

宣威火腿加工过程游离氨基酸变化规律研究

王金浩¹, 王桂瑛², 尚思奇², 谷大海², 殷红³, 程志斌², 党亚丽⁴, 廖国周^{2*}

(1. 云南万芳生物技术有限公司技术中心, 昆明 650117; 2. 云南农业大学食品科学技术学院, 昆明 650201;
3. 云南出入境检验检疫局技术中心, 昆明 650228; 4. 浙江省医学科学院保健食品研究所, 杭州 310013)

摘要: **目的** 确定宣威火腿加工过程主要游离氨基酸的变化规律, 为其风味形成机制研究提供科学依据。**方法** 以宣威火腿为研究对象, 利用氨基酸自动分析仪检测宣威火腿不同加工阶段(鲜肉、腌制后 90 d、210 d、270 d 与 360 d)的股二头肌肌肉中游离氨基酸含量。**结果** 在腌制过程中, 宣威火腿肌肉中游离氨基酸的含量呈现持续上升趋势。其中, 腌制 360 d 的肌肉中游离氨基酸的含量最高, 此阶段含量较高的游离氨基酸分别为谷氨酸(Glu)、赖氨酸(Lys)、丙氨酸(Ala)和亮氨酸(Leu), 较低的分别为组氨酸(His)、蛋氨酸(Met)、苏氨酸(Thr)和酪氨酸(Tyr)。**结论** 加工过程游离氨基酸含量变化对宣威火腿风味的形成有重要贡献。

关键词: 宣威火腿; 加工; 游离氨基酸

Changes of free amino acid during processing of Xuanwei ham

WANG Jin-Hao¹, WANG Gui-Ying², SHANG Si-Qi², GU Da-Hai², YIN Hong³, CHENG Zhi-Bin²,
DANG Ya-Li⁴, LIAO Guo-Zhou^{2*}

(1. Technology Center of Yunnan Wonfine Biotechnology Company Limited, Kunming 650117, China; 2. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 3. Technology Center of Yunnan Entry-Exit Inspection and Quarantine, Kunming 650228, China; 4. Health Food Research Institute, Zhejiang Academy of Medical Science, Hangzhou 310013, China)

ABSTRACT: Objective To determine the variation of mainly free amino acids during the processing Xuanwei ham, and to provide a scientific basis for the formation mechanism of its flavor. **Methods** The contents of free amino acids were determined by automatic amino acid analyzer during processing (fresh, souse 90, 210, 270 and 360 d) of Xuanwei ham. **Results** The content of free amino acids in the muscle of Xuanwei ham showed a rising trend during fermentation, and reached the largest value on 360 d stage. The free amino acids with high content were Glu, Lys, Phe and Ile, the lower-content were His, Met, Thr and Tyr. **Conclusion** It have important contributions to the formation of Xuanwei ham flavor in the content change of free amino acids.

KEY WORDS: Xuanwei ham; processing; free amino acid

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201303082)、云南省现代农业生猪产业技术体系专项(2014KJTX007)、国家自然科学基金项目(31440068)

Fund: Supported by Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (201303082), Special Fund for Swine Industry Technology System of Yunnan Modern Agriculture (2014KJTX007) and National Natural Science Foundation of China (31440068)

*通讯作者: 廖国周, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为畜产品加工与质量控制。E-mail: lgzwy@126.com

*Corresponding author: LIAO Guo-Zhou, Associate Professor, Yunnan Agricultural University, Fengyuan Road, Panlong District, Kunming 650201, China. E-mail: lgzwy@126.com

1 引言

风味是干腌火腿的重要品质指标, 目前国内外研究表明, 蛋白质分解后的肽与游离氨基酸, 以及脂肪分解产生的游离脂肪酸等挥发性物质对干腌火腿的风味起到重要作用^[1-4]。游离氨基酸作为火腿风味的重要组成成分, 受猪的品种、加工工艺、气候等因素影响^[5-9]。20 世纪 80 年代以来, 国内学者先后对金华火腿进行了较为深入的研究, 系统阐明了其风味形成机制^[10-13], 但对我国其他干腌火腿成熟机制的研究还缺乏系统性。

宣威火腿是云南省重要传统风味肉制品之一, 其以肉质厚、精肉多、蛋白丰富、鲜嫩可口, 咸淡相宜、食而不腻而享有盛名。宣威火腿属于自然发酵肉制品, 制作过程中长时间的晾挂风干及特殊环境下的自然发酵为其风味的形成提供了物质基础^[14]。目前, 国内外对于干腌火腿加工过程游离氨基酸的变化规律的研究已有较多报道, 为其风味形成机制的研究奠定基础^[15-21]。乔发东等^[22]对 4、6 和 12 个月宣威火腿中的游离氨基酸含量进行研究, 结果表明随着加工时间的延长, 样品干物质中总游离氨基酸含量增加, 并且在每个阶段深层肌肉中游离氨基酸的含量高于表层肌肉。然而, 其对于宣威火腿加工过程游离氨基酸变化规律的研究尚不够深入。因此, 本文以宣威火腿为研究对象, 对宣威火腿不同加工阶段的游离氨基酸含量进行分析, 以期确定主要游离氨基酸对风味的贡献, 为研究宣威火腿的风味形成机制提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 原料的选择及处理

以 25 条宣威当地含乌金猪血统的杂交猪后腿为原料(品种一致、日龄相似、腿重相近), 按传统加工工艺加工宣威火腿, 火腿加工在宣威市宣泰火腿有限公司进行。在火腿加工过程中, 分别在腌制前、腌制后 90、210、270 与 360 d 这 5 个加工阶段随机取出 5 条火腿, 以股二头肌为中心取约 100 g 样品, 然后真空包装, 分析前-20 °C 保存。

2.2 游离氨基酸的测定

参考 Liao 等^[23]的测定方法。称取绞碎的肉样 1 g

左右于 50 mL 离心管中, 加入 8%的磺基水杨酸 25 mL, 将离心管置于冰水中匀浆, 然后离心 13 min, 转速为 8000 r/min。取上清液用微孔过滤器(孔径: 0.45 μm)过滤后, 用 L-8500 氨基酸分析仪测定。色谱条件: 标准分析柱 4.6 mm×60.0 mm, 反应柱温度: 57.0 °C, 反应器温度: 136.0 °C, 缓冲液流速 0.4 mL/min, 茚三酮溶液流速 0.350 mL/min, 自动进样 20 μm。

2.3 数据处理

试验数据采用 SPSS 12.0 软件进行统计分析, 采用方差分析, 结果以 Mean±SD 表示。

3 结果与分析

3.1 宣威火腿加工过程各种游离氨基酸的变化

干腌火腿中的游离氨基酸与火腿风味的形成密切相关, 各种氨基酸含量的多少决定着腌制后干腌火腿其独特的风味, 因此分析不同加工阶段火腿中游离氨基酸的含量, 可以表征游离氨基酸的变化规律, 对其风味形成的研究有重要的意义。

由表 1 可知, 各种游离氨基酸的含量均随宣威火腿加工进程有不同程度的变化。大体可分为两种趋势, 其中天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、组氨酸(His)、苏氨酸(Thr)、精氨酸(Arg)、酪氨酸(Tyr)、半胱氨酸(Cys)、赖氨酸(Lys)、脯氨酸(Pro)的含量逐渐升高, 腌制到 360 d 升至最大值。其中 Glu、Lys、Pro 和 Cys 的含量在每个腌制期都有显著地变化, His、Thr、Arg 和 Tyr 的含量在腌制天数达到 270 d 以后没有明显的变化; 而丝氨酸(Ser)、甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、蛋氨酸(Met)、苯丙氨酸(Phe)异亮氨酸(Ile)和亮氨酸(Leu)则是先逐渐升高, 腌制 270 d 后含量又下降。其中, 只有 Ser 含量在第 210 d 出现最大值, 为 205 mg/100 g, 且明显高于 90 d 和 270 d, 其余氨基酸都在第 270 d 观察到有最大值, 但 Val 和 Met 的含量在 360 d 时却没有明显下降。总体上看, 随着腌制时间的延长, 总游离氨基酸的含量呈明显的上升趋势, 尤其是在第 90 d, 其含量是腌制前的 4.66 倍, 说明腌制初期对游离氨基酸含量有明显的影响; 而在 270 d 过后, 其增长的趋势并不明显。

表1 宣威火腿加工过程中游离氨基酸的含量变化($n=5$)(mg/100 g)
Table 1 Changes of free amino acids during processing of Xuanwei ham($n=5$)(mg/100 g)

氨基酸	腌制前	90 d	210 d	270 d	360 d
天冬氨酸(ASP)	29.90±7.36 ^a	129.92±31.01 ^b	162.76±20.43 ^c	173.23±53.20 ^{cd}	186.06±53.34 ^d
谷氨酸(GLU)	47.87±5.48 ^a	421.35±55.34 ^b	498.65±21.28 ^c	790.86±17.38 ^d	943.73±61.17 ^e
丝氨酸(SER)	31.27±7.06 ^a	114.62±22.02 ^b	205.09±22.17 ^c	166.41±38.09 ^d	160.18±12.64 ^d
组氨酸(HIS)	27.39±5.96 ^a	91.58±4.81 ^b	102.62±15.15 ^c	127.83±55.90 ^d	129.73±51.90 ^d
甘氨酸(GLY)	72.50±15.90 ^a	106.24±19.64 ^b	134.85±8.42 ^c	176.23±19.65 ^d	156.17±38.63 ^c
苏氨酸(THR)	35.76±7.60 ^a	67.09±9.95 ^b	102.05±20.15 ^c	140.27±7.76 ^d	145.69±56.03 ^d
精氨酸(ARG)	23.44±4.23 ^a	158.87±37.34 ^b	179.75±21.08 ^c	230.89±14.69 ^d	251.36±34.87 ^d
丙氨酸(ALA)	165.45±18.78 ^a	409.85±51.67 ^b	428.16±46.43 ^c	527.10±6.05 ^d	503.07±42.73 ^c
酪氨酸(TYR)	30.65±6.76 ^a	77.90±13.05 ^b	97.62±13.83 ^c	143.63±3.45 ^d	148.37±16.89 ^d
半胱氨酸(CYS-S)	8.92±4.28 ^a	4.03±1.45 ^{ab}	3.04±1.16 ^b	14.34±3.54 ^c	68.92±3.83 ^d
缬氨酸(VAL)	17.50±2.65 ^a	134.45±12.63 ^b	137.64±3.52 ^b	237.38±18.37 ^c	235.19±19.86 ^c
蛋氨酸(MET)	10.54±5.67 ^a	86.56±7.43 ^b	106.83±1.04 ^c	136.14±7.65 ^d	132.04±10.22 ^d
苯丙氨酸(PHE)	15.90±4.63 ^a	135.67±10.78 ^b	137.16±6.07 ^b	185.73±64.16 ^c	162.02±16.81 ^d
异亮氨酸(ILE)	14.65±3.34 ^a	137.73±11.28 ^b	154.63±2.06 ^c	237.34±11.07 ^d	208.06±11.15 ^c
亮氨酸(LEU)	53.45±9.76 ^a	355.54±29.64 ^b	375.69±8.10 ^c	555.09±29.37 ^d	448.61±55.18 ^c
赖氨酸(LYS)	25.67±5.94 ^a	441.54±45.64 ^b	489.87±30.63 ^c	741.36±45.83 ^d	881.05±15.20 ^c
脯氨酸(PRO)	24.73±3.86 ^a	173.26±87.47 ^b	243.73±97.53 ^c	207.36±35.94 ^d	263.09±18.73 ^c
总游离氨基酸	653.59±119.26 ^a	3046.20±451.15 ^b	3560.24±338.42 ^c	4791.19±432.10 ^f	5023.34±519.18 ^f

注: 同行肩标相同字母差异不显著($P>0.05$); 所有数据均为干物质基础。

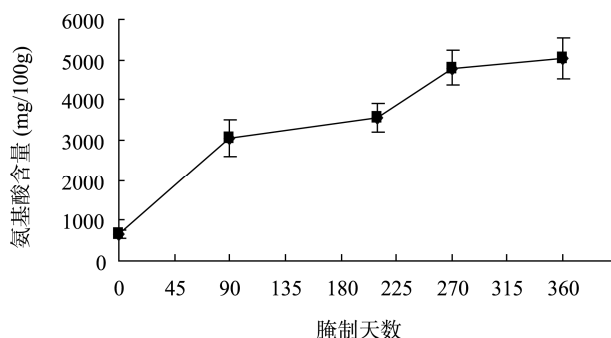


图1 宣威火腿加工过程总游离氨基酸含量变化

Fig. 1 Change of total free amino acids during processing of Xuanwei ham

3.2 宣威火腿加工过程总游离氨基酸的变化

由图1可知,随着腌制时间的延长,腌制前总游离氨基酸含量为 653.59 mg/100 g;腌制加工后总游离氨基酸的含量随着时间的延长呈现逐渐升高趋势,腌制 90 d 至 210 d 后(即 2 月份到 6 月份间),总游离

氨基酸的含量分别为 3046.20 mg/100 g 和 3560.24 mg/100 g,期间的增长速变得缓慢;腌制 210 d 至 270 d 后(即 6 月份到 8 月份间)总游离氨基酸含量又迅速升高,随后在 360 d 其含量达到最高,为 5023.34 mg/100g,是腌制前的 7.7 倍。

4 讨论

干腌火腿加工过程风味的形成是一个非常复杂的过程,涉及很多生物化学反应,其中肌肉蛋白质发生水解反应产生大量的小肽和游离氨基酸^[15]。作为火腿风味的前体物, Glu 和 Asp 具有鲜味, Arg、leu、Ile、Val、Phe、Met 和 His 具有苦味, Gly、Ala 和 Ser 具有甜味, Lys 和 Pro 兼有甜味和苦味,个别氨基酸还具有酸味和咸味。考虑到这些游离氨基酸的相对含量和呈味阈值,火腿中某些游离氨基酸浓度过高可能会使火腿表现出明显苦味,尤其是 Arg、Met、Leu 和 Ile,因为这几种氨基酸苦味阈值都很低^[24]。适当

的苦味可能对火腿的整体风味有利, 但苦味过重则有损火腿的质量^[25]。竺尚武^[20]在伊比利亚火腿肌肉中, 发现 Glu 含量最高, Glu 和 Asp 都是伊比利亚火腿的主要呈味物质。赵改名等^[12]研究表明金华火腿肌肉中的游离氨基酸含量随着加工进程逐渐升高, 成品火腿的游离氨基酸以 Glu、Lys、Ala、Leu 等含量较高, 其他游离氨基酸的浓度也都超过其成味阈值很多倍, 对火腿风味的呈现都起到了重要的作用。

本试验发现, 与腌制前相比, 火腿中大部分游离氨基酸含量都提高了 10~20 倍左右, 其中 Lys 升高最多, 达 40 倍以上, 其次是 Glu、Ile、Met 和 Val 等, 但 Arg 和 His 的增加量比预计要低, 这结果与相关报道一致^[19,21]。这两种氨基酸都具有与还原性化合物进行强烈美拉德反应的特点, 并且干腌火腿中存在大量的醛类化合物, 因此, 参与美拉德反应可能是这类氨基酸增加较少的原因, 而半胱氨酸因拥有活泼的 -SH 基团, 易参加氧化等反应过程而失去其氨基酸特性, 这可能是其含量变化不大的主要原因^[15,26]。另外, 本研究中总游离氨基酸含量在腌制 210 d 至 270 d 后迅速升高, 随后在 360 d 其含量达到最高, 此阶段含量较高的游离氨基酸分别为 Glu、Lys、Ala 和 Leu, 浓度超过其感觉阈值多倍, 对宣威火腿的风味形成产生重要作用。出现这种现象的原因可能与发酵阶段的环境温度有关, 宣威地区 6 月份到 8 月份的气温较其他月份高, 有利于发挥氨肽酶在肌肉组织中的作用, 加速总游离氨基酸的增长速度。而腌制 270 d 至 360 d 后, 总游离氨基酸含量升高缓慢可能是由于产生的游离氨基酸发生氧化、水解及参与美拉德反应而被大量消耗所致, 这与 Cordoba^[17]和 Toldra^[27]等的报道相似。

5 结 论

宣威火腿肌肉蛋白质在加工过程中发生了很强的水解变化, 游离氨基酸的含量随加工时间延长而不断升高, 其中, 腌制 360 d 的肌肉中游离氨基酸的含量最高, 此阶段含量较高的游离氨基酸分别为 Glu、Lys、Ala 和 Leu, 较低的分别为 His、Met、Thr 和 Tyr。可见游离氨基酸含量的变化对宣威火腿风味的形成有重要作用。

参考文献

[1] Huan YJ, Zhou GH, Zhao GM, *et al.* Changes in flavor

compounds of dry-cured Chinese Jinhua ham during processing [J]. *Meat Sci*, 2005, 71: 291–299.

- [2] 章建浩, 周光宏. 干腌火腿的风味研究[J]. *食品科学*, 2003, 24(3): 158–161.
Zhang JH, Zhou GH. Study on flavor of dry-cured ham [J]. *Food Sci*, 2003, 24(3): 158–161.
- [3] Toldra F. Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products [J]. *Meat Sci*, 1998, 22(12): 44–47.
- [4] 章建浩, 黄明, 赵改名, 等. 干腌火腿工艺过程蛋白质与脂质分解氧化剂期对风味的贡献[J]. *食品工业科技*, 2003, 24(12): 103–105.
Zhang JH, Huang M, Zhao Gai-MingM, *et al.* Proteolysis, lipolysis & lipid oxidation and their contributions to the flavor of dry-cured ham during its processing [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2003, 24(12): 103–105.
- [5] Hinrichsen L, Pedersen SB. Relationship among flavor, volatile compounds, chemical changes, and microflora in Italian-type dry-cured ham during processing [J]. *J Agric Food Chem*, 1995, 43: 2932–2940.
- [6] Cordoba JJ, Antequera RT, Garcia GC. Evolution of free amino acid and amines during ripening of Iberian cured ham [J]. *J Agric Food Chem*, 1994, 42(10): 2296–2301.
- [7] Martin L, Antequera T, Ventanas J, *et al.* Free amino acid and other non-volatile compounds formed during processing of Iberian ham [J]. *Meat Sci*, 2001, 59: 363–368.
- [8] Virgili R, Sacconi G, Gabba L, *et al.* Changes of free amino acids and biogenic amines during extended ageing of Italian dry-cured ham [J]. *LWT*, 2007, 40: 871–878.
- [9] Sforza S, Pigazzania A, Mottia M, *et al.* Oligopeptides and free amino acids in Parma hams of known cathepsin B activity [J]. *Food Chem*, 2001, 75: 67–273.
- [10] 章建浩, 朱健辉, 王思凡, 等. 金华火腿工艺过程蛋白质水解及其相关性研究[J]. *食品科学*, 2004, 25 (10): 173–177.
Zhang JH, Zhu JH, Wang SF, *et al.* Correlation study between proteolysis and processing of Jinhua ham [J]. *Food Sci*, 2004, 25(10): 173–177.
- [11] Zhao GM, Zhou GH, Tian W, *et al.* Changes of alanyl aminopeptidase activity and free amino acid contents in biceps femoris during processing of Jinhua ham [J]. *Meat Sci*, 2005, 71: 612–619.
- [12] 赵改名, 周光宏, 柳艳霞, 等. 肌肉非蛋白氮和游离氨基酸在金华火腿加工过程中的变化[J]. *食品科学*, 2006, 2: 33–37.
Zhao GM, Zhou GH, Liu YX, *et al.* Muscle changes of non-protein nitrogen and free amino acids during Jinhua ham processing [J]. *Food Sci*, 2006, 2: 33–37.
- [13] Dang YL, Wang Z, Xu SY. Methods for extracting the taste compounds from water soluble extract of Jinhua ham [J]. *Eur*

- Food Res Technol, 2008, 228: 93–102.
- [14] 要萍, 乔发东, 闫红, 等. 宣威火腿挥发性风味成分的分离与鉴定[J]. 食品科学, 2004, 25(2): 146–150.
Yao P, Qiao FD, Yan H, *et al.* Isolation and identification of volatile compounds of xuanwei ham [J]. Food Sci, 2004, 25(2): 146–150.
- [15] Ventanas J, Cordoba JJ, Antequera T. *et al.* Hydrolysis and Maillard reactions during ripening of Iberian ham [J]. J Food Sci, 1992, 57(4): 813–815.
- [16] Careri M. Sensory property relationships to chemical data of Italian-type dry-cured ham [J]. J Food Sci, 1993, 58: 968–972.
- [17] Cordoba JJ, Antequera T, Garcia C, *et al.* Evolution of free amino acids and amines during ripening of Iberian cured ham [J]. J Agric Food Chem, 1994, 2(10): 2296–2301.
- [18] Toldra F, Part C. Pattern of muscle proteolytic and lipolytic enzymes from light and heavy pigs [J]. J Sci Food Agric, 1996, 71: 124–128.
- [19] Sforza S, Pigazzani A, Motti M, *et al.* Oligopeptides and free amino acids in Parma hams of known cathepsin B activity [J]. Food Chem, 2001, 75(3): 267–273.
- [20] 竺尚武. 西班牙的伊比利亚火腿[J]. 现代食品科技, 2004, 20(4): 131–134.
Zhu SW. Iberian ham of Spanish [J]. Mod Food Sci Technol, 2004, 20(4): 131–134.
- [21] 王燕, 吉杰丽, 朱仁俊. 撒坝火腿成熟过程中游离氨基酸的变化研究[J]. 现代食品科技, 2013, 36(5): 73–75.
Wang Y, Ji JL, Zhu RJ. Changes of free amino acids in saba ham during fermentation [J]. Mod Food Sci Technol, 2013, 36 (5): 73–75.
- [22] 乔发东, 马长伟, 杨红菊, 等. 宣威火腿加工过程中的理化变化与标准化生产技术[J]. 食品科学, 2006, 27(2): 136–140.
Qiao FD, Ma CW, Yang HJ, *et al.* Physico-chemical changes and standardized technology in Xuanwei ham processing [J]. Food Sci, 2006, 27(2): 136–140.
- [23] Liao GZ, Xu XL, Zhou GH. Effects of cooked temperatures and addition of antioxidants on formation of heterocyclic aromatic amines in pork floss [J]. J Food Proc Pre, 2009, 33: 159–175.
- [24] Wong M, Stanton DW. Nonenzymic browning in kiwi fruit juice concentrate systems during storage [J]. J Food Sci, 1989, 54: 669–673.
- [25] Virgili R, Schivazappa C, Parolari G, *et al.* Proteases in fresh pork muscle and their influence on bitter taste formation in dry-cured ham [J]. J Food Biochem, 1998, 22(1): 53–63.
- [26] Nishimura T, Rhue MR, Okitani A, *et al.* Components contributing to the improvement of meat taste during storage [J]. Agric Biol Chem, 1988, 52: 2323–2330.
- [27] Toldra F, Arisroy MC. Availability of essential amino acids in dry-cured ham [J]. Int J Food Sci Nutr, 1993, 44: 215–219.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



王金浩, 云南万芳生物技术有限公司
技术中心。
E-mail: 43322603@qq.com



廖国周, 副教授, 硕士生导师, 主要研
究方向为畜产品加工与质量控制。
E-mail: lgzwy@126.com