

# 卤猪肉加工过程中游离脂肪酸、游离氨基酸及核苷酸变化分析

孙承锋<sup>1</sup>, 周楠<sup>1</sup>, 朱亮<sup>1</sup>, 马超<sup>1</sup>, 杨建荣<sup>1</sup>, 张建梅<sup>2</sup>

(1. 烟台大学食品科学与工程研究所, 山东烟台 264005) (2. 烟台市喜旺食品有限公司, 山东烟台 264002)

**摘要:** 利用气相色谱质谱联用和高效液相色谱法检测分析了卤猪肉加工过程中游离脂肪酸、游离氨基酸及核苷酸的变化。结果表明, 在加工过程中, 总游离脂肪酸有效峰面积呈下降趋势, 饱和脂肪酸也呈现下降的变化趋势, 不饱和脂肪酸含量先增加后减少, 在高温煮制 1 h 时达到最大值。总游离氨基酸的含量在卤猪肉加工过程中变化明显, 在原料肉中总游离氨基酸含量为 244.39 mg/100 g, 其它样品中含量都显著 ( $p < 0.05$ ) 高于原料肉, 在二次煮制完成后达到最大值, 为 349.32 mg/100 g。谷氨酸在成品中的含量达到 119.02 mg/100 g, 占总游离氨基酸的 34.12%。呈味核苷酸检测结果显示, 在加工过程中 5'-IMP 和 5'-GMP 的含量呈现下降趋势。由于加热导致核苷酸热降解, 其降解产物肌苷的含量呈现上升趋势, 在成品中检测到其含量显著 ( $p < 0.05$ ) 高于原料肉中的含量。本研究结果为改进卤猪肉的生产工艺、提高产品品质提供了理论参考。

**关键词:** 卤猪肉; 游离脂肪酸; 游离氨基酸; 核苷酸

文章编号: 1673-9078(2016)6-200-206

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.6.032

## Changes in Free Fatty Acid, Free Amino Acid, and Nucleotide Content during Preparation of Stewed Pork

SUN Cheng-feng<sup>1</sup>, ZHOU Nan<sup>1</sup>, ZHU Liang<sup>1</sup>, MA Chao<sup>1</sup>, YANG Jian-rong<sup>1</sup>, ZHANG Jian-mei<sup>2</sup>

(1. Institute of Food Science and Engineering, Yantai University, Yantai 264005, China)

(2. Yantai Xiwang Food Co., Ltd., Yantai 264002, China)

**Abstract:** The changes in free fatty acids, free amino acids, and nucleotides during the process of stewed pork were investigated by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) and high performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that during processing, the effective peak area of the total free fatty acids showed a downward tendency; the saturated fatty acids also exhibited a decreasing tendency. The unsaturated fatty acid content was increased at first and subsequently decreased, and the content increased to the maximum value when the raw meat was cooked at a high temperature for one hour. The content of total free amino acids underwent significant changes during processing. The content of total free amino acids was 244.39 mg/100 g in the raw meat, and the content in samples from other processing stages were significantly higher ( $p < 0.05$ ) than those in raw meat. The content increased to the maximum value (349.32 mg/100 g) at the end of the secondary cooking stage. The glutamic acid content was 119.02 mg/100 g in the finished product, accounting for 34.12% of the total free amino acids. The results from measuring flavor nucleotides showed that the content of 5'-IMP and 5'-GMP showed a downward trend during processing. Due to the thermal degradation of nucleotides, the content of inosine, the degradation product, showed an upward tendency, and the content of inosine in the finished product was significantly higher ( $p < 0.05$ ) than that in raw meat. The results from the present study provide a theoretical reference to optimize the processing techniques of preparing stewed pork and improve product quality.

**Key words:** stewed pork; free fatty acids; free amino acids; nucleotides

卤猪肉是中式传统酱卤肉制品的代表性产品, 在北方地区习惯称之为烧肉。它是将原料肉 (一般是猪

收稿日期: 2015-10-08

基金项目: “十二五” 国家科技支撑计划项目 (2014BAD04B11); 山东省自然科学基金 (ZR2014GL036); 山东省高等学校科技计划项目 (J13LF01)

作者简介: 孙承锋 (1971-), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向:

农产品加工及贮藏工程

头肉) 解冻后, 在水中加食盐、酱油等调味料和香辛料经过高温煮制、剔骨、二次煮制后再进行冷却、榨汁等加工工艺制作而成的熟肉类制品, 其色泽美观、酱香浓郁, 独特的风味深受我国消费者的喜爱。在加工过程中, 肉中的大分子物质受热发生降解、氧化、还原等化学反应, 是风味物质的重要来源。因此, 主要的热处理过程-煮制过程是卤猪肉风味形成的关键。

肉的风味包括香味和滋味。一般来说,生鲜肉很少有香味,只有在煮制、油炸等不同形式和程度的热处理过程中肉中的风味前体物质发生一系列反应,产生出挥发性风味物质,才能产生香味。脂质是肉中重要的风味前体物质,在卤猪肉的风味形成中起着重要的作用。在肉制品加工过程中,脂质水解产生游离脂肪酸,游离脂肪酸氧化产生氢过氧化物,氢过氧化物再进一步分解为挥发性风味物质的基础。大量研究表明,大多数挥发性风味物质的产生是通过不饱和脂肪酸的氧化,以及其氧化产物与蛋白质、肽和游离氨基酸共同作用形成的<sup>[1]</sup>。脂肪酸氧化产生的风味物质主要是醛类、酮类、醇类、羧酸类、呋喃类等<sup>[2]</sup>。醛类作为脂质降解的最主要产物,参与了肉特征风味的形成<sup>[3]</sup>。

卤制肉中的主要滋味呈味物包括游离氨基酸、核苷酸等,游离氨基酸和核苷酸是肉中主要的呈鲜味物质。游离氨基酸本身影响产品滋味,又可通过 Strecker 降解和美拉德反应来影响产品风味,尤其是含硫氨基酸,如蛋氨酸、半胱氨酸、胱氨酸,经 Strecker 降解可以形成硫醇,硫醇进一步氧化可形成二甲基二硫化物、二甲基三硫化物等含硫化合物<sup>[4]</sup>,这些化合物阈值很低,对风味影响较大。

呈鲜味的代表性核苷酸主要有 5'-肌苷酸(5'-IMP)、5'-鸟苷酸(5'-GMP)。研究表明,MSG 和 IMP、GMP 呈现强烈地味的相乘作用,当 MSG 和 IMP (GMP) 以 1:1 的质量分数混合时,所呈现的鲜味是 MSG 单独呈现鲜味的 7.5 (30.0) 倍<sup>[5]</sup>。

目前,中式传统制品酱卤制品风味方面的研究多集中于酱牛肉、盐水鸭等产品,对于卤猪肉鲜有研究。本文选取了传统酱卤肉制品的代表性产品—卤猪肉为研究对象,主要探究了其游离脂肪酸、游离氨基酸及核苷酸在加工过程中的变化,为优化加工工艺、提高产品品质以及促进标准化生产提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 样品来源与试剂

卤猪肉:从某食品公司生产过程中的不同加工阶段取样:

原料肉(猪头肉)→高温煮制 1 小时→高温煮制完成→二次煮制完成→成品

取样后在 -18 °C 下冷藏备用。

17 种氨基酸标准品、5'-肌苷酸标准品、5'-鸟苷酸标准品、肌苷标准品、AMP 标准品、次黄嘌呤标准品、

衍生试剂均为色谱纯,乙酸、乙酸钠、氯化钠均为分析纯,实验室所用水均为高纯水,石油醚(沸程 30-60 °C)。

#### 1.1.2 仪器

气相质谱仪:GCMS-QP2010 型,日本岛津公司;高效液相色谱仪:安捷伦 1100,美国安捷伦公司;高速均质机:FSH-2 型,金坛万华仪器公司;高速组织捣碎机:DS-1 型,金坛万华仪器公司;冷冻离心机:LD5-10B 型,北京京力公司;电子恒温水浴锅:HH-6 型,国美电器有限公司;C18 柱:Athena C18-WP 型,上海安普科技仪器公司;氨基酸柱:4.6 mm×250 mm×5 μm,美国安捷伦公司;DB-Wax:30 m×0.25 mm×0.25 μm,美国安捷伦公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 游离脂肪酸分析及样品处理

游离脂肪酸样品处理方法:取一定量的待测样品,利用绞肉机将其绞碎并准确称取 5 g(精确到 0.001 g),在 103±2 °C 的温度下烘干至恒重。将烘干的试样和擦拭过表面皿的脱脂棉共同放进衬有脱脂棉的滤纸筒中,擦拭表面皿的脱脂棉用石油醚润湿。用索氏提取器进行抽提,抽提剂选择石油醚,抽提剂每 10 min 回流一次,抽提至少 6 h。抽提之后的溶液在 40 °C 旋转蒸发,直到蒸干其中的有机溶剂,得到游离脂肪。取 25 μL 游离脂肪与 2 mL 苯+乙醚(1:1)溶液混合摇匀,再加入 0.5 mol/L 的氢氧化钾甲醇溶液 2 mL,45 °C 恒温水浴 20 min,加入 10 mL 高纯水,混匀,静止,取上清液,用 0.22 μm 的微孔滤膜进行过滤,取样液 0.5 μL 进样分析。

气相色谱仪为日本岛津 GCMS-QP2010 型气相色谱仪。色谱条件:色谱柱为 DB-Wax (30 m×0.25 mm×0.25 μm),载气为氦气。流速为 1.0 mL/min,分流比 30:1,压力 80 kPa,进样口温度为 230 °C。起始温度为 150 °C,保持 2 min,以 10 °C/min 升温至 230 °C 保持 15 min。质谱条件:离子源温度 200 °C,电离方式 EI,扫描质谱范围为全扫描。

#### 1.2.2 游离氨基酸分析及样品处理

氨基酸标准溶液制备:取 17 种氨基酸标准品分别用高纯水配制为 1000 μmol/L 的标准溶液,并按梯度稀释为 10、20、40 μmol/L 的不同浓度的标准溶液备用。

测定氨基酸样品处理方法:取一定量的待测样品,利用绞肉机将其绞碎并准确称取 5 g(精确到 0.001 g),置于离心管中,加入 15 mL 高纯水,利用高速均质机均质之后用离心机 2000 r/min 离心 15 min,将上清液

转入烧杯中,残渣中再加入 15 mL 高纯水用振荡器振荡均匀,离心,混合上清液,再重复一次。将混合的上清液转移到 50 mL 的容量瓶中,用高纯水定容,混匀,经 0.45  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤,滤液备用。

样液衍生:精密量取标准溶液和供试样品液 1 mL 置于试管中,加入衍生试剂 A 1 mL,衍生试剂 B 1 mL,摇匀,在 50  $^{\circ}\text{C}$  水浴中加热 45 min 取出。加入衍生试剂 C 1 mL,振荡,静置 30 min,取澄清的下层溶液供 HPLC 分析。

标准曲线的绘制:分别取上述衍生之后的标准溶液 5  $\mu\text{L}$  进样,根据保留时间定性,以所测的峰面积为横坐标,各标准品的浓度为纵坐标,绘制标准曲线。

高效液相色谱测定条件:氨基酸色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm $\times$ 5  $\mu\text{m}$ ),柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ ,检测波长:245 nm,进样量 5  $\mu\text{L}$ ,流量 1.0 mL/min。流动相 A:0.1 mol/L 乙酸钠-乙腈(93:7),流动相 B:乙腈-水(80:20)并采用梯度洗脱。梯度洗脱比例及过程如表 1 所示:

表 1 梯度洗脱条件

Table 1 Conditions for gradient elution

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	100	0
11	93	7
13.9	88	12
14	85	15
29	66	34
32	30	70
35	0	100
42	0	100
45	100	0
55	100	0

### 1.2.3 核苷酸分析及样品处理

标准溶液制备及标准曲线的绘制:用高纯水配制 1000  $\mu\text{mol/L}$  的 5 种标准品的标准溶液,并按梯度稀释为 10、20、40、100  $\mu\text{mol/L}$ ,分别取 20  $\mu\text{L}$  进样,根据保留时间定性,以所测的峰面积为横坐标,各标准品的浓度为纵坐标,绘制标准曲线。

测定核苷酸样品处理方法:取一定量的样品用绞肉机绞碎,称取 5 g 左右(精确到 0.001 g)放入 50 mL 的离心管中,加入 15 mL 5% 预冷的高氯酸,用高速均质机充分均质,均质后用冷冻离心机 10000 r/min 离心 5 min,将上清液转入 100 mL 的烧杯中,残渣中再加入 15 mL 5% 预冷的高氯酸用振荡器振荡均匀,再离心,混合上清液,重复两次。上清液用 1:1 的 KOH 调节 pH 值为 6.5,转移到 50 mL 的容量瓶中,用高纯水定容,混匀,经 0.45  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤,滤液用于

HPLC 分析。

色谱条件:色谱柱为 Athena C18-WP (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ );柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ 。流动相:A:0.05 mol/L 磷酸二氢钠,B:甲醇,比例为 97:3,进样量 20  $\mu\text{L}$ ,检测波长:260 nm。

## 2 结果与分析

### 2.1 卤猪肉加工过程中游离脂肪酸结果分析

图 1 为卤猪肉加工过程中各阶段样品的游离脂肪酸总离子流色谱图,卤猪肉加工过程中游离脂肪酸的检测结果如表 2 所示。

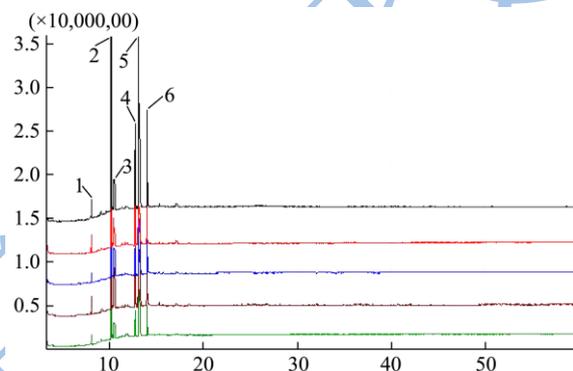


图 1 卤猪肉加工过程中各阶段样品的游离脂肪酸总离子流色谱图

Fig.1 Total ion current chromatograms of free fatty acids in pork samples from different processing stages

注:1-肉豆蔻酸 2-棕榈酸 3-棕榈油酸 4-硬脂酸 5-油酸 6-亚油酸。

由表 2 可知,从不同加工阶段的卤猪肉样品中共检出 6 种游离脂肪酸,其中包括饱和脂肪酸:棕榈酸(C11:0)、肉豆蔻酸(C14:0)、硬脂酸(C18:0);单不饱和脂肪酸:棕榈油酸(C16:1)、油酸(C18:1);多不饱和脂肪酸:亚油酸(C18:2)。卤猪肉加工各阶段样品中油酸和棕榈酸所占的比重较大,二者在原料肉中的峰面积分别为  $1.47 \times 10^8$  和  $9.65 \times 10^7$ ,在成品中的峰面积分别为  $5.97 \times 10^7$  和  $3.65 \times 10^7$ ,而肉豆蔻酸的含量最小。

不同加工阶段中游离脂肪酸总的有效峰面积各不相同,其中原料肉中的总有效峰面积较大,成品中的峰面积最小,加工过程中卤猪肉总游离脂肪酸含量显著降低( $p < 0.05$ ),由原料肉中的  $3.45 \times 10^8$  降为成品中的  $1.33 \times 10^8$ 。这可能是由于原料肉在冷藏过程中一部分脂质在脂肪酶和外界条件共同作用下发生分解,产生了大量的游离脂肪酸,而在高温煮制过程中,肉中游离脂肪酸受热氧化降解,致使总游离脂肪酸的含量随煮制时间延长而逐渐降低。

表 2 卤猪肉加工过程中游离脂肪酸变化

Table 2 Changes in the content of free fatty acids in pork samples from different processing stages

FFA(游离脂肪酸)	不同加工阶段各物质峰面积( $\times 10^5$ )				
	原料肉	高温煮制 1 h	高温煮制完成	二次煮制完成	成品
C11:0(棕榈酸)	965.25 $\pm$ 35.55 <sup>e</sup>	904.71 $\pm$ 6.78 <sup>d</sup>	799.26 $\pm$ 5.31 <sup>c</sup>	654.47 $\pm$ 2.46 <sup>b</sup>	365.24 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>
C14: 0(肉豆蔻酸)	56.63 $\pm$ 3.11 <sup>b</sup>	83.08 $\pm$ 1.53 <sup>d</sup>	60.88 $\pm$ 1.83 <sup>c</sup>	39.24 $\pm$ 2.25 <sup>a</sup>	39.57 $\pm$ 1.12 <sup>a</sup>
C18:0(硬脂酸)	375.43 $\pm$ 23.77 <sup>c</sup>	283.14 $\pm$ 22.20 <sup>b</sup>	267.71 $\pm$ 26.96 <sup>b</sup>	276.18 $\pm$ 23.10 <sup>b</sup>	128.20 $\pm$ 4.89 <sup>a</sup>
C16:1(棕榈油酸)	107.39 $\pm$ 3.38 <sup>c</sup>	166.70 $\pm$ 6.88 <sup>d</sup>	81.53 $\pm$ 0.95 <sup>b</sup>	100.20 $\pm$ 5.31 <sup>c</sup>	49.46 $\pm$ 1.47 <sup>a</sup>
C18:1(油酸)	1476.04 $\pm$ 72.15 <sup>d</sup>	1692.31 $\pm$ 50.25 <sup>e</sup>	1356.43 $\pm$ 47.76 <sup>c</sup>	1180.14 $\pm$ 46.08 <sup>b</sup>	597.24 $\pm$ 7.11 <sup>a</sup>
C18:2(亚油酸)	471.9 $\pm$ 26.68 <sup>d</sup>	552.79 $\pm$ 31.18 <sup>e</sup>	238.09 $\pm$ 19.27 <sup>b</sup>	334.25 $\pm$ 22.86 <sup>c</sup>	146.28 $\pm$ 8.49 <sup>a</sup>
SFA(饱和脂肪酸)	1397.31 $\pm$ 59.34 <sup>e</sup>	1270.93 $\pm$ 26.22 <sup>d</sup>	1127.85 $\pm$ 27.66 <sup>c</sup>	969.88 $\pm$ 34.58 <sup>b</sup>	533.01 $\pm$ 14.21 <sup>a</sup>
MUFA(单不饱和脂肪酸)	1583.43 $\pm$ 71.34 <sup>d</sup>	1859.01 $\pm$ 51.25 <sup>e</sup>	1437.96 $\pm$ 47.70 <sup>c</sup>	1280.33 $\pm$ 50.05 <sup>b</sup>	646.69 $\pm$ 8.44 <sup>a</sup>
PUFA(多不饱和脂肪酸)	471.9 $\pm$ 26.68 <sup>d</sup>	552.79 $\pm$ 31.18 <sup>e</sup>	238.09 $\pm$ 19.27 <sup>b</sup>	334.25 $\pm$ 22.86 <sup>c</sup>	146.28 $\pm$ 8.49 <sup>a</sup>
FFA 总量	3452.62 $\pm$ 107.79 <sup>d</sup>	3682.73 $\pm$ 63.57 <sup>e</sup>	2803.91 $\pm$ 67.80 <sup>c</sup>	2584.47 $\pm$ 54.73 <sup>b</sup>	1325.98 $\pm$ 8.45 <sup>a</sup>

饱和脂肪酸在原料肉中总峰面积较大为  $1.39 \times 10^8$ ，经过煮制，其含量呈现降低趋势，在成品中的有效峰面积为  $5.33 \times 10^7$ 。这可能是因为随着加热时间的延长，在水分子的充分作用下，猪肉中的脂肪酸发生酯化反应，饱和脂肪酸降解产生低分子物质，低分子物质再进一步聚合产生新物质，致使饱和脂肪酸的含量随着蒸煮时间延长而下降<sup>[6]</sup>。不饱和脂肪酸含量变化趋势与饱和脂肪酸不同，高温煮制 1 h 后，单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸均达到峰值，不饱和脂肪酸的含量最高，有效峰面积为  $2.41 \times 10^8$ 。熊明民等人<sup>[7]</sup>的研究也发现了类似的结果，其研究表明，猪背膘和猪通脊中单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸含量在蒸煮时间 1 h 时达到最高值，之后逐渐下降。

## 2.2 卤猪肉加工过程中游离氨基酸结果分析

游离氨基酸的标准曲线如表 3 所示，图 2 为成品卤猪肉中游离氨基酸的液相色谱图，卤猪肉不同加工过程中游离氨基酸的含量变化结果见表 4。

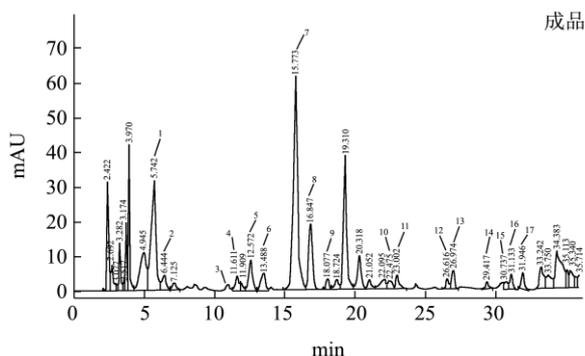


图 2 卤猪肉中游离氨基酸高效液相分析图谱

Fig.2 HPLC chromatogram of free amino acids from stewed pork

注：1-天冬氨酸，2-谷氨酸，3-半胱氨酸，4-丝氨酸，5-甘氨酸，6-组氨酸，7-精氨酸，8-苏氨酸，9-丙氨酸，10-脯氨酸，11-酪氨酸，12-缬氨酸，13-蛋氨酸，14-亮氨酸，15-异亮氨酸，16-苯丙氨酸，17-赖氨酸。

表 3 各种氨基酸的标准曲线

Table 3 Standard curve of several kinds of free amino acids

氨基酸种类	标准曲线	相关系数
天冬氨酸	Y=0.8276x-0.0016	1.0000
谷氨酸	Y=1.0401x+0.1544	0.9997
半胱氨酸	Y=0.3305x+1.1485	0.9940
丝氨酸	Y=0.5483x+0.2063	0.9998
甘氨酸	Y=0.6446x-0.0773	0.9999
组氨酸	Y=0.5946x-0.8026	0.9978
精氨酸	Y=1.0857x+0.3430	0.9994
苏氨酸	Y=0.5641x-0.2165	0.9999
丙氨酸	Y=0.7167x-0.0970	1.0000
脯氨酸	Y=1.2140x-0.7561	0.9974
酪氨酸	Y=1.8383x-1.1590	0.9818
缬氨酸	Y=0.6250x+0.2277	0.9990
蛋氨酸	Y=0.5698x+0.0371	1.0000
异亮氨酸	Y=0.6136x+0.1213	0.9999
亮氨酸	Y=0.5328x+1.1716	0.9960
苯丙氨酸	Y=0.4579x+0.0422	0.9999
赖氨酸	Y=0.4523x+0.0538	0.9999

由表 4 可知，在卤猪肉加工过程中，总游离氨基酸的含量变化显著。在生肉中总游离氨基酸含量最少，为 244.39 mg/100 g，在煮制过程中总游离氨基酸的含量都显著升高 ( $p < 0.05$ )，在二次煮制完成后达到最大值为 349.32 mg/100 g，与成品无显著差异。这是由于煮制过程中，原料肉中蛋白质受热分解，降解产生游离氨基酸，而游离氨基酸也会热降解以及与还原糖

发生美拉德反应导致含量相应减少, 游离氨基酸的增加和减少取决于其形成和降解量的比率, 在煮制前期, 氨基酸含量整体呈上升趋势, 后期总体稳定。常亚楠

等人<sup>[10]</sup>也发现类似结果, 其研究结果显示, 在 95 °C 条件下, 随着煮制时间的增加, 卤鸡腿中心肉样的游离氨基酸含量呈现明显升高的趋势。

表 4 卤猪肉加工过程中各阶段样品中游离氨基酸含量变化

Table 4 Changes in the amino acid content of stewed pork during processing

氨基酸含量/(mg/100 g)	滋味特征 <sup>[8-9]</sup>	原料肉	高温煮制 1 h	高温煮制完成	二次煮制完成	成品
天冬氨酸(Asp)	鲜	13.18±0.79 <sup>a</sup>	19.17±1.30 <sup>b</sup>	36.71±2.40 <sup>d</sup>	30.62±2.89 <sup>c</sup>	33.78±1.34 <sup>cd</sup>
谷氨酸(Glu)	鲜	16.47±1.76 <sup>a</sup>	28.86±1.76 <sup>b</sup>	134.96±2.60 <sup>c</sup>	101.86±1.31 <sup>d</sup>	119.02±3.23 <sup>e</sup>
丝氨酸(Ser)	甜	25.72±1.49 <sup>d</sup>	22.35±0.92 <sup>c</sup>	6.26±0.62 <sup>a</sup>	16.81±1.41 <sup>b</sup>	6.10±0.44 <sup>a</sup>
甘氨酸(Gly)	甜	9.36±0.37 <sup>b</sup>	13.46±0.69 <sup>c</sup>	7.73±0.81 <sup>a</sup>	9.67±1.03 <sup>b</sup>	8.37±0.55 <sup>ab</sup>
组氨酸(His)	苦	5.64±0.78 <sup>a</sup>	7.64±0.37 <sup>b</sup>	4.78±0.30 <sup>a</sup>	7.05±0.45 <sup>b</sup>	9.00±0.59 <sup>c</sup>
精氨酸(Arg)	苦/甜	8.83±0.50 <sup>c</sup>	7.58±0.63 <sup>b</sup>	6.90±0.60 <sup>ab</sup>	6.05±0.84 <sup>a</sup>	5.70±0.60 <sup>a</sup>
苏氨酸(Thr)	甜	82.40±1.44 <sup>b</sup>	144.52±6.54 <sup>d</sup>	53.68±2.11 <sup>a</sup>	89.42±4.56 <sup>bc</sup>	93.24±9.08 <sup>c</sup>
丙氨酸(Ala)	甜	22.99±2.67 <sup>b</sup>	32.79±1.12 <sup>c</sup>	17.30±0.96 <sup>a</sup>	22.69±0.75 <sup>b</sup>	21.30±1.10 <sup>b</sup>
脯氨酸(Pro)	甜	12.80±0.51 <sup>a</sup>	21.38±1.32 <sup>b</sup>	3.90±0.54 <sup>c</sup>	9.17±0.82 <sup>d</sup>	5.74±0.85 <sup>e</sup>
酪氨酸(Tyr)	苦	14.48±1.27 <sup>a</sup>	17.42±0.93 <sup>b</sup>	19.16±1.56 <sup>b</sup>	22.43±1.84 <sup>c</sup>	17.97±1.30 <sup>b</sup>
缬氨酸(Val)	甜/苦	5.81±0.52 <sup>b</sup>	3.11±0.37 <sup>a</sup>	4.98±0.29 <sup>b</sup>	7.39±0.78 <sup>c</sup>	5.25±0.29 <sup>b</sup>
半胱氨酸(Cys)	苦	2.87±0.28 <sup>a</sup>	3.18±0.30 <sup>ab</sup>	2.99±0.32 <sup>a</sup>	3.84±0.28 <sup>c</sup>	3.56±0.25 <sup>bc</sup>
蛋氨酸(Met)	苦	5.58±0.39 <sup>ab</sup>	6.16±0.41 <sup>ab</sup>	5.53±0.38 <sup>a</sup>	6.90±0.33 <sup>c</sup>	6.26±0.27 <sup>bc</sup>
异亮氨酸(Ile)	苦	2.54±0.19 <sup>b</sup>	2.05±0.17 <sup>ab</sup>	2.60±0.36 <sup>bc</sup>	3.13±0.43 <sup>c</sup>	1.95±0.27 <sup>a</sup>
亮氨酸(Leu)	苦	4.35±0.29 <sup>b</sup>	3.94±0.23 <sup>b</sup>	2.66±0.21 <sup>a</sup>	2.74±0.28 <sup>a</sup>	2.67±0.20 <sup>a</sup>
苯丙氨酸(Phe)	苦	5.13±0.39 <sup>c</sup>	6.02±0.23 <sup>d</sup>	3.97±0.24 <sup>ab</sup>	3.44±0.36 <sup>a</sup>	4.51±0.25 <sup>b</sup>
赖氨酸(Lys)	甜/苦	6.21±0.30 <sup>b</sup>	3.99±0.19 <sup>a</sup>	4.54±0.26 <sup>a</sup>	6.11±0.34 <sup>b</sup>	4.43±0.37 <sup>a</sup>
总游离氨基酸		244.39±3.92 <sup>a</sup>	343.63±5.28 <sup>c</sup>	318.65±1.37 <sup>b</sup>	349.32±5.02 <sup>c</sup>	348.82±2.99 <sup>c</sup>

注: 平均值±标准偏差, 同一行中字母不同代表显著差异 ( $p < 0.05$ )。

表 5 核苷酸标准品的标准曲线

Table 5 Standard curve of several kinds of nucleotide standards

种类	5'-IMP	5'-GMP	HX	AMP	肌苷
Y	0.0915x+1.1578	0.1140x+1.0168	0.0978x+1.1551	0.0784x-0.9219	0.1109x-0.1545
R <sup>2</sup>	0.9992	0.9994	0.9986	0.9986	0.9998

肌肉滋味的鲜美程度与肌肉中呈味氨基酸的含量和组成有关<sup>[11]</sup>。谷氨酸和天冬氨酸是主要呈鲜味的氨基酸, 在加工过程中, 谷氨酸的含量显著高于 ( $p < 0.05$ ) 其他种类氨基酸, 这可能与老汤中的谷氨酸钠渗入肉中有关。与原料肉相比, 二者的含量都显著增加 ( $p < 0.05$ ), 分别由原料肉中的 13.18 mg/100 g 和 16.47 mg/100 g 增加到高温煮制完成时的最大值, 分别为 36.71 mg/100 g 和 134.96 mg/100 g, 随后在成品中含量又减少到 33.78 mg/100 g 和 119.02 mg/100 g。这可能是高温煮制时温度较高, 促进了更多的蛋白质降解, 二次煮制温度较低且时间较短, 蛋白质的降解率降低, 但是随煮制时间的延长, 仍有较多氨基酸溶解到卤煮汤汁中, 导致了其含量的减少。

含量较多的呈甜味氨基酸为苏氨酸、丝氨酸和丙氨酸。在原料肉中, 相比其它氨基酸, 苏氨酸的含量

最高达到 82.40 mg/100 g, 占总游离氨基酸的 33.72%, 高温煮制结束时, 含量最低为 53.68 mg/100 g, 随后又显著增加到 93.24 mg/100 g (成品)。其次是丝氨酸, 占原料肉中总量的 10.52%, 经过煮制, 其含量呈现降低趋势, 在成品中为 6.10 mg/100 g, 占总量的 1.75%。丙氨酸在原料肉中的含量为 22.99 mg/100 g, 占总游离氨基酸的 9.41%, 经过煮制, 成品中的含量为 21.30 mg/100 g, 与原料肉中的量无显著性差异 ( $p > 0.05$ ), 但只占总量的 6.11%。

另外, 还有一些呈现苦味的氨基酸, 如组氨酸, 酪氨酸, 蛋氨酸, 亮氨酸, 异亮氨酸, 苯丙氨酸等, 但其含量相对较低。

### 2.3 卤猪肉加工过程中核苷酸结果分析

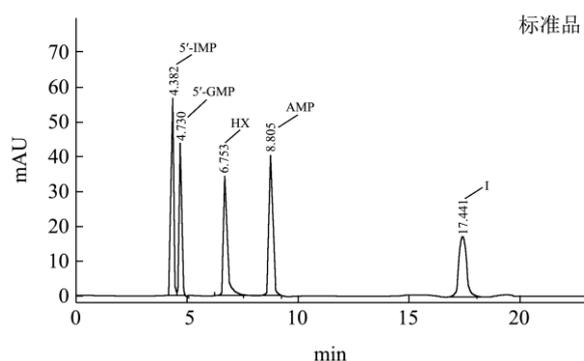


图3 核苷酸标准溶液液相色谱图

Fig.3 HPLC chromatogram of a standard solution of nucleotides

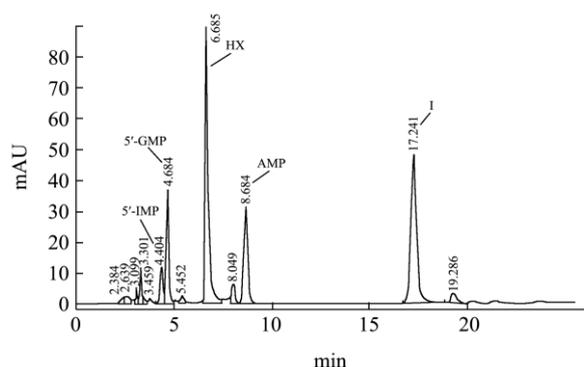


图4 成品中核苷酸液相色谱图

Fig.4 HPLC chromatogram of the nucleotides in stewed pork

核苷酸标准品的标准曲线如表5所示,图3为核苷酸标准液相图谱,图4为成品卤猪肉中核苷酸的液

相色谱图,卤猪肉不同加工过程中核苷酸的含量变化结果见表6。

呈味核苷酸中,常见的具有特殊的鲜味物质的核苷酸为5'-肌苷酸(5'-IMP)、5'-鸟苷酸(5'-GMP)。在原料肉中5'-IMP含量最高,为21.96 mg/100 g,经过煮制,其含量呈下降趋势,高温煮制1h后至二次煮制完成,其含量无显著性差异( $p>0.05$ ),成品中含量最小为5.74 mg/100 g。原料肉中5'-GMP的含量为13.56 mg/100 g,高温煮制1h时其含量显著增加,达到14.93 mg/100 g,之后又呈现降低趋势,在成品中的含量为4.04 mg/100 g。曹伟等人<sup>[12]</sup>在对不同热处理后镜鲤鱼中核苷酸物质的变化研究中,发现5'-GMP和5'-IMP与本试验呈现一致的变化趋势。5'-IMP热稳定性较差,在受热过程容易降解。研究表明,猪肉中5'-IMP含量在加热过程中也会明显降低<sup>[13]</sup>。

呈味核苷酸在高温加热过程中可分解,加热时间较短时,核苷酸主要发生的是脱磷酸反应,产生肌苷(I),长时间的加热会发生脱碱基反应,产生有苦味的次黄嘌呤(HX)<sup>[14]</sup>。在本实验中,肌苷的含量在生肉中为14.04 mg/100 g,煮制过程含量呈现增加的趋势,其他各个阶段的含量都显著( $p<0.05$ )高于原料肉。次黄嘌呤的含量在高温煮制完成时达到最大值为16.42 mg/100 g,在成品中的含量也略高于原料肉,但无显著性差异( $p>0.05$ ),主要是由于5'-GMP和5'-IMP的热降解导致的。

表6 卤猪肉加工过程中核苷酸含量

Table 6 Changes in the nucleotide content during preparation of stewed pork

核苷酸含量/(mg/100 g)	原料肉	高温煮制 1 h	高温煮制完成	二次煮制完成	成品
5'-IMP	21.96±0.89 <sup>c</sup>	7.46±0.60 <sup>b</sup>	7.67±0.57 <sup>b</sup>	7.28±0.26 <sup>b</sup>	5.74±0.58 <sup>a</sup>
5'-GMP	13.56±0.80 <sup>d</sup>	14.93±0.85 <sup>e</sup>	9.39±0.66 <sup>c</sup>	2.39±0.16 <sup>a</sup>	4.04±0.32 <sup>b</sup>
HX	12.02±0.61 <sup>a</sup>	15.01±1.45 <sup>bc</sup>	16.42±1.81 <sup>c</sup>	12.81±1.34 <sup>ab</sup>	12.57±0.64 <sup>a</sup>
AMP	1.58±0.06 <sup>a</sup>	11.93±0.35 <sup>d</sup>	13.30±0.72 <sup>e</sup>	8.34±0.48 <sup>c</sup>	6.44±0.33 <sup>b</sup>
I	14.04±0.46 <sup>a</sup>	32.72±2.48 <sup>d</sup>	36.54±2.69 <sup>e</sup>	25.22±1.40 <sup>d</sup>	29.31±1.01 <sup>c</sup>

### 3 结论

3.1 对各阶段样品的游离脂肪酸进行分析,共测得6种游离脂肪酸,其中饱和脂肪酸3种,单不饱和脂肪酸2种,多不饱和脂肪酸1种。在卤猪肉加工过程中,总游离脂肪酸有效峰面积变化显著,呈现下降趋势。饱和脂肪酸变化趋势与总游离脂肪酸变化趋势一致,单不饱和脂肪酸呈先上升后下降的趋势,在高温煮制1h达到峰值。

3.2 在卤猪肉加工过程中,总游离氨基酸的含量变化显著,在原料肉中总游离氨基酸含量最少,为244.39 mg/100 g,在煮制阶段和成品中总游离氨基酸的含量

都显著升高( $p<0.05$ ),在二次煮制完成后达到最大值为349.32 mg/100 g,与成品无显著差异。谷氨酸在在成品中的含量达到119.02 mg/100 g,占总游离氨基酸的34.12%。

3.3 呈味核苷酸结果显示,在加工过程中5'-IMP和5'-GMP整体呈现下降趋势。由于加热导致核苷酸热降解,其降解产物肌苷的含量呈现上升趋势,在成品中检测到的含量显著( $p<0.05$ )高于原料肉中肌苷的含量。

3.4 根据实验结果分析,高温煮制阶段是氨基酸生成阶段,氨基酸的生成不仅增加了肉的鲜味,也为美拉德反应产生香气成分提供物质基础,但是高温煮制时

间过长,游离脂肪酸和呈鲜味核苷酸会受热分解含量降低,并且会影响产品的出品率。因此,在保证产品品质的条件下,适当控制高温煮制时间,延长低温煮制时间,对风味物质的形成和产品出品率来讲是有益的。

### 参考文献

- [1] Toldra F. Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products [J]. *Meat Science*, 1998, 49: 101-110
- [2] Sohn J H, Ohshima T. Control of lipid oxidation and meat color deterioration in skipjack tuna muscle during ice storage [J]. *Fisheries Science*, 2010, 76(4), 703-710
- [3] Jayasena D D, Jung S, Kim H J, et al. Taste-active compound levels in korean native chicken meat: the effects of bird age and the cooking process [J]. *Poultry Science*, 2015, 94(8): 1964-1972
- [4] Amau J, Goup C. Effect of the relative humidity of drying air during the resting period on the composition and appearance of dry-cured ham surface [J]. *Meat Sei*, 2003, 52(2): 98-106
- [5] 杨荣华,食品的滋味研究(下)[J].*中国调味品*,2003, 7(293): 34-36  
YANG Rong-hua. Study on the taste of food [J]. *China Condiment*, 2003, 7(293): 34-36.
- [6] 李莹莹,李家鹏,吴晓丽,等.蒸煮温度和时间对猪肉脂肪酸组成比例关系的影响[J].*食品科学*,2012,23:27-30  
LI Ying-ying, LI Jia-peng, WU Xiao-li, et al. Effects of cooking temperature and time on fatty acid composition of pork [J]. *Food Science*, 2012, 23: 27-30
- [7] 熊明民,马长伟.猪肉肌间/脂肪组织在蒸煮过程中的脂肪酸组成变化[J].*食品科学*,2014,7:64-67  
XIONG Ming-min, MA Chang-wei. Changes in fatty acid composition of pork intermuscular tissues and adipose tissues in stewing [J]. *Food Science*, 2014, 7: 64-67
- [8] Dermiki M, Phanphensophon N, Mottram DS, et al. Contributions of Non-volatile and Volatile Compounds to the umami taste and overall flavour of shiitake mushroom extracts and their application as flavour enhancers in cooked minced meat [J]. *Food Chemistry*, 2003, 141(1): 77-83
- [9] 党亚丽.金华火腿和巴马火腿风味的研究[D].江南大学,2009  
DANG Ya-li. Study on the flavor of jinhua ham and parma ham [D]. Jiangnan University, 2009
- [10] 常亚楠,赵改名,柳艳霞,等.煮制对鸡肉及汤汁中游离氨基酸的影响[J].*食品工业科技*,2014,09(35):333-337-342  
CHANG Ya-nan, ZHAO Gai-ming, LIU Yan-xia, et al. Changes of free amino acids in chicken and its broth during cooking [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 09(35): 333-337-342
- [11] Dashdorj D, Amna T, Hwang I. Influence of specific taste-active components on meat flavor as affected by intrinsic and extrinsic factors: an overview [J]. *European Food Research and Technology*, 2015, 241: 157-171
- [12] 曹伟,许晓曦.HPLC 测定不同热处理方式对镜鲤鱼中呈味核苷酸的影响[J].*食品工业科技*,2012,3:136-137-203  
CAO Wei, XU Xiao-xi. Detemination of the different heat treatment in mirror carp meat flavor nucleotides by HPLC [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 3: 136-137-342
- [13] Lene Meinert, et al. Flavour formation in pork semimembranosus: Combination of pan-temperature and raw meat quality [J]. *Meat Science*, 2008, 80(2): 249-258
- [14] 杨炼,沈燕霆,李英雨,等.肌苷酸和鸟苷酸的热稳定性和酸稳定性[A].第四届中国北京国际食品安全高峰论坛论文集[C].北京食品学会(Beijing Food Institute),北京食品协会(Beijing Food Association),2011:3  
YANG Lian, SHEN Yan-ting, LI Yin-yu, et al. PH stability and thermostability of IMP and GMP [A]. The fourth China international food safety peak BBS on Beijing [C]. Beijing Food Institute, Beijing Food Association, 2011: 3