

摘要

本课题是江苏省自然科学基金项目“传统肉制品风味形成机理与质量控制研究”(No.BK20005213)中的一部分,目的是在保持金华火腿风味特征的基础上,降低食盐含量,缩短生产周期,降低生产成本,通过添加外源酶调控的技术开发出新型的火腿风味调味料。主要的研究内容和结果如下:

首先,通过添加外源复合蛋白酶和中性脂肪酶,快速生成滋味成分和香味前提物。经单因素和响应曲面优化试验,得出最佳酶解工艺条件:添加食盐 6%,亚硝酸钠 0.15g/kg,4℃腌制 30h,然后添加复合蛋白酶 5375u,中性脂肪酶 621u,43.40℃水解 4h。得到的酶解液中氨基态氮为 2.40%,游离脂肪酸为 2.50%,以棕榈酸、油酸、硬脂酸和亚油酸为主,其释放速率为硬脂酸>棕榈酸>亚油酸>油酸。后期的加工过程中,油酸和亚油酸发生氧化降解,分别从水解后的 1.64%、0.83%,下降到氧化后的 1.22%、0.60%;而饱和脂肪酸含量几乎不变。经感官评定酶解液滋味较佳,香味较淡。

其次,研究了脂肪的不同水解程度在相同氧化条件下和不同氧化时间里的理化指标和风味变化,得出:不同水解程度的酶解液,在相同的氧化时间里,游离脂肪酸和氨基态氮数值越大,TBA值与羰基值并非总是最大;pH值相差较小;水分含量无法比较;随着游离脂肪酸和氨基态氮的增加,风味评分增加,但当游离脂肪酸超过1.17%,氨基态氮超过2.89%,风味评分下降。随氧化时间的延长,TBA值与羰基值总体呈上升趋势;pH值先降低,后又有所增加;而水分含量呈现无规律的变化;游离脂肪酸在0.95%~1.02%,氨基态氮在2.07%~2.30%氧化8~12d,风味评分较高;而游离脂肪酸在1.17%~1.22%,氨基态氮在2.63~2.89%氧化8d,风味评分较高。

接着,研究了脂肪氧化程度与风味的关系,经单因素和响应曲面优化试验,得出最佳发酵工艺条件:添加大豆脂肪氧合酶30u,34℃,氧化8d,得到的风味较好;不添加大豆脂肪氧合酶,34℃,氧化8d,得到的风味较好。

火腿风味料生产过程中蛋白质和脂肪都发生了降解,分别从原料肉中的 56.05%,15.58%,到氧化后的 38.12%,7.68%,降解了 17.93%,9.24%。外源蛋白酶和脂肪酶促进蛋白质和脂肪降解,生成氨基态氮 3.27%和游离脂肪酸 5.69%;氧化阶段,氨基态氮继续上升到 3.76%,上升幅度为 0.49%;而游离脂肪酸减少到 4.55%,下降幅度为 1.13%。酸价、羰基值、挥发性盐基氮一直呈上升趋势,最终分别达到 8.35mg/g、1.27meq/kg、49mg/100g。过氧化值、TBA 和微生物有升有降,最终达到 2.51mep/kg、0.08mg/100g 样品、 2.90×10^4 个。水分含量和 pH 值则一直呈下降趋势,最终达到 53.10%、5.44。

最后,分析了火腿风味调味料的风味组分,同时结合感官评定与原金华火腿进行比较,得出火腿风味料风味强度比金华火腿稍弱,其整体可接受性较好。整体的风味轮廓的分析,客观上证明火腿风味料与原金华火腿的风味一致。风味组分分析,火腿风味料具备金华火腿大部分的风味物质种类和特征风味组分,且在含量上两者具有很好的一致性。

关键词: 脂肪酶 蛋白酶 脂解 氧化 调控 火腿风味料

Abstract

This study is a part of the item entitled "Study principium and quality of flavor of traditional meat". The aim is to keep Jinhua ham's special and character flavor, while to reduce salt content, producing cycle, and reduce producing cost. The new type ham flavoring is produced by addition exogenous enzyme. The main content and results are as follows.

The effects of exogenous proteases and lipases on flavor of Jinhua ham flavoring were studied. Tastes component and precursors were quickly produced by addition exogenous proteases and lipases. Optimum conditions were 6% of salt content, 0.15g/kg of nitrite content, cured 30h at the temperature of 4, the dose of neutral lipase 621u and neutral proteases 5375u, hydrolysable time 4 hours at the temperature of 43.40 by single factor experiment and surface response analysis. There were free fatty acids 2.50% and amic nitrogen 2.40% of the hydrolysable solution in the optimum condition. The main free fatty acids from fresh meat to the end of hydrolyzation were palmitic, oleic, stearic, linoleic, their content incessantly accumulated; The rate of break outing from lipids was stearic> palmitic> linoleic> oleic during the whole processing; oleic and linoleic were oxidation during the end of processing, their content changed from 1.64%, 0.83% to 1.22%, 0.60%. Saturated fatty acid content didn't change. Taste was good and aroma was weak in the the hydrolysable solution by sensory evaluation.

Study on changes of physico-chemical characters and flavor of the same oxidation condition for different hydrolysates in order to find relation between hydrolyzation and oxidation and acceptive degree. The results showed TBA value and carbonyl value were always most and lied on proportion of different pro-flavor for different hydrolysates in the oxidation time. However TBA value and carbonyl value showed raise trend during oxidation process. pH value firstly descended and raised, and showed ruleless change for different hydrolysates in the oxidation time. Difference of pH value was small and water content showed ruleless change in the oxidation time. Hydrolysate of FFA 0.95%~1.02% and AJTD 2.07%~2.30% oxygenated 8~12 days. Hydrolysate of FFA 1.17 %~1.22% and AJTD 2.63%~2.89% oxygenated 8 days. Flavor assessed raise with FFA and AJTD increased in the oxidation time. Flavor assessed descended with FFA and AJTD exceeding 1.17%, 2.89%.

Relation between oxidation and flavor was studied for the taste and aroma by single factor experiment and surface response analysis. The optimum conditions were: soybean lipoxygenase 30u, reaction temperature 34 °C, oxidation times 8 days; or no soybean lipoxygenase, reaction temperature 34 °C, oxidation times 8 days. Flavoring was better.

Changes in the optimum conditions were studied. Protein and lipase were brook down, and their content changed from 56.05%, 15.58% to 38.12%, and 7.68%. The effects of addition of protease and lipase on proteolysis, lipolysis were 3.27% amido-nitrogen and 5.69% FFA. Amido-nitrogen went up to 3.76% and FFA declined to 4.55% during oxidation times. Chance range was 0.49% and 1.13%. The acid value (AV), carbonyl value volatile electropositive nitrogen rised, their content got to 8.35mg/g、 1.27meq/kg and 49mg/100g.

POV, TBA value and microbe went up and down, their content got to 2.51mep/kg、0.08mg/100g and 2.9×10^4 ↑. Water content and pH went down to 53.10% and 5.44.

Ham flavoring were compare to Jinhua ham by analyzing flavor composition of ham flavoring by GC-MS and sensory evaluation. The results showed accepting of Ham flavoring is good but aroma is weak. The GC-MS flavor profile analysis objectively proved that the Ham flavoring flavor profile was consistent with that of raw ham. There were mostly flavor and unique flavor of Jinhua ham, and the content was consistent with that of raw ham in the ham flavor.

Keywords: lipases proteases lipolysis oxidation modulation
Ham flavoring base

独创性声明

本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含本人为获得江南大学或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

签 名： 王三丽 日 期： 2008.6.11

关于论文使用授权的说明

本学位论文作者完全了解江南大学有关保留、使用学位论文的规定：江南大学有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅，可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文，并且本人电子文档的内容和纸质论文的内容相一致。

保密的学位论文在解密后也遵守此规定。

签 名： 王三丽 2008.6.11
导师签名： 张凤波 日 期： 2008.6.11.

第一章 绪论

1.1 金华火腿

1.1.1 金华火腿的历史及生产现状

干腌火腿是以猪的后腿或前腿为原料,加入以食盐为主的腌制剂,经过干腌、洗晒、脱水、发酵成熟和后熟等工艺加工而成的一类腌腊肉制品,是世界上最重要的传统肉制品之一。世界上著名的干腌火腿有意大利的帕尔玛火腿(Parma ham)、意大利的乡村火腿(Light Italian country ham)、法国的巴约纳火腿(Bayonne ham)、科西嘉火腿(Corsican ham)、伊比利亚火腿(Iberian ham)、Serrano ham 以及中国的金华火腿、如皋火腿、宣威火腿等。

金华火腿是我国三大著名火腿之一,它始于唐代,盛于宋代,距今已有一千二百多年的历史。元朝初期,意大利旅行家马可·波罗将金华火腿的制作方法传往欧洲,至今意大利、法国、德国和西班牙等国家民间制作的火腿仍保持着中国火腿的传统特色。到了清朝金华火腿已外销日本、东南亚和欧美各地。1913年,荣获南洋劝业会奖状;1915年获巴拿马万国商品博览会优秀一等奖;1929年在杭州西湖商品博览会上又获商品质量特别奖,成为风靡世界的肉类食品。建国后,金华火腿曾多次被评为地方和全国优质产品,1981年更荣膺国家优质产品金质奖章。1985年蝉联国家优质食品金质奖章。1995年金华荣获“中国火腿之乡”称号^[1]。

金华火腿形似竹叶、色泽红润、香气馥郁、风味独特,堪称民族精品。之所以能造就如此极品与金华的天时地利和制作技艺是分不开的。金华火腿采用大小适中、皮薄骨细、肥瘦适度、腿心饱满、肌肉细嫩、肉质鲜美的“两头乌”为原料,此外,金华地处“金巨盆地”,自然条件得天独厚,春、夏、秋、冬四季分明,梅雨天和三伏天气候异常明显,非常适宜金华火腿加工,即腌制期低温适宜,洗晒期日光充足,发酵期干湿适度,使火腿得以逐渐风干,促成自然发酵致香成熟^[2]。

金华火腿有许多优点,主要表现在以下几个方面^{[3][4]}。首先,金华火腿色、香、味、形俱全。因加工季节和加工方法不同,金华火腿分为多个品种,以冬季开始加工的产品质量最好,其中又以金华蒋腿和金华竹叶熏腿品质最优,使金华火腿中的上品,代表着金华火腿的品质特征。虽然各种金华火腿在风格上存在细微差别,但是都具有色、香、味、形俱全的特点。其次,金华火腿营养价值高,含有人体易于消化吸收的小分子肽、游离氨基酸、游离脂肪酸等,并形成大量的挥发性化合物,赋予火腿独特的香气。再者,有滋补、药用和保健功能,医学界认为,火腿味咸甘,性平,有健脾开胃、生津益血、壮肾阳、增食欲、固骨髓等功能,可治心虚心悸,脾虚少食,久泻久痢等症;另外,还具有耐储藏性,金华火腿是在古代无冷藏条件下人们利用食盐保存肉制品发展而来的,根据经验金华火腿在自然条件下保存,至少可以保质5年,而以保存1年以上的火腿风味最佳。

金华火腿不仅是一种人们喜爱的肉制品,还有着深厚的文化底蕴,孕育了大量脍炙

人口的美丽传说。自宋朝即被列为朝廷贡品，如今成为老百姓餐桌上的美味，也是个宾馆、酒楼烹制菜肴不可缺少的高档佐料。

近几年来，随着社会的进步和科学技术的发展，以及人民生活水平的不断提高，金华火腿也得到了迅速发展，主要经历了以下几个阶段。金华火腿第一代产品是我们通常所见的整只火腿，最初这种火腿没有外包装，通常以裸露的方式储存和出售，后由于食品卫生质量的要求和消费者的要求，以及国内包装工业的快速发展，金华火腿有了包装。第一代产品适合食品生产企业、饭店、火腿商店、食堂等对火腿需求量较大的单位使用。第二代产品，是指以整只金华火腿为原料，经过剔除异物、分割包装等简单加工而成的产品。这种产品为金华火腿初级加工产品，一般呈较小的块状或者片装，多采用塑料袋包装，适合家庭使用。但因价格较高，且主要作为配菜或煲汤食用，消费量不会太大。第三代产品，是以整个金华火腿为原料，采用现代化的技术和设备，对火腿进行深度加工而得到的产品，包括火腿粉(全粉)、火腿酱、火腿肉粉、火腿复合调味料。这代产品携带方便，容易保存，使用方便，广泛应用于食品各个领域。目前，市场上第一代和第二代产品相当普遍，而第三代相对而言寥寥无几。

1.1.2 影响金华火腿风味形成的主要因素

金华火腿的风味是在较长的加工过程中，在内源酶作用下，经由一系列复杂的生化变化形成的。影响金华火腿风味形成的因素很多，不仅与原料、辅料、添加剂、还与加工过程中的参数(温度、湿度、时间、光照)等有关。

1.1.2.1 原料

虽然原料肉有很少的风味且略有血腥味，它却贮存了大量的呈味化合物和风味物质前体，原料的一些主要特性对火腿风味料风味的形成很重要。

(1) 原料的标准化

脂肪的添加量和瘦肉组织含量影响火腿风味料的风味，对于恒定的产品质量和可重复生产的成熟风味，脂肪含量的标准化是基本需求。

脂肪的含量决定腌制所需时间，因此影响到风味的形成。脂肪含量高，成熟时间长，形成更复杂的、受消费者欢迎的风味，且更具市场价值。对于风味化合物，脂肪也是很好的溶剂，大多数风味化合物是低分子量和非极性的，故易扩散到气相和脂相中，因此脂肪的存在有利于储留火腿风味料中的风味成分。此外脂肪水解产生游离脂肪酸，短链脂肪酸具有类似于乳酪的酸味，然而，链越长，酸味越弱。游离脂肪酸对口味似乎很不重要，而是主要的香味物质前体^[5]。

瘦肉型猪适合干燥时间短的干腌火腿风味料的生产，瘦肉水解产生游离氨基酸和肽类，贡献于火腿风味料的滋味。此外，脂类降解产物与氨基酸之间发生美拉德反应，贡献于火腿风味料的香味。

(2) 原料的 pH

肉的 pH 影响色泽、质构和风味，PSE 肉在干腌时吸收更多的盐，根据 Buscaichon 等人^[6]的研究，与高 pH 腿相比，低 pH 腿更易形成干腌火腿风味，肌肉的初始 pH 低有

利于干腌火腿脂肪氧化，提高了酸性蛋白酶活力。

(3) 原料的预处理

已发现，干腌之前腿的预冻/解冻影响脂肪和蛋白水解^[7]，且促进 NaCl 吸收。

(4) 原料中微生物含量

考虑到安全原因和对最终风味的影响，肉中微生物数量需要尽可能低，尤其是对于不用发酵剂的传统产品。

1.1.2.2 主要辅料和添加剂

(1) 氯化钠^[8]

通常，盐历来被用于肉制品的保藏，盐是影响咸度、质构、保水率、增进风味的主要物质。盐将肉中功能肌原纤维蛋白质溶出，激活蛋白，增加水解，提高保水率，增加蛋白质的粘性改变质构。水解度增大，保水率提高，减少煮制损失，从而可增加肉制品的嫩度和汁液。

盐影响产品的风味，在一定盐浓度下，高脂肉制品的表现咸度低于瘦肉制品，然而与瘦肉产品相比，在给定咸度下，高脂产品中盐含量的增加更显著。建议结合脂肪含量的情况，适当调整盐的含量。

盐的最主要的作用是防腐，如果生产过程中考虑了其它栅栏因子，如降低腌制，成熟温度，NaCl 含量可以减少。部分 NaCl 可以被 KCl 代替，发酵香肠 30-40% 的 NaCl 可被 KCl 和乳酸钾代替，而不产生明显异味，当环境的相对湿度低于 85% 时促进脂肪渗出。

组织蛋白酶活力随盐浓度升高而下降，在温度较高时，盐对酶活力的影响不明显。生产过程中，应合理利用盐的含量和生产时间、温度，从而控制蛋白质的水解程度。另外，高盐浓度增加了干腌火腿中氧化物的含量^[9]。

(2) 亚硝酸盐和硝酸盐

亚硝酸钠是肉制品中常用而又独特的添加剂，它既具有抑制肉毒梭菌生长繁殖和发色的作用，同时对风味的形成又有重要贡献。肉中添加亚硝酸钠可以起到抗氧化的作用，防止酸败和异味的形成。

用硝酸盐生产的产品通常有较长生产时间，硝酸盐在一些微生物如葡萄球菌和 *kocuria* 硝酸盐还原酶作用下转化为亚硝酸盐。Waade 和 Stahnke^[9]发现，硝酸盐降低了发酵香肠氨基酸的含量，或是通过抑制了肉糜中蛋白水解活性，或增加了氨基酸降解。

(3) 抗氧化剂

肉类生产中会使用一些抗氧化剂，通常有抗坏血酸和异抗坏血酸、BHA、BHT 和维生素 E。抗坏血酸和异抗坏血酸被用于加速亚硝酸盐还原为一氧化氮，且稳定红色，然而，当这些添加剂氧化时，他们形成羰基化合物，能与氨基酸发生褐变反应影响产品的风味和色泽。BHA 和 BHT 对保护用于防止过度干燥的脂肪降解很有用^[10]。

(4) 发酵剂

霉菌被认为影响火腿风味，故有些研究者进行了利用发酵剂改善干腌火腿质量和安全性的研究。早在 1980 年，陈士怡就做了金华火腿微生物的人工接种，他以分离到的

青霉 4 号接种得到的产品质量与常规生产的相比无显著差异,但生产周期由原来的 8~10 个月缩短到 4 个月^[11]。西班牙干腌火腿,用混合发酵剂(清酒乳杆菌、肉葡萄球菌、木糖片球菌和德巴利酵母)表面接种火腿,与未经接种火腿相比,具有较低的甜度、成熟风味和可接受性^[12]。

1.1.2.3 参数的控制

生产时的盐、硝酸盐/亚硝酸盐、抗氧化剂和外加相关酶类的添加量,生产时间和温度等都是影响产品质量的重要参数,既影响原料的腐败率,也影响最终产品的滋味和香味。

脂肪和蛋白质是形成火腿风味料风味的前提物,它们首先在酶的作用下水解,产生游离脂肪酸、氨基酸和多肽。脂类的降解产物会进一步氧化,发生美拉德反应等一些列反应,产生期望和不期望的风味。因此要根据水解和氧化的特点,确定需要调控的酶和酶活以及氧化的程度。这就首先要研究生产过程中脂类和蛋白质物质的水解与主要工艺参数温度、时间、盐含量、硝酸盐含量和微生物生产繁殖状态之间的相关性,考察外加相关酶类在生产过程中的变化情况。为酶制剂的选择、加入及控制建立基础。

其次利用 GC/MS 方法结合感官评定研究工艺参数变化与风味特征相关性。研究不同温度、盐含量、硝酸盐含量、生产时间条件下风味特征的变化情况,建立工艺参数变化与特征风味变化之间的相关性,为工艺参数的优化建立基础。

最后,利用响应曲面法在单因素实验研究基础上,通过综合实验,以产品的风味特点为考核指标,确定主要影响因素,优化工艺参数,建立显著影响因子与产品风味特点之间的相关性。产品风味特点以 GC/MS 检测结合感官评定进行。

1.1.3 金华火腿的研究现状

二十世纪 60 年代开始,欧洲沿地中海地区干腌火腿主要生产国意大利、西班牙、法国等先后对干腌火腿的传统工艺和品质等进行了较为系统的研究,进过二十多年的努力,完成了对传统工艺的现代化改造,摆脱传统原始落后的工艺方法,基本实现机械化的生产方式^[13]。二十世纪 90 年代,以风味物质研究为主体的欧洲干腌火腿研究列入“欧洲计划项目(European project)”带来国际干腌火腿的又一次技术革命^[14],推动了干腌火腿生产工艺和技术装备向规模化、自动化方向发展^[15]。

与国外干腌火腿相比,金华火腿的研究起步较晚。二十世纪 50 年代日本学者曾对金华火腿进行过探讨,但后来研究较少。直至 1981 年,金华火腿商标持有单位浙江省食品公司才开始与杭州商学院共同研究金华火腿的传统工艺,目的在于缩短加工周期,1985 年试制成功的“低温腌制、中温失火、高温成熟、堆叠后熟”新工艺,使加工周期由传统的 8~10 个月缩短至 3~5 个月。二十世纪 90 年代后,国内外先后有学者对金华火腿的微生物特征^{[16][17]}、风味物质组成^{[18][19][20]}、风味物质的提取^[21]、色素物质^[22]、火腿的抗氧化^[23]、传统工艺中的关键技术^{[24][13]}以及工艺过程中风味物质的变化^{[19][25]}和加工新工艺^[26-28]等方面进行了研究报道。近几年对金华火腿的研究系统化,研究了金华火腿成熟机制^{[14][29]}。

总的来讲，以前的研究者们出于探索金华火腿成熟机理、鉴定风味成分、优化传统工艺或探索新工艺，但利用金华火腿成熟机理，通过微观调控的手段，模拟金华火腿风味，生产火腿风味调味料的研究较少。

1.2 风味调味料

1.2.1 我国风味调味料的历史及生产现状

“民以食为天、食以味为先，美食离不开美味”。调味品由于具有改善食品风味、突出滋味、增进健康等作用，已成为人民生活的必需品，是城乡居民菜篮子的重要组成部分。

中国调味品行业是一个历史悠久方兴未艾的行业。早在一百年前，我国就有了人工制盐的生产活动，从此用盐加工调味品。大约在三千六百年前有了五味之说，即甘、咸、苦、辛、酸。可见，我国调味品的生产源远流长。但是，由于漫长的封建社会束缚了生产力的发展，致使这一行业长期停留在古老的自然发酵阶段，直到二十世纪中期，这个局面才开始有所改变。建国初，我国调味品的生产大多为一家一户的小作坊，档次较低，花色品种较少。20世纪50年代，我国调味品实行公私合营，各地建立了较健全的管理机构，形成了我国较为独立的调味品产销体系。70年代，我国开始在调味品方面开始技术革新和技术改造，逐步实现了加工机械化，这是我国传统调味品工业的一次历史性转折。中共十一届三中全会以后，先后制定了《全国调味副食产品科技发展规划》、《豆制品、酱腌菜质量卫生标准和检验方法》、《关于大力发展调味品生产的报告》等一系列的标准、规则、政策等，并在90年代初，对《调味品卫生管理办法》进行了修订^[30]。这些措施对规范我国调味品市场，大力发展调味品起到重要作用。

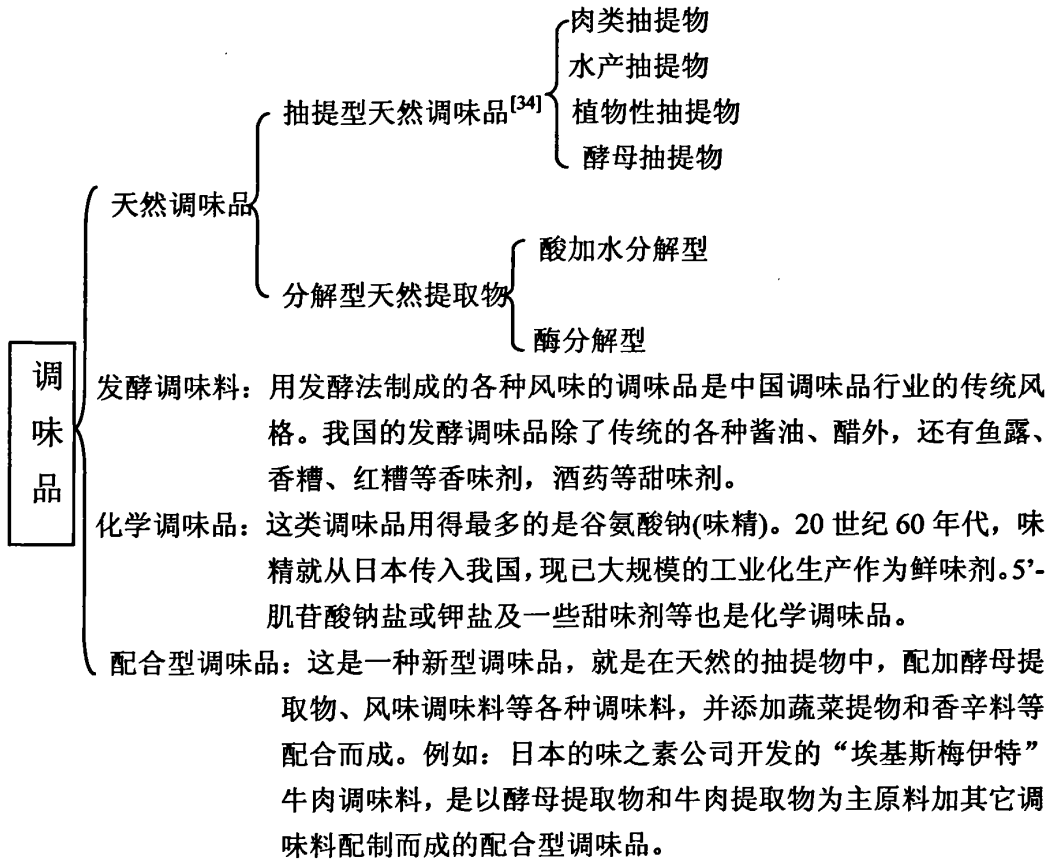
近年来，由于党的正确的方针政策的引导，以及人民水平的提高，调味品的发展出现了空前的繁荣和兴旺，产品产量迅速增加，尤其是新型复合调味料，年产量达100多吨，年增长率在20%以上；产品的品种花样都不断增加，从低档到高档，基本都满足不同群体、不同阶层消费者的需求；生产工艺和条件不断完善，既提高料原料的利用率，又能降低能耗，改善产品的风味；同时产品结构得到调整，并同时推进名牌战略，形成了一批优势的企业集团，通过国有企业、合资企业及民营企业之间相互制约、相互竞争、相互促进，使中国调味品市场正逐步走向繁荣，呈现“百花齐放，百家争鸣”的大好局面。

近年来，我国调味品的生产和经营出现了空前的繁荣和兴旺，成为副食品市场新的经济增长点。2002年总产值达380.5亿元^[31]，均不断增加，其中又以复合调味料的增长速度最快。各种产品的销量不断上升，尽管发展趋势是非迅猛，仍然没有达到市场饱和的状态。与发达国家的消费状况相比，我国的人均调味品消费量仍然偏低，品种相对单调，使用方便程度偏低。在目前全球调味品市场中，复合调味料占产品的80%以上，而我国仅占20%^[32]，人均消费量不足1kg。

其中，肉类抽提物：是抽提型天然调味品产量最高的一类，其中以猪肉抽提物居首，其基料型约23吨，其次是鸡肉；水产抽提物：对鱼、虾、海带、螃蟹、扇贝等进行抽

提和浓缩得到的抽提物，广泛应用于面条类调味及汤类食品；植物性抽提物：包括蘑菇、蔬菜(大蒜、洋葱、胡萝卜、香菜等)、藻类等抽提物；酵母抽提物：从生啤酒酵母、面包酵母、圆酵母属酵母等原料中，依靠自动分解或酶分解制成。

调味品分类^[33]如下：



酸加水分解型：包括限量分解型和完全分解型，如动物性蛋白 HAP 和植物性蛋白 HPP、HVP 等。这类调味品的缺点是中和时生成盐，残留了相当多的盐分。随着消费者的安全意识的提高，其应用受到了一定的限制。酶分解型：相对于酸分解型而言，酶分解型是低盐品，仅有原料带来的盐分残留。而且因是不完全分解，残留的肽类能引发出醇厚、浓郁的口味，能遮盖不愉快地臭味，改良风味和物性。因此，这种调味料的开发在近年来趋于活跃。

调味品具有以下作用：首先是基础调味作用，这是调味品最基本的作用，即产生酸、咸等“五味”的作用。其次是改善贮藏性，一定浓度的盐、酸等使微生物的繁殖受到了抑制，同时还可以提高抗氧化能力，降低水分活性，改善贮藏性。再者改善色、香、味。对原料的异臭有掩盖和缓解作用，即可改善口感，还可防止食物氧化。天然提取物中各种氨基酸、糖类加热发生美拉德反应，出现强烈的香味和能激起食欲的颜色，从而使食品的色、香、味都得到了改善。最后是保健功效。保健调味品有原料营养作用和食疗功效作用，是调味工业的一个发展趋势。如利用黑豆生产的保健豆浆，能预防肝癌、胃癌、大肠癌等疾病。对此，日本广岛大学伊藤弘明教授等人已经通过动物实验证明^[35]。

1.2.2 国外调味品工业的发展现状

日本是调味品工业最发达的国家之一，上世纪 60 年代初，日本就开发了核苷酸的复合味精，即超鲜味精，使鲜味提高数倍，日本称这种产品为复合调味料。进入 70 年代，以鱼贝类、鸡肉、牛肉为原料，添加 HVP、酵母抽提物等助鲜剂，生产的鸡精、牛肉精、鳀鱼风味调味料等天然风味调味料大量上市，这些产品具有天然肉香，味道鲜美，深受日本人的喜爱，特别是鳀鱼风味调味料，可以说是日本传统的天然风味调味料的代表^[36]。且专用于烹调中式菜肴复合调味料在日本开发也较早，1978 年，日本味之素生产“麻辣豆腐调料”、“青椒肉丝调料”“八宝菜调料”等，其商品总称为中华调料。到 1987 年已发展到 20 多种，还增加一些汤料，如“玉米汤调料”、“鸡丁香菇调料”、“榨菜菇丝汤料”及“鸡丁泡饭调料”、“四川泡饭调料”、“海鲜泡饭调料”等复合调味料。20 世纪 80 年代，日本就安装了亚洲第一台实用规模的超临界 CO₂ 提取设备，用于生产调味料；日本的天然调味料市场很大，尤其具有真实、天然、安全等特点的酶分解型天然调味料发展较快；另外，日本的配合型调味品的开发也是领先的，其国内的味之素公司开发的“埃基斯梅伊特”牛肉调味料，是以酵母提取物和牛肉提取物为主原料，配以平衡良好的无机盐和有机酸，经加热产生香味后加工而成的配合型提取物，特别接近牛肉提取物的高品位。

美国的调味品工业也是走在前列的，特别是保健型的调味品发展很迅速，现在已有保健品专卖店近万家，且每年市场的增长速度在 10%以上。美国在甜味剂的开发应用方面是领先的，它是世界上甜味剂最大的市场，销售额占食品添加剂总额的 20%^[37]。

浓缩牛肉汁是南美和澳大利亚的爱好，在品种上与西式的菜肴中常用的“烧汁”相似。而欧洲各大食品企业常用它作为生产各种汤和沙司调味料的主要原料。另外，英国、德国、加拿大等也是调味品工业发达的国家。

可见，随着国外食品工业迅速发展，各种集多种调味料于一体多风味、营养、方便、卫生、精美、即食小包装复合调味料纷纷上市，深受消费者青睐。目前，全世界复合调味料品种多达上千种，已成为当今国际调味品主导产品^[38]。

1.2.3 风味调味料的生产技术

1.2.3.1 生物酶解技术

酶解技术在调味料中的应用是一项新兴的技术，因其营养丰富，品质稳定，使用量不受限制的特征和天然的香鲜味而越来越受到消费者的青睐。生物酶解技术是利用酶的生物催化分解作用把大分子的物质在一定程度上切割成小分子得物质，即小肽、氨基酸、脂肪酸等。

酶法生产调味料具有“美味无灰味，美味无腻味”的特点。与蛋白质的酸法或碱法水解比较，酶法水解率高，而且条件温和，在营养的保留上具有不可比拟的优点。主要体现在以下几个方面：首先，味道自然、丰富，品质稳定。味精等化学调味料虽然味道强烈，但单调，不圆滑，余味令人厌恶。酶分解型天然调味料的特点是赋予食品多层次、圆润的味道，这是化学调味料无法达到的。同时可以缓和化学调味料尖锐的呈味

性和由于食品素材或制造工艺引起的过苦、过甜、过酸、过焦等味道。因而，与化学调味料相比，酶水解型天然调味料更自然、丰富，品质更稳定。其次，经济效益高。抽提型调味料如鸡精的成本就要 8 元/kg，相比之下，酶法水解型调味料因其选用的原料一般为蛋白质丰富的动植物产品，其成本低，因而经济效益也就会更好。再者，工艺简单，易控制。由于酶工程的应用，使天然调味料的生产工艺简单化，反映更易控制，生产周期也大大缩短。最后，营养和保健作用。日本学者今年研究表明：肠道对蛋白质水解物比对应的氨基酸吸收要好，其中尤以三肽吸收为最好。临床医学表明，低分子的肽不仅是一个重要的氮源，而且在体内具有一系列的生理功能，如能降低血液胆固醇，减少体脂，增加肌肉与体力，能起到治疗和预防高血压的作用；经研究发现，以大豆为原料的水解液，产物至少有 18 种肽，且主要为 2~6 肽，大豆还具有抗氧化性，能促进红细胞复原，脂肪代谢，产生有益物质。由于酶法水解有如此特殊的功能，目前越来越受有识之士的关注，蛋白质水解液在食品的开发也势在必行^[39]。

生物酶解的原料来源丰富，一般选用蛋白质含量高的动物及其副产品。如应用较多的猪肉副产物，猪血、猪皮、猪骨等。陈一资等^[40]人用复合酶将猪血酶解成氨基酸调味料，并为保健食品、医药和饲料工业开辟了氨基酸来源的新途径。曹东阳、姚秀玲等^[41]研究利用酶法水解肌肉，其水解产物的水解度为 40.5%，蛋白质回收率为 81.0%。1995 年 Beak 和 Cadwallader^[42]曾用 10 种商品酶对小龙虾加工工程中的副产物进行水解、制备香味自然得调味品。Hyung Hee Baek 等^[43]用一种外切肽酶 Flavourzyme 水解螃蟹的副产物，成功解决了以往酶制剂用于提取海产品风味物质时因为水解不彻底而产生苦味的问题。Kristinsson H G 等^[44]用碱性蛋白酶和内脏丝蛋白酶研究了大西洋鲑鱼肌肉蛋白的水解动力学。朱志伟等^[45]用内源蛋白酶、Flavourzyme 和 Alcalase2.4L 酶解虾头，较大程度的提高了产物中游离氨基酸的含量。刘树青^[46]选用小型毛虾经蛋白酶水解，制备低盐虾酱。

可见，用酶解技术获得的水解动物蛋白或脂肪，含有大量多肽、游离氨基酸、脂肪酸等，可以用于调味品的增香，提高鲜度，增加风味物质浓度。

1.2.3.2 热反应增香技术

利用热反应技术，将氨基酸，多肽等与糖类进行美拉德反应，可生成吡嗪、噻唑、呋喃、吡咯和含硫化合物等各类香气成分。由于糖和氨基酸种类不同，及加热温度、反应时间、pH、反应系统中水分含量和是否存在油脂等反应条件差异，结果产生香气成分也各不相同，应用美拉德反应制取香气成分技术在反应型调味香料香精、肉膏、呈味料生产中均有应用。特点是产品香气浓郁、圆润、逼真，且耐高温，可作为主体风味料。

1.2.3.3 真空浓缩技术、干燥技术

有些调味料为了便于运输、保藏和使用，有时需要将其中的水分除去。真空浓缩（低温，约 60~70℃）可以将大部分水分除去而保证产品风味不受影响。多效浓缩设备可以经济快速地实现这一工艺过程。经过真空浓缩后的物料需进一步干燥。经过浓缩和干燥处理后，可以得到肉类香味真实、口感浓郁的调味料。

1.2.3.4 微胶囊技术

为了避免物质间的相互作用,保护敏感物质(如防止氧化)等,有些调味料采用微胶囊技术进行包埋,包埋后可以保证调味料在货架期内香气强度和香型不发生改变;此外还可以改变物料的状态,如液态香精经过微胶囊化后成为固体粉末,便于加工、运输和储藏。一些知名企业通过几年反复研究,采用先进微胶囊技术,使蛋白质、肽类、氨基酸、核苷酸、糖类等风味成分和香辛料特殊成味得以最完整融合和保存,风味特色突出。经试验证明,将复合型调味料微胶囊制品添加到食品和菜肴中、尤其是在各种红烧、酱香型调味料中,其使用后效果后卫浓郁、香气逼真、令人满意。

1.2.3.5 超临界二氧化碳萃取技术

利用超临界状态下具有介于液体和气体间物化性质二氧化碳等性质,对所需萃取物组织有较佳渗透性,从中萃取某些以溶解所需成分,如萃取香料、香辛料、色素及其它有效成分。这种低温萃取方法是香料纯度高、香料保存佳、添加量小、对风味影响大。

1.2.4 风味调味料的发展趋势

由于调味品具有发展速度快、产量大、品种多、销售面广、经济效益好等特点,目前许多国家都致力于开发、研制更多、更好的调味品以适应市场的需求。我国虽然是调味品的发源地,但在调味品的加工技术等方面由于种种原因已明显落后于日本等国家^[47]。

调味料在发展中经历了以下四个时代:第一代是盐、糖、味精,加香料;第二代是加入水解蛋白,在80年代这一方法很流行,但水解蛋白因经常采用酸水解而产生致癌物氯丙醇,欧盟已严禁使用;第三代是酵母提取物的风味料;第四代就是肉类提取物组成的风味料。肉类风味料从本质上迎合了当代人对高品质食品的要求。可见,随着人民生活水平提高和生活节奏加快,调味料的发展逐步由以前的单一方向相复合方向发展,由酿造调味料或化学调味料转向具有更高级味感的天然调味料发展。以天然物为主流的风味型复合调味料近年来得到欢迎,已成为调味品行业中迅速发展重要品种系列^[48]。未来调味料主要向以下几个方面发展。第一,原料天然化。现天然抽提及酶解产物等天然调味料已得到广泛应用,特别是以动物原料制成的复合调味料,这类复合调味料的特点是由某种动物或植物原料抽提、浓缩物配制而成,具有该原料香气和滋味。第二,保健营养化^[49]。近年来,在生产复合型调味品时,更加注意研制、开发具有保健功能的调味品。添加真菌多糖、米糠多糖和酵母多糖,能够改善和调节人体的免疫功能。添加呈味核苷酸,可以消除体内的自由基,防止诱发肿瘤,防止动脉硬化,防止白细胞减少,并具有解毒功能。此外,生产调味品常用的葱、姜、蒜、花椒、茴香、桂皮、陈皮等原料,除可以提供不同的风味外,还具有调理和保健功能。国际上专家认为,保健调味品有可能发展为第五代鲜味调味品-保健型调味品。第三,技术高新化。当今调味料生产越来越多涉及生物和化学领域,新原料、新技术、新工艺不断引用和采用。从发酵菌种基因工程处理到风味物质分离提取,产品技术含量不断提高。如超微粉碎、超临界萃取、微胶囊包埋、真空冷冻干燥、生物工程、微波处理、超高温瞬时杀菌等技术将会大大提

高复合调味料质量和科技含量,促进行业迅速发展。第四,使用方便。随着社会生活节奏加快,饮食理念改变及餐饮专业化程度上升,应时而兴起多元化方便食品也需要调味品大力配合。如,改变产品物理形式;针对不同烹调方法开发复合调味料等能使条为原料迅速升级换代。第五,包装精致,礼品化。为了迎合消费者的需求,目前,国内外的调味品公司,开始将公司生产的各种不同的调味品装入精美的包装盒内,组成含有不同类型和风味的礼品型调味品。

1.3 肉品风味组分的提取方法和定性定量方法

1.3.1 肉品风味组分的提取方法

肉制品体系是一个极其复杂的体系,而肉香中起作用的挥发性风味成分又是浓度极低的物质,因此在复杂的肉制品体系中分离提取其挥发性风味成分是一项艰巨的工作。目前用来分离提取肉类制品风味和芳香物质的常用方法见表 1,且各有优缺点。

表 1-1 不同前处理方法的优缺点

Tab.1-1 advantage and disadvantage of different disposal method

方法	优点	缺点
同时蒸馏萃取 SDE	对肉品的熟化作用,可表征熟肉的肉味,经济	费时、费力且会造成风味物质较大损失
动态顶空(吹扫捕集 P&T)	速度快,吸收完全,特别对于不易挥发的风味物质	冷阱捕集含水量大的肉品时易发生结冰现象;吸附剂捕集时,不同化合物回收率不同
静态顶空(固相微萃取 SPME)	速度快,吸收较完全,特别对于含量低的风味物质	萃取头对风味物质的选择问题
溶剂萃取 SE	经济	费时费力且会造成风味物质很大损失,结果很不准确
超临界流体萃取 SFE	抽提效率高,温度低	非风味物质也被抽提

其中 SDE 法、P&T 法应用较早,使用很广泛,国内外普遍用于各种肉制品芳香成分分析挥发性风味物质的提取过程。而 SPME 法是一种分析检测食品风味物质的新方法,正越来越受到食品研究工作者及其他分析从业人员的普遍关注并正在推广应用。

1.3.2 风味组分的分离鉴定

对风味物质组成的系统研究始于十九世纪,初期采用化学反应的方法,只鉴定出个别主要成分。二十世纪五十年代,气相色谱的出现,为风味物质的分析开创了一个新局面。气相色谱比较适合于易挥发的有机化合物的测定,是目前香料研究中最广的分析方法之一^[50]。红外光谱(IR)是指测定食品或其他固体、液体或气体在不同频率下的红外辐射的吸收强度。这一方法最早由 Herschel^[51]发现的,如今红外光谱已广泛应用于食品工业中、原材料和最终产品的定性定量分析中。

质谱的工作原理是给待测分子加一个电荷,使分子转变成离子,然后将其置于电场中,根据离子质荷比(m/z)进行检测,从而识别产生的离子。通过离子的产生、分离、裂

解和检测就可得到用于解析分子质量或结构的质谱图，这一过程的转移是质谱法用于未知物的定性和定量。

核磁共振法(NMR)在奉为化学中的应用就是鉴定化合物的结构。一般通过化学位移可推测质子的种类和基团，通过各类质子的峰面积比可以知道各类质子的数目比，这对推断分子结构很重要。

质谱法、红外光谱法、紫外光谱法和核磁共振法对于有机化合物具有很强的定性能力，特别适合单一组分的定性。色谱分析与这些仪器联用，是分离的香气成分得到快速鉴定，同时结合相对保留值、比保留体积、Kovats 保留值数、程序升温指数等辅助定性方法，是鉴定的结果更为准确^[52-55]，其中以气相色谱-质谱联用仪使用最为普遍^[56]。

1.3.3 风味组分的定量

食品中的挥发性物质由于各自的呈味阈值不同，同一呈味物质在不同浓度下呈现的气味不完全相同。例如 2-戊基呋喃在较大浓度时为甘草味，较低浓度时则呈豆腥味；-甲基吡啶在高浓度时呈恶臭味，而在浓度较低时表现为茉莉花的香味。因此，确定肉品各风味物的风味特性以及它们对总风味的相对贡献既要实际含量将感官评定结合起来。

对风味物质的大多数研究中，通常采用归一法对各组分含量粗略定量。该法要求样品中所有的组分都出峰，且含量都在相同的数量级上。为增强各样品之间的可比性，内标法定量^[55]是目前香味分析中广泛采用的一种定量方法，它具有减少实验误差、结果可比性强且简便易行的特点。内标物的选择需考虑如下三个方面：一是该物应为试样中不存在的物质；二是加入量适中并与待测组分接近；三是内标物的出峰位置应在待测组分附近，但又能分离开。如腊肉香气分析中采用癸酸乙酯作为内标物^{[57][58][59]}。在选择不到合适的内标物时，也可以以预测组分的纯物质为内标物，加入待测样品中，在相同的色谱条件下，测定加入预测组分纯物质前后预测组分的峰面积，从而计算预测组分在样品中的含量，该法也称为标注加入法^[55]。

外表法实际上是常用的标准曲线法^[55]。用待测组分的纯物质配成不同浓度的标样进行色谱分析，获得个浓度下对应的峰面积，作出峰面积与浓度的标准曲线。分析时，在相同的色谱条件下，进同样体积分析样品，根据所得峰面积，从标准曲线上查出待测组分的浓度。外表法操作和计算都很简便，不必用校正因子，但对色谱操作条件稳定和进样重现性要求较高。

目前采用的感官评定方法主要有两类：第一类以 GC-O(gas chromatography-olfactometry)为基础，广泛应用于各类食品风味的研究，如 Iberian 火腿^[60]、茶^[61]、酸桔^[62]等。根据结果表示的不同，本类方法又包括三种类型：OGA(olfactometry global analysis)法，将挥发性提取物经气相色谱分离后，评味员在与其相色谱相连的嗅辨装置上评定各分离物气味特征，以可感觉到该物质的评味员人数作为气味强度；OSME 法，挑选经过用标准物进行嗅感强度培训的评味员在嗅辨装置上评定各分离物气味特征，结果以嗅感强度表示；AEDA(aroma extract dilution analysis)法，将挥发性提取物不断用相应溶剂(1:3)稀释，经 GC 分离后在嗅辨装置上评定，直至不能闻到气味为止，挥

发物的嗅感强度以稀释因子FD(flavor dilution)($FD=3^{n-1}$,n为稀释次数)表示。据 Guen 等^[63]的研究表明,这三种方法之间具有较好的相关性。本类方法虽然实施较为简单,但需特殊嗅辨装置。第二类方法是在 GC-MS 分析的基础上,用已经鉴定出的风味物的纯品单独稀释,以各评价员所能感觉的最低浓度的平均值作为该物质的阈值,结果以香味物质(该物质在挥发性提取物中浓度/阈值)表示。这两类方法只能对风味物质特性进行单独评定,而无法分析各风味物之间的协同或拮抗效应。事实上肉品的风味特性不但取决于肉品中各风味物的绝对浓度,而且与各风味的相对平衡密切相关。

1.4 本课题的立题背景和意义

调味品具有发展速度快、产量大、品种多、销售面广、经济效益好等特点,目前许多国家都致力于开发、研制更多、更好的调味品以适应市场的需求。我国虽然是调味品的发源地,但在调味品的加工技术等方面由于种种原因已明显落后于日本等国家。随着市场经济的深入发展,国外调味品产业纷至沓来。我国调味品工业面临着国际调味品工业发展的机遇和挑战。如何进一步把我国的调味品工业与国际接轨需要业界同仁认真研究。创新是一个民族的灵魂。调味品企业应该设立研发中心,加快新产品的研制和开发,应该紧紧跟踪世界调味品发展的新动向,加快技术创新,不断研制、开发,具有中国特色的新型调味品。向广大消费者提供更多、更好、更加卫生、更加安全的调味品,以满足人们对美食、美味、营养、保健的追求。

金华火腿具有独特的风味,受到广大消费者的青睐。但金华火腿生产周期长,产品在完全自然条件下生产,产品得率低,并且产品的含量盐很高,因此使金华火腿目前的消费方式主要是作为调味料。但其较高的价格又使其消费量受到影响。因此生产具有金华火腿特殊风味的调味料,一直受到生产企业和研究人员的关注。近几年来,部分研究人员对金华火腿风味调味料的生产技术进行研究,但多是以金华火腿成品腿为原料进行生产,难以克服生产周期长、原料成本高、产品不稳定的特点。

由金华火腿成熟机理知,金华火腿独特的风味主要是在内源酶的作用下形成的。但因肌肉中内源蛋白酶和内源脂肪酶种类较多、作用机理较为复杂,本文从外源蛋白酶和脂肪酶着手,添加外源蛋白酶和脂肪酶,控制蛋白质、脂肪的降解,微观调节酶解物的氧化发酵,从而制得具有火腿风味的调味料。不仅缩短了周期,降低了成本,提高了产品质量,还避免了传统自然发酵受季节限制的缺陷。

研制火腿风味料不仅可以拓展肉类的消费方式,增加食品的花色品种,填补调味品市场的空缺;而且,该产品在保持金华火腿传统特色风味的基础上,能够和油、盐、酱、醋等调味料一样方便地进入寻常百姓家庭厨房,也能够进入高档的餐饮行业,同时也能在食品行业中作为其它食品生产的基料,具有广阔的市场前景。该研究也同时为研制开发其它具有中国传统特色的肉制品系列风味料和促进传统肉制品风味的快速形成提供思路和方法上的参考。

1.5 主要研究内容

由金华火腿成熟机理知,金华火腿独特的风味主要是在内源酶的作用下形成的。但

因肌肉中内源蛋白酶和内源脂肪酶种类较多、作用机理较为复杂,本文从外源蛋白酶和脂肪酶着手,添加外源蛋白酶和脂肪酶,控制蛋白质、脂肪的降解,微观调节酶解物的氧化发酵,从而制得具有火腿风味的调味料。主要研究内容包括以下几个方面。

(1) 蛋白酶对蛋白质水解及滋味的影响

探讨食盐和亚硝酸钠对蛋白酶酶活的影响,确定食盐和亚硝酸钠的大概添加量;研究了主要影响蛋白质水解的因素蛋白酶的添加量,水解温度和水解时间;在单因素试验的基础上,设计响应曲面分析(RSM)优化了蛋白酶水解的工艺,同时测定优化工艺参数下产品的理化特性和滋味评定。

(2) 脂肪酶对脂肪水解及氧化的影响

研究了食盐和亚硝酸钠对脂肪酶酶活的影响,结合对蛋白酶酶活的影响、对人体健康以及食品保藏的影响,确定食盐和亚硝酸钠的最终添加量;研究了主要影响脂肪水解的因素酶的添加量,水解温度和水解时间;并探讨水解程度与氧化的关系,及对风味的影响;在单因素试验的基础上,设计响应曲面分析(RSM)优化了脂肪水解的工艺,同时测定优化工艺参数下产品的理化特性和风味评定。

(3) 脂肪氧化与风味的关系

研究了影响脂肪氧化的主要因素温度、时间和脂肪氧合酶的添加量;探讨了脂肪氧化程度与风味的关系,在此基础上设计响应曲面分析优化了脂肪氧化的工艺,同时测定优化工艺参数下产品的理化特性和风味评定。

(4) 火腿风味调味料的制备

在实验(3)和(4)的基础上,优化出火腿风味料的最佳生产工艺,并测定了在此工艺条件下生产的风味调味料的理化指标和风味评定。

(5) 风味调味料风味组分的提取和鉴定

用固相微萃取结合 GC-MS 测定了最佳工艺条件下制备的火腿风味料的风味成分,并与金华火腿的风味进行了比较。

第二章 蛋白酶对蛋白质水解和滋味的影响

2.1 前言

干腌火腿腌制过程中,蛋白质在内源蛋白酶主要是组织蛋白酶 B、L、D、H 及钙激活蛋白酶^{[64][65]}的作用下发生水解,形成肽、游离氨基酸,并且会发生进一步的变化,对火腿的滋味和风味的形成有很大作用。水解后形成的肽类主要贡献于火腿的滋味,而游离氨基酸既影响产品的滋味又影响到风味。

火腿的滋味物质主要包括由肌肉蛋白质水解产生的小分子多肽和游离氨基酸,由核酸降解产生的核苷酸以及溶解于水相中的矿物离子等^[14]。火腿的滋味并不是这些滋味物质的简单累计,而是由滋味物质的含量及构成比例共同形成^[66]。核苷酸是鲜肉的主要滋味物质之一,但竺尚武等^[19]对金华火腿研究表明,成品火腿中检测不到核苷酸,表明鲜腿加工成火腿后,核苷酸可能已经完全降解,对火腿滋味的贡献不大。火腿中的矿物离子主要是氯离子,赋予火腿以咸味,火腿的咸度取决于火腿的食盐含量^[14]。食盐可增强许多氨基酸的滋味^[66],如食盐是谷氨酸的助鲜剂^[19]。

火腿水解后生成的游离氨基酸,其中含量较高的有谷氨酸、丙氨酸、亮氨酸、赖氨酸、缬氨酸等^{[71][14][67]}。火腿中的游离氨基酸与火腿的风味形成密切相关,是火腿鲜味、甜味、酸味和苦味等的主要形成物质。游离氨基酸的感官性状已经比较清楚,除谷氨酸和天冬氨酸具有鲜味外,根据侧链的不同 L-氨基酸呈甜味或苦味,当带亲脂性侧链时呈苦味^[68]。谷氨酸是金华火腿中主要的鲜味物质^[19]。Careri 等^[69]对意大利火腿研究发现,酪氨酸和赖氨酸含量高的火腿感官评定得分最高,而天冬酰胺与火腿风味呈负相关,并且发现谷氨酸对咸味有促进作用,苯丙氨酸和异氨酸促进了苦味,酪氨酸与酸味负相关。Virgili 等^[70]报道,苦味的干腌火腿与高含量的氮氨酸、天冬酰胺和异亮氨酸相关,但 these 火腿中、精氨酸含量较低。火腿的苦味与疏水性氨基酸的相关性最强,尤其是丙氨酸、异亮氨酸和亮氨酸,这三种氨基酸苦味阈值较低。适当的苦味过重则有损火腿的质量。游离氨基酸除对火腿滋味有直接作用外,还可通过 Strecker 降解或美拉德反应,对火腿香气物质的形成也有重要贡献^[71]。

由于酶水解作用条件温和,时间短,不破坏营养成分,此外,水解动物蛋白保留了原料中的营养成分,含有人体需要的氨基酸,营养价值高。蛋白质水解后更易溶于水,利与人体吸收得肽及游离得 L-型氨基酸,使原有风味更为突出。水解蛋白有如此多的优点,国内外对蛋白质水解都作了大量的研究。内源酶在肉制品的风味形成过程中起到重要作用,但由于酶系构成复杂,影响因素较多也难以控制。因此,近年来国内外研究者通过添加外源酶来加速肉制品的成熟、缩短生产周期,主要研究是干发酵香肠。如 Zapelena 等^[72]通过添加不同的蛋白酶(中性蛋白酶、碱性蛋白酶和 HT 真菌蛋白酶)到两种干发酵香肠中,研究其对蛋白质降解、风味形成及质构的影响作用。研究发现,不同蛋白酶对蛋白质降解的促进作用不同,添加过量的蛋白酶会造成香肠质构上的软化,而选择合适的添加量则能加速香肠的成熟。Díaz 等^[73]通过添加不同剂量链霉菌蛋白酶 E、天

冬氨酸蛋白酶和木瓜蛋白酶添加到干发酵香肠中研究蛋白酶对其蛋白质降解的影响作用,研究发现,未添加和添加蛋白酶的干发酵香肠在成熟过程中总游离氨基酸的变化趋势相同,而从电泳图来看,添加了蛋白酶、尤其是木瓜蛋白酶的干发酵香肠中重链肌球蛋白和肌浆蛋白的降解明显强于未添加。

但要严格控制蛋白质的水解程度。蛋白质的水解程度可用蛋白质水解指数(即非蛋白质氮占总氮的百分数,用 P.I.表示)来表示,对于帕尔马火腿而言, P.I. <22 表明蛋白质水解不足,火腿缺乏应有的香味和滋味,而 P.I. >30 则表明蛋白质水解过度,火腿往往质地过软,有明显苦味或金属后味^[74]。

由于肌肉中的内源蛋白酶种类较多、作用机理较为复杂,本文从外源蛋白酶着手,添加外源蛋白酶,找出影响酶活的主要因素,优化水解的作用条件,促进蛋白质适度降解,从而形成良好滋味和风味前提物

2.2 材料和方法

2.2.1 材料和试剂

新鲜猪后腿肉		购于无锡大润发超市
中性蛋白酶	食品级	无锡杰能科生物工程有限公司
中性脂肪酶	食品级	无锡杰能科生物工程有限公司
无水甲醛	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
亚硝酸钠	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
三氯乙酸	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
福林试剂	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
氯化钠	分析纯	国药集团化学试剂有限公司

2.2.2 主要设备

PHS-2型酸度计	上海第二分析仪器厂
RE52CS旋转蒸发器	上海亚荣生化仪器厂
DS-1高速组织捣拌机	上海标本模型厂
HJ-3型恒温磁力搅拌器	江苏省金坛市荣华仪器有限公司
GL-20G-II 高速冷冻离心机	上海安亭科学仪器厂
UV-210PC紫外可见分光光度计	上海尤尼科仪器有限公司

2.2.3 理化指标的测定方法

2.2.3.1 蛋白酶(P 酶)酶活的测定:改进福林试剂法^[75]

2.2.3.2 氨基态氮(AJTD)的测定:甲醛电位滴定法^[76]

2.2.3.3 游离脂肪酸(FFA)的测定:酸价 $\times 0.503$ (以油酸计算)^[77]

2.2.4 实验设计方法

2.2.4.1 原料的预处理

将新鲜猪后腿去皮,固定瘦肉与肥肉之比 6:1,斩碎,加入 6%的食盐,0.15g/kg 的

亚硝酸钠, 2~4℃的温度下腌制 30h。

2.2.4.2 食盐对蛋白酶(P酶)酶活的影响

配制不同浓度的食盐溶液, 控制最适温度 45℃, 测不同浓度下的蛋白酶活

2.2.4.3 亚硝酸钠对蛋白酶酶活的影响

配制不同浓度的亚硝酸钠溶液, 控制最适温度 45℃, 测不同浓度下的蛋白酶酶活

2.2.4.4 蛋白酶(P酶)添加量对水解的影响

取 25g 预处理原料, 分别添加不同含量的 P 酶, 初始 pH6.50(允许水解过程中 pH 值自然下降), 45℃下水解 3h, 55℃下灭酶 5min, 酶解液进行风味评定

2.2.4.5 蛋白酶和脂肪酶(双酶)同时加入对蛋白质水解的影响

取 25g 预处理原料, 分别添加 1250uP 酶和 115uL 酶、2500uP 酶和 345uL 酶、3750uP 酶和 575uL 酶、5000uP 酶和 805uL 酶、6250uP 酶和 1035uL 酶, 初始 pH6.50(允许水解过程 pH 值自然下降), 40℃下水解 3h, 55℃下灭酶 5min, 酶解液进行风味评定

2.2.4.6 温度对双酶水解的影响

取 25g 预处理原料, 添加 5000uP 酶和 575uL 酶, 初始 pH6.50(允许水解过程中 pH 值自然下降), 分别在 30℃~50℃内, 水解 3h, 55℃下灭酶 5min, 酶解液 32℃下发酵 5 天后, 进行风味评定

2.2.4.7 时间对双酶水解的影响

取 25g 预处理原料, 添加 5000uP 酶和 575uL 酶, 初始 pH6.50(允许水解过程中 pH 值自然下降), 42℃下水解不同时间, 55℃下灭酶 5min, 酶解液 32℃下发酵 5 天后, 进行风味评定

2.2.4.8 双酶水解工艺参数的优化—响应曲面实验

表 2-1 响应曲面实验因素水平及编码

Table 2-1 Surface response experiment factor level and coding

变量	代码		编码水平*		
	编码	未编码	-1	0	+1
脂肪酶/u	X ₁	A	115	460	805
蛋白酶/u	X ₂	B	1250	5000	6250
温度/℃	X ₃	C	35	40	45
时间/h	X ₄	D	2	4	6

注: “*” 编码变量与真实值之间关系, 编码变量=(原始变量-中心水平)/半个变化区间

基于单因素实验, 对影响水解的关键因素进行研究和探索, 以获得最佳水解条件及水平范围。用 SAS 数据处理软件进行实验设计, 采用四因素三水平(表 2-1), 共计 27 组实验^[78], 以预处理的猪后腿肉为原料, 样品制备条件见表 2-2, 初始 pH6.50(允许水解过程中 pH 值自然下降)。分别测定样品的游离脂肪酸、氨基态氮含量以及经适当氧化后的风味评定, 实验结果见表 2-2。

2.2.5 风味的感观评定

请10名感官评价员,对不同条件下制的样品优劣进行打分,总分为100分,指标包括滋味和气味两个方面^[79]。

2.3 结果与讨论

2.3.1 原料的预处理

肉本身含有的微生物很少,但在处理的过程中避免不了会受到外界的污染,原料冷却后应及时进行腌制,可以起到抑制微生物的作用。此外,盐将肉中功能肌原纤维蛋白质溶出,激活蛋白,增加水解^[80]。

2.3.2 食盐对蛋白酶酶活的影响

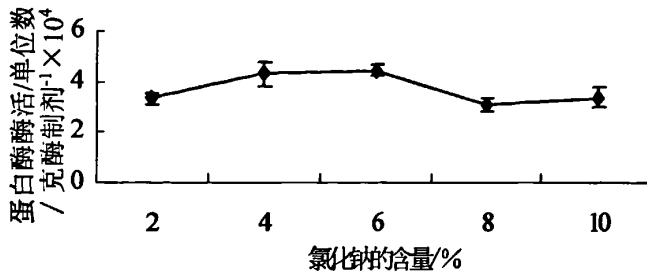


图 2-1 氯化钠对蛋白酶酶活的影响

Fig. 2-1 Influence of sodium chloride for protease activity

通常,盐历来被用于肉制品的保藏,盐是影响咸度、质构、保水率、增进风味的主要物质。由图 2-1 知随着氯化钠含量的增加,蛋白酶酶活增大,当含量达到 6%以上时,酶活下降,这与低浓度的氯化钠能够增加酶的活力,超过 7mmol/L 时,酶活力下降相一致^[81]。综合考虑氯化钠对蛋白酶酶活,微生物的抑制,风味的形成及人体健康的影响,本试验采用添加 6%的氯化钠。

2.3.3 亚硝酸钠对蛋白酶酶活的影响

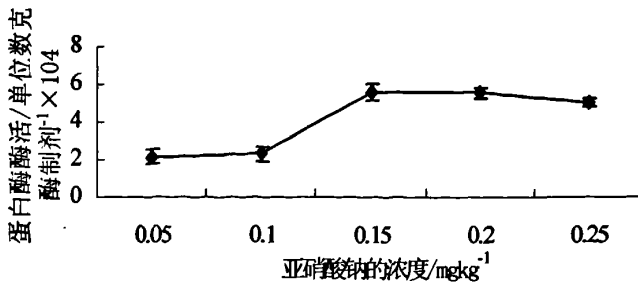


图 2-2 亚硝酸钠对蛋白酶酶活的影响

Fig. 2-2 Influence of nitrite for protease activity

亚硝酸钠是肉制品中常用而又独特的添加剂,它既具有抑制肉毒梭菌生长繁殖和发色的作用,同时对风味的形成又有重要贡献。肉中添加亚硝酸钠可以起到抗氧化的作用,防止酸败和异味的形成。从图 2-2 可以看出,随着亚硝酸钠含量的增加,蛋白酶酶活不

是呈现十分有规律的变化。根据亚硝酸钠在肉制品添加量的规定，本试验采用添加 0.15g/kg 的亚硝酸钠。

2.3.4 蛋白酶添加量对蛋白质水解和滋味的影响

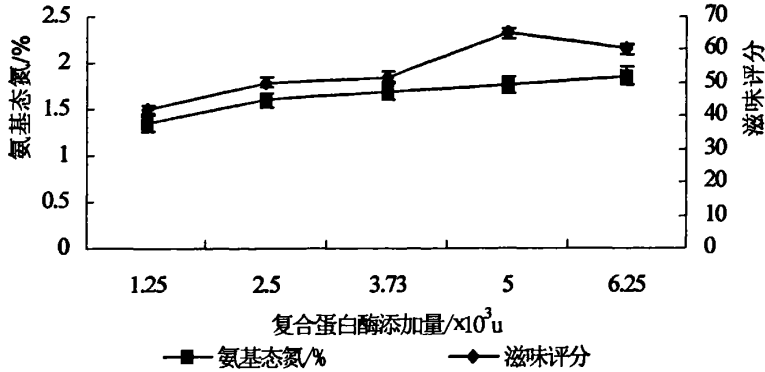


图 2-3 蛋白酶添加量对蛋白质水解和滋味的影响

Fig. 2-3 Influence of addition content of protease for protein hydrolyzation and taste

蛋白质水解程度影响产品滋味和挥发性气味化合物的形成。水解指数太低，产品的风味和滋味不足；但水解程度高（蛋白水解指数>30%）能感觉到与疏水性氨基酸和肽相关的苦味^[8]，对产品滋味不利。由图 2-3 知，随蛋白添加量的增加，氨基态氮的含量逐渐增加。蛋白酶添加量从 1250u 到 2500u，氨基态氮的含量增加较快；从 3750u 到 6250u，氨基态氮的含量增加较慢，可能因为底物浓度降低。水解产生的部分氨基酸呈现一定的甜味、咸味、苦味和鲜味等滋味。添加 5000u 蛋白酶滋味评分较高，添加量达到 6250u 时，咸味较重，无苦味，滋味下降。

2.3.5 双酶同时加入对蛋白质水解和滋味的影响

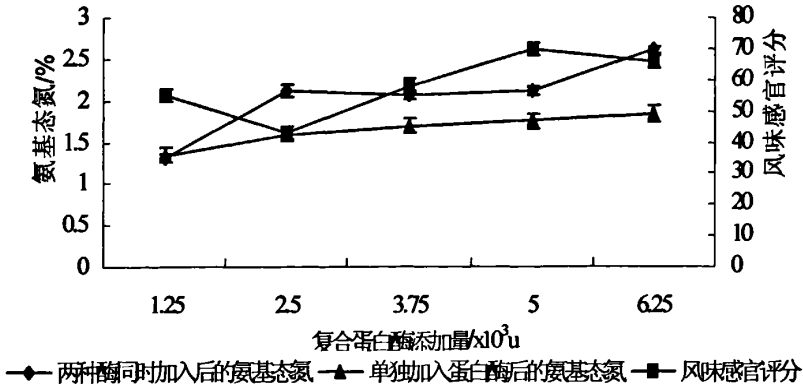


图 2-4 双酶同时添加对蛋白质水解和滋味的影响

Fig. 2-4 Influence of addition content of double enzymes for protein hydrolyzation and taste

由图 2-4 知，蛋白酶含量相同，双酶同时加入比单独加入蛋白酶产生的氨基态氮含量高，是由于脂肪酶将脂肪水解，使一些脂蛋白失去脂肪的保护而易受蛋白酶作用；此外，脂肪水解增大了底物的亲水性和随后蛋白酶的扩散能力，更有利于蛋白酶的作用^[82]。双酶同时加入，氨基态氮含量随双酶添加量的增加，先升高后下降，可能因为蛋白质水

解程度增大,氨基酸降解程度增大以及相关的生化反应加快。由感官评定知,双酶水解制备产品的感官评分明显高于单酶水解制备产品的感官评分,当添加 575u 脂肪酶和 5000u 蛋白酶水解后经适度氧化产生的风味感官较好。

2.3.6 反应温度对双酶水解和风味的影响

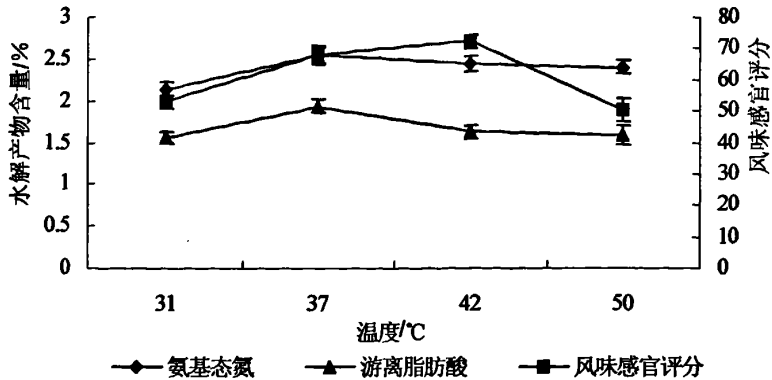


图 2-5 不同温度下两种酶同时加入后的水解物及感官评定

Fig. 2-5 Influence of different temperature for protein hydrolyzation and Sensory analysis

双酶水解时,因蛋白酶和脂肪酶的最适温度不同,为了控制良好的水解程度,需要对双酶水解时的温度进行优化。由图2-5知31°C~37°C下游离脂肪酸和氨基态氮含量迅速增加,说明温度升高酶活增大,反应速度加快;37°C~50°C下游离脂肪酸和氨基态氮含量降低,说明温度升高酶的稳定性变差,酶活降低,水解产生的风味前体物的氧化和降解速度提高。37°C下游离脂肪酸和氨基态氮含量最高,酶解效果较好,但感官评分不高,42°C时制备水解物经氧化后风味较好。

2.3.7 反应时间对双酶水解和风味的影响

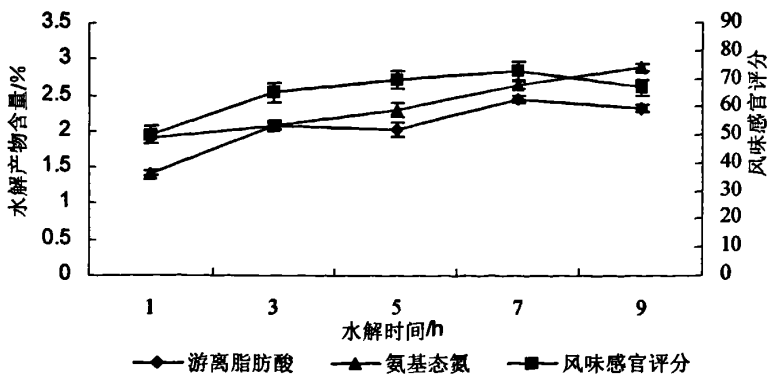


图 2-6 两种酶同时加入在不同水解时间下的产物和感官评定

Fig. 2-6 Influence of different time for hydrolysate and Sensory analysis

由图 2-6 知,氨基态氮含量随水解时间的延长逐渐增加,1~3h 内增加较快,3~9h 内增加缓慢,可能因为随水解的进行,pH 降低,蛋白酶酶活减小,也可能因为缓慢发生美拉德反应和氨基酸的降解。游离脂肪酸含量 1~3h 内缓慢增加,3~5h 下降,可能因为随水解的进行,pH 降低,脂肪酶酶活减小,也可能因为水解产生的饱和和不饱和游

离脂肪酸发生氧化、成酯。由感官评定知，随水解时间延长，风味逐渐变好，但超过 7h，出现刺激性气味，风味变差。结合实际生产和感官评定，采用水解 5h~6h。

2.3.8 双酶水解工艺参数的优化

将本研究中的 3 个评价指标用主成分分析法，利用 SAS 数据处理软件进行分析，得客观权重为：游离脂肪酸 a=0.40，氨基态氮 b=0.25，风味评分 c=0.35；并给各自赋以主观权重：A=0.3，B=0.3，C=0.4。

由此得到主客观结合的权重：YL: $0.3 \times a / (0.3 \times a + 0.3 \times b + 0.4 \times c) = 0.36$

AJ: $0.3 \times b / (0.3 \times a + 0.3 \times b + 0.4 \times c) = 0.22$ ；FW: $0.4 \times c / (0.3 \times a + 0.3 \times b + 0.4 \times c) = 0.42$

因此，综合指标 $Z = 0.36YL + 0.22AJ + 0.42FW$ ，计算结果如表 2-2。利用 SAS 数据处理软件进行响应面分析，得到回归方程：

$$Y = 18.04 + 1.06 \times X_1 + 0.34 \times X_2 + 1.67 \times X_3 - 1.10 \times X_1 \times X_1 - 1.74 \times X_2 \times X_2 - 1.21 \times X_3 \times X_3$$

表 2-2 实验结果表

Table 2-2 Experiment results

实验号	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	游离脂肪酸 (YL) %	氨基态氮 (AJ) %	风味评分 (FW)	综合指 标 (Z)
1	-1	-1	0	0	2.18±0.046	2.46±0.076	21±1.00	10.15
2	-1	1	0	0	2.67±0.015	2.00±0.021	28±1.02	13.16
3	1	-1	0	0	2.42±0.095	2.81±0.14	32±0.58	14.93
4	1	1	0	0	3.23±0.058	2.39±0.031	34±1.53	15.97
5	0	0	-1	-1	2.57±0.03	1.84±0.12	24±1.50	11.41
6	0	0	-1	1	1.43±0.035	2.36±0.015	29±0.65	13.21
7	0	0	1	-1	2.65±0.03	2.61±0.029	34±0.72	15.81
8	0	0	1	1	2.82±0.076	2.11±0.11	35±1.30	16.18
9	-1	0	0	-1	1.81±0.045	2.85±0.11	23±1.75	10.94
10	-1	0	0	1	3.40±0.035	2.00±0.091	36±0.45	16.97
11	1	0	0	-1	3.31±0.07	3.01±0.10	34±0.73	16.45
12	1	0	0	1	1.97±0.066	2.04±0.036	37±1.82	17.00
13	0	-1	-1	0	2.98±0.03	2.42±0.13	26±1.63	12.53
14	0	-1	1	0	1.96±0.092	2.41±0.060	37±0.52	16.78
15	0	1	-1	0	2.37±0.072	1.96±0.038	25±0.49	11.78
16	0	1	1	0	2.41±0.044	2.56±0.040	37±1.05	17.00
17	-1	0	-1	0	2.13±0.080	2.23±0.012	33±1.43	15.12
18	-1	0	1	0	2.92±0.085	2.62±0.049	37±1.29	17.01
19	1	0	-1	0	2.48±0.085	2.28±0.057	33±1.54	15.25
20	1	0	1	0	2.54±0.032	2.77±0.031	36±0.95	16.50
21	0	-1	0	-1	3.55±0.047	2.31±0.042	29±1.52	13.97
22	0	-1	0	1	1.96±0.11	2.41±0.021	37±0.98	16.78
23	0	1	0	-1	2.08±0.031	2.55±0.032	34±0.89	15.59
24	0	1	0	1	2.69±0.22	2.09±0.015	34±0.67	15.71
25	0	0	0	0	3.20±0.036	2.65±0.01	40±1.03	18.54
26	0	0	0	0	3.63±0.038	2.72±0.012	39±1.29	18.30
27	0	0	0	0	3.24±0.035	2.75±0.012	39±1.27	18.41

注：测定结果为平均值±标准偏差

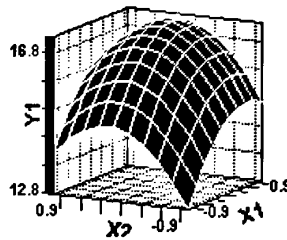
表 2-3 回归方程模型方差分析

Table 2-3 The square deviation analysis of regression equation

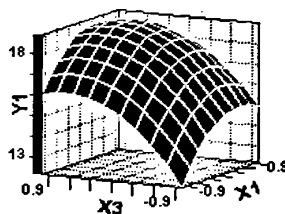
方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Pr>F
模型	107.26	14	7.66	2.72	0.045 *
A(脂肪酶含量)	13.55	1	13.55	4.81	0.048 *
B(蛋白酶含量)	1.38	1	1.38	0.49	0.50
C(温度)	33.27	1	33.27	11.81	0.0049 * *
A ²	13.98	1	13.98	4.96	0.045 *
B ²	27.15	1	27.15	9.64	0.0091 * *
C ²	15.92	1	15.92	5.65	0.035 *
误差项	33.80	12	2.82		
总和	141.06	26			

“*”:为显著影响因素; “**”:为极显著影响因素

回归方程用F检验结果显著($P < 0.05$), 方程拟合良好。说明用所得的方程来模拟因素与综合评价指标之间的关系可行。从表2-3可以看出, 脂肪酶含量, 温度为显著影响因素, 其一次项和二次项均对综合指标产生显著影响。蛋白酶含量仅二次项产生显著影响, 时间对综合指标无显著性影响。

图2-7 蛋白酶 (X_2) 和脂肪酶 (X_1) 影响综合指标的响应曲面图Fig.2-7 The response surface plot and of the effect of X_1 and X_2 on synthesized evaluation index

蛋白酶和脂肪酶影响综合指标的响应曲面图如图2-7所示。由图2-7可知, 在选定的范围内, X_1 和 X_2 较居中时, 综合指标较高。当两种酶的添加量都高时, 原料的水解程度较高, 游离脂肪酸和氨基态氮含量较高, 但感官评价较低, 因而最终的综合指标值不高。反之两种酶添加量较低时, 水解度低, 风味前体物少, 风味评价不高, 此时的综合指标也不高。选定范围内, 脂肪酶的添加量 X_1 0~0.6(460~667u), 蛋白酶的添加量 X_2 0.15~0.15(4437~5562u), 得到的综合指标较高。

图2-8 脂肪酶 (X_1) 和温度 (X_3) 影响综合指标的响应曲面图Fig.2-7 The response surface plot and of the effect of X_1 and X_3 on synthesized evaluation index

由图2-8知，温度升高综合指标增大；脂肪酶添加量增加综合指标增大。两者的交互作用，体现在温度高和低时，脂肪酶对综合指标影响不同，以及脂肪酶添加量多和少时，温度对综合指标的影响不同。在选定的范围内，脂肪酶的添加量在0~0.6(460~667u)，温度在0.3~0.8(41.5℃~44℃)，综合指标较高。

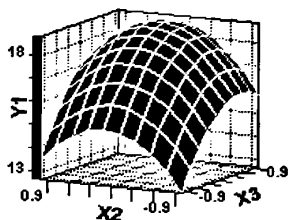


图2-9 蛋白酶 (X_2) 和温度 (X_3) 影响综合指标的响应曲面图

Fig.2-7 The response surface plot and of the effect of X_2 and X_3 on synthesized evaluation index

由图2-9知，与脂肪酶和温度对综合指标的影响类似，蛋白酶的添加量在-0.15~0.5(4437~6875u)，温度在0~0.9(40℃~45℃)，综合指标较高。超过此范围，综合指标较低。

对回归后的方程求极值，令： $\partial Y / \partial X_1 = 0$ ； $\partial Y / \partial X_2 = 0$ ； $\partial Y / \partial X_3 = 0$ 。求得极值 $X_1 = 0.482$ ， $X_2 = 0.0975$ ， $X_3 = 0.687$ ，此时综合指标取的最大值18.89，因此较佳的工艺条件为：添加621u的中性脂肪酶，5375u的中性蛋白酶，在43.4℃下水解4小时。

2.4 结论

采用中性蛋白酶和中性脂肪酶组合水解腌制猪后腿肉，制备火腿风味前体物。较佳的工艺条件为：添加食盐 6%，亚硝酸钠 0.15g/kg，4℃腌制 30h，然后再添加中性脂肪酶 621u，中性蛋白酶 5375u，43.4℃水解 4h。得到的酶解液中游离脂肪酸为 2.5%，氨基态氮 2.4%，其产品滋味较佳。

第三章 脂肪酶对脂肪水解及脂肪氧化对风味的影响

3.1 前言

肉的风味是多种化合物在量上达到一定平衡共同产生^[83]。其中脂类物质在风味的形成中起到了很大的作用，它们既是形成风味物质的前体，也是风味化合物蓄积的溶剂。在干腌火腿的加工过程中，脂质发生了强烈的水解，生成大量的游离脂肪酸，并进一步氧化成挥发性物质，促进火腿特有香味的形成。此外，游离脂肪酸不仅是脂肪反应的第一步产物，还是次级反应的前体物质(如氧化反应、与蛋白质降解产物间的反应等)次级反应是形成风味物质的主要反应。

在通常的肉制品中，pH 的高低都不足以形成脂质的酸碱水解，火腿中脂质的水解主要是在酶的作用下进行的。Maria^[84]研究发现在干腌火腿的肌肉组织中，存在着许多脂酶，这些脂酶一直保存很高的活性，而且有的脂酶非常稳定，在干腌火腿的成熟过程中，它们能够使脂质不断降解和氧化。活体组织中含有很少的游离脂肪酸，甚至几乎没有游离脂肪酸，但是在脂酶的作用下，原料肉在加工中不断游离出脂肪酸，其中主要是三酰甘油酯和磷脂水解释放出游离脂肪酸^[85]。Vestergaard 等^[86]研究了 Parma 火腿加工中肌肉组成的变化，脂解活性(酸性和中性脂酶的活性)和游离脂肪酸产量三者之间的关系，研究发现，产品中游离脂肪酸的含量与鲜火腿中酸性和中性脂酶的活性呈显著的相关性，并证明适度的脱水作用和盐浓度有利于脂酶活性的增加和游离脂肪酸产量的增加，从而加强火腿的风味。导致肉中脂肪水解的酶类主要是酸性和中性脂酶，内源酶的活性与肉中 pH 值、水分含量及温度等有很大的关系。

脂肪水解后产生大量的游离脂肪酸，脂类物质的氧化与脂肪酸的不饱和程度密切相关。许多研究已经报导，干腌火腿中特征香味的产生与脂质氧化的开始是一致的^[87]。干腌火腿大量的风味成分是由脂质的氧化产生^{[88][87][89]}。其中高于 5 个碳原子的直链醇、醛、酮、烷基咪喃等成分是典型的脂肪氧化产物^{[91][89][90]}，通过氧化还可以产生酸类物质、内酯等风味成分^[92]，除了这些直接产生的成分之外，由脂肪氧化产生的一级产物还可以发生进一步的反应，如参与美拉德反应，进一步形成大量的风味化合物。有些研究人员认为，干腌火腿生产过程中，少量的氧化即产生满意的风味特点，过度的氧化则会给产品带来不愉快的风味^[93]。因此脂肪的氧化在火腿风味形成和品质控制中具有十分重要的作用。

内源酶在肉制品的风味形成过程中起到重要的作用，但由于酶系构成较复杂，其影响因素较多也难于控制；因此，近年来国外研究者对通过添加外源酶来加速肉制品成熟、缩短生产周期上进行了大量的研究，但主要研究对象是干发酵香肠。Zalacain 等^[94]向发酵香肠中添加来自于 *Rhizomucor miehei* 的脂酶，研究发现，添加这种脂酶对于干发酵香肠的 pH、水分活度及微生物的生长情况没有明显的影响，油酸、亚油酸、棕榈酸和硬脂酸的含量明显增高，酸价也增高，但是对风味的影响不大。Fernández 等^{[95][96]}研究了添加胰脂酶对于干发酵香肠脂肪降解、微生物指标和感官质量的影响。研究发现，添加胰脂酶对发酵香肠的 pH 值、含水量和水分活度没有明显影响，但对三酰甘油尤其是

二酰甘油酯的降解和游离脂肪酸的积累有明显的促进作用。肉豆蔻酸、棕榈酸和油酸的含量均有明显的增加。研究还发现,添加 60 和 90 个酶活单位的胰脂酶对于干发酵香肠的风味形成有促进作用,也可减少成熟时间。此外, Ansorena 等^[97]将脂酶 Palatase M 和蛋白酶 Protease P 同时添加到发酵香肠中,研究其对蛋白质降解和脂肪水解的促进作用,发现部分游离氨基酸(谷氨酸、丝氨酸、亮氨酸、异亮氨酸等)和游离脂肪酸(油酸、亚油酸和棕榈酸)的含量增加,但风味没有太大变化。

本文选择添加外源蛋白酶及脂肪酶,调控蛋白质和脂肪的降解,快速形成风味前体物,通过控制氧化,形成风味。从而缩短周期,降低成本。

3.2 材料和方法

3.2.1 材料与试剂

新鲜猪后腿肉		购于无锡大润发超市
微生物脂肪酶	工业级	无锡杰能科生物工程有限公司
中性脂肪酶	食品级	无锡杰能科生物工程有限公司
TBA	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
EDTA	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
三氯乙酸	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
三氯甲烷	分析纯	国药集团化学试剂有限公司

3.2.2 主要设备

HH.SY21-Ni 恒温水浴锅	北京市长凤仪器仪表公司
DS-1 高速组织捣拌机	上海标本模型厂
GL-20G-II 高速冷冻离心机	上海安亭科学仪器厂
UV-210PC 紫外可见分光光度计	上海尤尼科仪器有限公司

3.2.3 理化指标的测定方法

3.2.3.1 微生物脂肪酶酶活的测定^[98]:

取 1 克酶粉,加少许磷酸缓冲溶液(pH7.5 0.05M)溶解,转移到 250ml 容量瓶中,并定容到刻度,适用前摇匀。在 100ml 的三角瓶中,加入 5ml 0.025M 磷酸缓冲液,4ml 聚乙烯醇橄榄油乳化液,置于 40℃ 水浴中保温 15min,取出立即加入 95%乙醇 15ml,已停止酶作用,在加酚酞指示剂 3 滴,用 0.05mol/L NaOH 溶液滴定至溶液呈粉红色为止,同时做空白试验。

3.2.3.2 内源脂肪酶酶活的测定:

酶液的提取:取 5g 原料肉,斩碎成粉状,加入 25ml 0.025M pH7.5 磷酸缓冲液(含 EGTA),在冰水浴中用高速均浆机于 25000 转/min 均浆 4×10s,然后在冰水浴中匀速搅拌 30min,之后于 4℃,10000g 离心 20min,用玻璃纤维过滤除去上层脂肪,滤液待用。

酶活的测定同微生物酶活的测定^[98]。

3.2.3.3 游离脂肪酸(FFA)的测定:同 2.2.3.3

3.2.3.4 羰基值的测定: GB/T5009.37—1996

3.2.3.5 TBA 的测定: 与 TBA 反应的物质的量, 以每千克肉中丙二醛的毫克数表示^[100]

3.2.3.6 水分含量的测定: GB/T5009.3-95

3.2.3.7 pH 值得测定:

称取绞碎的样品 10g, 加入 20mL 蒸馏水, 浸泡 15min, 过滤, 收集滤液, 用 F-11 酸度计测定 pH 值^[100];

3.2.3.8 大豆脂肪氧合酶的提取和测定^[101]

酶液的制备: 全脂大豆经粉碎后用石油醚多次浸提, 得到脱脂大豆粉, 称取 10g 脱脂大豆粉加水搅拌使其充分溶解并定容至 100ml, 所得酶解液在 4℃, 6000r/min 条件下离心 20min, 得到上清液为粗酶液。

酶活的测定: 取 0.3ml 酶液(已用蒸馏水稀释 50 倍后的酶液)与试管中, 加入 2ml 底物乳状液(2.24×10^{-3} mol/L 亚油酸分散于含有 0.5ul/ml 吐温 20 的 0.1mol/L, pH9.0 的硼酸缓冲液中), 混合后放入 30℃ 水浴中并开始计时, 反应 3min 后加入 5ml 无水乙醇终止反应, 然后加入 5ml 蒸馏水混合并测定反应液的吸光度。以 1min 内 3ml 反应体系在 234nm 的吸光度增加 0.001 作为一个酶活力单位(u)。

3.2.3.9 氨基态氮(AJTD)的测定: 同 2.2.3.2

3.2.4 实验设计方法

3.2.4.1 食盐对微生物脂肪酶和内源脂肪酶酶活的影响

配制不同浓度的食盐溶液, 控制最使温度 40℃, 测定不同浓度下脂肪酶的酶活

3.2.4.2 亚硝酸钠对微生物脂肪酶和内源脂肪酶酶活的影响

配制不同浓度的亚硝酸钠溶液, 控制最使温度 40℃, 测定不同浓度下脂肪酶的酶活

3.2.4.3 脂肪酶(L 酶)添加量对脂肪水解的影响

取 25g 预处理猪后腿肉, 分别添加不同含量的 L 酶, 初始 pH6.50 (允许水解过程中 pH 值自然下降), 40℃ 下水解 3h, 55℃ 下灭酶 5min, 酶解液 32℃ 下发酵 5d 后, 进行香味评分

3.2.4.4 双酶同时添加对脂肪水解的影响(见 2.2.4.5)

3.2.4.5 温度和时间对双酶水解的影响(见 2.2.4.6 和 2.2.4.7)

3.2.4.6 脂肪水解程度与氧化的关系

制备不同水解程度的脂肪水解产物, 在同一氧化条件下, 测定氧化指标的变化, 以及不同氧化程度与风味的关系

3.2.4.7 双酶水解工艺参数的优化(见 2.2.4.8)

3.2.4.8 温度对脂肪氧化的影响

在优化的水解条件下制备的酶解液, 在不同的温度下, 氧化降解 12 天, 测定氧化指标和风味的变化

3.2.4.9 时间对脂肪氧化的影响

在优化的水解条件下制备的酶解液, 在 40℃ 的温度下, 氧化降解不同的时间, 测定氧化指标和风味的变化

3.2.4.10 脂肪氧合酶对脂肪氧化的影响

添加不同含量的大豆脂肪氧合酶,在40℃下,氧化12d,测定个氧化指标和风味的变化

3.2.4.11 脂肪氧化工艺参数的优化^[78]

表3-1 不加大豆脂肪氧合酶的响应曲面实验因素水平及编码

Table 3-1 Surface response experiment of no soybean lipoxygenase factor level and coding

变量	代码		编码水平*		
	编码	未编码	-1	0	+1
温度/℃	X ₁	M	30	35	40
时间/d	X ₂	N	4	8	12

表3-2 添加大豆脂肪氧合酶的响应曲面实验因素水平及编码

Table 3-2 Surface response experiment of soybean lipoxygenase factor level and coding

变量	代码		编码水平*		
	编码	未编码	-1	0	+1
脂肪氧合酶/u	X ₁	A	20	30	40
温度/℃	X ₂	B	30	35	40
时间/d	X ₃	C	4	8	12

注：“*”编码变量与真实值之间关系，编码变量=(原始变量-中心水平)/半个变化区间

3.2.5 风味感官评定(同 2.2.5)

3.3 结果与讨论

3.3.1 底物浓度、微生物和内源脂肪酶的酶活

表3-3 脂肪的含量,外源脂肪酶及内源脂肪酶酶活

Table 3-3 Content of fat, activity of exogenous lipases and endogenous lipases

	含量(%)	酶活力
脂肪	14.47±0.46	
外源脂肪酶		(9.23±0.12)×10 ² u/mg 蛋白
内源脂肪酶		7.98±0.25u/mg 蛋白
脂肪氧合酶		40u

注:表中数据是三次测定平均值±标准偏差,每种酶的酶活在各自最适温度和最适pH值下进行测定。

本研究所用原料的脂肪含量,外源脂肪酶,内源脂肪酶及脂肪氧合酶的酶活如表3-3所示。

3.3.2 食盐对外源脂肪酶和内源脂肪酶酶活的影响

通常,盐历来被用于肉制品的保藏,盐是影响咸度、质构、保水率、增进风味的主要物质。由图3-1知随着氯化钠含量的增加,外源脂肪酶和内源脂肪酶酶活都先增大后迅速下降,外源脂肪酶含量达到4%时,酶活最高,而内源脂肪酶含量在6%时,酶活最高。综合考虑氯化钠对蛋白酶酶活(见2.3.2),内、脂肪酶酶活,外微生物的抑制,风味

的形成及人体健康的影响，本试验采用添加 6% 的氯化钠。

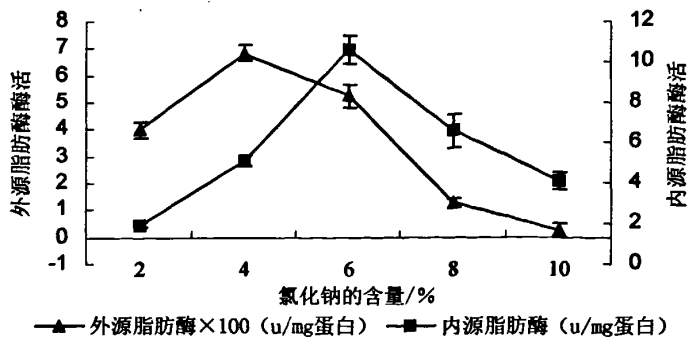


图3-1 食盐对外源脂肪酶和内源脂肪酶酶活的影响

Fig. 3-1 Influence of sodium chloride for exogenous lipases and endogenous lipases activity

3.3.3 亚硝酸钠对外源脂肪酶和内源脂肪酶酶活的影响

亚硝酸钠是肉制品中常用而又独特的添加剂，它既具有抑制肉毒梭菌生长繁殖和发色的作用，同时对风味的形成又有重要贡献。肉中添加亚硝酸钠可以起到抗氧化的作用，防止酸败和异味的形成。从图 3-2 可以看出，随着亚硝酸钠含量的增加，外源脂肪酶酶活先上升后下降再上升，呈现无规律的变化。内源脂肪酶酶活先上升后下降，在 0.15g/kg 时，酶活最高。根据亚硝酸钠在肉制品添加量的规定及对内、外源脂肪酶酶活，蛋白酶酶活的影响，本试验采用添加 0.15g/kg 的亚硝酸钠。

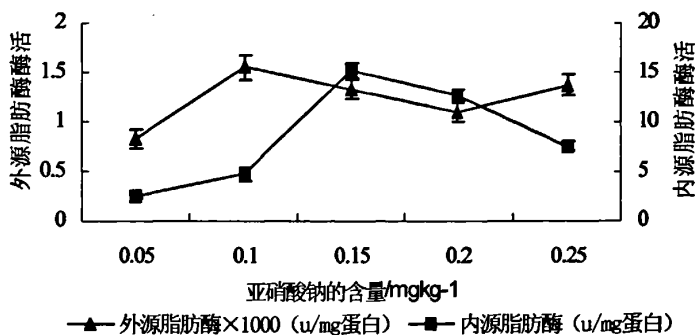


图3-2 亚硝酸钠对外源脂肪酶和内源脂肪酶酶活的影响

Fig. 3-2 Influence of nitrite for exogenous lipases and endogenous lipases activity

3.3.4 脂肪酶 (L 酶) 添加量对脂肪水解的影响

由图 3-3 知脂肪酶添加量从 115u 到 345u，游离脂肪酸含量迅速增加；而从 345u 增加到 805u，游离脂肪酸含量增加的较为缓慢，可能因为底物浓度降低。脂肪水解产生饱和和不饱和的游离脂肪酸，后期氧化产生期望和不期望的风味。由感官评定知，添加 575u 脂肪酶香味评分较高，添加量达到 805u 以上时，水解产物在后期氧化时会产生大量的酸，出现刺鼻的味道。

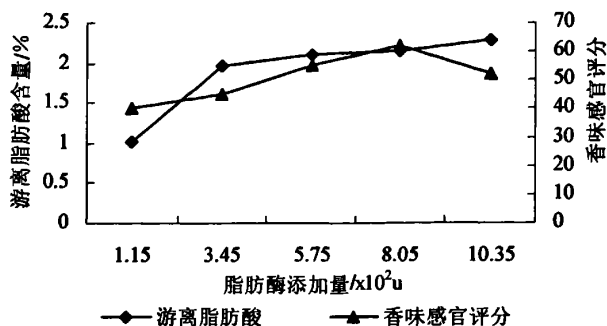


图3-3 脂肪酶添加量对脂肪水解和香味的影响

Fig. 3-3 Influence of addition content of lipase for fat hydrolyzation and aroma

3.3.5 双酶同时添加对脂肪水解的影响

由图 3-4 知,两种酶同时加入产生的游离脂肪酸比单独加入脂肪酶产生的游离脂肪酸含量有所降低。可能是由于蛋白酶或其水解产物影响脂肪酶酶活,也有可能蛋白质水解产生了氨基酸,使测定的游离脂肪酸含量偏低。两种酶同时加入,不但产生滋味化合物,而且在后期氧化中产生香味化合物,由风味感官评分知,当添加 805u 的脂酶水解后氧化产生的风味感官最好。

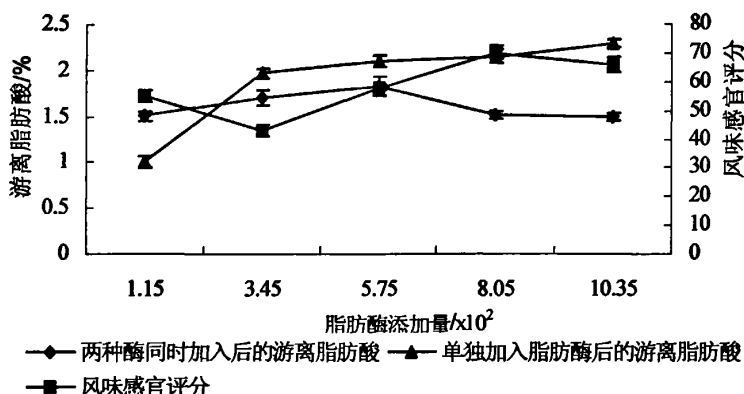


图3-4 双酶同时添加对脂肪水解的影响

Fig. 3-4 Influence of addition content of double enzymes for fat hydrolyzation and flavor

3.3.6 温度和时间对双酶水解的影响(见 2.3.6 和 2.3.7)

3.3.7 脂肪水解程度与氧化的关系

3.3.7.1 不同水解程度在氧化阶段的 TBA 变化

脂肪的氧化终产物之一为丙二醛,丙二醛与硫代巴比妥酸(TBA)在一定条件下发生反应产生红色物质,并在530nm下有最大吸收峰,因此TBA值可以表示脂肪受到氧化的程度。由图3-5可看出不同水解程度的酶解物,在氧化过程中TBA值得整体趋势是逐渐上升的,但并非在整个氧化过程中均是增加的,存在TBA值下降情况,这可能是丙二醛与蛋白质发生反应,使丙二醛呈结合状态不易被测定出来^[6]。在相同的氧化时间里,游离脂肪酸和氨基态氮数值越大,TBA值并非总是最大,由于多种风味前体物同时存在,氧化途径非常复杂,最终TBA值取决于多种风味前提物所占的比例。

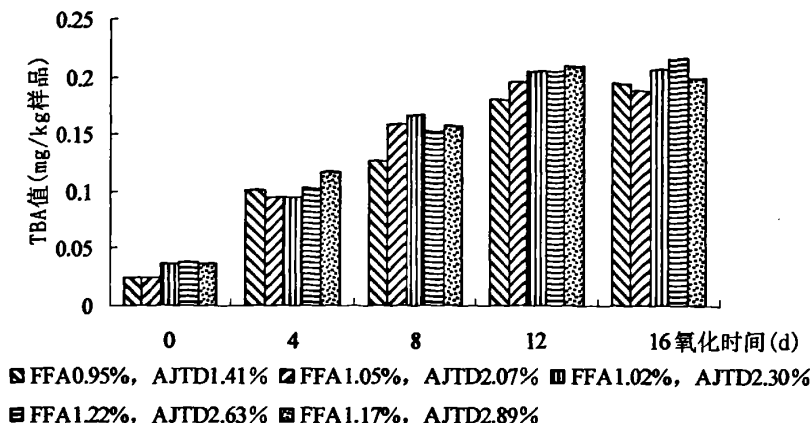


图3-5 不同水解程度在氧化阶段的TBA变化

Fig.3-5 Changes of TBA value during the oxidation times for different hydrolysates

3.3.7.2 不同水解程度在氧化阶段的羰基值变化

脂肪氧化产物中的醛、酮、酸是衡量肉制品品质的重要因素，醛、酮、酸属于羰基化合物，因此羰基值也是衡量脂肪氧化程度的指标。由图 3-6 可看出，不同酶解程度的产物，随氧化时间的增加，羰基值在缓慢的增加。在相同的氧化时间里，游离脂肪酸和氨基态氮数值越大，羰基值并非最大，在氧化到第 8 天时，游离脂肪酸 1.02%，氨基态氮 2.30% 酶解液，羰基值最高，而氧化到第 16 天，游离脂肪酸 1.05%，氨基态氮 2.07% 酶解液与游离脂肪酸 1.17%，氨基态氮 2.89% 酶解液的羰基值相当。可见，最终羰基值与游离脂肪酸和氨基态氮所占比例相关。

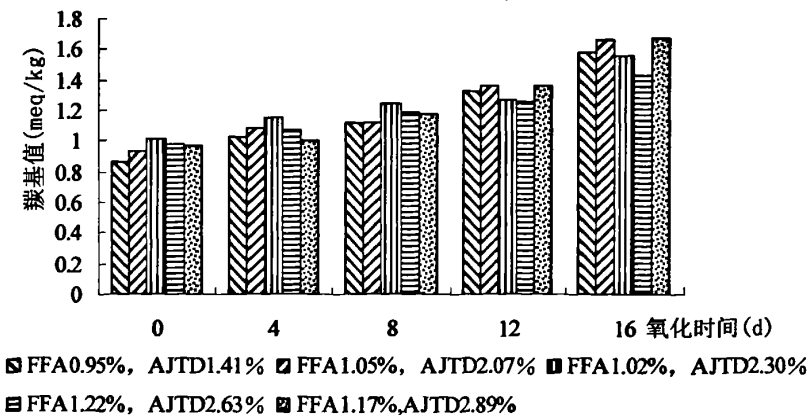


图3-6 不同水解程度在氧化阶段的羰基值变化

Fig.3-6 Changes of carbonyl value during the oxidation times for different hydrolysates

3.3.7.3 不同水解程度在氧化阶段的 pH 变化

pH 值表示样品的有效酸度，对肉制品的色泽、风味以及稳定性有重要影响。由图 3-7 可以看出，水解不同程度再氧化的各种产品，因氧化生成各种酸，pH 值先降低，后可能因为不饱和游离脂肪酸氧化，氨基酸的存在，pH 值又有所增加。由于酶解液中同时含有游离脂肪酸和氨基酸，而两者的比例不同，使得不同酶解程度的产物，在相同的氧化时间里，pH 值相差不大。pH 值从水解后的最高 5.54，降低到最低值 4.55，然后上

升到 4.67(5.54, 4.55, 4.67 都是酶解不同程度产物的 pH 值平均值)。因此, 制得的产品虽然水分含量较高(与金华火腿相比), 但 pH 值较低, 产品具有一定的稳定性。

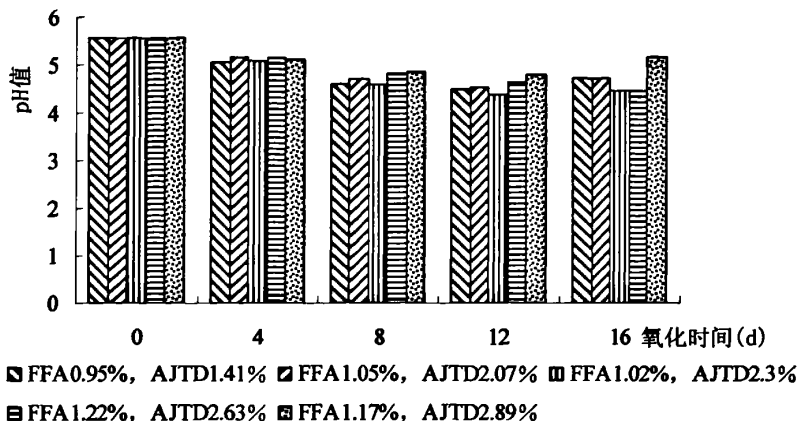


图3-7 不同水解程度在氧化阶段的pH变化

Fig.3-7 Changes of pH value during the oxidation times for different hydrolysates

3.3.7.4 不同水解程度在氧化阶段的水分变化

本研究中制成的产品是酱状食品, 其稳定性与水分含量有很大的关系, 因此水分含量的变化对产品稳定有很重要的影响。由图 3-8 知, 不同水解程度的酶解物经氧化 4 天后, 水分含量下降。之后水分含量又上升, 可能因为大量的风味前提物经氧化生成了挥发性化合物, 使得测定结果偏高。酶解和氧化的时间越长, 水分减少越多, 但由于氧化生成挥发性化合物的多少不同, 单从数据看不出水解不同程度再氧化的产品间水分含量的变化, 且随氧化时间的推移, 水分含量呈现无规律的变化。

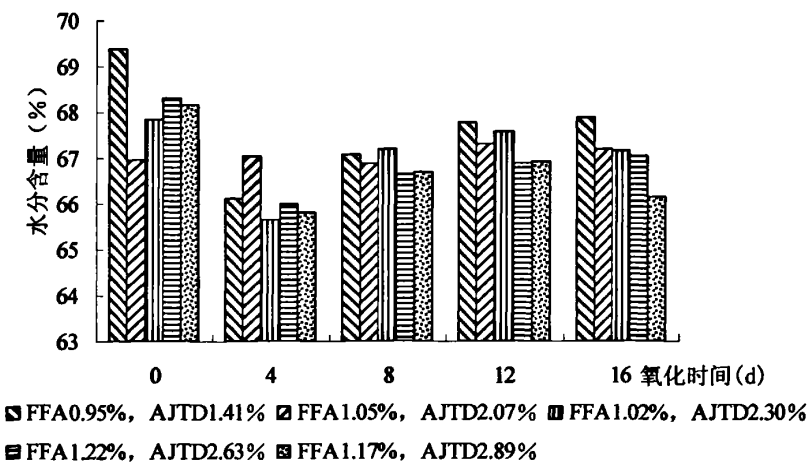


图3-8 不同水解程度在氧化阶段的水分变化

Fig.4 Changes of water content during the oxidation times for different hydrolysates

3.3.7.5 不同水解程度在氧化阶段的风味变化

不饱和脂肪酸发生氧化, 氧化到一定的程度, 产生风味, 对食品是有利作用。但是氧化过度, 产生腐败, 产品不能够被消费者接受。由图3-9感官评定的结果知, 不同酶解程度的产物, 都随氧化时间的增加, 风味评分先增加后因氧化过度或变质而下降。游离脂肪酸在0.95%~1.02%, 氨基态氮在2.07%~2.30%氧化8~12天, 风味评分较高; 而游离

脂肪酸在1.17%~1.22%，氨基态氮在2.63~2.89%氧化8天左右，风味评分较高；在相同的氧化时间里，随着酸价和氨基态氮的增加，风味评分增加，但当游离脂肪酸超过1.17%，氨基态氮超过2.89%，风味评分反而下降。由结果知，当游离脂肪酸1.02%，氨基态氮2.30%，氧化12天，风味最佳。

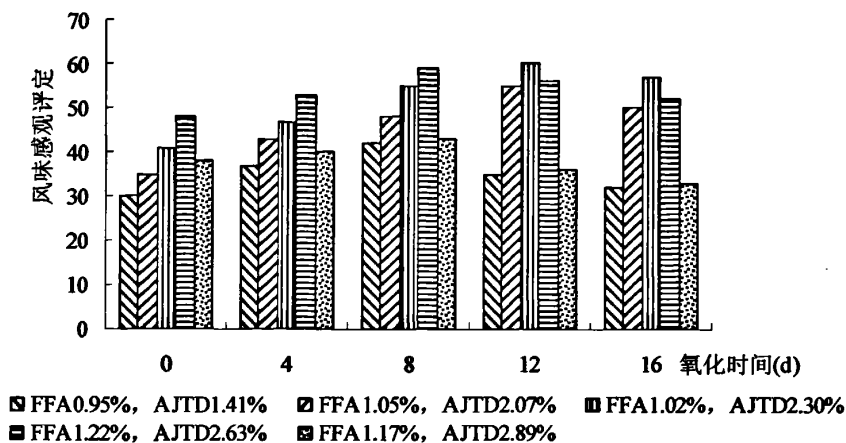


图3-9 不同水解程度在氧化阶段的风味变化
 Fig.3-9 Changes of flavor value during the oxidation times for different hydrolysates
 注: 3-5~3-9 测定结果为二次测定结果的平均值

3.3.8 双酶水解工艺参数的优化(见 2.3.8)

3.3.9 温度对脂肪氧化的影响

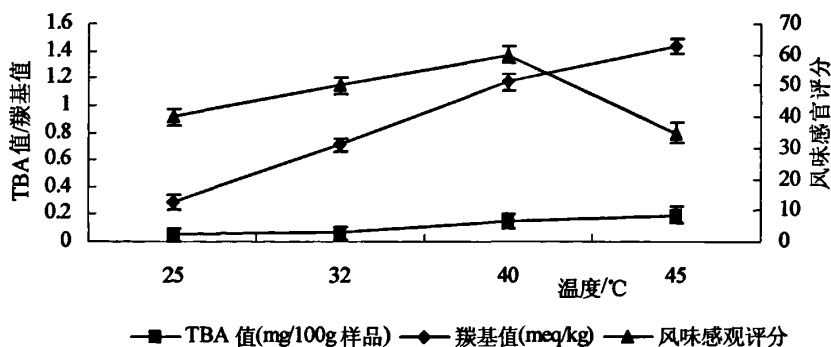


图 3-10 不添加大豆脂肪氧合酶温度对脂肪氧化的影响
 Fig. 3-10 Influence of temperature for lipid oxidation by no soybean lipoxygenase

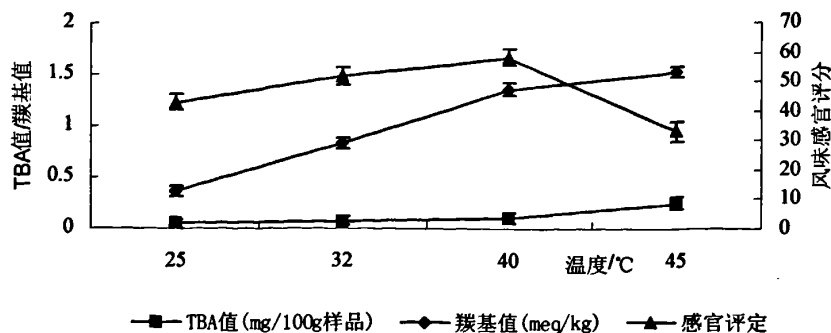


图3-11 添加脂肪氧合酶温度对脂肪氧化的影响
 Fig. 3-11 Influence of temperature for lipid oxidation by soybean lipoxygenase

由图 3-10 知,随着温度的增加, TBA 值和羰基值都缓慢增加,说明温度提高氧化速度加快。适度的氧化产生有利的风味,但过度氧化产程令人难以接受的刺激味,由感官评定知,在 40℃的条件下,氧化产程的风味评分最高。

由图 3-11 知,添加大豆脂肪氧合酶与不添加大豆脂肪氧合酶的变化趋势相同。随着温度的增加, TBA 值和羰基值都迅速增加;在 40℃的条件下,氧化产程的风味评分最高,但在相同的温度条件下,添加大豆脂肪氧合酶的样品比不添加大豆脂肪氧合酶的样品 TBA 值和羰基值少高。

3.3.10 时间(day)对脂肪氧化的影响

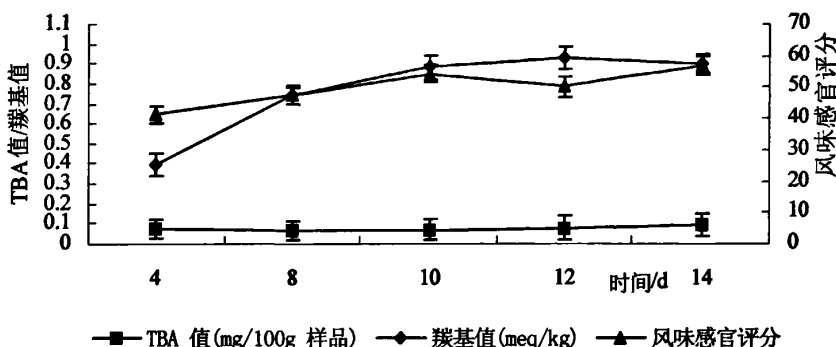


图3-12 不添加脂肪氧合酶时间对脂肪氧化的影响

Fig. 3-12 Influence of time for lipid oxidation by no soybean lipoygenase

由图 3-12 知,随着氧化时间的增加, TBA 值和羰基值都缓慢增加,氧化到 12 天之后,含量变化较少。氧化程度与风味密切相关,由感官评定知,随着氧化时间的延长,风味逐渐变好,但氧化到 12 天时,风味下降,可能因为此样品在氧化过程中被污染。氧化时间太长,会产程不愉快的气味,氧化 10~14 天,风味较好。

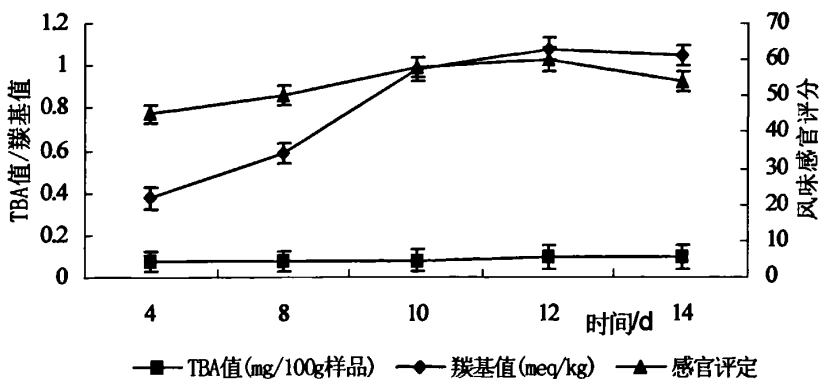


图3-13 添加脂肪氧合酶(20u)时间对脂肪氧化的影响

Fig. 3-13 Influence of time for lipid oxidation by soybean lipoygenase

添加脂肪氧合酶与不添加脂肪氧合酶的 TBA 值和羰基值变化趋势基本相同,随着氧化时间的增加先缓慢增加,氧化到 12 天之后增加更为缓慢,但在相同的氧化时间里,添加大豆脂肪氧合酶的样品不添加的样品的 TBA 值和羰基值数值少高。由感官评定知,随着氧化时间的增加,风味逐渐变好,氧化到 12 天之后,风味下降,氧化 11~13 天,风味较好。

3.3.11 脂肪氧合酶的添加量对脂肪氧化的影响

已有研究表明,火腿的后期氧化主要是自动氧化,但脂肪氧合酶也起到一定的作用,为了加快风味的形成,缩短周期,添加一定的大豆脂肪氧合酶。由图 3-14 知,随着脂肪氧合酶添加量的增加, TBA 值和羰基值缓慢增加。脂肪氧化过度,不仅产程令人难以接受的气味,而且产生有害成分,因此要严格把握氧化程度。由感官评定知,添加 10~30u 大豆脂肪氧合酶,风味会逐渐变好,添加 30u 以上的大豆脂肪氧合酶风味下降。因此,添加 10u~30u 的大豆脂肪氧合酶,风味较好。

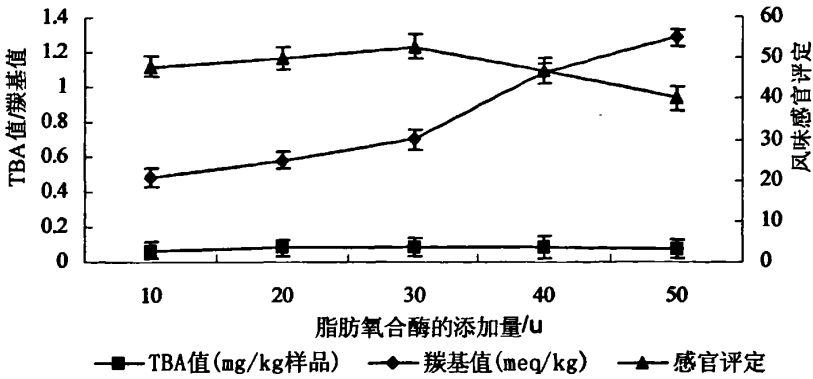


图3-14 大豆脂肪氧合酶的添加量对脂肪氧化的影响

Fig. 3-14 Influence of addition content of soybean lipoxigenase for lipid oxidation

3.3.12 脂肪氧化工艺参数的优化

3.3.12.1 添加大豆脂肪氧合酶的工艺参数的优化

表3-3 添加大豆脂肪氧合酶的实验结果表

Table 3-3 Experiment results by soybean lipoxigenase

实验号	X ₁	X ₂	X ₃	TBA 值 /mg(100g 样品) ⁻¹	羰基值 /meqkg ⁻¹	风味评分 (FW _i)
1	-1	-1	0	0.073 ± 0.029	0.70 ± 0.05	45 ± 1.5
2	-1	1	0	0.090 ± 0.030	1.84 ± 0.13	41 ± 1.43
3	1	-1	0	0.073 ± 0.036	1.06 ± 0.16	52 ± 1.94
4	1	1	0	0.092 ± 0.021	1.87 ± 0.14	43 ± 1.78
5	0	-1	-1	0.055 ± 0.01	0.64 ± 0.075	53 ± 2.1
6	0	-1	1	0.14 ± 0.012	1.04 ± 0.14	42 ± 2.5
7	0	1	-1	0.076 ± 0.015	1.74 ± 0.21	34 ± 3.0
8	0	1	1	0.24 ± 0.023	2.40 ± 0.15	35 ± 2.4
9	-1	0	-1	0.063 ± 0.032	1.11 ± 0.10	46 ± 2.54
10	1	0	-1	0.066 ± 0.041	1.62 ± 0.024	53 ± 1.96
11	-1	0	1	0.10 ± 0.091	1.82 ± 0.021	44 ± 1.65
12	1	0	1	0.094 ± 0.056	0.46 ± 0.023	37 ± 1.98
13	0	0	0	0.099 ± 0.012	0.96 ± 0.085	50 ± 1.23
14	0	0	0	0.80 ± 0.014	0.52 ± 0.094	55 ± 1.42
15	0	0	0	0.076 ± 0.017	0.78 ± 0.08	50 ± 1.35

注:测定结果为平均值 ± 标准偏差

利用 SAS 数据处理软件进行响应面分析，得到回归方程：

$$FW_1=50.92-4.88 \times X_2-3.50 \times X_3-5.12 \times X_2 \times X_3-5.37 \times X_3 \times X_3$$

回归方程用F检验结果显著 (P<0.05),方程拟合良好。说明用所得的方程来模拟因素与评价指标之间的关系可行。从表3-4可以看出，大豆脂肪氧合酶含量影响不显著，温度为极显著影响因素，时间为显著影响因素，其一次项、二次项和交叉相均对风味产生显著影响。

表3-4 添加大豆脂肪氧合酶的响应曲面回归模型方差分析表

Table 3-4 The square deviation analysis of regression equation by soybean lipoxygenase

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Pr>F
模型	585.42	9	65.05	5.82	0.033*
A (脂肪氧合酶含量)	10.13	1	10.13	0.91	0.39
B (温度)	190.13	1	190.13	17.00	0.009**
C (时间)	98.00	1	98.00	8.76	0.032*
A ²	5.39	1	5.39	0.48	0.52
A×B	6.25	1	6.25	0.56	0.49
A×C	49.00	1	49.00	4.38	0.09
B ²	100.16	1	100.16	8.96	0.03*
B×C	36.00	1	36.00	3.22	0.025*
C ²	110.01	1	110.01	9.84	0.025*
误差项	55.92	5	11.18		
总和	641.33	14			

“*”:显著影响因素; “**”:为极显著影响因素

温度和时间影响风味的响应曲面图如图3-15所示。由图3-15可知，在选定的范围内，X₂和X₃较居中时，综合指标较高。当温度和时间数值都高时，氧化程度较高，产生令人难以接受的刺激性气味，感官评价较低。反之温度和时间数值都小时，氧化程度低，产生风味物少，风味评价不高。选定范围内，温度 X₂-0.8~0(31.8~35℃)，时间X₃-0.8~0(5~8天)，得到的风味指标较高。

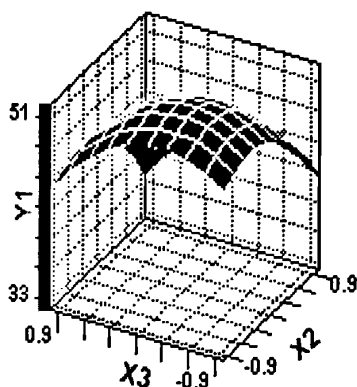


图3-15 温度(X₂)和时间(X₃)影响风味指标的响应曲面图

Fig.3-15 The response surface plot and of the effect of X₂ and X₃ on flavor evaluation index

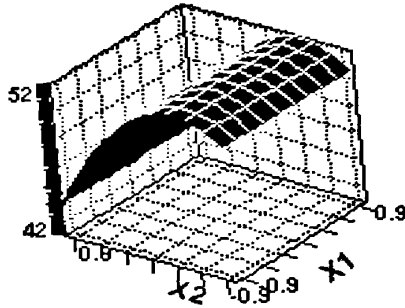


图3-16 大豆脂肪氧合酶(X_1)和温度(X_2)影响风味的响应曲面图

Fig.3-16 The response surface plot and of the effect of X_1 and X_2 on flavor evaluation index

大豆脂肪氧合酶和温度影响风味的响应曲面图如图3-16所示。又由表3-4知,大豆脂肪氧合酶和温度的交互相对风味影响不显著。当温度固定在0.3(36.5℃)时,无论如何改变大豆脂肪氧合酶的添加量,风味几乎不变。

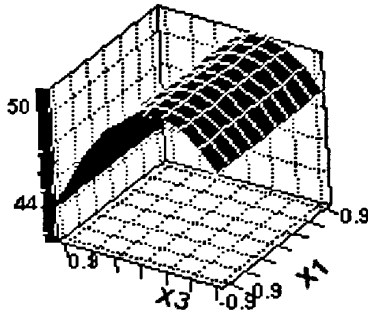


图3-17 大豆脂肪氧合酶(X_1)和时间(X_3)影响风味的响应曲面图

Fig.3-17 The response surface plot and of the effect of X_1 and X_3 on flavor evaluation index

大豆脂肪氧合酶和时间影响风味的响应曲面图如图3-17所示。又由表3-4知,大豆脂肪氧合酶和时间的交互相对风味影响不显著。当时间固定在0.3(9.2天)时,无论如何改变大豆脂肪氧合酶的添加量,风味几乎不变。

对回归后的方程求极值,令: $\partial Y / \partial X_1 = 0$; $\partial Y / \partial X_2 = 0$; $\partial Y / \partial X_3 = 0$ 。得较佳的工艺条件为:添加30u的大豆脂肪氧合酶, 34℃氧化8天。

3.3.12.2 不添加大豆脂肪氧合酶的工艺参数的优化

利用 SAS 数据处理软件进行响应面分析,得到回归方程:

$$FW_2 = 50.00 - 5.44 \times X_1 \times X_1 - 4.50 \times X_1 \times X_2 - 3.69 \times X_2 \times X_2$$

回归方程用 F 检验结果显著 ($P < 0.05$), 方程拟合良好。说明用所得的方程来模拟因素与评价指标之间的关系可行。

表 3-5 不添加脂肪氧合酶的实验结果表

Table 3-5 Experiment results by no soybean lipoxygenase

实验号	Y_1	Y_2	TBA 值 /mg(100g 样品) ⁻¹	羰基值 /meqkg ⁻¹	风味评分 (FW ₂)
1	-1	-1	0.058±0.012	0.24±0.054	36±1.21
2	-1	1	0.074±0.023	0.82±0.043	43±1.32
3	1	-1	0.066±0.005	0.32±0.023	46±1.76
4	1	1	0.017±0.043	1.17±0.15	35±2.10
5	-1.41	0	0.012±0.037	0.47±0.034	37±1.98
6	1.41	0	0.095±0.015	1.18±0.12	43±1.87
7	0	-1.41	0.064±0.078	0.30±0.032	39±1.65
8	0	1.41	0.094±0.054	0.51±0.054	48±2.13
9	0	0	0.079±0.023	0.79±0.076	48±2.16
10	0	0	0.094±0.065	0.89±0.071	50±1.65
11	0	0	0.089±0.098	0.83±0.043	50±1.75
12	0	0	0.084±0.075	0.82±0.064	53±1.67
13	0	0	0.091±0.043	0.79±0.043	49±1.72

注:测定结果为平均值±标准偏差

表 3-6 不添加大豆脂肪氧合酶的响应曲面回归模型方差分析表

Table 3-6 The square deviation analysis of regression equation by no soybean lipoxygenase

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Pr>F
模型	372.72	5	74.54	8.65	0.0066*
M (温度)	13.74	1	13.74	1.59	0.25
N (时间)	9.52	1	9.52	1.10	0.33
M ²	205.68	1	205.68	23.85	0.0018*
M×N	81.00	1	81.00	9.39	0.0182*
N ²	94.59	1	94.59	10.97	0.0129*
误差项	60.36	7	8.62	8.65	
总和	433.08	12			

“*”:显著影响因素

从表3-6可以看出, 温度, 时间为显著影响因素, 其二次项和交叉相均对风味产生显著影响。

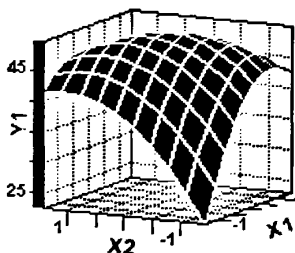


图3-18 温度(X₁)和时间(X₂)影响风味指标的响应曲面图

Fig.3-18 The response surface plot and of the effect of X₁ and X₂ on flavor evaluation index

温度和时间影响风味的响应曲面图如图3-18所示。由图3-18可知, 在选定的范围内,

X_2 和 X_3 较居中时,风味指标较高。当温度和时间数值都高时,氧化程度较高,产生令人难以接受的刺激性气味,感官评价较低。反之温度和时间数值都小时,氧化程度低,产生风味物少,风味评价不高。选定范围内,温度 X_1 -0.5~0.6(32.5~38℃),时间 X_2 -0.5~0.5(6~10天),得到的风味指标较高。

对回归后的方程求极值,令: $\partial Y/\partial X_1=0$; $\partial Y/\partial X_2=0$ 。得较佳的工艺条件为: 34℃,氧化8天。

3.4 结论

采用中性蛋白酶和中性脂肪酶组合水解腌制猪后腿肉,制备火腿风味前体物。较佳的工艺条件为: 添加食盐 6%,亚硝酸钠 0.15g/kg, 4℃腌制 30h, 然后再添加中性脂肪酶 621u, 中性蛋白酶 5375u, 43.4℃水解 4h。

在相同的氧化时间里,游离脂肪酸和氨基态氮数值越大, TBA 值与羰基值并非总是最大,最终数值取决于多种风味前提物所占的比例; pH 值相差较小; 水分含量无法比较。随氧化时间的延长, TBA 值与羰基值总体呈上升趋势; pH 值都先降低,后又有所增加; 而水分含量呈现无规律的变化。不同水解程度的酶解液,游离脂肪酸在 0.95%~1.02%,氨基态氮在 2.07%~2.30%氧化 8~12d,风味评分较高; 而游离脂肪酸在 1.17%~1.22%,氨基态氮在 2.63~2.89%氧化 8 天,风味评分较高; 在相同的氧化时间里,随着游离脂肪酸和氨基态氮的增加,风味评分增加,但当游离脂肪酸超过 1.17%,氨基态氮超过 2.89%,风味评分反而下降。

通过单因素实验和响应曲面实验,得出,添加大豆脂肪氧合酶与不添加大豆脂肪氧合酶的样品,最终风味差别不大,大豆脂肪氧合酶对风味影响不显著。添加大豆脂肪氧合酶与不添加大豆脂肪氧合酶的最佳工艺条件分别为: 添加大豆脂肪氧合酶30u, 34℃氧化8d; 不添加大豆脂肪氧合酶, 34℃, 氧化8d, 得到的风味较好。

第四章 火腿风味调味料的制备

4.1 前言

俗话说“民以食为天，食以味为先”。由于调味品具有改善食品风味、突出滋味、增进健康等作用，已成为人民生活的必需品，是城乡居民菜篮子的重要组成部分。中国调味品行业是一个历史悠久方兴未艾的行业。早在五千年前，我国就有了人工制盐的生产活动，从此用盐加工调味品。大约在三千六百年前就有了五味之说，即甘、咸、苦、辛、酸^[30]。可见，我国调味品的生产源远流长。但由于漫长的封建社会束缚了生产力的发展，致使这一行业长期停留在古老的自然发酵阶段，直到 20 世纪中期，这一局面才开始有所改变。近年来，随着社会经济、文化的迅速发展，人民生活水平的日益提高，对美味美食的追求日趋强烈，这时调味品的生产、经营进入了一个迅猛发展的阶段。

调味料的发展经过了以下几个阶段：第一代简单调味料包括酱油、酱、醋等，是日常家庭必备的调味料。第二代高浓度及高效调味料，以味精为代表，以及后来陆续发展到超鲜味精、酵母提取物、HAP、HVP 等。第三代调味料是以鸡精为代表的复合调味料^{[32][102][36][103]}。可见调味品的发展也有以前的单一化向复合化发展；由传统的单一调味料如酱油、醋、味精等发展到目前以鸡精为代表的种类丰富的复合调味料。而越来越多的业内人士，对比欧美和日本等国的饮食消费方式、调味方式及其结构与调味产品的相互关系，以及天然型复合调味料的市场潜力等，预测我国调味品市场今后最具发展潜力的是天然复合调味料。

天然调味料，从广义上来说，是指采用天然出产的原料，以非化学性手段生产的调味品。根据日本的经验，天然调味料是指以提取(萃取)、分离、加热及发酵等方法对天然物进行处理，生产出的液、膏状或粉末状的产品^[104]。天然调味料主要有以下几类：抽提型天然调味料^[34]包括肉类抽提物、水产抽提物、植物性抽提物、酵母抽提物，其中肉类抽提物是抽提型种产量最高的一类，以猪肉抽提物居首；分解型天然调味料包括酸加水分解型和酶分解型，由于酸分解时，发生中和，生成盐残留了很多盐分，其应用受到了一定的限制。酶作用条件温和，避免了使用极端 pH 和温度，酶解后产生可溶性蛋白、美味多肽、氨基酸、呈味性核苷酸等，具有食品天然的味感和香味，能最大限度的保持原有天然食品的味道和香气，在食品加工时赋予食品良好的风味。正是由于这些优点，使得各种酶被广泛应用于肉类和海产品中，制得的水解产物作为风味前提物。如 Barros Soares L H. de^[105]等用一些商业酶制剂研究酶处理对去骨禽肉蛋白溶解性的影响。陈一资^[40]等人用复合酶将猪血酶解成氨基酸调味料，并为保健食品、医药和饲料工业开辟了氨基酸来源的新途径。Yi Hong Chen 等^[106]研究了 Alcalase 和 Flavourzyme 对鸡胸脯肉的水解效率的影响。Beak 和 Cadwallader^[107]曾用 10 种商品酶对小龙虾加工过程中的副产物进行水解、制备香味自然的调味品。可见酶解技术在调味料生产中得到广泛的应用。

金华火腿具有独特的风味而受到消费者的青睐。由于盐含量较高，目前金华火腿的食用方式主要是作为调味品，但由于较高的价格又使其消费量受到影响。因此生产具有

金华火腿特殊风味的调味料，一直受到生产企业和研究人员的关注。近几年来，部分研究人员对金华火腿风味调味料的生产技术进行研究，但多是以金华火腿成品腿为原料进行生产，难以克服生产周期长、原料成本高、产品不稳定的特点。本文根据金华火腿风味形成的机理^{[108][109]}，但由于肌肉中的内源蛋白酶和内源脂肪酶种类较多、作用机理较为复杂，本文从外源蛋白酶和脂肪酶着手，添加外源蛋白酶和脂肪酶促进蛋白质、脂肪降解和风味的快速形成，制备出高品质金华火腿风味料。该产品在保持金华火腿传统特色风味的基础上，能够和油、盐、酱、醋等调味料一样方便地进入寻常百姓家庭厨房，也能够进入高档的餐饮行业，同时也能在食品行业中作为其它食品生产的基料，具有广阔的市场前景。该研究也同时为研制开发其它具有中国传统特色的肉制品系列风味料和促进传统肉制品风味的快速形成提供思路和方法上的参考。

4.2 材料和方法

4.2.1 材料与试剂

4.2.1.1 火腿风味调味料的制备

新鲜猪后腿肉（脂肪含量 14.47%），添加 6% 的食盐和 1.5mg/kg 的亚硝酸钠，混合，斩碎，在 0~4℃ 下腌制 30h，加入 621u 的中性脂肪酶（酶活 900U/mg 蛋白），5375u 的中性蛋白酶（酶活 5000U/克酶制剂），43.4℃ 水解 4 小时，灭酶。酶解物 34℃ 发酵 8 天，得到火腿风味调味料。

4.2.1.2 所需试剂

微生物脂肪酶	工业级	无锡杰能科生物工程有限公司
中性脂肪酶	食品级	无锡杰能科生物工程有限公司
硫代巴比妥酸	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
无水乙醚	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
无水乙醇	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
无水丙酮	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
无水甲醛	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
三氯甲烷	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
冰乙酸	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
蛋白胨	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
牛肉膏	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
盐酸	分析纯	国药集团化学试剂有限公司

4.2.2 主要设备

扩散皿(康维氏皿)	
PHS-2型酸度计	上海第二分析仪器厂
HJ-3型恒温磁力搅拌器	江苏省金坛市荣华仪器有限公司
HH.SY21-Ni 恒温水浴锅	北京市长风仪器仪表公司
GC7AG 型气相色谱仪	日本岛津

4.2.3 实验方法

4.2.3.1 游离脂肪酸(FFA)的测定

准确称取 50~100mg 脂肪于具塞三角瓶中,加入 15ml 丙酮/甲醇溶液(v/v, 2:1),在加入 100~200mg 树脂及 C_{17:0} 内标 0.5ml,以 120r/min 水平振摇 30min,静置后除去溶剂,用丙酮/甲醇溶液(v/v, 2:1)洗涤树脂 5 次,室温下以氮气流吹干树脂,将树脂转移至干试管中,加入 3ml 甲酯化试剂,盖紧试管塞,在置于沸水浴中 45min,充分冷却后打开试管塞加入 2ml 己烷,1ml 蒸馏水,振摇至两相清晰,取 1ul 己烷层进气谱分析^[99]。

甲酯化试剂的组成: 1mlBF₃-CH₃OH(w/v,14%), 1ml 苯和 1ml 甲醇。

定量计算: 采用内标法进行定量计算,内标物为 C_{17:0}

4.2.3.2 酸价(AV)的测定: GB/T5009.37-1996

4.2.3.3 过氧化值(POV)的测定^[110]

4.2.3.4 羰基值的测定: GB/T5009.37—1996

4.2.3.5 硫代巴比妥酸的测定: 同3.2.3.5

4.2.3.6 氨基态氮(AJTD)的测定: 同 2.2.3.2

4.2.3.7 挥发性盐基氮的测定: 微量扩散法^[111]

4.2.3.8 水分含量的测定: GB/T5009.3-95

4.2.3.9 pH值得测定: 同3.2.3.7

4.2.3.10 脂肪的测定: 氯仿-甲醇法^[76]

4.2.3.11 蛋白质的测定: 双缩脲法^[76]

4.2.3.12 微生物的测定: 按 GB4789.17-94《肉与肉制品检测》的规定取样测定。

4.2.4 风味的感官评价

请 10 名感官评价员比较待测样品与金华火腿风味的接近程度,进行评分:

非常接近 6 分;较接近 5 分;有点接近 4 分;接近程度较小 3 分;很不接近 2 分;截然不同 1 分。评价指标包括滋味和气味两个方面,完全接近时感官评价总分为 60 分^[79]。

4.3 结果与讨论

4.3.1 火腿风味料的各指标及含量

表 4-1 火腿风味料各指标及含量

Table 4-1 Index and content of ham base

指标	含量	指标	含量
蛋白质/%	38.12	微生物×10 ⁴ cfug ⁻¹	2.90
脂肪/%	6.34	pH 值	5.44
氨基态氮(%)	3.76	挥发性盐基氮/mg(100g) ⁻¹	49.00
总脂肪酸/g(100mg 脂肪) ⁻¹	4.55	酸价 mgg ⁻¹	8.35
水分含量/%	53.10	过氧化值/mEpkg ⁻¹	25.07
TBA /mg(100 样品) ⁻¹	0.08	羰基值/meqkg ⁻¹	1.27

注:测定结果为二次测定结果的平均值

按照 4.2.1.1 的方法制备的火腿风味调味料，各指标及含量如表 4-1 所示。

4.3.2 游离脂肪酸的变化

4.3.2.1 酶解后样品中主要 FFA 组成及含量

表 4-2 酶解后主要的 FFA 组成及含量

Table 4-2 Main composing and content of FFA by hydrolyzation

脂肪酸种类	含量/g(100g 脂肪) ¹	所占 FFA 百分比/%
C _{14:0}	0.068	0.77
C _{16:0}	0.67	18.91
C _{16:1}	0.12	1.39
C _{18:0}	1.17	13.24
C _{18:1}	2.56	40.19
C _{18:2}	1.12	12.64
C _{18:3}	0.071	0.65

从表 4-2 可看出，添加复合脂肪酶水解后，主要游离脂肪酸有豆蔻酸、棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和亚麻酸。各种游离脂肪酸含量，都大幅度增加，其中油酸含量最高，为 2.56g/100g 脂肪，占了总游离脂肪酸的 40.19%，其次是棕榈酸，硬脂酸，亚油酸，为 0.67g/100g 脂肪，1.17g/100g 脂肪，1.12g/100g 脂肪，分别占了总游离脂肪酸的 18.91%，13.24%，12.64%。水解后，其游离脂肪酸均以棕榈酸，油酸，硬脂酸和亚油酸为主。

4.3.2.2 火腿风味料加工过程中 FFA 解离程度

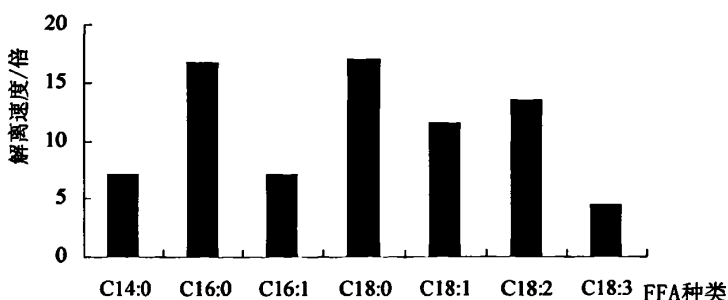


图 4-1 火腿风味料加工中 FFA 的解离程度

Fig. 4-1 Hydrolyzation degree of FFA during producing ham base

从图 4-1 可看出，火腿风味料中硬脂酸的最大释放量是初始量的 17.07 倍，就整个加工过程而言，硬脂酸从脂肪上解离的速度最大。其次是棕榈酸，亚油酸，油酸，解离速度分别是 16.77，13.61，11.60。从整个总游离脂肪酸的解离程度来看，外源酶的加入大大促进了脂肪的水解，生成了许多风味前体物。

4.3.2.3 火腿风味料加工过程中主要 FFA 的变化

图 4-2 表明鲜肉到水解后，棕榈酸，硬脂酸，油酸和亚油酸都有非常明显的增长，其中油酸的增长幅度最大，从鲜肉中的 0.021% 上升到水解后的 1.64%，上升了 1.62%。水解后到氧化后，棕榈酸和硬脂酸没有明显变化，主要是因为饱和脂肪酸不被氧化^{[7][8]}。

油酸发生了较大幅度的降解，从水解后的 1.64% 下降到氧化后的 1.22%，下降了 0.42%。亚油酸也发生了明显的降解，下降幅度比油酸稍小。油酸和亚油酸的减少恰好说明在后期加工过程中不饱和脂肪酸发生了氧化降解，形成了风味化合物。

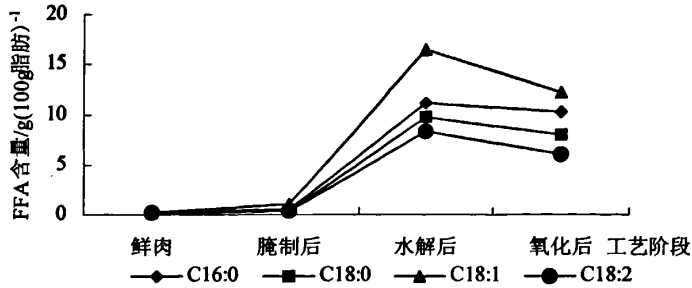


图 4-2 火腿风味料加工过程中主要 FFA 含量变化

Fig. 4-2 changes of main FFA during producing ham base

4.3.2.4 火腿风味料加工过程中各种 FFA 的变化趋势

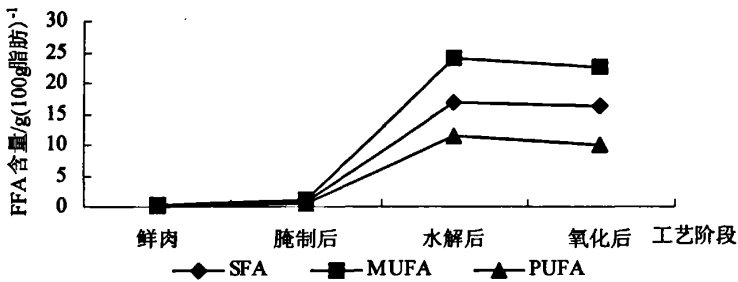


图 4-3 火腿风味料加工过程中各种 FFA 的变化趋势

Fig. 4-3 changes of various FFA during producing ham base

从图 4-3 可看出，无论是饱和脂肪酸，还是单不饱和脂肪酸、多不饱和酸，生产过程中都先呈上升趋势，说明这一阶段脂肪的水解速度大于氧化速度。后由于氧化呈下降趋势。从鲜肉到水解后，饱和脂肪酸上升了 1.63%；单不饱和脂肪酸上升了 2.39%，上升幅度最大，可能是由于不饱和脂肪酸更易受到脂肪水解酶的作用^[9]，此外相对于多不饱和脂肪，单不饱和脂肪酸更稳定不易发生氧化^{[7][8]}。多不饱和脂肪酸上升了 1.13%，上升幅度最小，因为多不饱和脂肪酸易发生氧化。水解后到氧化后，饱和脂肪酸基本没有发生变化，而单不饱和和多不饱和脂肪酸含量下降，说明生产过程中主要是单不饱和和多不饱和脂肪酸发生了氧化降解，形成了风味。

4.3.2.5 火腿风味料加工过程中总 FFA 变化

图 4-4 表明火腿风味料生产过程中总游离脂肪酸含量先呈现上升趋势，从鲜肉的 0.061% 上升到水解后的 5.69%，上升幅度为 5.62%。水解后到氧化后呈现下降趋势，从水解后的 5.69% 下降到氧化后的 4.55%，下降幅度为 1.13%。其变化过程基本上可分为三个阶段，鲜肉到腌制后变化不明显；腌制后到水解后，游离脂肪酸含量大幅度提高，说明外源酶促进了脂肪的水解；水解后到氧化后游离脂肪酸含量出现明显下降，说明在外部调控下部分游离脂肪酸发生氧化，氧化产物在进一步与其它物质结合形成风味。

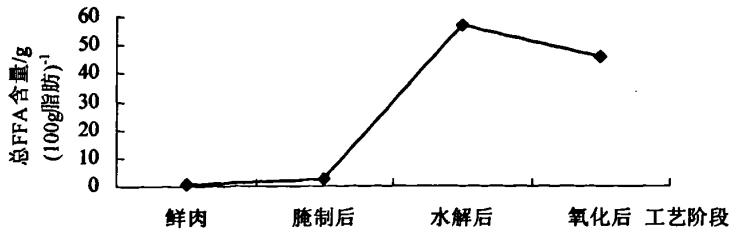


图 4-4 火腿风味料加工过程中总 FFA 含量的变化

Fig. 4-4 changes of gross FFA during producing ham base

4.3.3 酸价的变化

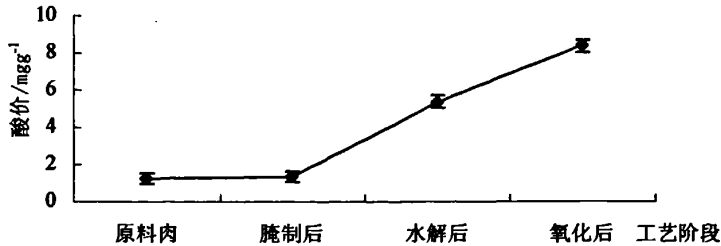


图 4-5 火腿风味料生产过程中酸价的变化

Fig.4-5 Changes of AV value during producing ham base

酸价代表的是样品中游离脂肪酸的总量，肉制品中的游离脂肪酸主要来自脂肪在脂酶的作用下的水解和氧化中产生的一些低分子的脂肪酸。游离脂肪酸的总量越大，酸价越高，它能一定程度上表征肉的氧化情况。由图 4-5 知，在火腿风味料生产的整个过程中，酸价一直保持上升趋势，从原料肉的 1.23mgKOH/g 脂肪上升到氧化后的 8.35mgKOH/g 脂肪，说明中性脂肪酶促进了脂肪水解，部分游离脂肪酸氧化生成了有机酸。虽然数值上大于国标规定的 4mgKOH/g 脂肪，但从风味和口感上没产生不良影响。

4.3.4 过氧化值的变化

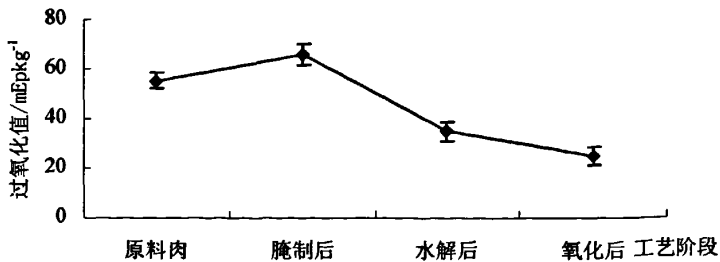


图 4-6 火腿风味料生产过程中过氧化值的变化

Fig.4-6 Changes of POV value during producing ham base

过氧化值是脂类氧化的中间产物，其性质及不稳定，进一步分解为醛、酮、酸等低分子挥发性物质，因此，过氧化值也能在一定程度上表明脂质氧化的程度。由图 4-6 知，从原料肉到腌制后过氧化值增加，水解阶段下降，说明此阶段氢过氧化物的分解速度大于生成速度，后分解速度大于生成速度。氧化阶段脂肪的一级氧化产物(氢过氧化物)不断积累又不断生成低分子物质，整体看来先上升后下降。

4.3.5 羰基值的变化

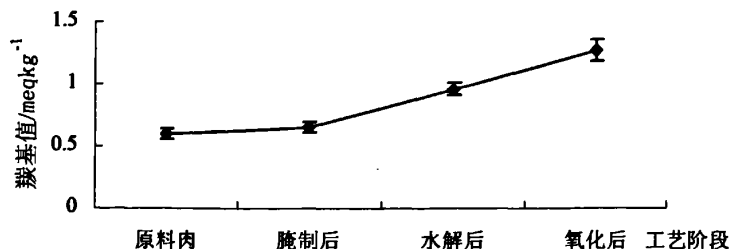


图 4-7 火腿风味料生产过程中羰基值的变化

Fig.4-7 Changes of carbonyl value during producing ham base

脂肪氧化产物中的醛、酮、酸是衡量肉制品品质的重要因素，醛、酮、酸属于羰基化合物，因此羰基价也是衡量脂肪氧化程度的指标。由图 4-7 知，从原料肉到腌制后羰基值基本不变，水解后到氧化后含量逐渐增加，氧化阶段的生成速度大于水解阶段。

4.3.6 TBA 的变化

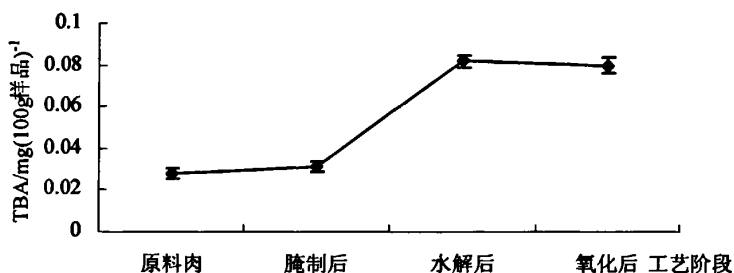


图 4-8 火腿风味料生产过程中 TBA 的变化

Fig.4-8 Changes of TBA value during producing ham base

TBA 值是衡量脂肪氧化程度的标准，脂肪的氧化对火腿风味料的风味有很大的影响。由图 4-8 知，从原料到腌制后 TBA 变化很小，水解过程迅速增加，氧化过程有所下降，这可能是丙二醛与蛋白质发生反应，使丙二醛呈结合状态不易被测定出来^[100]。从整个过程来看，TBA 的增加表明脂肪水解产生的游离脂肪酸发生了氧化降解。

4.3.7 氨基态氮的变化

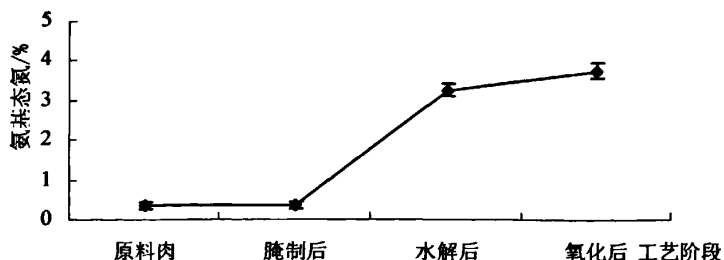


图 4-9 火腿风味料生产过程中氨基态氮的变化

Fig.4-9 Changes of AJTD during producing ham base

氨基态氮表示蛋白质的水解程度，蛋白质水解程度影响产品滋味和挥发性气味化合物的形成。水解指数太低，产品的风味和滋味不足；但水解程度高(蛋白水解指数>30%)

能感觉到与疏水性氨基酸和肽相关的苦味^[8]，对产品滋味不利。由图 4-9 知，在火腿风味料的生产过程中氨基态氮的含量一直在增加，由原料肉中的 0.36%，到氧化后的 3.76%，增加了 3.40%。

4.3.8 挥发性盐基氮的变化

挥发性盐基氮是一些细菌，分泌的蛋白酶对蛋白质的分解，产生的氨及胺类等碱性含氮物质，导致肉类腐败。杨洁彬等^[112]指出，乳酸菌发酵过程中生成的 CO_2 有机酸，过氧化氢均具有抗菌作用。从图 4-10 可知，火腿风味料生产过程中 TVB-N 一直在上升，但从水解后到氧化后上升缓慢，这表明风味料中的有机酸和过氧化氢有一定的抑菌效果，有利于产品贮藏，延长货架期。

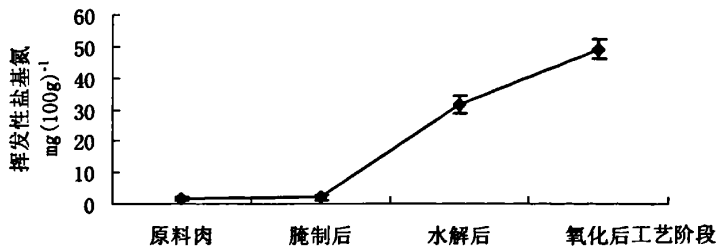


图 4-10 火腿风味料生产过程中挥发性盐基氮的变化

Fig.4-10 Changes of volatile value during producing ham base

4.3.9 水分的变化

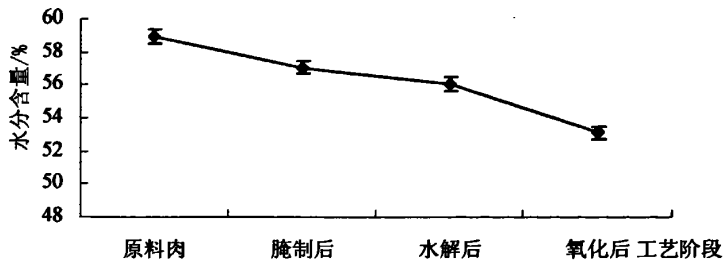


图 4-11 火腿风味料生产过程中水分的变化

Fig.4-11 Changes of water content during producing ham base

本研究制成是酱状火腿风味料，其稳定性与水分含量有很大的关系，因此水分含量的变化对产品稳定有很重要的影响。由图 4-11 知，从原料肉到氧化后，水分含量一直在下降。一方面在一定温度下的加工过程中，水分会逐渐减少，另一方面大量的风味前体物经氧化生成了挥发性化合物，使得测定结果可能偏高。

4.3.10 pH 的变化

pH 值表示样品的有效酸度，对肉制品的色泽、风味以及稳定性有重要影响。由图 4-12 知，从原料肉到腌制后，pH 值几乎不变。加入脂肪酶和蛋白酶后，促进水解 pH 值迅速下降。由于酶解液中同时含有游离脂肪酸和氨基酸，pH 值的大小由而两者的比例不同。最终产品的 pH 值为 5.44，对微生物有一定的抑制，延长了火腿风味料保藏期。

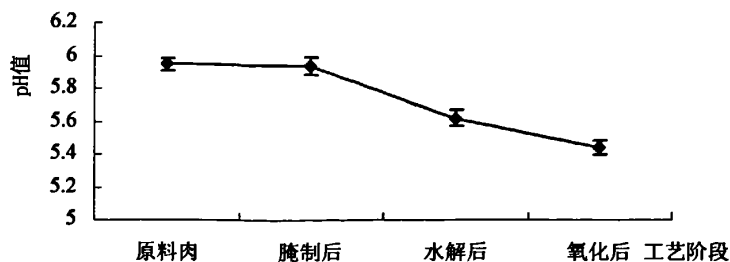


图 4-12 火腿风味料生产过程中 pH 的变化

Fig.4-12 Changes of pH value during producing ham base

4.3.11 脂肪的变化

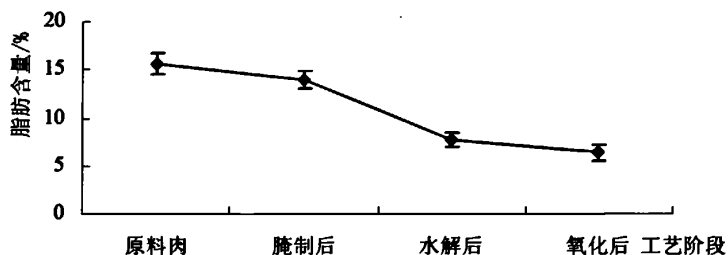


图 4-13 火腿风味料生产过程中脂肪的变化

Fig.4-13 Changes of fat during producing ham base

脂类物质在火腿生产过程中有重要作用，首先是作为重要的风味物质的前体，另外是作为风味成分的溶剂，在风味化合物形成过程中蓄积该类化合物或作为风味物质进一步反应的场所^[113]。由图 4-13 知，在火腿风味料的生产过程中一直在减少，先在内源酶和外源酶作用下水解，从原料肉的 15.58%，降到水解后的 7.68%，后进一步氧化降解为 6.34%，共降低了 9.24%。

4.3.12 蛋白质的变化

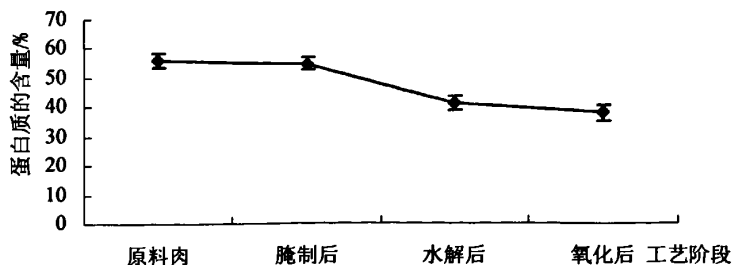


图 4-14 火腿风味料生产过程中蛋白质的变化

Fig.4-14 Changes of protein during producing ham base

蛋白质也是重要的风味前体物，蛋白质的降解对火腿风味料品质具有重要意义，具体表现在，水解程度影响质构；水解产物，如肽、游离氨基酸等影响滋味；对风味有间接作用，游离氨基酸等可通过进一步反应形成挥发性香味物质^[71]。因此，要严格控制蛋白质的降解程度。由图 4-14 知，火腿风味料生产过程中蛋白质一直在减少，从原料肉的 56.05%，到氧化后的 38.12%，降解了 17.93%。

4.3.13 微生物的变化

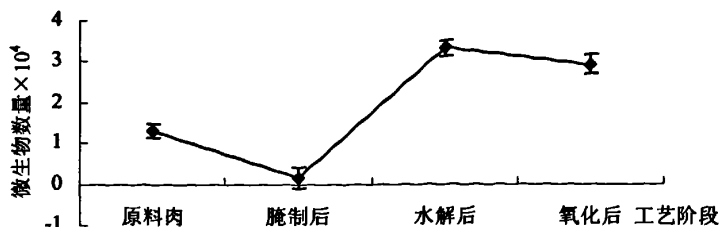


图 4-15 火腿风味料生产过程中微生物含量的变化

Fig.4-15 Changes of content of microbe during producing ham base

外源微生物的污染是火腿风味料变质主要原因,因此控制微生物的数量是生产火腿风味料的关键。由图 4-15 知,从原料肉到腌制后微生物的数量迅速下降,可能因为盐的加入对微生物有一定的抑制作用。水解阶段微生物又上升,可能因为水解过程中避免不了外界的污染。从水解后到氧化后,数量基本保持不变,可能因为水解产生抗氧化肽,此外产品的低 pH 值,对微生物也有一定的抑制作用。最终产品的微生物数量为 2.9×10^4 个,没有超国家规定肉制品中微生物的数量。

4.3.14 火腿风味料的感官评价

表 4-3 火腿风味料的感官评价

Table 4-3 sensory analysis of ham base

样品	评分	总分	感官描述
火腿风味料	3,3,5,4,3,5,4,4,5,4	40	有火腿味,但风味较淡

火腿风味的形成是一个极其复杂且漫长的过程,通过添加外源酶,可以缩短生产周期,降低生产成本。由表 4-3 知,优化工艺条件下制备的火腿风味料有火腿的风味,但风味较淡。

4.4 结论

火腿风味料生产过程中蛋白质和脂肪都发生了降解,它们分别从原料肉中的 56.05%, 15.58%, 到氧化后的 38.12%, 7.68%, 降解了 17.93%, 9.24%。外源蛋白酶和脂肪酶分别促进了蛋白质和脂肪的水解,生成了 3.27%氨基态氮和 5.69%游离脂肪酸,酶解后游离脂肪酸均以棕榈酸,油酸,硬脂酸和亚油酸为主,其释放速率为硬脂酸>棕榈酸>亚油酸>油酸;后期的加工过程中,油酸和亚油酸发生氧化降解,分别从水解后的 1.64%, 0.83%,下降到氧化后的 1.22%, 0.60%;饱和脂肪酸含量几乎不变。氨基态氮继续上升到 3.76%,上升幅度为 0.49%。酸价、羰基值、挥发性盐基氮在生产过程中一直呈上升趋势,最终分别达到 8.35mg/g、1.27meq/kg、49mg/100g。过氧化值、TBA 和微生物有升有降,最终达到 2.51mep/kg、0.08mg/kg 样品、 2.9×10^4 个。水分含量和 pH 值再生产过程中则一直呈下降趋势,最终达到 53.10%和 5.44。

感官评定表明制备的火腿风味料有火腿的风味,但风味较淡。

第五章 火腿风味料风味组分的提取及鉴定

5.1 前言

风味是火腿最重要的质量指标,是吸引消费者再次产生购买欲的重要因素^[114]。多年来,干腌火腿生产者和研究者都对火腿风味成分的分离、鉴定、定量等给予高度的关注。目前用来分离提取肉类制品风味和芳香物质的常用方法见表 5-1,且各有优缺点。

表 5-1 不同前处理方法的优缺点

Table 5-1 Advantage and disadvantage of different disposal method

方法	优点	缺点
同时蒸馏萃取 SDE	对肉品的熟化作用,可表征熟肉的肉味,经济	费时、费力且会造成风味物质较大损失
动态顶空(吹扫捕集 P&T)	速度快,吸收完全,特别对于不易挥发的风味物质	冷阱捕集含水量大的肉品时易发生结冰现象;吸附剂捕集时,不同化合物回收率不同
静态顶空(固相微萃取 SPME)	速度快,吸收较完全,特别对于含量低的风味物质	萃取头对风味物质的选择问题
溶剂萃取 SE	经济	费时费力且会造成风味物质很大损失,结果很不准确
超临界流体萃取 SFE	抽提效率高,温度低	非风味物质也被抽提

其中 SDE 法、P&T 法应用较早^{[115][116]},使用很广泛,国内外普遍用于各种肉制品芳香成分分析。而 SPME 法是一种分析检测食品风味物质的新方法,正越来越受到食品研究工作者及其他分析从业人员的普遍关注并正在推广应用^{[117][118]}。

上述不同萃取技术结合 GC-MS 进行风味组分的分离和鉴定。至目前为止,国内方面已从干腌火腿中检测出 260 多种挥发性成分,主要是烃、醛、醇、酮、酯、羧酸、内酯、含硫化合物、吡嗪、呋喃等。如郇延军^[108]采用静态固相微萃取技术结合气-质联用系统对金华火腿皮下脂肪和股二头肌的风味成分进行了分离鉴定,分别鉴定出 145 种和 137 种风味成分。田怀香^[21],分别采用同时蒸馏萃取、热脱附法、固相微萃取法结合气-质联用仪对金华火腿的挥发性风味成分进行了分析。国外对发酵火腿的挥发性风味成分早已进行了大量的研究,取得了诸多成果。他们早已把火腿挥发性风味成分分析作为鉴定原产地域产品的一种手段。

本文采用固相微萃取并结合 GC-MS,对优化条件下制取的火腿风味料进行风味组分的提取与鉴定。分离鉴定出对火腿风味料中的风味成分,不仅对了解其产品的化学组成有着重要的意义;而且通过与金华火腿风味成分的对比,对进一步模拟火腿的风味也有很大的实践意义。同时通过对风味成分的研究,可以为研发火腿风味料所用酶制剂的进一步选择、加入及控制建立基础,为生产工艺及配方等提供理论基础。

5.2 材料和方法

5.2.1 材料

5.2.1.1 火腿风味调味料的制备 按 4.2.1.1 的方法制备

5.2.2 主要设备

SPME 手动进样手柄	美国 Supelco 公司
75 μ m CAR/PDMS 萃取头	美国 Supelco 公司
气相色谱质谱联用仪 Trace MS	美国 Finnigan 质谱公司

5.2.3 实验方法

5.2.3.1 风味物质提取方法

取发酵好的样品 8g 立即装于萃取小瓶(15cm \times 1cm i.d)中, 采用静态顶空固相微萃取(headspace-solid phase micro extraction, SPME)方法进行风味成分的提取。复合式 Car/PDMS 萃取头 (SUPELCO, USA)(涂膜厚 :75 μ m, 涂膜层 : Car/PDMS, Carboxen/polydimethylsiloxane)插入密闭的萃取瓶内, 萃取头暴露在瓶内样品上部的顶空中, 于 50 $^{\circ}$ C 萃取 40min。

5.2.3.2 风味成分测定条件

利用气/质(GC/MS)联用仪(Trace GS, Finigan)进行风味成分分析。色谱条件为: 毛细管柱为 DB-5MS(J&W scientific), 柱长 60m, 内径 0.32mm, 膜厚 1 μ m, 涂层为: poly(dimethylsiloxane)-poly(1,4-bis(dimethylsiloxy)phenylene)siloxane)。载气为氦气, 进样口温度为 250 $^{\circ}$ C, 采用不分流进样模式, 不分流时间为 2min。柱流速为 2ml/min, 分流比 10:1, 采用三阶段式程序升温, 初始温度为 40 $^{\circ}$ C 并保持 1min, 第一升温阶段从 40 $^{\circ}$ C 至 130 $^{\circ}$ C, 升温速率为 5 $^{\circ}$ C/min; 第二阶段从 130 $^{\circ}$ C 至 200 $^{\circ}$ C, 升温速率为 8 $^{\circ}$ C/min, 第三阶段从 200 $^{\circ}$ C 至 250 $^{\circ}$ C, 升温速率为 12 $^{\circ}$ C/min, 并于 250 $^{\circ}$ C 保留 7min。

质谱条件为: 离子化方式为 EI, 发射电流为 200 μ A, 电子能量 70eV, 接口温度 250 $^{\circ}$ C, 离子源温度为 200 $^{\circ}$ C, 质量扫描范围为 33-450m/z, 检测电压为 350V。

5.2.3.3 风味成分的鉴定

利用计算机比较样品和 MAINLIB, NISTDEMO, REPLIB, WILLEY 四个标准谱库的质谱数据进行成分鉴定, 以相似指数(similar index)和反相似指数(reverse similar index)均大于 800 作为定性依据, 利用峰面积进行风味成分的定量。

5.2.4 风味的感官评定

以火腿味强度结合整体香味的可接受性为综合考核指标, 采用评分检验法^[119], 挑选 10 名熟悉火腿风味的感官评价员对所得的产品进行评价。把评价结果用等距离标度计分, 转化为数值, 即火腿为很弱、接受性很差为 1 分, 较弱(差)计 2 分, 稍弱(差)计 3 分, 一般计 4 分, 稍强(好)计 5 分, 较强(好)计 6 分, 很强(好)计 7 分

5.3 结果与讨论

5.3.1 火腿风味料的感官评价

表 5-2 火腿风味料的感官评价

Table 5-2 Sensory analysis of ham base

样品	总体接受性	火腿风味强度	感官描述
火腿风味料	3,3,3,4,4,4,4,5,5,5	3,3,3,3,3,4,4,4,5,5	有火腿味, 风味圆润不浓烈

从感官评价的结果来看, 10 名感官评价员认为火腿风味料总体接受性较好, 具有金华火腿的风味, 且风味圆润不浓烈, 但与金华火腿相比风味较弱。

5.3.2 火腿风味料与原金华火腿的整体风味轮廓比较

从图 5-1、图 5-2 的比较来看, 诸如保留时间为 6.64、9.73、12.38、14.45、15.28、17.69、19.61、21.11、22.34、22.50、23.50、25.39 等一些含量较高的峰, 在图谱中对应的很好, 说明火腿风味料整体风味轮廓与金华火腿的风味轮廓比较一致。

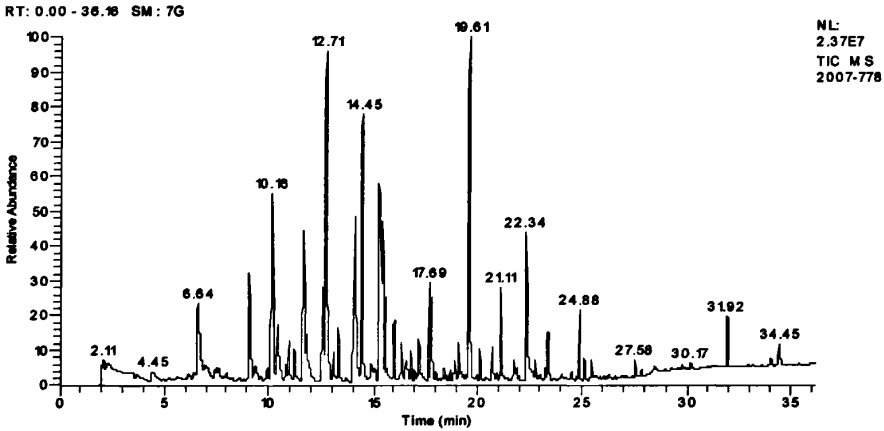


图 5-1 原料金华火腿的风味 GC 图谱

Fig. 5-1 GC spectrum of Jinhua ham original flavor

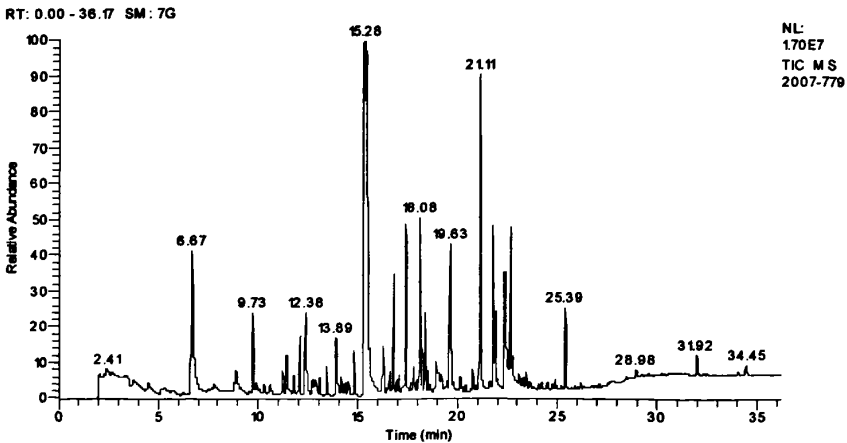


图 5-2 火腿风味料的风味 GC 图谱

Fig. 5-2 GC spectrum of ham flavoring base

5.3.3 火腿风味料中金华火腿特征风味评价

田怀香^[21]测定出金华火腿特征风味组分包括: 2-甲基丙醛、3-甲基丁醛、2-甲基丁醛、3-甲硫基丙醛、己醛、苯乙醛、甲硫醇、二甲基二硫醚、二甲基三硫化合物、甲基吡嗪、2-庚酮、2,3-戊二酮、2-甲基丁酸、2,6-二甲基吡嗪、2-戊基咪喃、乙酸乙酯、1-辛烯-3-醇等 17 种风味化合物。而己醛、庚醛、辛醛、壬醛、丁酸等这些化合物对金华火腿的整体风味也有贡献。从火腿风味料风味分析上来看, 上述对金华火腿整体风味有重要贡献的 22 种化合物, 在火腿风味料中也有检出的是: 3-甲基丁醛、己醛、甲基吡嗪、2-庚酮、2-甲基丁酸、2,6-二甲基吡嗪、2-戊基咪喃、乙酸乙酯、1-辛烯-3-醇、己醛、庚醛、辛醛、壬醛、丁酸等 14 种风味化合物。从金华火腿特征风味组分上看, 火腿风味料中少了: 2-甲基丙醛、2-甲基丁醛、3-甲硫基丙醛、苯乙醛、甲硫醇、二甲基二硫醚、二甲基三硫化合物、2,3-戊二酮等 8 种化合物。

总之, 火腿风味料中具备大部分金华火腿特征风味组分, 使得火腿风味料整体风味与金华火腿接近。

5.3.4 火腿风味料与金华火腿在醛类化合物的比较

表 5-3 火腿风味料与金华火腿在醛类化合物的比较

Table 5-3 Comparison of original Jinhua ham and ham flavoring base in aldehyde compounds

Name	中文名称	金华火腿	火腿风味料
Octanal	辛醛	4.93	1.22
Octadecanal	十八醛	0.35	-
Nonanal	壬醛	5.36	1.66
2-Octenal	2-辛烯醛	0.46	0.93
Hexanal	己醛	3.93	5.82
Decanal	癸醛	0.42	-
Heptanal	庚醛	3.72	1.48
Benzaldehyde	苯甲醛	0.57	2.29
3-Methyl-butanal	3-甲基-丁醛	0.21	0.20
2-Hexenal	2-己烯醛	-	0.34
2,4-Heptadienal, (E, E)-	反,反-2,4-庚二烯醛	-	0.27
合计		19.95	14.21

醛类成分的阈值很低, 对火腿风味的贡献很大^{[120][121]}。从表 5-3 的结果来看, 火腿风味料中醛类化合物种类很多, 含量也较高, 和金华火腿原料相比, 少了十八醛、癸醛两种醛类化合物, 而增加了 2-己烯醛、反,反-2,4-庚二烯醛两种烯醛类化合物, 这两种烯醛可能来自不饱和脂肪酸的氧化降解。

5.3.5 火腿风味料与金华火腿在醇类化合物的比较

多数醇类化合物的阈值较高, 除非它们具有较高的含量(达 ppm 数量级)或是非饱和醇, 否则不会对风味产生很大影响^[92]。从表 5-4 的结果来看, 火腿风味料中醇类化合物含量较高, 占了挥发性化合物总峰面积的 21.57%, 高于金华火腿中醇类化合物的含量。

大部分的醇类物质是脂质氧化分解的产物,如1-戊醇来自于亚油酸,1-己醇可能是棕榈酸和油酸生成,1-辛醇来自油酸的氧化^[122]。1-辛烯-3-醇风味阈值较低^[121],它成蘑菇的气味,且在火腿风味料中含量很高,可能对整体风味的贡献较大。

表 5-4 火腿风味料与金华火腿在醇类化合物的比较

Name	中文名称	金华火腿	火腿风味料
1-Decanol, 2-methyl-	2-甲基-1-癸醇	0.30	-
Cyclohexanol,4-(1-methylethyl)	4-乙基(1-甲基)-环己醇	0.29	-
3-Methyl-1-butanol	3-甲基-1-丁醇	0.42	0.21
1-Pentanol	戊醇	0.84	0.60
2-Octen-1-ol	2-辛烯-1-醇	0.84	-
1-Hexanol	1-己醇	1.04	0.53
1-Octen-3-ol	1-辛烯-3-醇	3.23	10.15
1-Heptanol	1-庚醇	1.43	1.31
2,3-Butanediol	2,3-丁二醇	0.20	3.42
1-Octanol	1-辛醇	1.39	-
4-a(2H)-Naphthalenol,octahydro-, E	反-4-a(2H)-八氢-萘醇	0.22	1.29
Benzene methanol	苯甲醇	0.31	0.48
Phenethyl alcohol	苯乙醇	0.23	-
2-Heptenal, (Z)-	顺-2-庚烯醇	-	2.58
合计		10.74	21.57

5.3.6 火腿风味料与金华火腿在酸类化合物的比较

表 5-5 火腿风味料与金华火腿在酸类化合物的比较

Name	中文名称	金华火腿	火腿风味料
Propanoic acid	丙酸	1.07	1.20
Acetic acid	乙酸	9.70	13.54
Propanoic acid, 2-methyl-	2-甲基丙酸	1.83	1.72
Butanoic acid	丁酸	0.34	0.85
Pentanoic acid	戊酸	0.82	0.57
Butanoic acid, 2-methyl	2-甲基-丁酸	7.56	4.21
Hexanoic acid	己酸	4.06	4.51
Hexadeca dicarboxylic acid	十六二羧酸	0.39	1.31
Benzenepropanoic acid?(hydroxyimino)	2-羟基亚氨基-苯丙酸	-	0.28
3-Pentenoic acid, 4-methyl-	4-甲基-3-戊烯酸		0.90
合计		25.77	29.09

从表 5-5 的结果可以看出,火腿风味料中酸类化合物(29.09%)和金华火腿原料中酸

类化合物(25.77%)相差不多,且都达到了很高的水平。酸类化合物含量较高成为金华火腿的一大特点,可能因为金华火腿后期发酵过程温度比国外的干腌火腿温度要高。乙酸和丙酸等羧酸可以调整碱性化合物如吡嗪和胺的风味^[87]。

5.3.7 火腿风味料与金华火腿在酮类化合物的比较

表 5-6 火腿风味料与金华火腿在酮类化合物的比较

Table 5-6 Comparison of original Jinhua ham and ham flavoring base in ketone compounds

Name	中文名称	金华火腿	火腿风味料
5-Methyl-3-heptanone	5-甲基-3-庚酮	0.50	-
2-Nonanone	2-壬酮	1.26	-
2-Decanone	2-癸酮	0.72	-
2-Heptanone	2-庚酮	0.58	0.50
Acetophenone	苯乙酮	-	0.31
4-Octen-3-one	4-辛烯-3-酮	-	0.46
2-Butanone, 3-hydroxy-	3-羟基-2-丁酮	-	1.43
3-Octen-2-one, (E)-	反-3-辛烯-2-酮	-	0.20
合计		3.06	2.90

酮类化合物一般呈现奶油味或果香味,如 3-羟基-2-丁酮具有强烈的奶油味,2-己酮具有苹果花香等,它们都是火腿香气的重要组成成分,是脂肪氧化的产物。由表 5-6 的结果可知,火腿风味料中和金华火腿中酮类化合物的含量分别为:2.90%和 3.06%,两者含量一致。

5.3.8 火腿风味料与金华火腿在酯类化合物的比较

表 5-7 火腿风味料与金华火腿在酯类化合物的比较

Table 5-7 Comparison of original Jinhua ham and ham flavoring base in ester compounds

Name	中文名称	金华火腿	火腿风味料
Octanoic acid, ethyl ester	辛酸乙酯	0.28	-
Decanoic acid, ethyl ester	癸酸乙酯	0.52	0.51
propanoic acid, ethyl ester	丙酸乙酯	-	0.49
Ethyl acetate	乙酸乙酯	0.96	0.24
Trimethylsilyl ester of 3-methyl-2-trimethylsilyloxy-benzoic acid	3-甲基-2-三甲硅氧烷基-安息香酸三甲硅烷酯	0.26	-
Tetradecanoic acid, ethyl ester	十四酸乙酯	0.26	-
Hexadecanoic acid, ethyl ester	十六酸乙酯	0.21	-
E-9-Tetradecenyl acetate ester	反-9-乙酸十四烯酯	-	0.28
14-carboxylic acid, methyl ester	十四羧酸甲酯	-	0.48
合计		2.49	2.00

酯类物质是由脂质氧化产生的羧酸和醇在肌肉脂肪组织中酯化作用形成^{[121][123]}。短

链酸形成的酯具有水果香味，而长链酸形成的酯具有轻微的油脂味^[92]。从表 5-7 的结果可知，在火腿风味料和金华火腿中酯类物质所占得比重都不大，并且它们的阈值也不太低，因此对火腿风味料的整体风味贡献不显著。

5.3.9 火腿风味料与金华火腿在含硫及杂环类化合物的比较

表 5-8 火腿风味料与金华火腿在含硫及杂环类化合物的比较

Table 5-8 Comparison of original Jinhua ham and ham flavoring base in heterocyclic and sulfur-containing compounds

Name	中文名称	金华火腿	火腿风味料
Furan, 2-pentyl-	2-戊基呋喃	5.24	1.93
Pyridine	嘧啶	2.05	0.33
Pyrazine, 1-methyl-	1-甲基吡嗪	0.90	0.30
2,5-Dimethyl pyrazine	2,5-二甲基吡嗪	2.57	-
2,6-Dimethyl pyrazine	2,6-二甲基吡嗪	10.24	0.56
Trimethyl pyrazine	3-甲基吡嗪	6.62	0.31
Pyrazine, tetramethyl-	4-甲基吡嗪	0.95	-
Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl	14-甲基-环七硅氧烷	0.20	0.20
Phenyl isocyanide	1-苯基异腈	0.22	-
Octanenitrile	辛烷腈	0.22	-
2(3H)-Furanone, 5-ethylidihydro	5-乙基-二氢-2(3H)-呋喃酮	0.46	0.51
Cyclotrisiloxane, hexmethyl-	6-甲基-环氧硅烷	0.31	2.55
2(3H)-Furanone, 5-butylidihydro	5-丁基-二氢-2(3H)-呋喃酮	0.68	-
2(3H)-Furanone, dihydro-4, 5-dimethyl-,	4, 5-二甲基-二氢-2(3H)-呋喃酮	-	0.43
2-(2-Pyridyl)-3-(trimethylsilyl)-5,6,7,8-tetrahydroquinoline	2-(2-吡啶基)-3-(三甲基甲硅烷基)-5,6,7,8-四氢喹啉	0.21	0.20
1H-isoindole-1,3(2H)-dithione, 2-ethyl-	2-乙基-1,3(2H)-二硫代-1H-异吲哚	0.76	0.29
Dimethyl siloxane cyclic trimer	二甲基硅氧烷环化三聚物	0.32	0.60
Hexanenitril	己腈	1.04	0.36
Heptanenitrile	庚腈	-	0.43
1H-pyrrole, 2-(5-chloro-2-methoxyphenyl)	2-(5-氯)-2-甲氧苯基-1H-吡咯	-	0.53
Trans- (2-chlorovinyl) dimethyl ethoxy silane	反-(2-氯乙烯基)二甲基乙氧基硅烷	-	3.17
合计		32.99	12.70

吡嗪、呋喃、吡咯等杂环类化合物与肉的风味相关，可以由不同的途经生成，如还原糖和氨基酸的反应，美拉德反应中 Amadori 重排，化合物的热降解， α -氨基酸的热降解，或 α -二羰基化合物和醛这两种物质与氨的反应^[124]。吡嗪表现为坚果味、烘烤味、青香、泥土香、类似土豆香^{[87][124]}。甲基吡嗪被描述成坚果香，而2,6-二甲基吡嗪为烤坚果香^[87]。呋喃类化合物对肉类烘烤香的形成具有重要作用，2-戊基呋喃可能是亚油酸的氧化产物，具有类似火腿香味^[87]。1-H 吡咯呈现肉香味。以上这些化合物在火腿风味料中都能够检测到，所以火腿风味料能够呈现火腿风味和一定的肉香味。

5.3.10 火腿风味料与金华火腿在烃类化合物的比较

表 5-9 火腿风味料与金华火腿在烃类化合物的比较

Table 5-9 Comparison of original Jinhua ham and ham flavoring base in carbohydrates compounds

Name	中文名称	金华火腿	火腿风味料
Decane,2,6,7-trimethyl-	2,6,7-三甲基-癸烷	0.26	-
Undecane	十一烷	0.29	-
Dodecane	十二烷	0.43	-
4-Methyldecane	4-甲基-癸烷	0.24	-
2,3-Dioxabicyclo (2,2,1) heptane, 1-methyl-	1-甲基-2,3-双氧环化(2,2,1)庚烷	0.33	-
1-(4-Methoxyphenyl)-1-methoxypropane	1-(4-甲氧苯基)-1-甲氧基-丙烷	1.37	5.81
Borane, diethyl methyl-	二乙基甲基-硼烷	0.21	-
(3R" ,5S" ,6R")-3-isopropyl-6-methyl-6-phenyl-5-(p-toluidino)-1,2,4-trioxane	(3R" ,5S" ,6R")-3-异丙基-6-甲基-6-苯基-5-(对甲苯胺)-1,2,4-环氧乙烷	0.22	-
Hexane, 1-nitro-	1-硝基己烷	-	0.87
1-Nitro-heptane	1-硝基庚烷	-	1.77
Cyclohexene, 1-ethynyl-6-methyl	1-乙炔基-6-甲基-环己烯	-	0.49
合计		3.35	8.94

注：表 5-3~5-9 结果以组分峰面积占挥发性化合物总峰面积的相对百分含量计，%。“-”表示未检出。

脂肪烃来源于脂质的氧化降解^[123]，支链烷烃是鲜肉中常见成分，可能来自动物组织中低浓度的支链脂肪酸的氧化，也可能来自猪饲料中植物的不皂化成分^[125]。由表 5-9 的结果知火腿风味料中比金华火腿中烃类物质含量高，但由于脂肪烃类物质呈味阈值较高，一般认为对火腿风味的贡献不大^{[125][59]}。

5.4 结论

经感官评价实验证实，火腿风味料风味强度比金华火腿稍弱，其整体可接受性较好。从总的风味轮廓上来看，火腿风味料与原料金华火腿的比较一致。火腿风味料具备金华火腿大部分特征风味组分。经过火腿风味料与金华火腿原料的风味组分的分类分析，可

知火腿风味料含有金华火腿含有的风味物质种类，在含量上两者具有很好的一致性，由于原料及生产工艺的不同，还有小部分风味组分有一定差别，但不影响火腿风味料整体风味的表达。

主要结论

经单因素和响应曲面优化试验, 得出最佳酶解工艺条件: 添加食盐 6%, 亚硝酸钠 0.15g/kg, 4℃腌制 30h, 然后添加复合蛋白酶 5375u, 中性脂肪酶 621u, 43.4℃水解 4h。得到的酶解液中氨基态氮为 2.4%, 游离脂肪酸为 2.5%, 以棕榈酸, 油酸, 硬脂酸和亚油酸为主, 其释放速率为硬脂酸>棕榈酸>亚油酸>油酸; 后期的加工过程中, 油酸和亚油酸发生氧化降解, 分别从水解后的 1.64%, 0.83%, 下降到氧化后的 1.22%, 0.60%; 而饱和脂肪酸含量几乎不变。经感官评定酶解液滋味较佳, 香味较淡。

不同水解程度的酶解液, 在相同的氧化时间里, 游离脂肪酸和氨基态氮数值越大, TBA值与羰基值并非总是最大, 最终数值取决于多种风味前提物所占的比例; pH值相差较小, 水分含量无法比较。随氧化时间的延长, TBA值与羰基值总体呈上升趋势; pH值都先降低, 后又有所增加; 而水分含量呈现无规律的变化。不同水解程度的酶解液, 游离脂肪酸在0.95%~1.02%, 氨基态氮在2.07%~2.30%氧化8~12天, 风味评分较高; 而游离脂肪酸在1.17%~1.22%, 氨基态氮在2.63~2.89%氧化8天, 风味评分较高; 在相同的氧化时间里, 随着酸价和氨基态氮的增加, 风味评分增加, 但当游离脂肪酸超过1.17%, 氨基态氮超过2.89%, 风味评分反而下降。

氧化温度和氧化时间是影响风味的主要因素, 大豆脂肪氧合酶对风味的影响不显著。经单因素和响应曲面优化试验, 得出氧化发酵最佳工艺条件: 添加大豆脂肪氧合酶 30u, 34℃, 氧化8d, 得到的风味较好; 不添加大豆脂肪氧合酶, 34℃, 氧化8d, 得到的风味较好。

火腿风味料加工过程中蛋白质和脂肪都发生了降解, 它们分别从原料肉中的 56.05%, 15.58%, 到氧化后的 38.12%, 7.68%, 降解了 17.93%, 9.24%。外源蛋白酶和脂肪酶分别促进了蛋白质和脂肪的水解, 生成 3.27%氨基态氮和 5.69%游离脂肪酸, 经氧化阶段, 氨基态氮继续上升到 3.76%, 上升幅度为 0.49%; 而游离脂肪酸减少到 4.55%, 下降幅度为 1.13%。酸价、羰基值、挥发性盐基氮在生产过程中一直呈上升趋势, 最终分别达到 8.35mg/g、1.27meq/kg、49mg/100g。过氧化值、TBA 和微生物有升有降, 最终达到 2.51mep/kg、0.08mg/100g 样品、 2.9×10^4 个。水分含量和 pH 值再生产过程中则一直呈下降趋势, 最终达到 53.10%和 5.44。

火腿风味料风味强度比金华火腿稍弱, 其整体可接受性较好。整体的风味轮廓的分析, 从客观上证明火腿风味料与原料金华火腿的风味一致。风味组分分析, 火腿风味料具备金华火腿大部分的风味物质种类和特征风味组分, 且在含量上两者具有很好的一致性, 由于原料及生产工艺的不同, 还有小部分风味组分有一定差别, 但不影响火腿风味调味料的整体风味的表达。

添加外源复合蛋白酶和中性脂肪酶, 促进了蛋白质和脂肪的降解, 快速生成滋味成分和香味前提物, 缩短了生产周期, 降低了食盐含量; 后期调控氧化发酵形成具有传统金华火腿独特风味的风味调味料。

致 谢

值此论文完成之际，首先向我的导师郇延军教授、张国农教授表示我最诚挚的谢意。从课题的选定、研究方案的设计、实验技术的指导、研究工作的开展直至论文的撰写，无不凝聚着导师的智慧和心血。导师渊博的知识、严谨的治学态度、以身作则的作风、无私的奉献和淡薄名利的胸襟给我留下了难忘的印象，将使我终身受益。衷心感谢导师郇延军和张国农教授在我三年的求学期间给予我的关心、照顾、帮助、教诲和鼓励，我将终身铭记在心，永远感激恩师！

在论文的开展中得到了多方面的帮助。衷心感谢食品学院公共实验室的王革新老师，感谢他在实验器材方面提供的帮助。感谢测试中心的老师在研究测试工作提供的帮助和支持。感谢同实验室学姐学妹：弓自青、王瑞、李芳、竹文礼、许韩山等，感谢他们在实验方面给予的建议和指导。感谢同宿舍的陈洁，感谢她对我论文工作的建议，感谢她在我痛苦时候给予的安慰和鼓励，感谢她在日常生活和工作中对我的帮助，感谢她给我带来的快乐和思想启迪。

特别感谢养育我多年的父母，他们的关心体谅是我没有后顾之忧，安心完成学业；感谢姐姐王晓芳和王丽、妹妹王振美几年来给予的精神上和物质上的帮助；感谢男朋友孟祥占生活上的照顾、学业上的鼓励支持，他们的爱与支持是我永远的依靠和动力源泉！

在此，谨向曾给予我关心、帮助和支持的所有老师、同学、家人和朋友表示衷心的感谢！

参考文献

1. 孔保华, 马丽珍主编. 肉品科学与技术[M]. 北京:中国轻工业出版社
2. 龚润龙. 中华一绝, 金华火腿[J]. 养猪, 2003, 1: 43-46
3. 吴安孚, 孙承业, 孙光前. 金华火腿[M]. 轻工业出版社, 北京, 1959
4. 龚瑞龙. 金华火腿加工技术[M]. 科学普及出版社, 北京, 1987
5. Talon, R., Leroy-SEtrin, S. and Fadda, S. Bacterial starters involved in the quality of fermented meat products [C]. In: Research advances in the quality of meat and meat products. Toldr F.ED. Research Signpost, 2002, pp. 175-191.
6. Louise, H. Stahnke. Flavor formation in fermented sausages: The influence of bacteria [J]. ICoMST, 2003, 49: 126-136.
7. De Smet, S., Claeys, E., & Demeyer, D. Muscle enzymes in relation to meat quality and muscularity. In: Research advances in the quality of meat and meat products[C]. Toldr F.ED. Research Signpost, 2002, pp. 123-142.
8. Coutron-Gamgotti, C. Gandemer, G, Rousset, S., et al. Reducing salt content of dry-cured ham: Effect lipid composition and sensory attributes [J]. Food Chem., 1999, 64(1): 13-19.
9. Waade, C. and Stahnke, L.H. Dried sausages fermented with staphylococcus xylosus at different temperatures and with different ingredient levels[C]. Part IV. Amino acid profile. Meat Sci. 1997, 46(1):101-114.
10. Ruize, J. and Lupez-Bote, C. Improvement of dry-cured ham quality by lipid modification through dietary means[C]. In: Research advances in the quality of meat and meat products. Toldr.F.Ed. Research Signpost, 2002, pp. 175-191.
11. 陈士怡(1980). 金华火腿微生物研究[J]. 杭州大学学报, 3, 30-32.
12. S.nchze-Molinero, F. & Arnau, J. The effect of inoculation of a starter culture on sensory characteristics of dry-cured hams using two different resting technologies[C]. 44th IcoMT. Barcelona Spain. 1998, 2, 1010-1011.
13. 赵改名, 周光宏, 徐幸莲等. 金华火腿传统工艺优化和主要技术参数间的相关性分析[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(5):119-123
14. 赵改名. 肌肉蛋白水解酶在金华火腿加工过程中的作用[D]:[博士学士论文]. 南京: 南京农业大学, 2004
15. Martin L, Cordoba J J, Antequera T, et al. Effects of salt and Temperature on proteolysis during ripening of Iberian Ham[J]. Meat Science, 1998, 49:145-153

16. 林克忠. 金华火腿的质量和色香味形成与霉菌关系的研究[J]. 肉类工业, 1992, (2): 10-16
17. Kakuta T, Wagu Y, Okada T et al. Purification and properties of neutral protease from an aspergillus ochraceus A70 isolated Chinese ham (Jinhua ham) [J]. J Agric Sci Tokyo, 1998, 42(4):266-273
18. 沈国惠, 王林祥, 王勤. 金华火腿挥发性风味的分离与鉴定[J]. 食品与发酵工业, 1988, (3):12-18
19. 竺尚武, 胡嘉鑫. 金华火腿口味和呈味物质研究[J]. 食品科学, 1993a, 159(3): 8-11
20. Du M, Ahn D U. Volatile substance of Chinese traditional Jinhua ham and Cantonese Sausage [J]. Food Sci, 2001, 66(6): 827-831
21. 田怀香, 王璋, 许时婴. GC-O 法鉴别金华火腿中的风味活性物质[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(12):117-123
22. 竺尚武, 胡嘉鑫. 金华火腿肌肉颜色及呈色物质研究[J]. 食品科学, 1993b, 157(1): 3-7
23. 徐国阳. 金华火腿防氧化的研究[J]. 肉类工业, 1995(8): 44-45
24. 竺尚武. 金华火腿制作过程中的防腐原理和风味形成[J]. 肉类工业, 2003, 272: 21-24
25. 章建浩, 朱健辉, 王思凡等. 金华火腿工艺过程蛋白质水解及相关性研究[J]. 食品科学, 2004b, 25(10):173-177
26. Chow H M. Effects of electrical stimulation and aging time on the physical and biochemical parameters of Chinese style dry-cured and aged hams[J]. Taiwan Sugar, 1995b, 42(6):19-27
27. 徐国阳. 金华火腿新工艺的研究[J]. 肉类工业, 1996(2):28-29
28. 竺尚武. 新工艺与传统工艺金华火腿的比较研究[J]. 肉类工业, 1996(8):33-35
29. 郇延军. 金华火腿加工过程中脂类物质形成风味成分机理研究[D]:[博士学位论文]. 南京: 南京农业大学, 2005
30. 卫祥云. 中国调味品五十年[J]. 中国酿造, 2000(1):1-3
31. 杨顺江, 曾派, 汪洋. 我国调味品行业的现状及发展[J]. 食品工业, 2003, (1): 32-33
32. 邓成萍, 全明海, 张惠. 复合调味料的研究进展[J], 中国调味品, 2005, (2):7-10
33. 徐满清, 郑为完. 浅滩调味品工业及其发展趋势和市场动向[J]. 中国食品添加剂, 2003(1):35-38
34. 秦莹. 日本天然调味料的的市场动向[J]. 食品工业, 1996(5): 30-31
35. 黄仲华. 大力发展保健调味品适应国内外消费趋势[J]. 中国调味品, 1999(3):2-5

36. 鲁肇元, 杨立苹, 李月. 复合调味料及其产品开发[J]. 中国酿造, 2004(3):1-5
37. 别小妹. 甜味剂的应用现状和发展趋势[J]. 食品工业科技, 1998(5):66-68
38. 孔佳麟, 陈慧. 调味品发展趋势[J]. 粮食与油脂, 2007(10):1-3
39. 裘迪红. 鲑鱼蛋白酶酶解与脱腥方法工艺的研究. CAJ 优秀硕博论文, 2001
40. 陈一资, 纪斗朝. 猪血酶解工艺研究[J]. 资源开发与市场, 1996, 12(4):147-149
41. 曹东阳, 姚秀玲等. 鸡肉蛋白水解液的研究[J]. 天津轻工业学报.2002, 3: 11-13
42. Beak H H, Cadwallader K R. Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by products[J]. Journal of Food Science, 1995, 60(5): 121-132
43. Hyung Hee Gaek, Cadwallader K R. Optimization of the enzymatic hydrolysis of crab processing by-products using Flavourzyme Registered [J]. Food Sci Biotech, 1999, 8(1):43-46
44. Kristinsson H G, Rasco B A. Kinetics of the Hydrolysis of Atlantic salmon (salmosalar) muscle proteins by alkaline proteases and a visceral serine protease mixture[J]. Process biochemistry, 2000, 36(1/2):131-139
45. 朱志伟, 曾庆孝, 林奕封等. 虾头的内蛋白酶酶解及复合酶解研究[J]. 武汉工业学报, 2003, 22(2): 4-8
46. 刘树青, 林洪. 酶法制备低盐虾酱[J]. 海洋科学, 2003, 27(3):57-61
47. 栾金水. 高新技术在调味品中的应用[J]. 中国调味品, 2003(12):4-7
48. 赵谋明. 调味品[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001
49. 居乃琥. 国际调味品工业发展的新动向与对策(下). 中国调味品, 2007(1):32-35
50. 刘岩梅, 张树明, 赵昌政. 浅谈食品风味物质的分离分析方法[J]. 中国食品添加剂, 2004(3):104-107
51. 美.S.Suzanne Nielsen 著, 杨严峻等译. 食品分析[M], 441-474
52. 汪正范. 色谱定性与定量[M]. 化学工业出版社, 2000
53. 汪正范, 杨树民. 色谱联用技术[M]. 化学工业出版社, 2000
54. 刘虎威. 气相色谱方法及应用[M]. 化学工业出版社, 2000
55. 傅若农. 色谱分析概论[M]. 化学工业出版社, 2000
56. Moseley, M A, Deterding, L J, Tomer, K B, and Jorgenson, J W. Coupling of capillary zone electrophoresis and capillary liquid chromatography with coaxial continuous-flow fast atom bombardment tandem sector mass spectrometry [J]. J. Chromatogr. 1989, 480, 197-209
57. 丁耐克. 食品风味化学[M]. 中国轻工业出版社, 1996

58. Yu Ai-Nong, Sun Bao-Guo. Flavour substance of Chinese traditional smoke-cured bacon [J]. *Food Chemistry*. 2005, 89: 227-233
59. F. Sha hidi 著, 李洁, 朱国斌译. 肉制品与水产品的风味[M]. 中国轻工业出版社, 2001
60. Ana I Carrapiso, Jesus Ventanas, Carmen Garcia. Characterization of the odor-active compounds of Iberian ham headspace [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50:1996-2000
61. Tae Hwan Kim, Sang Mi Lee, Young Suk Kim, Kyoung Henon Kim, and Sangsuk oh, Hyong Joo Lee. Aroma dilution method using GC injector split ratio for volatile compounds extracted by headspace solid phase microextraction [J]. *Food Chem*, 2003, 83:151-158
62. 杨荣华. 酸桔果皮油的特征香气成分[J]. *无锡轻工大学学报*. 2000, 19(5):475-478
63. Guen S L, Prost C, Demaimay M. Critical comparison of three olfactometric methods for the identification of the most potent odourants in cooked mussels [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(4):1307-1314
64. Sarraga C. Comparison of calpain and cathepsin (B, L and D) activities during dry-cured ham processing from heavy and light large white pigs [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1993, 62(1): 71-75
65. Parreno M. Development of cathepsin B, L and H activities and cystatin-like activity during two different manufacturing processes for Spanish dry-cured ham [J]. *Food Chemistry*, 1994, 49(1): 15-21
66. Flores M, Aristory M C, Spanier A M, et al. Non-volatile components effects on quality of Serrano dry-cured ham as related to processing time [J]. *Journal of Food Science*, 1997, 62(6): 456-462
67. 乔发东, 马长伟. 传统宣威火腿品质特征及成因分析[J]. *食品科学*, 2004, 25(8): 55-61
68. Sforza S, Pigazzani A, Motti M, et al. Oligopeptides and free amino acids in Param hams of known cathepsin B activity [J]. *Food Chemistry*, 2001, 75:267-273
69. Careri M, Mangia A, barbieri G, et al. Sensory property relationships to chemical date of Italian type dry-cured ham [J]. *Journal of Food Science*, 1993, 58(5): 968-972
70. Virgili R, Schivazappa C, Soresibordini C, et al. Protease in fresh pork muscle and their influence on bitter taste formation in dry-cured ham [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 1998, 22(1): 53-63
71. Toldrá F, Flores M. The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham [J]. *CRC Critical Reviews in Food Science and*

- Nutrition, 1998, 38(4): 331-352
72. Zapelena, M. J., Ansorena, D. et al. Dry fermented sausages manufactured with different amounts of commercial proteinases: Evolution of total free α -NH₂-N groups and sensory evaluation of texture [J]. Meat Sci. 1998, 49(2): 213-221
 73. Díaz, O., Fernandez, M., et al. Proteolysis in dry fermented sausages: The effect of selected exogenous proteases [J]. Meat Sci. 1997, 46(1): 115-128
 74. 赵改名. 肌肉蛋白水解酶在金华火腿加工过程中的作用[D]: [博士学士论文]. 南京: 南京农业大学, 2004
 75. 张树政. 酶制剂工业(下册)[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 7
 76. 无锡轻工业大学, 等合编. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994.
 77. 卢艳杰, 龚院生, 张连富. 油脂检测技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004
 78. 吴有炜. 试验设计与数据处理[M]. 苏州: 苏州大学出版社, 2002
 79. 马永强, 韩春然, 刘静波编. 食品感官检验[M]. 北京: 化学出版社, 2005
 80. Eoin Desmond. Reducing salt: A challenge for the meat industry [J]. Meat Science, 2006, 74: 188-196.
 81. 王璋. 食品酶学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005
 82. 赵玉红, 孔保华, 张立钢. 脂肪抽提对蛋白质水解的影响[J]. 食品工业科技, 2003(1): 40-42
 83. Ds Mottram, R A Edwards. The role of triglycerides and phospholipids in the aroma of cooked beef [J]. J Sci Food Agric, 1983, 34:517-522
 84. Maria-Jose. Muscle lipolysis phenomena in the processing of dry-cured ham [J]. Food Chem, 1993, 48:121-125
 85. Motilva, M.J. Toldra, F. and Flores, J. Assay of lipase and esterase activities in fresh pork meat and dry-cured ham [J]. Z. Lebensm, Unters, Forsch, 1992, 195:446-450
 86. Vestergaard, C.S. Lipolysis in dry-cured ham maturation [J]. Meat Sci, 2000, 55: 1-5
 87. Flores, M., Grimm, C.C., Toldrá, F., & Spanier, A.M. Correlations of sensory and volatile compounds of Spanish Serrano dry-cured ham as a function of two processing times [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1997, 45: 2178-2186
 88. Arnau J., Gou P., & Comaposada J. Dry-cured ham and fermented meat products: Formulating for flavor [J]. Proceedings of the 49th ICoMST, 2003, 56-66, Brazilian
 89. Jorge, R., Jesús, V., Ramón, C., Ana, A., & Carmen, G. Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process[J]. Meat Science, 1999, 52: 19-27

90. Antequera, T., Lopze-Bote, C.J., Cordoba, J.J., et al. Lipid oxidative changes in the processing of Iberian pig hams [J]. *Food Chem.*, 1992, 45:105-110
91. Buscailhon, S., Berdagué, J. L., & Monin, G. Time-related changes in volatile compounds of lean tissue during processing of French dry-cured ham [J]. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 1993, 63: 69-75
92. Heath, H.B., & Reineccius, G. Changes in food flavor due to processing. In *Flavor Chemistry and technology*. [C]. The AVI publishing company, INC. Westport, Connecticut, 1998, pp. 71-107
93. Gambotti, C.C., & Gandemer, G. Lipolysis and oxidation in subcutaneous adipose tissue during dry-cured ham processing [J]. *Food Chem.*, 1999, 64:5-101
94. Zalacain, I., Zapelena, M.J. et al. Use of lipase from *Rhizomucor miehei* in dry fermented sausages elaboration: Microbial, chemical and sensory analysis [J]. *Meat Sci.* 1997, 45(1): 99-105
95. Fernández, M., Hoz, L. et al. Effect of the addition of pancreatic lipase on the ripening of dry fermented sausages-part1 [J]. Microbial, physico chemical and lipolytic changes. *Meat Sci.* 1995, 40: 159-170
96. Fernández, M., Hoz, L. et al. Effect of the addition of pancreatic lipase on the ripening of dry fermented sausages-part2. Free fatty acids, short-chain fatty acids, short-chain fatty acids, Carbonyls and sensory quality [C]. *Meat Sci.* 1995, 40: 351-362
97. Ansorena, D., Zapelena, M.J. et al. Simultaneous addition of palatase m and protase p to a dry fermented sausage (Chorizo De Pamplona) elaboration: Effect over peptidic and lipid fraction [J]. *Meat Sci.* 1998, 50(1): 37-44
98. 赵亚华, 高向阳. 生物化学实验技术教程[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000: 8
99. 傅樱花, 马长伟. 阴离子交换树脂及气相色谱法测定腊肉中的游离脂肪酸[J]. *食品科技*, 2003, 3:82-84
100. 傅樱花, 马长伟. 腊肉加工过程中脂质分解及氧化的研究[J]. *食品科技*, 2004(1):42-45
101. 石胜尧, 张延坤等. 大豆脂肪氧合酶活性的测定[J]. *营养学报*, 1996, 6(3):354-357
102. 郭杰. 鸡精发展战略[J]. *中国调味品*. 2003, 9: 9-12
103. 刘秀琴. 天然调味料的发展趋势[J]. *粮油食品科技*. 2003, 6: 27-28
104. 宋钢. 天然复合调味料的市场潜力与研发生产[J]. *中国酿造*, 2006, 8: 1-5
105. Barros Soares LH de, Ney Marques D, Melchionna. Albuquerque. P., Zachia. Ayub. MA. Influence of some commercial proteases and enzymatic associations on the hydrolytic

- solubilization of deboned poultry meat proteins [J]. *Food Sci and Tech Int*, 2000, 6(4): 301-306
106. Yi Hong Chen, Hsiao Hsiao HuiFeng, Ching Kuei Cheng. Studies on the efficiency of the hydrolysis of chicken breast meat by a proteolytic enzyme system [J]. *Food Sci Agric Chem*, 1999, 1(1): 22~27
107. Beak H. H., Cadwallader K. R. Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by products [J]. *Journal of Science*. 1995, 60(5)
108. Huan, Y. J.; Zhou, G. H.; Zhao, G. M.; Xu, X. L.; Peng, Z. Q. Changes in flavor compounds of dry-cured Chinese Jinhua ham during processing[J]. *Meat Sci*. 2005, 71: 291-299.
109. 郇延军, 周光宏, 赵改名, 徐幸莲. 中西方干腌火腿风味成分比较及形成机理分析 [J]. *食品与发酵工业*, 2003, 29(11): 125-130
110. 薛慧文. 肉制品卫生监督与检验手册[M]. 金盾出版社, 北京, 2003(1)
111. 王叔淳. 食品卫生检验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 1988
112. 杨洁彬等编. 乳酸菌-生物学基础及应用[M]. 中国轻工业出版社, 1996
113. Mottram, D.S.and Edwards, R.A. The role of triglycerides and phospholipids in the aroma of cooked beef [J].*J.Sci.Food Agri.*, 1983, 34, 517-522
114. 竺尚武(1993). 金华火腿挥发性风味物质的研究[J]. *食品科学*, 2, 16-18
115. Mateo J, Zumalacarregui J M. Volatile compounds in chorizo and their changes during ripening [J]. *Meat Sci*, 1996, 44:255-273
116. Bolzoni L, Barbieri G, Virgili R. Changes in volatile compounds of Parma ham during maturation [J]. *Meat Sci*, 1996, 43:301-310
117. Jibao Cai, Baizhan Liu, Qingde Su. Comparison of simultaneous distillation extraction and solid-phase microextraction for the determination of volatile flavor components [J]. *J Chromatography A*, 2001, 930:1-7
118. Hiroyuki Kataka, Heather L Lord, Janusz Pawliszyn. Applications of solid-phase microextraction in food analysis [J]. *J Chromatography A*, 2000, 880:35-62
119. Lawless H T 著. 王栋, 李崎, 华兆哲等译. 食品感官评价原理与技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001
120. Garcia, C., Berdague, J.J., Antequera, T., et al. Volatile compounds of dry-cured Iberian ham [J]. *Food Chemistry*, 1991, 41: 23-32
121. Sabio, E. Vidal-Aragon, M.C., Bernalte, M.J., et al. Volatile compounds present in six types of dry-cured ham from south European countries [J]. *Food Chemistry*, 1998, 61(4):

493-503

122. Flores M, Spanier A M, Toldra F. Flavor analysis of dry-cured ham. In: Flavor of Meat, Meat products and Seafoods[C]. (Eds.) F. Shahidi. Aspen Publishers, Inc., USA, 1998: 320-341
123. Andrés A L, Cava R, Ruiz J. Monitoring volatile compounds during dry-cured ham ripening by solid-micro extraction coupled to a new direct-extraction device[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 963: 83-88
124. Barbieri G, Bolzoni L, Parolari G, et al. Flavor compounds of dry-cured ham [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 1992, 40: 2389-2394
125. Berdagué J L, Denoyer C, Quéré J L, et al. Volatile compounds of dry-cured ham [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1991, 39: 1257-1261

作者在攻读硕士学位期间发表的论文

1. 王三丽, 郇延军, 张国农. 新型火腿风味调味料的研究与开发[J]. 肉类工业, 2007, 8: 16-19
2. 王三丽, 郇延军, 张国农. 外源酶调控生产金华火腿风味调味料的研究[J]. 食品科技, 2007, 10: 164-168
3. 王三丽, 郇延军, 张国农. 火腿风味料加工过程中游离脂肪酸的变化研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(4): 103-106
4. 王三丽, 郇延军, 张国农. 火腿风味调味料加工过程中脂解的变化研究[J]. 食品科学, 已接受

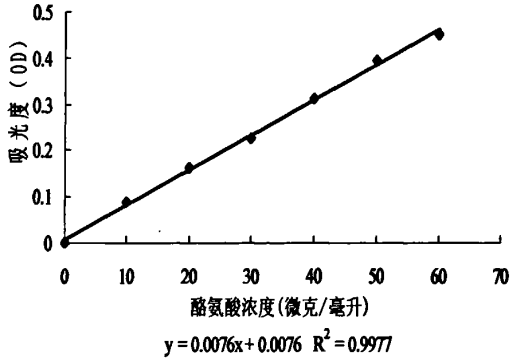


图 1 酪氨酸浓度标准曲线

Fig1 standard curve of tyramine concentration

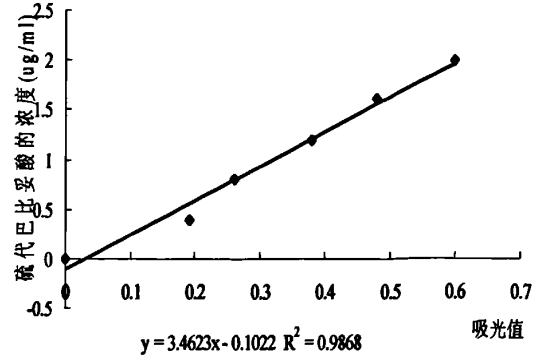


图 2 硫代巴比妥酸标准曲线

Fig2 standard curve of TBARS

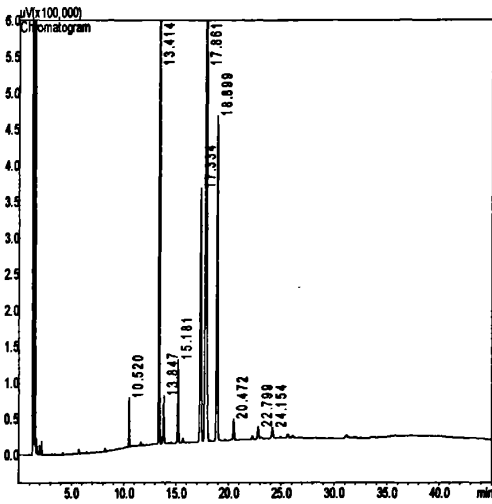


图 3 原料中总脂肪酸含量

Fig3 Content of total fatty acid in the raw material

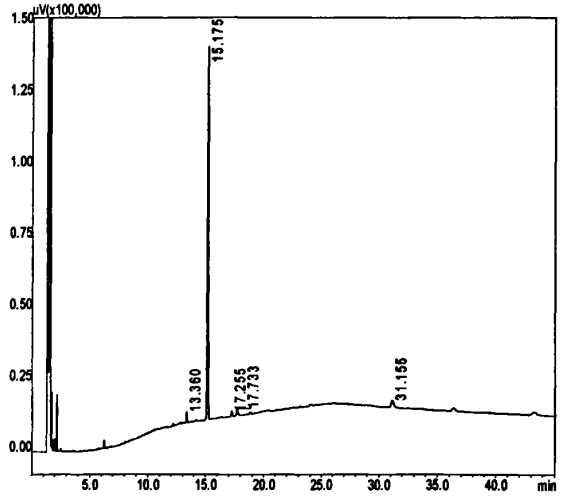


图 4 原料中 FFA 含量

Fig4 Content of free fatty acid in the raw material

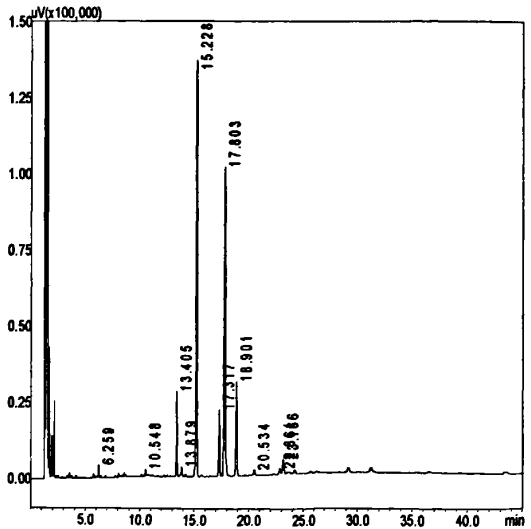
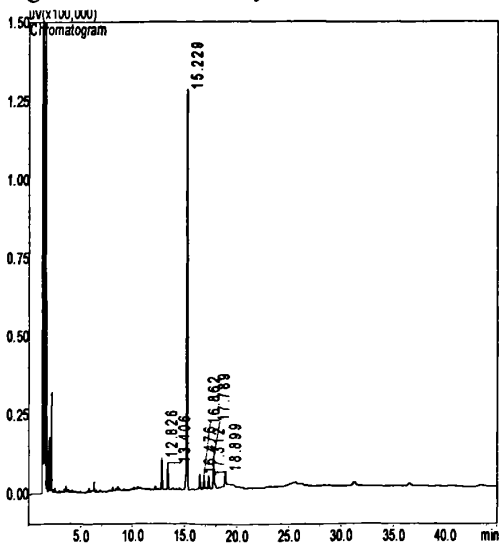


图5 腌制后 FFA 含量

Fig5 Content of FFA after dry-cured

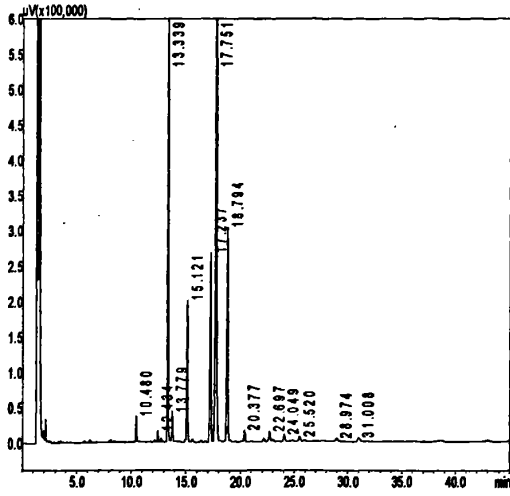


图7 氧化后 FFA 含量

Fig7 Content of FFA after oxidation

图6 水解后 FFA 含量

Fig6 Content of FFA after hydrolyation

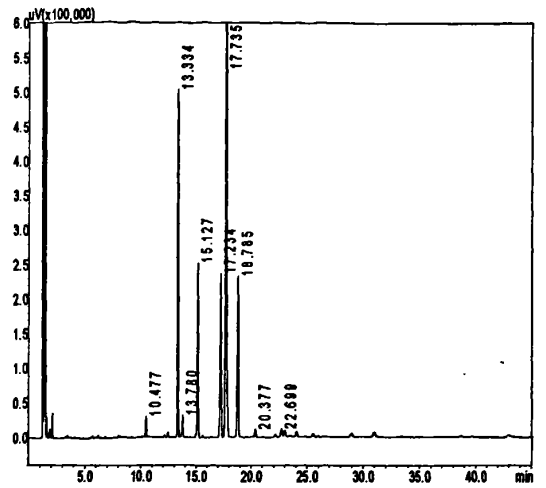


图8 加 LOX 氧化后 FFA 含量

Fig8 Content of FFA oxidation addition LOX