

不同养殖模式克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 游离氨基酸的主成分分析及综合评价

李鹏鹏^{1,2}, 温丽敏^{1,3}, 吕经秀^{1,2}, 卞欢¹, 诸永志^{1,2,*}, 王道营^{1,4}, 耿志明^{1,2}, 徐为民^{1,2}, 张凤翔⁵, 姚田玉⁵
(1.江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏 南京 210014; 2.江苏大学食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013;
3.西藏农牧学院食品科学学院, 西藏 林芝 860000; 4.农业农村部农产品冷链物流技术重点实验室, 江苏 南京 210014;
5.兴化市现代农业发展服务中心, 江苏 泰州 225700)

摘要:为研究不同养殖模式的克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 肉中游离氨基酸 (free amino acids, FAA) 的综合品质差异, 以江苏兴化地区具有代表性的3 大类养殖模式的克氏原螯虾尾肉为研究对象, 测定FAA并结合滋味活性值 (taste active value, TAV) 分析各氨基酸在克氏原螯虾肉中的呈味特性, 然后运用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 及聚类分析法综合评定克氏原螯虾肉的FAA品质。结果表明: 克氏原螯虾肉中均含有17种FAAs, 总量在21.80~27.11 mg/g之间。精氨酸 (Arg) 在所有克氏原螯虾肉中均为含量最高的FAA, 远高于其他氨基酸, 占总FAA含量的55.64%~67.76%, 其对虾肉呈味贡献也最大。此外, 还有丙氨酸 (Ala) 和组氨酸 (His) 在所有克氏原螯虾肉中的TAV都大于1, 对呈味有贡献。谷氨酸 (Glu) 作为鲜味最强的氨基酸, 只在稻虾一稻两虾模式 (RC2) 的克氏原螯虾肉中TAV大于1。17种氨基酸利用PCA提取到3个PC, 累计方差贡献率为89.937%, 可以代表氨基酸的综合信息。根据综合分析, 排名最高的是一稻两虾养殖模式RC2, 排名最低的是虾蟹混养模式CC1。聚类分析将所采集的克氏原螯虾肉分为3类, 该结果与PCA的结果相似, 表明稻虾模式养殖的克氏原螯虾肉的FAA综合品质相对较好。

关键词: 克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*); 游离氨基酸; 呈味; 主成分分析; 聚类分析

Principal Component Analysis and Cluster Analysis for Evaluating Free Amino Acids in Crayfish (*Procambarus clarkii*) from Different Co-culture Modes

LI Pengpeng^{1,2}, WEN Limin^{1,3}, LÜ Jingxiu^{1,2}, BIAN Huan¹, ZHU Yongzhi^{1,2,*}, WANG Daoying^{1,4}, GENG Zhiming^{1,2}, XU Weimin^{1,2}, ZHANG Fengxiang⁵, YAO Tianyu⁵

(1. Institute of Agricultural Products Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;
2. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;
3. College of Food Science, Tibet Agriculture and Animal Husbandry University, Nyingchi 860000, China;
4. Key Laboratory of Cold Chain Logistics Technology for Agricultural Products, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210014, China; 5. Center of Xinghua Modern Agriculture Development Service, Taizhou 225700, China)

Abstract: To investigate the difference in the comprehensive quality of free amino acids (FAA) in crayfish meat from different co-culture modes, the FAA composition of crayfish tail meat from three representative co-culture modes in Xinghua city of Jiangsu province was determined, and the contribution of FAA to the taste of crayfish meat was evaluated by computing the taste active value (TAV). Comprehensive evaluation of FAA in crayfish meat was performed using principal component analysis (PCA) and cluster analysis. The results showed that 17 amino acids were found in crayfish meat from each co-culture mode, and the total amount of FAA was 21.80–27.11 mg/g. Arginine (Arg) was the most abundant FAA in all samples, accounting for 55.64%–67.76% of the total FAA, which was much more abundant than the other amino acids.

收稿日期: 2022-11-21

基金项目: 江苏现代农业 (克氏原螯虾) 产业技术体系质量安全与加工创新团队项目 (JATS[2021]443);
江苏省农业科技自主创新资金项目 (CX (21) 2030)

第一作者简介: 李鹏鹏 (1986—) (ORCID: 0000-0002-4846-9225), 女, 副研究员, 博士, 研究方向为肉品加工与质量控制。
E-mail: lipengpeng@jaas.ac.cn

*通信作者简介: 诸永志 (1975—) (ORCID: 0000-0002-8529-2035), 男, 研究员, 博士, 研究方向为肉品加工与质量控制。
E-mail: yongzhizhu@163.com

Moreover, Arg contributed the most to the taste of crayfish meat. The TAV of the sweet amino acid alanine (Ala) and the bitter amino acid histidine (His) in crayfish were greater than 1 for all co-culture modes, indicating that both amino acids contributed to the taste of crayfish meat. The TAV of glutamic acid (Glu) as the amino acid with the strongest umami taste was greater than 1 only in crayfish meat from rice-crayfish mode with one-rice and two-crayfish in a field (RC2). Three principal components were extracted for the 17 amino acids, which cumulatively explained 89.937% of the total variance and could reflect the comprehensive information of amino acids in crayfish meat. The results of PCA showed that RC2 ranked first, and crayfish-crab mode (CC1) ranked last. The hierarchical cluster analysis divided crayfish meat from different co-culture modes into three categories. Similar results were obtained by PCA. This study demonstrated that the comprehensive quality of FAA in crayfish from rice-crayfish co-culture mode was better than that in crayfish from the other co-culture modes.

Keywords: crayfish (*Procambarus clarkii*); free amino acid; taste; principal component analysis; cluster analysis

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221121-236

中图分类号: TS254.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2023) 16-0284-08

引文格式:

李鹏鹏, 温丽敏, 吕经秀, 等. 不同养殖模式克氏原螯虾(*Procambarus clarkia*)游离氨基酸的主成分分析及综合评价[J]. 食品科学, 2023, 44(16): 284-291. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221121-236. <http://www.spkx.net.cn>

LI Pengpeng, WEN Limin, LÜ Jingxiu, et al. Principal component analysis and cluster analysis for evaluating free amino acids in crayfish (*Procambarus clarkii*) from different co-culture modes[J]. Food Science, 2023, 44(16): 284-291. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221121-236. <http://www.spkx.net.cn>

克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*), 又称小龙虾, 隶属节肢动物门, 甲壳纲, 原螯虾属。克氏原螯虾原产于美洲, 19世纪初传入我国后在长江流域扩散, 近年已成为重要的淡水经济养殖动物^[1-2]。克氏原螯虾以其鲜美的口感和丰富的营养, 成为中国消费者最喜爱的水产之一^[3]。2021年我国小龙虾养殖面积2 600万亩、产量263.36万 t^[4]。

水产养殖对世界粮食供应和人类营养安全起着至关重要的作用。目前, 我国已经发展了多种生态友好的水产养殖模式, 其中水稻-水产(鱼、虾、蟹等)共养系统符合我国的基本农田政策, 且由于能合理利用土地空间、作物和水产养殖之间的互惠共生以及满足对食物来源的需求而被公认为可持续的有机农业系统, 在农业活动中越来越重要, 并在很多地区得到实践^[5]。全国稻渔一体化共养殖面积超过200万公顷, 水产品产量超过290万 t^[5]。在不同的共养模式中, 水稻-鱼共养模式已有1 200 a的历史^[6]。水稻-克氏原螯虾共养模式是近年发展起来的共养模式^[7], 被认为是一种高效的种植养殖生态模式, 并被农业农村部作为养殖核心技术在全国推广应用。2021年, 该模式的种养面积2 100万亩, 占全国稻渔综合种养面积的52.95%^[4]。水稻-克氏原螯虾共养模式产出的克氏原螯虾产量占全国克氏原螯虾总产量的70%以上^[7]。混合养殖模式有多种优势, 例如提高农业经济效益^[8]、改善生态系统功能^[9]、改善稻田土壤环境^[9-10]、减少杂草和农作物害虫^[11]、降低农药化肥使用量及抗性基因的产生机率^[12]等。王曜等^[3]研究发现养殖克氏原螯虾

的游离氨基酸 (free amino acids, FAA) 总量大于野生克氏原螯虾。Liu Qiao等^[13]在研究四川地区克氏原螯虾肠道微生物的功能时发现, 与水稻共养的克氏原螯虾尾中的鲜味氨基酸含量高于池塘养殖的克氏原螯虾。除此之外, 江苏兴化地区目前还存在多种克氏原螯虾的共养模式, 如虾蟹共养、藕虾共养及水稻的一稻两虾和一稻一虾等, 对多种共养模式影响克氏原螯虾的氨基酸品质的综合评价尚未报道, 高品质克氏原螯虾的共养模式对克氏原螯虾品质影响的内在机制也有待研究。

主成分分析 (principal component analysis, PCA) 是一种通过正交变换将一组可能存在相关性的变量转换为的一组线性不相关的变量, 用简化的数据反映原始数据的多元统计分析方法^[14]。PCA已被广泛用于食品品质的综合评价, 范婷婷等^[15]利用PCA对不同省份人工种植和野生羊肚菌的FAA进行分析, 发现特征性FAA的含量高低直接影响羊肚菌的风味, 区分效果较好。克氏原螯虾的品质中, 滋味品质是决定克氏原螯虾被消费者喜爱程度的重要指标, 而FAA是一类重要的味觉活性成分, 是决定克氏原螯虾滋味的关键因子。每种FAA具有独特的滋味, 如鲜味、甜味、苦味等, 其含量会直接影响食物的鲜美程度^[16]。甘氨酸 (Gly)、丙氨酸 (Ala)、丝氨酸 (Ser)、苏氨酸 (Thr) 等是甜味氨基酸^[16-18], 其中Gly和Ala对蟹、虾等水产品的滋味有重要贡献^[14-15]。鱼、虾、贝等水产动物中各种FAA含量丰富, 谷氨酸 (Glu) 等鲜味氨基酸对水产动物的鲜美滋味有决定性作用^[19]。精氨酸 (Arg) 是克氏原螯虾尾肉中含量最高的氨基

酸,且呈味贡献也最大^[3,13]。天然Arg呈苦味,但有助于食物呈愉悦的滋味而非苦味,有提高味道的丰富性和鲜度的作用^[17]。克氏原螯虾虾头因含有肝脏、性腺等器官,其FAA的含量高于虾尾肉^[3]。利用PCA法对克氏原螯虾中FAA的呈味氨基酸进行综合评价,有助于筛选出呈味氨基酸含量高的克氏原螯虾的养殖模式。FAA对克氏原螯虾的鲜美滋味有重要贡献,本研究拟通过对江苏兴化地区不同共养模式的克氏原螯虾肉中FAA的组成和含量及氨基酸的滋味活性值(taste active value, TAV)进行分析,并采用PCA法和聚类分析法进行综合评价,建立综合评价模型,以期对克氏原螯虾的特征风味研究、克氏原螯虾特征风味品质的养殖模式筛选提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

克氏原螯虾于2022年8月取样于江苏兴化。

样品信息:一稻两虾(RC1),兴化市万颗子粮食种植家庭农场;一稻两虾(RC2),兴化市香湖粮食种植家庭农场;一稻一虾(不开沟)(RC3),兴化市谷满仓家庭农场;虾蟹混养(CC1),兴化市七里八乡水产生态养殖专业合作社;虾蟹混养(CC2),兴化市银桂水产品养殖专业合作社;藕虾模式(LC),兴化市沙沟镇克氏原螯虾协会。

三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA)、氢氧化钠国药集团化学试剂有限公司;氨基酸混合标准溶液、茚三酮显色液(色谱纯)日本Wako公司;纯净水娃哈哈集团;0.22 μm滤膜美国Merck Millipore公司。

1.2 仪器与设备

L-8900氨基酸自动分析仪 日本Hitachi公司;5424R高速低温离心机 德国Eppendorf公司;T25高速匀浆机、Kylin-Bell Vortex-5涡旋混匀器 德国IKA公司;HI-9025酸度计 意大利Hanna公司;−40℃冰箱中国海尔集团;Alpha1-2LDplus实验室型冻干机 德国Chris公司;Scientz-IID超声波细胞粉碎机 中国宁波新芝公司;上海精宏DHG-9036A恒温干燥箱 中国光明公司;ME104E电子分析天平 瑞士Mettler-Toledo公司。

1.3 方法

1.3.1 样品前处理

剥取出虾尾肉,进行真空冷冻干燥:将虾肉(5只)放入平皿中,在−40℃冰箱中冷冻24 h,取出放置于冻干机中真空冷冻干燥48 h,取出后利用小型粉碎机粉碎成粉后保存于−40℃冰箱。称取0.05 g样品,加入5 mL TCA(0.1 g/mL),样品涡旋混匀,采用超声波处理15 min后,4℃静置2 h,4℃、10 000×g离心10 min后取2 mL上清液,调pH值至2.0,最后用pH 2.0的TCA溶液定容至5.0 mL,经0.22 μm滤膜过滤后用氨基酸自动分

析仪测定氨基酸含量。虾肉中水分含量采用GB 5009.3—2016《食品中水分的测定》直接干燥法,利用恒温干燥箱烘干称质量结果进行计算。

1.3.2 检测方法

使用L-8900氨基酸自动分析仪测定氨基酸,利用优化过的离子交换-茚三酮柱后衍生法:阳离子交换柱(4.6 mm×60 mm);分离柱温度57℃,检测器温度135℃;流动相流速0.40 mL/min,茚三酮流速0.35 mL/min;进样量20 μL;检测波长:570 nm(17种氨基酸),440 nm(脯氨酸);结果用仪器自带软件EZChrom Elite分析。

1.3.3 TAV分析

TAV是呈味物质的测定值与其滋味阈值之比, $TAV=C_1/C_2$,其中, C_1 为呈味氨基酸的测定值/(mg/g); C_2 为该氨基酸的滋味阈值/(mg/g)^[20]。

1.3.4 PCA及综合评价

采用SPSS 18对数据进行因子分析,得到原始数据相关矩阵的特征值、方差贡献率、累计方差贡献率、成分矩阵等,根据所得信息对本研究的数据作综合评价,分析中提取特征值大于1.00的因子作为PC。以每个PC所对应特征值的方差贡献率 λ_i ($i=1, 2, 3, \dots, k$)为权重,由各PC得分 X_i 与对应的权重相乘得到最终的综合评价模型: $PC=\lambda_1X_1+\lambda_2X_2+\dots+\lambda_kX_k$ ^[14]。

1.3.5 聚类分析

采用OriginPro 2018C对各养殖模式的克氏原螯虾肉中FAA的测定结果作聚类分析(Ward最小方差和欧氏距离法)。

1.4 数据处理

通过单因素方差分析(SPSS Statistics 18)对数据作显著性分析,分析方法为Duncan多重范围检验, $P<0.05$ 为差异显著, $P<0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 不同养殖模式克氏原螯虾肉FAA的组成与含量

由表1可知,从各养殖模式的克氏原螯虾肉中共检测到17种FAA。不同养殖模式的克氏原螯虾肉的FAA总含量在21.80~27.11 mg/g之间,其中养殖模式RC1的克氏原螯虾肉FAA含量最高(27.11±1.03 mg/g),RC2、LC和CC2与其没有显著差异。Arg在所测6组克氏原螯虾肉中均为含量占比最高的FAA,占总FAA的含量高达67.76%(RC3),占比最低55.64%(RC2)。除含量占绝对优势的Arg外,苏氨酸(Thr)、丙氨酸(Ala)的含量在各养殖模式的克氏原螯虾肉中的含量居其次。其中,Thr在所测克氏原螯虾肉中的占比在5.09%~9.16%之间,Ala的含量在5.84%~11.81%之间。6组克氏原螯虾肉中天冬氨酸(Asp)的含量均为最低,0.01~0.02 mg/g,

表1 不同养殖模式克氏原螯虾肉中FAAs的组成与含量
Table 1 Contents of free amino acids in meat of crayfish from different co-culture modes

氨基酸种类	RC1		CC1		RC2		LC		CC2		RC3	
	含量/(mg/g)	占比/%	含量/(mg/g)	占比/%	含量/(mg/g)	占比/%	含量/(mg/g)	占比/%	含量/(mg/g)	占比/%	含量/(mg/g)	占比/%
天冬氨酸Asp**	0.02±0.00	0.06	0.01±0.00	0.04	0.02±0.01	0.08	0.01±0.00	0.06	0.02±0.00	0.08	0.02±0.00	0.09
谷氨酸Glu**	0.24±0.02	0.90	0.12±0.03	0.55	0.35±0.08	1.31	0.21±0.02	0.95	0.22±0.06	0.90	0.17±0.00	0.77
苏氨酸Thr*#	2.48±0.04	9.16	1.76±0.08	8.01	1.92±1.04	7.14	1.83±0.16	8.38	1.23±0.25	5.09	1.21±0.04	5.54
丝氨酸Ser*	0.84±0.04	3.12	0.40±0.03	1.82	0.87±0.21	3.23	0.59±0.05	2.71	0.40±0.10	1.65	0.41±0.00	1.89
甘氨酸Gly*	1.37±0.08	5.06	0.38±0.02	1.74	2.17±0.63	8.08	1.23±0.10	5.63	1.49±0.36	6.18	1.00±0.03	4.59
丙氨酸Ala*	1.99±0.11	7.32	1.28±0.08	5.84	2.72±0.77	10.14	1.80±0.17	8.22	2.85±0.69	11.81	1.75±0.03	8.03
脯氨酸Pro	0.59±0.02	2.18	0.40±0.03	1.82	0.36±0.24	1.35	0.37±0.02	1.70	0.13±0.03	0.53	0.20±0.01	0.93
精氨酸Arg	15.86±0.62	58.50	14.79±0.87	67.40	14.93±4.51	55.64	12.72±1.08	58.12	15.65±3.49	64.92	14.76±0.11	67.76
赖氨酸Lys [△]	0.53±0.02	1.96	0.57±0.04	2.58	0.62±0.20	2.30	0.49±0.04	2.23	0.20±0.04	0.85	0.28±0.00	1.27
缬氨酸Val [#]	0.45±0.02	1.66	0.23±0.05	1.03	0.30±0.09	1.12	0.29±0.03	1.33	0.14±0.04	0.58	0.19±0.00	0.85
酪氨酸Tyr	0.65±0.02	2.41	0.42±0.02	1.91	0.80±0.59	2.98	0.62±0.06	2.82	0.73±0.20	3.03	0.49±0.00	2.25
苯丙氨酸Phe [#]	0.15±0.01	0.55	0.07±0.01	0.33	0.05±0.32	0.19	0.10±0.01	0.44	0.02±0.03	0.08	0.09±0.00	0.42
异亮氨酸Ile [#]	0.20±0.01	0.75	0.07±0.01	0.33	0.12±0.04	0.47	0.15±0.02	0.70	0.08±0.02	0.31	0.09±0.00	0.41
亮氨酸Leu [#]	0.39±0.02	1.43	0.17±0.01	0.76	0.24±0.08	0.90	0.28±0.03	1.28	0.13±0.03	0.56	0.17±0.00	0.76
半胱氨酸Cys	0.13±0.00	0.49	0.09±0.01	0.43	0.15±0.07	0.55	0.14±0.01	0.64	0.09±0.06	0.36	0.10±0.00	0.44
蛋氨酸Met [△]	0.21±0.01	0.79	0.37±0.03	1.70	0.26±0.11	0.96	0.24±0.02	1.10	0.13±0.04	0.55	0.16±0.00	0.74
组氨酸His	0.70±0.03	2.56	0.61±0.03	2.80	0.70±0.19	2.59	0.57±0.06	2.61	0.37±0.09	1.52	0.47±0.01	2.16
总FAA	27.11±1.03 ^a		21.94±1.3 ^{bc}		26.83±8.56 ^{ab}		21.89±1.87 ^{abc}		24.10±5.54 ^{bc}		21.80±0.20 ^c	
鲜味FAA	0.26±0.02 ^b	0.97	0.13±0.03 ^d	0.59	0.37±0.09 ^a	1.39	0.22±0.02 ^{bc}	1.02	0.24±0.06 ^{bc}	0.98	0.19±0.00 ^{cd}	0.86
甜味FAA	6.69±0.27 ^{ab}	24.70	3.82±0.17 ^d	17.40	7.67±2.62 ^a	28.58	5.46±1.39 ^b	24.94	5.96±1.39 ^b	24.72	4.37±0.10 ^{cd}	20.10
必需氨基酸	4.42±0.13 ^a	16.30	3.24±0.23 ^b	11.94	3.50±1.88 ^{ab}	12.93	3.39±0.31 ^b	12.49	1.93±0.45 ^c	7.12	2.18±0.04 ^c	8.04

注: **、鲜味氨基酸; *、甜味氨基酸; #、必需氨基酸; △、限制氨基酸; 同行不同字母表示差异显著 (P<0.05); 数据平行测定3次, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

仅占FAA总量的0.04%~0.09%。必需氨基酸在6组克氏原螯虾肉中占比在7.12%~16.30%之间, 其中养殖模式RC1的克氏原螯虾肉中必需氨基酸含量最高 (4.42±0.13) mg/g, 占FAA总量的16.30%, RC2的克氏原螯虾肉中必需氨基酸含量与RC1无显著差异, CC2养殖模式的克氏原螯虾肉中必需氨基酸含量最低 (1.93±0.45) mg/g。

2.2 滋味分析

由表1可知, RC2模式养殖的克氏原螯虾肉中Glu的含量为(0.35±0.08) mg/g, 显著高于其他养殖模式的克氏原螯虾肉, 而CC1养殖模式的克氏原螯虾肉中Glu含量最低 (0.12±0.03) mg/g。RC2养殖模式的克氏原螯虾肉中甜味氨基酸 (Thr、Ser、Gly、Ala) 的含量也为最高 (7.67±2.62) mg/g, 占FAA总量的28.58%, 但是与RC1养殖模式的甜味氨基酸含量差异不显著。CC1养殖模式的甜味氨基酸含量最低 (3.82±0.17) mg/g。Ser和Thr为甜味氨基酸^[21]。

对不同养殖模式的克氏原螯虾肉FAA的TAV进行评价 (表2), 大部分氨基酸的TAV小于1, 对克氏原螯虾肉的滋味无贡献。Arg的TAV最高, 贡献最大。Arg是所有养殖模式的克氏原螯虾肉中占FAA总量比例最高的氨基酸。6组克氏原螯虾肉中的甜味氨基酸Ala和苦味氨基酸His的TAV也都大于1。Glu作为鲜味最强的氨基酸, 只在RC2模式的克氏原螯虾肉中TAV大于1。只有RC、RC2、CC2克氏原螯虾肉中的Gly的TAV大于1, 分别为

1.06、1.67、1.15, 呈味作用差异显著。通过对FAA滋味的综合分析, 发现养殖模式RC2的克氏原螯虾肉的鲜味和甜味氨基酸的TAV最高, 味道最为鲜美。

表2 不同养殖模式的克氏原螯虾肉FAA的TAV
Table 2 Taste activity values of free amino acids in meat of crayfish from different co-culture modes

氨基酸	阈值/(mg/g)	滋味属性	TAV					
			RC1	CC1	RC2	LC	CC2	RC3
天冬氨酸Asp	1.00	鲜(+)	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02
谷氨酸Glu	0.30	鲜(+)	0.82	0.40	1.18	0.69	0.73	0.56
苏氨酸Thr	2.60	甜(+)	0.96	0.68	0.74	0.71	0.47	0.46
丝氨酸Ser	1.50	甜(+)	0.56	0.27	0.58	0.40	0.27	0.27
甘氨酸Gly	1.30	甜(+)	1.06	0.29	1.67	0.95	1.15	0.77
丙氨酸Ala	0.60	甜(+)	3.31	2.14	4.53	3.00	4.74	2.92
脯氨酸Pro	3.00	甜(+)	0.20	0.13	0.12	0.12	0.04	0.07
精氨酸Arg	0.50	苦(+)	31.72	29.58	29.86	25.44	31.30	29.52
赖氨酸Lys	0.50	甜/苦(-)	1.06	1.13	1.23	0.98	0.41	0.56
缬氨酸Val	0.40	甜/苦(-)	1.13	0.56	0.75	0.73	0.35	0.46
酪氨酸Tyr	2.60	苦(X)	0.25	0.16	0.31	0.24	0.28	0.19
苯丙氨酸Phe	0.90	苦(-)	0.17	0.08	0.06	0.11	0.02	0.10
异亮氨酸Ile	0.90	苦(-)	0.23	0.08	0.14	0.17	0.08	0.10
亮氨酸Leu	1.90	苦(-)	0.20	0.09	0.13	0.15	0.07	0.09
半胱氨酸Cys	2.50	苦/甜/酸(-)	0.05	0.04	0.06	0.06	0.04	0.04
蛋氨酸Met	0.30	苦/甜/酸(-)	0.71	1.25	0.86	0.80	0.44	0.54
组氨酸His	0.20	苦(-)	3.48	3.07	3.48	2.86	1.84	2.35

注: +、令人愉快的口味; -、令人不快的口味; X、分类不明。

2.3 相关性分析

在做PCA之前, 需对数据进行适应性检验^[14]。如表3所示, 各氨基酸之间有正相关也有负相关, 且大部分呈显著相关 (P<0.05), 尤其是Glu与Ser, Gly与Ala,

表3 FAA间相关性分析
Table 3 Correlation analysis among free amino acids

氨基酸	Asp	Glu	Thr	Ser	Gly	Ala	Pro	Arg	Lys	Val	Tyr	Phe	Ile	Leu	Cys	Met	His
Asp	1.000																
Glu	0.702**	1.000															
Thr	-0.008	0.448	1.000														
Ser	0.415**	0.834**	0.827**	1.000													
Gly	0.793**	0.963**	0.293	0.724**	1.000												
Ala	0.782**	0.796**	0.078	0.422*	0.875**	1.000											
Pro	-0.200	0.248	0.949**	0.714**	0.056	-0.193	1.000										
Arg	0.497*	0.458	0.374	0.362	0.407*	0.632**	0.219	1.000									
Lys	-0.210	0.409	0.794**	0.699**	0.190	-0.083	0.810**	0.148	1.000								
Val	0.090	0.478	0.939**	0.854**	0.317	0.047	0.933**	0.311	0.705	1.000							
Tyr	0.712**	0.876**	0.382	0.641**	0.901**	0.922**	0.117	0.652**	0.198**	0.329	1.000						
Phe	-0.257	-0.162	0.384	0.255	-0.256	-0.494*	0.533*	-0.247	0.226	0.555**	-0.420*	1.000					
Ile	0.218	0.492	0.856**	0.819**	0.408*	0.144	0.801**	0.246	0.508*	0.931**	0.416*	0.545*	1.000				
Leu	0.130	0.458	0.910**	0.829**	0.344	0.074	0.878**	0.255	0.599**	0.969**	0.361	0.567**	.989**	1.000			
Cys	0.388	0.698**	0.682**	0.754**	0.608**	0.457*	0.524*	0.503*	0.592**	0.649**	0.705**	-0.005	0.662**	0.656**	1.000		
Met	-0.536*	-0.047	0.467*	0.179	-0.265	-0.319	0.546*	0.134	0.808**	0.305	-0.112	0.021	0.053	0.171	0.306	1.000	
His	0.016	0.528	0.890**	0.830**	0.321	0.059	0.875**	0.367	0.944**	0.845**	0.346	0.298	0.681**	0.755**	0.719**	0.668**	1.000

注：*，显著相关 (P<0.05)；**，极显著相关 (P<0.01)。

Pro与Thr、Lys、Val、Ile、Leu、His，Val与Thr、Asp、Pro，His与Thr、Ser、Pro、Lys、Val等之间相关系数在0.8以上，这表明克氏原螯虾肉中的FAA间相关性较强，可通过PCA对不同养殖模式克氏原螯虾肉中的FAA进行综合评价。

2.4 不同养殖模式的克氏原螯虾肉FAA的PC差异

特征值代表某一项PC所反映原始变量信息的权重，由表4可知，经PCA所抽取的3个PC特征值均大于1，累计方差贡献率为89.937%（累计方差贡献率大于85%即被认为能较好地反映原始信息）。选取前3个PC，反映不同养殖模式克氏原螯虾肉FAA的大部分信息。由图1可知，6组养殖模式的克氏原螯虾肉FAA的区分效果较好，所有数据点均位于95%置信区间内。

表4 PC的特征值和贡献率

Table 4 Eigenvalues of principal components and their contribution rates and cumulative contribution rates

PC	特征值	贡献率/%	累计贡献率/%
1	8.829	51.934	51.934
2	4.717	27.747	79.681
3	1.743	10.256	89.937

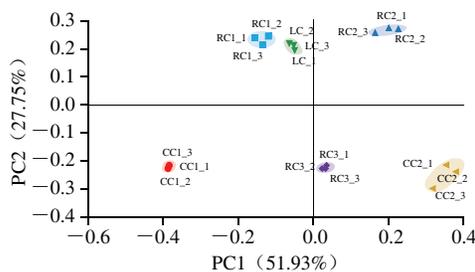


图1 不同养殖模式的克氏原螯虾肉FAA的PCA得分图

Fig. 1 PCA score plot of major free amino acids in meat of crayfish from different co-culture modes

如表5所示，特征向量代表各氨基酸在所提取3个PC矩阵中的权重系数，载荷值表示原始变量对所取因子影响的大小，正负代表方向。3个PC从不同方面反映不同养殖模式的克氏原螯虾肉FAA的综合品质，PC1方差贡献率为51.934%，主要代表Ser、Thr、Val、His、Leu、Ile、Cys、Glu、Gly、Pro、Tyr的信息。PC2方差贡献率为27.747%，主要代表Pro、Glu、Ala、Asp、Gly、Tyr、Phe、Met的变异信息。PC3方差贡献率为10.256%，其载荷绝对值最大的前2位是Phe、Met。3个PC基本上能代表所测氨基酸的大部分信息。

表5 PC的特征向量与载荷矩阵

Table 5 Principal component eigenvectors and loading matrix

氨基酸	PC1		PC2		PC3	
	特征向量	载荷	特征向量	载荷	特征向量	载荷
Ser	0.323	0.961	0.037	0.081	-0.073	-0.097
Thr	0.306	0.910	-0.153	-0.332	0.016	0.021
Val	0.306	0.908	-0.150	-0.325	-0.160	-0.211
His	0.299	0.888	-0.146	-0.317	0.204	0.269
Leu	0.297	0.883	-0.126	-0.274	-0.257	-0.339
Ile	0.291	0.864	-0.082	-0.178	-0.318	-0.420
Cys	0.283	0.842	0.081	0.176	0.133	0.175
Pro	0.269	0.799	-0.262	-0.568	-0.008	-0.011
Glu	0.254	0.754	0.263	0.571	0.027	0.035
Lys	0.250	0.744	-0.200	-0.435	0.322	0.425
Arg	0.166	0.492	0.192	0.418	0.216	0.285
Ala	0.130	0.385	0.410	0.891	0.060	0.079
Asp	0.112	0.331	0.379	0.823	-0.193	-0.255
Gly	0.209	0.620	0.334	0.725	-0.054	-0.071
Tyr	0.218	0.648	0.331	0.719	0.098	0.130
Phe	0.085	0.253	-0.295	-0.641	-0.464	-0.613
Met	0.106	0.314	-0.260	-0.565	0.568	0.750

氨基酸进行呈味贡献评价。TAV>1时, 该种呈味物质对于食物呈味有影响, 数值越大贡献越大; TAV<1时, 表示该物质呈味贡献不大。Arg是所有养殖模式的克氏原螯虾肉中占FAA总量比例最高的氨基酸。Arg加入蔗糖、谷氨酸钠、NaCl、咖啡和柠檬酸等溶液中改善对各物质甜、鲜、咸、苦、酸的感知^[27]。只有RC2模式的克氏原螯虾肉中Glu的TAV大于1, RC、RC2、CC2克氏原螯虾肉中的Gly的TAV大于1, 呈味作用差异显著。通过对FAA滋味的综合分析, 发现养殖模式RC2的克氏原螯虾肉的鲜味和甜味氨基酸的TAV最高, 味道最为鲜美。不同的养殖模式中使用的饲料营养成分^[28-30]、放养密度和形式^[8]、形成的微生态系统^[6]、饲养环境如水温、pH值、含氧量、微生物^[19,23-24]、克氏原螯虾肠道微生物等的差异^[13], 可能造成了克氏原螯虾肌肉中FAA的组成和含量的不同。

PCA可以将原始变量的大量指标信息用较少的变量(通常为5个以内)反映出来^[14], 已被广泛用于农产品品质评价。本实验利用PCA, 从17种氨基酸中提取得到3个PC变量较好地反映了克氏原螯虾肉FAA品质的综合信息。各氨基酸与相应PC的相关性由载荷值表明, 载荷值的绝对值越大, 相关程度越高。表5结果表明, 所提取的3个PC变量基本上能代表所测氨基酸的大部分信息。利用3个PC变量建立综合评价模型: $PC=0.519PC1+0.277PC2+0.103PC3$, 通过该模型进行计算, 得分越高反映不同养殖模式的克氏原螯虾肉中FAA品质越好。聚类分析利用确定的标准如欧氏距离或曼哈坦聚类计算样品之间的相关性, 根据相关程度将各评价对象进行简化合并, 可以更直观地综合比较评价对象^[31]。PCA结合聚类分析可以简化品质评价工作^[31]。聚类分析将6组克氏原螯虾肉分为3类, 与PCA结果相近, RC2品质最好, CC1、CC2、RC3的品质较差, 可以较好地体现不同养殖模式的克氏原螯虾肉的差异性。FAA品质的差异性受养殖的环境、生物模式、投放虾苗情况及饲喂情况等多种因素的影响, 本研究结果可为地方特色克氏原螯虾养殖模式、氨基酸营养价值、滋味品质提升等提供一定参考依据。

4 结论

兴化地区不同养殖模式的克氏原螯虾肉中FAA的总含量在21.80~27.11 mg/g之间, 其中养殖模式RC1的克氏原螯虾肉FAA含量最高(27.11±1.03) mg/g。Arg在6组克氏原螯虾肉中均为含量最高的FAA, 占总FAA的含量最高达67.76%(RC3), 最低55.64%(RC2)。RC2

养殖模式的克氏原螯虾肉中鲜味氨基酸和甜味氨基酸的含量最高, CC1养殖模式的鲜味和甜味氨基酸含量最低。大部分氨基酸的TAV小于1, 对克氏原螯虾肉的风味无贡献。通过FAA的滋味综合分析发现养殖模式RC2克氏原螯虾肉的鲜味和甜味氨基酸TAV最高, 味道最为鲜美。PCA建立的综合评价模型计算结果表明, RC2得分最高品质最好, CC1模式得分最低品质较差。聚类分析将6组克氏原螯虾肉分为3类, 与PCA结果结合较好地体现了不同养殖模式克氏原螯虾肉的差异性。综上所述, 在虾肉FAA的品质方面, 稻虾模式(一稻二虾)养殖的克氏原螯虾肉品质相对较好, 虾蟹混养模式较差。克氏原螯虾在我国养殖地域广泛, 养殖模式众多, 本研究为筛选适合养殖滋味鲜美的克氏原螯虾的模式提供一定的基础, 为建立优质克氏原螯虾的养殖模式提供更全面的指导, 需要结合克氏原螯虾肉的其他品质性质进行综合分析。

参考文献:

- [1] BARBARESI S, SANTINI G, TRICARICO E, et al. Ranging behaviour of the invasive crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard)[J]. *Journal of Natural History*, 2004, 38(22): 2821-2832. DOI:10.1080/00222930410001663308.
- [2] LI Y H, GUO X W, CAO X J, et al. Population genetic structure and post-establishment dispersal patterns of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* in China[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(7): e40652. DOI:10.1371/journal.pone.0040652.
- [3] 王曜, 陈舜胜. 野生与养殖克氏原螯虾游离氨基酸的组成及比较研究[J]. *食品科学*, 2014, 35(11): 269-273. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201411054.
- [4] 于秀娟, 郝向举, 党子乔, 等. 中国小龙虾产业发展报告(2022)[J]. *中国水产*, 2022(6): 47-54.
- [5] SONG C, ZHANG J W, HU G D, et al. Risk assessment of chlorantraniliprole pesticide use in rice-crab coculture systems in the basin of the lower reaches of the Yangtze River in China[J]. *Chemosphere*, 2019, 230: 440-448. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.05.097.
- [6] GUO H S, QI M, HU Z J, et al. Optimization of the rice-fish coculture in Qingtian, China: 1. Effects of rice spacing on the growth of the paddy fish and the chemical composition of both rice and fish[J]. *Aquaculture*, 2020, 522: 735106. DOI:10.1016/j.aquaculture.2020.735106.
- [7] NAI J H, CHUN L, QIAN C, et al. Life cycle environmental impact assessment of rice-crayfish integrated system: a case study[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 280: 124440. DOI:10.1016/j.jclepro.2020.124440.
- [8] 邵乃麟. 黄鳝-克氏原螯虾-水稻高效生态种养模式的探索[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.
- [9] GUO L, ZHAO L F, YE J L, et al. Using aquatic animals as partners to increase yield and maintain soil nitrogen in the paddy ecosystems[J]. *eLife*, 2022, 11: e73869. DOI:10.7554/eLife.73869.
- [10] YANG Z J, FENG Y M, ZHANG S L, et al. Effects of rice-prawn (*Macrobrachium nipponense*) co-culture on the microbial community of soil[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2022, 106(21): 7361-7372. DOI:10.1007/s00253-022-12164-x.

- [11] LI C S, CHEN Y J, HUANG L L, et al. Potential toxicity and dietary risk of triclyazole to Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) in the rice-crab co-culture model[J]. Environmental Pollution, 2023, 316: 120514. DOI:10.1016/j.envpol.2022.120514.
- [12] NING K, JI L, ZHANG L, et al. Is rice-crayfish co-culture a better aquaculture model: from the perspective of antibiotic resistome profiles[J]. Environmental Pollution, 2022, 292(Pt B): 118450. DOI:10.1016/j.envpol.2021.118450.
- [13] LIU Q, LONG Y N, LI B, et al. Rice-shrimp culture: a better intestinal microbiota, immune enzymatic activities, and muscle relish of crayfish (*Procambarus clarkii*) in Sichuan province[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(21): 9413-9420. DOI:10.1007/s00253-020-10797-4.
- [14] 杜子芳. 多元统计分析[M]. 北京: 清华大学出版社, 2016.
- [15] 范婷婷, 赵晓燕, 李晓贝, 等. 人工栽培和野生羊肚菌游离氨基酸主成分分析及综合评价[J]. 食品科学, 2022, 43(6): 295-302. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210308-096.
- [16] SHALLENBERGER R S. Amino acids, peptides, and proteins[M]// Taste chemistry. Boston, MA: Springer US, 1993: 213-252. DOI:10.1007/978-1-4615-2666-7_8.
- [17] CHEN D W, ZHANG M. Non-volatile taste active compounds in the meat of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. Food Chemistry, 2007, 104(3): 1200-1205. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.01.042.
- [18] SHAHIDI F. Flavor of meat, meat products and seafood[M]. 2nd ed. New York: Springer, 1998.
- [19] FUKU S, KONOSU S. Taste-active components in some foods: a review of Japanese research[J]. Physiology & Behavior, 1991, 49(5): 863-868. DOI:10.1016/0031-9384(91)90195-T.
- [20] KATO H, RHUE M, NISHIMURA T. Role of free amino-acids and peptides in food taste[J]. ACS Symposium Series, 1989, 388: 158-174.
- [21] JIANG J J, ZENG Q X, ZHU Z W, et al. Chemical and sensory changes associated Yu-lu fermentation process: a traditional Chinese fish sauce[J]. Food Chemistry, 2007, 104(4): 1629-1634. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.03.024.
- [22] OKUMA E, FUJITA E, AMANO H, et al. Distribution of free *D*-amino acids in the tissues of crustaceans[J]. Fisheries Science, 1995, 61(1): 157-160. DOI:10.2331/fishsci.61.157.
- [23] WANG S, HE Y, WANG Y Y, et al. Comparison of flavour qualities of three sourced *Eriocheir sinensis*[J]. Food Chemistry, 2016, 200: 24-31. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.12.093.
- [24] HASHIMOTO S I. Discovery and history of amino acid fermentation[J]. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, 2017, 159: 15-34. DOI:10.1007/10_2016_24.
- [25] JARA C P, DE ANDRADE BERTI B, MENDES N F, et al. Glutamic acid promotes hair growth in mice[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 15453. DOI:10.1038/s41598-021-94816-y.
- [26] 张宁龙. 养殖河鲢鱼特征性滋味组分及呈味肽的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.
- [27] MELIS M, BARBAROSSA I T. Taste perception of sweet, sour, salty, bitter, and umami and changes due to *L*-arginine supplementation, as a function of genetic ability to taste 6-*n*-propylthiouracil[J]. Nutrients, 2017, 9(6): E541. DOI:10.3390/nu9060541.
- [28] 于宁, 朱站英, 冯文和, 等. 克氏原螯虾饲料最适能量蛋白质比[J]. 动物营养学报, 2014, 26(4): 1111-1119. DOI:10.3969/j.issn.1006-267x.2014.04.033.
- [29] TAO H, DU B B, WANG H, et al. Intestinal microbiome affects the distinctive flavor of Chinese mitten crabs in commercial farms[J]. Aquaculture, 2018, 483: 38-45. DOI:10.1016/j.aquaculture.2017.09.031.
- [30] LI Y D, LI L S, YU Y L, et al. Impact of dietary protein content on soil bacterial and fungal communities in a rice-crab co-culture system[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 696427. DOI:10.3389/fmicb.2021.696427.
- [31] 刘伟, 张群, 李志坚, 等. 不同品种黄花菜游离氨基酸组成的主成分分析及聚类分析[J]. 食品科学, 2019, 40(10): 243-250. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180523-336.