

n-6/n-3PUFA 比例对扬州鹅肌肉氨基酸和肌苷酸的影响

喻礼怀, 王剑飞, 黄晟, 王梦芝*, 王洪荣 (扬州大学动物科学与技术学院, 江苏扬州 225009)

摘要 [目的]研究不同 n-6/n-3PUFA 比例日粮对扬州鹅肌肉氨基酸和肌苷酸的影响。[方法]选择 160 只 21 日龄扬州鹅 160 只(公母各半)随机分为 4 组,在扬州鹅基础日粮中添加不同比例 n-6/n-3PUFAs,研究不同 n-6/n-3PUFA 比例日粮对扬州鹅肌肉氨基酸和肌苷酸的影响。[结果]当 n-6/n-3PUFA 为 9:1 时谷氨酸、天冬氨酸、精氨酸、丙氨酸和甘氨酸的含量最高,且天冬氨酸和精氨酸的含量显著高于 n-6/n-3PUFA 为 12:1 时($P < 0.05$)。当 n-6/n-3PUFA 比例为 9:1 时扬州鹅肌肉中肌苷酸含量显著高于 n-6/n-3PUFA 比例为 6:1($P < 0.05$)。[结论]当 n-6/n-3PUFA 比例为 9:1 时扬州鹅肌肉鲜味较好。

关键词 扬州鹅; 多不饱和脂肪酸; 肌苷酸; 氨基酸

中图分类号 S835 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)04-01550-03

Effects of n-6/n-3 PUFA Ratios on the Amino Acid and Inosinic Acid in Muscle of Yangzhou Goose

YU Li-huai et al (College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009)

Abstract [Objective] The research aimed to study the effects of different n-6/n-3PUFA ratios on the amino acid and inosinic acid in the muscle of Yangzhou Goose. [Method] 160 21-day old Yangzhou Goose were randomly divided into four groups. Different ratios of n-6/n-3 PUFAs were added in the basic diet of Yangzhou Goose to study the effects of different ratios of n-6/n-3 PUFAs on the amino acid and inosinic acid in the muscle of Yangzhou Goose. [Result] When the ratio of n-6 PUFA to n-3PUFA was 9:1, the contents of glutamic acid, aspartic acid, arginine acid, alanine acid and glycine acid were the highest and the contents of aspartic acid and arginine acid were significantly higher than that at n-6/n-3 PUFAs ratio of 12:1 ($P < 0.05$). When n-6/n-3PUFAs ratio was 9:1, the content of inosinic acid in the muscle of Yangzhou Goose was significantly higher than that at n-6/n-3 PUFAs ratio of 6:1 ($P < 0.05$). [Conclusion] When n-6/n-3 PUFA ratio was 9:1, the muscle flavor of Yangzhou Goose was better.

Key words Yangzhou Goose; PUFA; Inosinic acid; Amino acid

近年来,人们对肉类及其制品的鲜味进行了研究,发现鲜味不仅是一种基本味道,而且是添加食物风味的重要因素。在与鲜味有关的化合物中,对鲜味贡献最大的有 2 类物质:一类是氨基酸,尤其是谷氨酸;另外一类对鲜味贡献较大的物质为核苷酸类。因此,若要提高肉的风味就要控制肌苷酸和氨基酸的量,日粮中不饱和脂肪酸的比例对氨基酸和肌苷酸的影响在一定程度上决定了肉的风味。肌肉脂肪是重要的风味前体物质。脂肪组织在受热时发生氧化反应,从而产生香气物质。肌肉脂肪在风味中的作用,不仅与肌肉内脂肪含量有关,而且与肌肉内脂肪中脂肪酸的组成有关^[1]。研究表明,当猪肉的肌肉脂肪含量为 2%~2.5% 时,猪肉风味最佳。若超出此值或低于此值,则肉的风味都会降低。肉在烹饪和储存的过程中香味的产生主要依赖于脂肪酸氧化产物的数量和来自 Malillard 反应的平衡,磷脂参与了氧化作用和 Malillard 反应,而磷脂富含 PUFA(特别是 n-6 或 n-3 系列的 PUFA)^[2]。

PUFAs 具有多种重要的营养生理功能,人们对其研究与开发越来越重视。体保健的益处,大多采用家禽日粮中添加鱼油的方法来提高禽产品中的 n-3PUFA 的水平,调控禽蛋和禽肉脂肪酸的组成。但是,肉中含有的大量 PUFA 在贮藏过程中会发生自由基反应,产生过氧化物以及具有臭味的醛或碳链较短的羧酸。它会降低肉的颜色、风味、组织结构和

营养价值,使肉带有强烈的异味且极易氧化酸败,引起肉品质下降。研究表明,PUFAs 的摄入 n-6 与 n-3 的比例应为 4:1~10:1。但是,在集约化饲养的畜禽日粮中,人们为提高畜禽生产水平而减少牧草的使用,大量使用谷物,导致畜禽脂肪中饱和脂肪酸越来越多。另外,规模化畜禽养殖获得 n-3PUFAs 的机会很少,致使畜禽产品中 n-6PUFAs 与 n-3PUFAs 的比例较高。若要获得 PUFAs 平衡的畜禽产品,就要在日粮中合理添加 PUFAs^[3]。鉴于 n-6PUFAs 与 n-3PUFAs 的比例对 PUFAs 对肉品质的影响,笔者设计不同 n-6/n-3PUFA 比例日粮对扬州鹅肌肉氨基酸和肌苷酸的影响,探索合理的多不饱和脂肪酸结构,旨在为优质禽肉的研发提供一些参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 试验鹅来自江苏高邮市扬州鹅繁育基地,选取同一批出雏、体重接近、体质健壮、饲养管理一致的 21 日龄扬州鹅 160 只,随机分为 4 组,每组设 4 个重复,每个重复 10 只,公母各半。

1.2 试验设计和试验日粮 以玉米、豆粕、苜蓿干草等为主要原料,用花生油、葵花籽油、亚麻油、棕榈酸和油酸作为饲料多不饱和脂肪酸的来源,在调节饱和脂肪酸:单不饱和脂肪酸:多不饱和脂肪酸为 1:1:1 的前提下,设置 n-6/n-3 的比例为 12:1、9:1、6:1 和 3:1,试验日粮组成和营养水平分别见表 1~2。

1.3 样品采集 在 70 日龄采样,每个重复取 2 只,各取腿肌 15 g 左右。真空干燥 48 h,研磨成粉状,用于氨基酸和肌苷酸的测定。

1.4 氨基酸的测定

1.4.1 样品的水解。取肉样真空冷冻干燥,粉碎,脱脂,烘

基金项目 江苏省自然科学基金(BK2012679);扬州市农业科技支撑项目(YZ2011071);江苏省科技支撑计划(BN2012029)。

作者简介 喻礼怀(1977-),男,江苏大丰人,讲师,博士,从事草食动物营养代谢与调控。*通讯作者,副教授,博士,从事草食动物营养代谢与调控,E-mail:mengzhiwang@126.com。

收稿日期 2012-12-19

干,过 60 目筛。称取 15 mg 筛过的肉样放入水解管中,加入 5 ml 5 mol/L 的 HCl,在水解管开口 2 cm 处放在火焰上拉制

成薄颈,将水解管抽真空至低于 7 Pa,在真空状态下密封此管,在(110±1)℃水解 24 h。

表 1 试验日粮的组成

n-6/n-3	玉米	豆粕	花生油	葵花籽油	亚麻油	棕榈酸	油酸	苜蓿草粉	磷酸氢钙	石粉	L-赖氨酸盐(赖氨酸)	蛋氨酸	食盐	预混料
12:1	66.20	17.30	1.30	0.16	0.10	0.37	0.07	10.70	1.20	0.60	0.35	0.15	0.50	1.00
9:1	66.20	17.30	1.28	0.15	0.13	0.37	0.07	10.70	1.20	0.60	0.35	0.15	0.50	1.00
6:1	66.20	17.30	1.16	0.16	0.19	0.38	0.11	10.70	1.20	0.60	0.35	0.15	0.50	1.00
3:1	66.20	17.30	1.06	0.08	0.32	0.40	0.14	10.70	1.20	0.60	0.35	0.15	0.50	1.00

注:预混料组成为:磷酸氢钙 330.28 g/kg、石粉 165.14 g/kg、食盐 137.61 g/kg、赖氨酸盐酸盐 50.46 g/kg、蛋氨酸 41.28 g/kg、胆碱 19.27 g/kg、肉中鸡维生素预混剂 11.47 g/kg、生物素 0.15 g/kg、甜菜碱 4.59 g/kg、肉鸡矿物质预混剂 68.81 g/kg、沸石 170.95 g/kg。

表 2 试验日粮的营养水平

n-6/n-3	粗蛋白 CP//%	代谢能 ME//MJ/kg	粗纤维 CF//%	钙 Ca//%	有效磷 AP//%	赖氨酸 Lys//%	蛋氨酸+胱氨酸 Met+Cys	饱和脂肪酸 SFA	单不饱和脂肪酸 MUFA	多不饱和脂肪酸 PUFA	n-6	n-3	n-6/n-3
12:1	14.65	11.42	5.29	0.79	0.41	0.95	0.61	0.67	0.67	0.66	0.60	0.05	12.05:1
9:1	14.89	11.42	5.20	0.79	0.41	0.96	0.62	0.67	0.67	0.67	0.59	0.07	9.13:1
6:1	14.36	11.41	5.28	0.78	0.40	0.95	0.61	0.66	0.67	0.67	0.57	0.10	5.93:1
3:1	14.87	11.41	5.26	0.77	0.42	0.95	0.61	0.66	0.68	0.66	0.50	0.16	3.10:1

1.4.2 水解后样品的衍生。取出水解后的样品冷却至室温,用 0.45 μm 的水相滤膜过滤,移取 50 μl 置于 1.5 ml 的指形管中,在真空干燥器中抽干样品,干燥后加入 25 μl 干燥剂,再次真空干燥,再加入 25 μl 衍生剂,再次真空干燥,然后加入 600 μl 稀释液,超声波溶解,使用高效液相色谱仪进行分析。

1.4.3 氨基酸标准样的衍生。衍生方法与样品相同。

1.4.4 高效液相色谱条件。色谱柱为 Agela, Venusil MP C18, 4.6 mm×250 mm, 5 μm;流动相:A 液(NaAc+三乙胺+乙腈, pH6.3), B 液(60%乙腈);检测器为 FLNIGAN, Surveyor PDA Detector, 波长为 254 nm;流速 1 ml/min, 柱温 37℃, 进样量 20 μl。具体梯度条件见表 3。

表 3 梯度条件

时间//min	流速//ml/min	A 液//%	B 液//%
0	1	100	0
1	1	100	0
20	1	0	100
27	1	0	100

1.4.5 氨基酸样品含量的计算。按照以下公式计算氨基酸绝对含量:氨基酸绝对含量(mg)= $A_i/A_s \times C_s \times V_i/m$ 。其中, A_i 为样品液中某种氨基酸的峰面积(mm^2); A_s 为标准溶液中某种氨基酸的峰面积(mm^2); C_s 为标准溶液中氨基酸的浓度($\mu\text{g/ml}$); V_i 为稀释液的总体积; m 为称取的干样重(mg)。

1.5 肌酐酸的测定

1.5.1 样品前处理。称取肉样 1.25 g,放入培养皿中,用剪刀剪碎,然后置于匀浆管中,加入 4 ml 6%过氯酸,匀浆 3~5 min,提取核苷酸,将提取物转至 10 ml 离心管中。用 1 ml 6%过氯酸洗涤匀浆管,倒入离心管中,再用 1 ml 6%过氯酸洗涤匀浆管,倒入离心管中。在 3 500 r/min 下离心 5 min,上清液过滤于 50 ml 烧杯中,沉淀再用 2 ml 6%过氯酸振荡 5 min 后

再离心,上清液过滤与前次合并。上清液用 5 mol/L 和 0.5 mol/L 氢氧化钠调节 pH 至 6.5,转至 25 ml 容量瓶中,用蒸馏水定容到刻度,摇匀后用 0.45 μm 滤膜的针头式过滤器过滤后,滤液用 HPLC 分析。

1.5.2 HPLC 分析条件。流动相为 0.05 mol/L 磷酸三乙胺/乙腈(95/5, V/V),取磷酸 3.41 ml 溶于过量 HPLC 水中,再加入 6.90 ml 三乙胺(比重 0.73, 99%)混合后加 HPLC 水至 1 000 ml,调节 pH 至 6.5,用 0.5 μm 滤膜过滤,脱气,液用时与乙腈 95/5 混合;Lichrosorb C18 柱, 4.6 mm×250 mm, 5 μm;紫外检测器(波长 254 nm);流速为 1 ml/min;柱温为 30℃;进样量为 10 μl。

1.6 数据处理与分析 使用 Excel 软件进行数据整理,用 SPSS 16.0 统计软件中 compare mean 的 One-way-ANOVA 方差分析和 LSD 多重比较。试验结果均以 $\bar{x} \pm SE$ 表示。

2 结果与分析

2.1 不同 n-6/n-3PUFA 比例对扬州鹅肉质氨基酸的影响

由表 4 和图 1 可以看出,不同 n-6/n-3 比例在天冬氨酸、苏氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、精氨酸和脯氨酸的含量上有显著差异。n-6/n-3 为 9:1 时天冬氨酸含量显著高于 n-6/n-3 为 12:1($P < 0.05$);n-6/n-3 为 12:1 苏氨酸含量显著低于 n-6/n-3 为 9:1、6:1 和 3:1($P < 0.05$);n-6/n-3 为 12:1 时亮氨酸含量显著低于 n-6/n-3 为 9:1、6:1 和 3:1($P < 0.05$);n-6/n-3 为 12:1 时酪氨酸含量显著低于 n-6/n-3 为 9:1、6:1 和 3:1($P < 0.05$);n-6/n-3 为 3:1 和 6:1 时苯丙氨酸含量显著高于 n-6/n-3 为 12:1($P < 0.05$)。n-6/n-3 为 12:1 时精氨酸含量显著低于 n-6/n-3 为 9:1、6:1 和 3:1($P < 0.05$);n-6/n-3 为 9:1 时脯氨酸含量显著高于 n-6/n-3 为 12:1($P < 0.05$)。

2.2 不同 n-6/n-3PUFA 比例对扬州鹅肉质肌苷酸的影响 试验表明,n-6/n-3PUFA 为 9:1 时肌肉肌苷酸含量为(1.91±2.438)μg/g 显著高于 n-6/n-3 为 6:1($P < 0.05$),与 n-6/n-3 为 12:1 和 3:1 时差异不显著($P > 0.05$)。

表4 不同n-6/n-3 PUFA比例对扬州鹅氨基酸的影响

%

n-6/n-3	天冬氨酸	苏氨酸	丝氨酸	谷氨酸	甘氨酸	丙氨酸	胱氨酸	缬氨酸	蛋氨酸	异亮氨酸
12:1	7.62 ± 0.08b	3.61 ± 0.12b	2.72 ± 0.25	13.02 ± 0.24	3.62 ± 0.12	4.93 ± 0.00	1.34 ± 0.10	4.83 ± 0.11	0.87 ± 0.17	4.18 ± 0.08
9:1	7.80 ± 0.03a	3.90 ± 0.03a	3.13 ± 0.05	13.47 ± 0.14	3.56 ± 0.07	4.99 ± 0.05	1.37 ± 0.07	4.85 ± 0.16	1.27 ± 0.00	4.23 ± 0.02
6:1	7.77 ± 0.01ab	3.90 ± 0.01a	3.14 ± 0.02	13.32 ± 0.09	3.52 ± 0.08	4.96 ± 0.02	1.37 ± 0.02	4.81 ± 0.08	1.09 ± 0.06	4.23 ± 0.01
3:1	7.76 ± 0.04ab	3.87 ± 0.01a	3.11 ± 0.06	13.20 ± 0.12	3.53 ± 0.02	4.94 ± 0.03	1.29 ± 0.05	4.67 ± 0.10	1.13 ± 0.07	4.26 ± 0.06

n-6/n-3	亮氨酸	酪氨酸	苯丙氨酸	赖氨酸	半胱氨酸	组氨酸	精氨酸	脯氨酸	氨基酸总量
12:1	6.69 ± 0.09b	1.39 ± 0.09b	3.61 ± 0.04b	7.49 ± 0.12	1.59 ± 0.03	2.40 ± 0.08	5.30 ± 0.01b	2.66 ± 0.05b	76.28 ± 0.43b
9:1	6.93 ± 0.06a	1.60 ± 0.06a	3.77 ± 0.07ab	7.67 ± 0.04	1.56 ± 0.04	2.41 ± 0.04	5.45 ± 0.03a	2.87 ± 0.05a	78.95 ± 0.87a
6:1	6.99 ± 0.02a	1.74 ± 0.02a	3.82 ± 0.05a	7.70 ± 0.02	1.48 ± 0.04	2.35 ± 0.10	5.49 ± 0.02a	2.76 ± 0.06ab	78.94 ± 0.21a
3:1	7.05 ± 0.03a	1.76 ± 0.04a	3.87 ± 0.02a	7.67 ± 0.06	1.54 ± 0.06	2.41 ± 0.03	5.49 ± 0.02a	2.78 ± 0.02ab	78.80 ± 0.29a

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

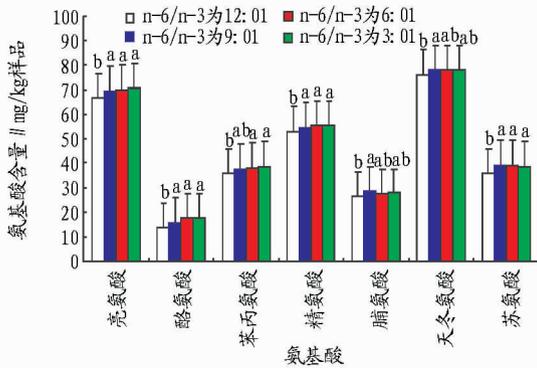


图1 不同n-6/n-3PUFA比例对扬州鹅肌肉氨基酸的影响

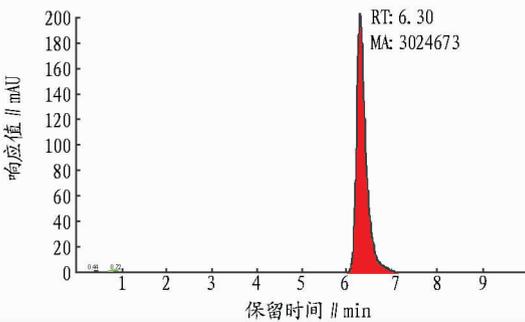


图2 肌苷酸标准品的高效液相色谱

3 讨论与结论

3.1 不同n-6/n-3PUFA比例对扬州鹅肌肉氨基酸的影响

氨基酸是构成动物营养所需蛋白质的基本物质,其含量和组成与肉的鲜味高度相关。其中,与鲜味有关的最主要氨基酸是谷氨酸^[4],其次是天冬氨酸、精氨酸、丙氨酸、甘氨酸,在肉鲜味中也起一定的作用。谷氨酸的鲜味作用主要取决于其分子结构,谷氨酸只有在带电的时候才有鲜味,其中谷氨酸钠的鲜味最纯,与肌苷酸协同对肉鲜味起着作用。该试验

结果表明,谷氨酸、天冬氨酸、精氨酸、丙氨酸和甘氨酸的含量9:1比其他3组都高,尤其是其中9:1组的天冬氨酸和精氨酸比例较高,n-6/n-3PUFA为9:1时肌肉鲜味较好。

3.2 不同n-6/n-3PUFA比例对扬州鹅肌肉肌苷酸的影响

家禽肉中的肌苷酸已成为肉质鲜味的重要成分^[5]。在家禽屠宰后,ATP在酶的作用下生成IMP,从而得到肌苷酸。在屠宰后数小时到几天内,肌苷酸的含量达到最高值。肌苷酸的降解是一个相对缓慢的过程,降解速度与肌肉的保存温度有关,降解产物在加热过程中可发生美拉德反应,可以产生多种风味化合物。肌苷酸可以产生肉香味^[6]。因此,肉中肌苷酸的含量可在一定程度上表征肉的香味。据报道,肌苷酸是香味形成的前体物^[7]。另外,肌苷酸与谷氨酸钠具有协同作用,而影响肉的鲜味。该试验结果表明,n-6/n-3为9:1时肌苷酸含量最高,表明n-6/n-3PUFA为9:1时肉的鲜味较好。

综上所述,多不饱和脂肪酸结构对扬州鹅肌肉肌苷酸和氨基酸的含量有一定的影响,其中以n-6/n-3PUFA为9:1时肌肉鲜味较好。

参考文献

- [1] CZECH J. Influence of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on sensory characteristics of chicken meat[J]. Anim Sci, 2008, 53(7): 299-305.
- [2] 黄攀, 陆燕, 茆达干, 等. 日粮多不饱和脂肪酸对畜禽肉品质的影响[J]. 畜牧与兽医, 2008, 40(12): 93-95.
- [3] 于昱. 多不饱和脂肪酸的营养研究及其在家禽生产中的应用[J]. 中国禽业导刊, 2004, 21(2): 31-34.
- [4] 刘飞, 张轩杰, 湘云鲫(鲤)肌肉生化成分和氨基酸组成分析[J]. 内陆水产, 2000(7): 8-9.
- [5] DAVIDEK J, KHAN A W. Estimation of inosinic acid in chicken muscle and its formation and degradation during postmortem aging[J]. Journal of Food Science, 1967, 32: 155.
- [6] 陈代文, 张克英, 胡祖禹. 猪肉品质特征的形成原理[J]. 四川农业大学学报, 2002, 20(1): 60-66.
- [7] ARYA S S, PARIHAR D B. Changes in free nucleotides, nucleosides and bases during thermal processing of goat and sheep meats. Part 1. Effect of temperature[J]. Die Nahrung, 1979, 23(1): 1-7.

(上接第1542页)

参考文献

- [1] 林俊年, 李幸芬, 等. 观赏鱼大百科系列: 锦鲤特辑[M]. 2版. 台北: 观赏鱼杂志社, 2002.
- [2] 朱纪伟, 卜庆新, 滕忠祥. 淡水热带鱼赖以生存的几个要素和日常管理[J]. 水产养殖, 2010(2): 22-23.

- [3] 刘长水, 张士瑾. 温度对贡氏假鳃鲮的生长发育、性成熟和成活的影响[J]. 鲁东大学学报, 2011, 27(2): 140-145.
- [4] 何文平. 热带鱼养殖中应注意的几个技术问题[J]. 科学养鱼, 2003(6): 57.
- [5] 吴志强. 热带鱼的养殖[J]. 生物学通报, 1996(5): 44-45.
- [6] 何杰. 家庭饲养热带鱼方法[J]. 科学养鱼, 2006(8): 43-44.