。结果表明, 凡纳滨对虾和中国明对虾中溴苯酚含量差异显著, 其含量范围分别是 1.24~9.87 ng/g 和 1.66~20.88 ng/g。感官实验进一步证明溴苯酚影响凡纳滨对虾的海洋风味, 其中 2,4,6-TBP 添加量在 6~9 ng/g、2-BP 在 0.4~1.2 ng/g、2,6-DBP 在 1.5~4.5 ng/g、2,4-DBP 在 0.0~0.55 ng/g、4-BP 在 0.0 ng/g 时凡纳滨对虾的气味最好, 与中国明对虾最为接近, 并且不会带来异味。[中国水产科学, 2007, 14 (7): 110~115]

关键词: 凡纳滨对虾; 溴苯酚; 海洋风味

中图分类号: TS207.3:S985

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2007)07-110-06

凡纳滨对虾 (*Penaeus vannamei*) 是世界养殖虾产量最高的 3 大种类之一, 生长速度快, 生长地域广, 出肉率高, 是“海虾淡养”的优良品种, 在国内具有很大的发展潜力^[1]。1993 年中国暴发大规模虾病, 曾作为世界重要养殖品种的中国明对虾 (*Penaeus chinensis*) 受到严重打击, 产量锐减, 市场地位逐步被凡纳滨对虾取代。凡纳滨对虾外形酷似中国明对虾, 正常体色为浅灰色, 壳薄体肥, 肉质柔嫩, 但是味道与中国明对虾相比显得平淡。有研究表明, 溴苯酚类物质与水产品的海洋风味有着密切的关系^[2-4]。溴苯酚类物质在海洋生物体内十分常见, 广泛分布于海藻、鱼类、甲壳类、多毛目环节动物的体内, 含量从 0.31 ng/g 到 100 μg/g 不等^[5-10]。其中, 2,6-二溴酚 (2,6-DBP) 会给虾肉带来类似碘或者碘仿的味道^[8], 而 2-溴酚 (2-BP) 和 2,4,6-三溴酚 (2,4,6-TBP) 可以产生浓郁的虾类风味, 这 3 种化合物联合作用可以产生海洋生物气味中的类碘酞香^[11-12]。另外两种溴酚: 4-溴酚 (4-BP) 和 2,4-二溴酚 (2,4-DBP) 带有微弱的酚类味道, 它们的存在能对风味产生影响, 但贡献较小^[13]。为了改善凡纳滨对虾的风味, 本研究首先测定凡纳滨对虾和中国明对虾中溴苯酚类物质的含量, 根据两者差异, 设计溴苯酚

的系列梯度浓度, 直接加入凡纳滨对虾中并通过感官实验进一步验证溴苯酚对两者风味的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器与设备 Agilent6890-5973 气相色谱-质谱分析仪、SDE 装置、高速分散均质机、旋转蒸发仪等。

1.1.2 试剂 2-溴苯酚 (2-bromophenol, 2-BP, 纯度 ≥98 %, 美国 SIGMA-ALDRICH 公司)、4-溴苯酚 (4-bromophenol, 4-BP, 纯度 ≥99 %, 美国 SIGMA-ALDRICH 公司)、2,4-二溴苯酚 (2,4-dibromophenol, 2,4-DBP, 色谱纯, 美国 SIGMA-ALDRICH 公司)、2,6-二溴苯酚 (2,6-dibromophenol, 2,6-DBP, 纯度 ≥99 %, 美国 SUPELCO 公司)、2,4,6-三溴苯酚 (2,4,6-tribromophenol, 2,4,6-TBP, 纯度 ≥99 %, 美国 SIGMA-ALDRICH 公司)。乙酸乙酯 (国产, 色谱纯) 其他试剂为国产分析纯。

1.1.3 实验材料 购自北京红桥水产品批发市场的冰冻凡纳滨对虾和中国明对虾, 解冻后将虾样洗净, 去头、壳, 取肌肉与水按照 1:8 的质量体积比例用高速均质机匀浆, 备用。

收稿日期: 2007-02-14; 修订日期: 2007-04-27.

作者简介: 陈霞 (1983 年 4 月), 女, 硕士研究生, 水产品加工与贮藏专业. E-mail: chenxiazh@126.com

通讯作者: 马长伟. Tel: 010-62737643; E-mail: chwma@cau.edu.cn

1.2 实验方法

1.2.1 两种对虾中溴苯酚含量的测定

(1) 标准储备溶液的配制 在乙酸乙酯中分别加入 50 mg 各种溴苯酚标品 (其中 2-BP 是液体, 加 32 μL), 定容至 50 mL, 配制成含 1 mg/mL 各种溴苯酚的标准储备液, 密封冷藏于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。制作工作曲线时, 根据水产品中 5 种溴酚类化合物的大致含量范围^[11-13], 取此储备液用乙酸乙酯配制一系列合适的浓度, 再进行 GC/MS 分析。

(2) 样品前处理及定量分析 取 25.0 g 已备匀浆, 用 10 mol/L 硫酸调节 pH<1, 室温过夜。利用 25 mL 乙酸乙酯采取 SDE 循环蒸馏 3 h, 取乙酸乙酯相用无水硫酸钠脱水, 浓缩定容至 1 mL, 进行 GC/MS 分析。

(3) 分析条件 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 载气为高纯氮, 总流速 35.5 mL/min, 柱压 30.0 kPa, 柱起始温度 60 $^{\circ}\text{C}$, 保持 1 min, 以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 225 $^{\circ}\text{C}$, 再以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 280 $^{\circ}\text{C}$, 保持 10 min。分流进样

1 μL , 分流比为 15:1。质谱条件: EI 离子源分析, 200 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.2 两种对虾的感官实验

(1) 基本感官培训 所有志愿者都要参加基本培训^[2]: ①区别甜、咸、酸、鲜和无味; ②辨别 4 种风味: 虾、盐水、碘、碘仿。合格人员参加下一步差别实验。

(2) 风味差别实验^[14] 采用未添加任何物质的凡纳滨对虾和中国明对虾作为样品。选择 3 点检验, 即每组样品都有 3 份, 其中两份为同一种虾。实验采用随机号进行编号。

(3) 一致性实验^[14] 为考察品评员对样品的理解情况, 设计了 9 组样品, 让品评员针对样品的风味进行打分, 打分结果以 1~10 之间的数值表示。

不同浓度不同种类溴苯酚物质对凡纳滨对虾风味的影响实验 根据测定出的凡纳滨对虾和中国明对虾中溴苯酚物质的含量, 设计添加的溴苯酚因素水平如下表, 按六因素五水平表安排实验 $L_{25}(5^6)$, 有一个空列, 可以作为实验误差以衡量实验的可靠性。

表 1 影响虾肉风味的溴酚物质的因素水平表

Tab.1 Levels of bromophenol factors						$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$
水平	因素 Factor					
Level	2-BP	4-BP	2,4-DBP	2,6-DBP	2,4,6-TBP	
1	0.00	2.20	4.50	3.00	6.00	
2	0.40	1.65	1.50	0.00	0.00	
3	1.60	1.10	6.00	1.50	3.00	
4	1.20	0.55	0.00	4.50	9.00	
5	0.80	0.00	3.00	6.00	12.00	

按照设计好的正交表向凡纳滨对虾中添加溴苯酚, 浸泡过夜。处理后, 呈送品评员品评, 对不同的嗅觉指标进行打分, 评分标准参见文献^[15], 嗅觉的风味是指虾特有的风味。0 表示风味非常淡, 5 表示风味非常浓, 以未添加任何物质的中国明对虾作为 5 的标准。嗅觉的异味是指样品的非正常气味, 0 表示异味非常淡, 5 表示异味非常浓, 以未添加任何物质的中国明对虾作为 0 的标准。

感官实验中所有样品处理条件一致, 在实验开始前 1 小时将虾放在室温下解冻, 解冻后在沸水中煮 3 分钟后立即捞出, 用冷水快速冷却干燥, 用一次性塑料杯盛放, 并用 3 位随机数字编号, 同答题纸一并随机呈送给品评人员。品评人员单独品尝样品,

按要求给出品评结果。

2 结果与分析

2.1 凡纳滨对虾和中国明对虾的溴苯酚含量

表 2 是两种对虾体内溴苯酚物质含量的测定结果。分析数据可以看出凡纳滨对虾中含量最高的是 2,4,6-TBP, 为 9.87 ng/g , 含量最低的是 2-BP, 为 1.24 ng/g 。中国明对虾中含量最高的和最低的是 2,4,6-TBP 和 4-BP, 分别为 20.88 ng/g 和 1.66 ng/g 。除 4-BP 外, 其他溴苯酚含量均是中国明对虾大于凡纳滨对虾, 溴苯酚在中国明对虾中的含量是在凡纳滨对虾中含量的 1.5~2.1 倍, 可看出两种对虾在溴苯酚含量上存在着显著的差异。

表 2 两种对虾中 5 种溴苯酚的含量
Tab.2 Contents of five bromophenol compounds in two *Penaeus* products ng·g⁻¹

成分 Composition	凡纳滨对虾 <i>Penaeus vannamei</i>	中国明对虾 <i>Penaeus chinensis</i>
2-BP	1.24±0.02	2.49±0.06 **
4-BP	1.85±0.04	1.66±0.08 *
2,4-DBP	4.49±0.02	7.38±0.12 **
2,6-DBP	4.83±0.01	10.27±0.12 **
2,4,6-TBP	9.87±0.07	20.88±0.25 **
合计 Total	22.31±0.06	42.84±0.21 **

注: * 表示两种对虾的溴苯酚含量有显著差异 ($P<0.05$); ** 表示差异极显著 ($P<0.01$).
Note: * donates significant differences between two prawns; ** donates highly significant differences between two prawns.

2.2 两种对虾的感官实验

2.2.1 风味差别实验 根据 GB10220-88 的判断标准,当品评人员为 11 人时,回答正确人数大于或

等于 7,就可以在 5% 的显著水平上认为两个样品是有差异的。本实验参加品评的共 11 人,全部回答正确,说明两种对虾的风味存在显著的差异(表 3)。

表 3 差别实验结果
Tab.3 Results of differential experiment

评价员人数 Number of total people	三点检验正确人数 Number of correct answers	评价员人数 Number of total people	结果正确人数 Number of correct answers
11	7	11	11

注:判断标准(差异显著 $\alpha=5\%$).
Note: Standards for judgement ($\alpha=5\%$).

2.2.2 一致性实验 打分结果如图 1,选出的品评员打分趋势一致,说明品评员对样品和感官指标的理解是一致的,可以进行下一步试验。

2.2.3 不同浓度不同种类溴苯酚物质对凡纳滨对虾风味的影响实验 除 4-BP 外,其余 4 种溴苯酚不同水平间的差异显著,其影响力从大到小依次为 2,4,6-TBP、2-BP、2,6-DBP、2,4-DBP、4-BP,用新复极差法(SSR)对结果进行分析。

根据多重比较的结果,可以看出 2,4,6-TBP 添加量在 6~9 ng/g、2-BP 在 0.4~1.2 ng/g、2,6-DBP 在 1.5~4.5 ng/g、2,4-DBP 在 0.0~0.55 ng/g、4-BP 在 0.0 ng/g 之间凡纳滨对虾的气味最好,与中国明对虾最为接近,与实验检测的凡纳滨对虾和中国明对虾溴苯酚含量的差异是一致的(表 4~10)。

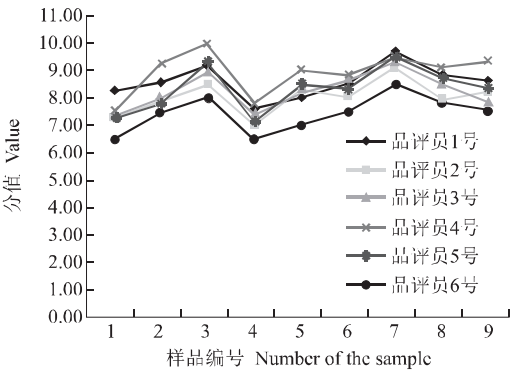


图 1 品评员打分一致性实验结果
Fig.1 Trends of marking consistency

表4 各种溴酚物质对虾肉风味影响的气味指标实验方差分析结果

Tab.4 Results of variance analysis of the favorable odor scores

变异来源 Source of variation	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F	F_{α}
2-BP	1.45	4	0.3	67.27 *	$F_{0.05(4,4)} = 6.39$
4-BP	0.77	4	0.19	3.84	
2,4-DBP	1.39	4	0.35	6.93 *	
2,6-DBP	1.42	4	0.35	7.08 *	
2,4,6-TBP	2.53	4	0.63	12.67 *	
误差 Error	0.22	4	0.05		
总变异 Total variance	7.78	24			

表5 2-BP 各水平平均值的比较结果

Tab.5 Results of mean comparison of all 2-BP levels

2-BP 的水平 Level of 2-BP	2	5	4	3	1
$\bar{X}_i$	4.18	4.15	3.89	3.78	3.53
5% 显著水平 5% significance	a	ab	abc	bc	c

表6 4-BP 各水平平均值的比较结果

Tab.6 Results of mean comparison of all 4-BP levels

4-BP 的水平	5	4	2	3	1
$\bar{X}_i$	4.21	3.97	3.88	3.76	3.72
5% 显著水平 5% significance	a	ab	ab	b	b

表7 2,4-DBP 各水平平均值的比较结果

Tab.7 Results of mean comparison of all 2,4-DBP levels

2,4-DBP 的水平	3	5	1	2	4
$\bar{X}_i$	4.15	4.14	3.97	3.73	3.55
5% 显著水平 5% significance	a	a	ab	bc	c

表8 2,6-DBP 各水平平均值的比较结果

Tab.8 Results of mean comparison of all 2,6-DBP levels

2,6-DBP 的水平	3	4	1	2	5
$\bar{X}_i$	4.29	3.97	3.90	3.83	3.55
5% 显著水平 5% significance	a	ab	abc	bc	c

表9 2,4,6-TBP 各水平平均值的比较结果

Tab.9 Results of mean comparison of all 2,4,6-TBP levels

2,4,6-TBP 的水平	3	4	1	2	3
$\bar{X}_i$	4.25	4.21	4.02	3.54	3.52
5% 显著水平 5% significance	a	ab	abc	bc	c

表 10 溴酚物质对虾肉风味影响的异味指标实验方差分析结果

Tab.10 Results of variance analysis of the unfavorable odor scores

变异来源 Source	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F	F _α
2-BP	0.18	4	0.04	0.56	F _{0.05(4,4)} = 6.39
4-BP	0.11	4	0.03	0.34	
2,4-DBP	0.51	4	0.13	1.59	
2,6-DBP	0.27	4	0.07	0.86	
2,4,6-TBP	0.31	4	0.08	1.00	
误差 Error	0.31	4	0.08		
总变异 Total variance	1.69	24			

经分析,5 种溴酚物质不同水平间的异味感没有显著差异,说明在所加量的范围内,溴苯酚不会或甚少引起虾的异味。

3 讨论

利用 GC/MS 采取外标法测定得出,除 4-BP 外,中国明对虾中的其他 4 种溴苯酚含量均比凡纳滨对虾高。说明两种对虾气味间的差异有可能是由于溴苯酚类物质比凡纳滨对虾高。说明两种对虾气味间的差异有可能是由溴苯酚类物质引起的。实验通过直接向凡纳滨对虾中添加不同浓度的溴苯酚进行气味的感官实验,验证了加入的溴苯酚类物质可以改善凡纳滨对虾的海洋气味。结合化学检测和感官实验的结果可以证明溴苯酚物质是引起凡纳滨对虾和中国明对虾海鲜风味差异的原因之一。5 种溴苯酚对气味的影响程度是不同的,2,4,6-TBP、2-BP 和 2,6-DBP 是主要影响因素,与文献报道的三者单独或者联合作用可以加强海洋食物的风味一致[9,16]。

溴苯酚类物质在水中的感官阈值很低,每升水中只要含有纳克级的溴苯酚类物质就可以给人非常明显的感官刺激。其中文献报道 2,6-DBP 的感官阈值仅 0.5 ng/L[13],而溴苯酚在对虾中的含量远远高于这个水平,对于虾的风味有着不可忽略的贡献。海产品的风味包括气味和滋味。本研究探讨了溴苯酚对凡纳滨对虾海鲜风味的影响,关注的是凡纳滨对虾的气味。而溴苯酚对滋味的影响还有待于进一步研究。

据文献报道,海藻中存在着可以催化有机底物产生溴苯酚的酶类 bromoperoxidase 和 chloroperoxidase[7,17]。并且能将产生的溴苯酚类物质释放到环

境中,是海洋溴苯酚的初级生产者和主要来源[6]。另外有研究发现,虾的头部溴苯酚含量高于尾部,证明虾体内的溴苯酚主要来源于食物[2,10]。因此在虾的饲料方面可以加强研究,寻找一种溴苯酚含量高的天然海藻,可以添加到虾的饲料中,改善其海鲜风味。

参考文献:

[1] Neiland A E, Soley N, Varley J B, et al. Shrimp aquaculture: economic perspectives for policy development[J]. Mar Policy, 2001, 25 (4): 265 - 279.

[2] Whitfield F B, Helidoniotis F, Smith D. Role of feed ingredients in the bromophenol content of cultured prawns[J]. Food Chem, 2002, 79 (3): 355 - 365.

[3] 徐年军, 严小军, 徐继林, 等. 新型风味素对养殖脊尾白虾海鲜风味的影响[J]. 水产学报, 2005, 29 (4): 507 - 511.

[4] Morita K. Sensory characteristics and volatile components in aromas of boiled prawns prepared according to experimental designs[J]. Food Res Int, 2001, 34 (6): 473 - 481.

[5] Chen Y P, Lincoln D E, Woodin S A, et al. Purification and properties of a unique flavin-containing chloroperoxidase from the capitellid polychaete *Notomastus lobatus* [J]. J Bio Chem, 1991, 266: 23 909 - 23 915.

[6] Chung H Y, Ma W C, Ang P O, et al. Seasonal Variations of Bromophenols in Brown Algae (*Padina arborescens*, *Sargassum siliquastrum*, and *Lobophora variegata*) Collected in Hong Kong[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51 (9): 2 619 - 2 624.

[7] Flodin C, Whitfield F B. 4-Hydroxybenzoic acid: a likely precursor of 2, 4, 6-tribromophenol in *Ulva lactuca* [J]. Phytochemistry, 1999, 51: 249 - 255.

[8] Whitfield F B, Drew M, Helidoniotis F, et al. Distribution of bromophenols in species of marine polychaetes and bryozoans from eastern Australia and the role of such animals in the flavor of edible ocean fish and prawns (shrimp) [J]. J Agric Food Chem, 1999, 47 (11): 4 756 - 4 762.

[9] Whitfield F B, Helidoniotis F, Shaw K J, et al. Distribution of

- bromophenols in Australian wild-harvested and cultivated prawns (shrimp) [J]. J Agric Food Chem, 1997, 45: 4 398 – 4 405.
- [10] Whitfield F B, Helidoniotis F, Shaw K J, et al. Distribution of bromophenols in species of marine algae from eastern Australia [J]. J Agric Food Chem, 1999, 47 (61): 2 367 – 2 373.
- [11] Boyle J L, Lindsay R C, Stuibler D A. Contributions of bromophenol to marine-associated flavors of fish and seafood [J]. J Aquat Food Prod Technol, 1992, 1: 43 – 53.
- [12] Boyle J L, Lindsay R C, Stuibler D A. Occurrence and properties of flavor related bromophenols found in the marine environment: a review [J]. J Aquat Food Prod Technol, 1993, 2: 75 – 112.
- [13] Whitfield F B, Shaw K J, Walker D I, et al. 2,6-Dibromophenol: the cause of an iodoform-like off-flavour in some Australian crustacean [J]. J Agric Food Chem, 1988, 46: 29 – 42.
- [14] GB10220 – 88 [S].
- [15] GB 12310 – 12316 – 90. 感官分析总论 [S].
- [16] 徐继林, 严小军, 徐年军, 等. 海产品中溴酚类海洋风味素的气相色谱-质谱联用分析 [J]. 水产学报, 2004, 28 (1): 100 – 105.
- [17] Flodin C, Helidoniotis F, Whitfield F B. Seasonal variation in bromophenol content and bromoperoxidase activity in *Ulva lactuca* [J]. Phytochemistry, 1999, 51: 135 – 138.

Role of bromophenols in the ocean-like flavor of *Penaeus Vannamei*

CHEN Xia, MA Chang-Wei

(College of Food Science & Nutritional Engineering, Chinese Agriculture University, Beijing 100083, China)

Abstract: Two species of prawns, *Penaeus Vannamei* and *Penaeus Chinensis* were analyzed by GC/MS for the components 2- and 4-bromophenol (2- and 4-BP), 2, 4- and 2, 6-dibromophenol (2, 4- and 2, 6-DBP), and 2, 4, 6-tribromophenol (2, 4, 6-TBP). The contents of these five bromophenols in *Penaeus vannamei* ranged from 1.24 ng/g to 9.87 ng/g, whereas the contents of those in *Penaeus chinensis* ranged from 1.66 ng/g to 20.88 ng/g. Except for 4-bromophenol, the contents of the rest bromophenols was higher in *Penaeus chinensis* than in *Penaeus vannamei*. Based on the significant differences, series of different concentrations of bromophenols were designed to add into the *Penaeus vannamei* for the sensory analysis. Combined with the chemical determination, the result of the sensory analysis proved that bromophenols were the key ocean-like flavor for *Penaeus vannamei*. 2, 4, 6-TBP, 2-BP and 2, 6-DBP were the most effective factors. *Penaeus Vannamei* got the best odor when 6 – 9 ng/g 2, 4, 6-TBP, 0.4 – 1.2 ng/g 2-BP, 1.5 – 4.5 ng/g 2, 6-DBP, 0.0 – 0.55 ng/g 2, 4-DBP and 0.0 ng/g 4-BP were added in. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (7): 110 – 115]

Key words: *Penaeus Vannamei*; bromophenol; ocean-like flavor

Corresponding author: MA Chang-wei. E-mail: chwma@cau.edu.cn