

金华火腿工艺过程蛋白质水解及其相关性研究

章建浩, 朱健辉, 王思凡, 周光宏

(南京农业大学食品科技学院 农业部重点开放实验室, 江苏 南京 210095)

摘 要: 本文通过对金华火腿工艺过程总氮、非蛋白氮及游离氨基酸的分析研究, 来确定其蛋白质分解与工艺过程产品水分、NaCl 含量及温湿度条件的相关性; 结果表明: 工艺过程中非蛋白氮和游离氨基酸的变化与工艺过程湿度和产品水分的降低、温度和 NaCl 含量的提高呈正相关, 且蛋白质在工艺过程中发生了持续降解。

关键词: 金华火腿; 总氮; 非蛋白氮(NPN); 游离氨基酸(FAA)

Correlation Study Between Proteolysis and Processing of Jinhua Ham

ZHANG Jian-hao, ZHU Jian-hui, WANG Si-fan, ZHOU Guang-hong

(Key Laboratory Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The correlation Between Proteolysis and Jinhua ham processing was researched by studying and analyzing total nitrogen, non-protein nitrogen and free-amino acid in processing. The result showed that NPN and FAA developing positively

收稿日期: 2004-02-10

基金项目: 国家 863 计划课题(2002AA248031)

作者简介: 章建浩(1961-), 男, 副教授, 研究方向为肉品科学。

剂分布不均匀, 而造成中毒。因此在混料过程中要严格按照操作规程进行。

参考文献:

- [1] 林汝法. 中国荞麦[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [2] 郎桂常. 苦荞麦营养价值及开发应用[J]. 中国粮油学报, 1996, 11(3): 9-14.
- [3] Kayashita J, Shimaoka I, Nakajoh M. Production of buckwheat protein extract and its hypocholesterolemia effect [J]. Current Advances in Buckwheat Research, 1995, (1,2): 91.
- [4] He J, Klag M J, Whelton M J, et al. Oats and buckwheat intakes and Cardiovascular disease risk factors in an ethnic minority in china[J]. Am J Clin Nutr, 1995, 61: 366.
- [5] 徐嘉生. 苦荞粉降血脂实验研究[J]. 北京食品粮油科技, 1987, (8): 20-24.
- [6] 武素平. 荞麦具有降血脂的作用[J]. 食品科学, 1988, (2): 10.
- [7] 中华人民共和国国家标准. 食品卫生检验方法(理化部分)[M]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [8] 张普发, 等. 野苋菜的氨基酸含量与营养评价[J]. 氨基酸与生物资源, 1998, 20(40): 38-39.
- [9] 徐明高. 甘肃省食物营养成分表及食品营养[M]. 兰州: 甘肃民族出版社, 1992.
- [10] 赵纲, 唐宁, 王安虎. 发展中国荞麦[J]. 作物杂志, 2002, (4): 11-12.
- [11] 赵明, 邱福康. 鞣鞣荞(苦荞)黄酮的特性及其应用[J]. 荞麦动态, 1997, (2): 27-32.
- [12] 张琪, 刘慧民, 朱瑞, 等. 苦荞麦中总黄酮和芦丁含量测定方法[J]. 食品科学, 2003, 24(7): 112-116.
- [13] 姜培珍, 叶于薇, 徐章华, 等. 苦荞营养粉的保健功能研究[J]. 中国食品卫生杂志, 1999, 11(4): 21-23.
- [14] 张政, 王转花, 刘凤艳, 等. 苦荞复合物的营养成分及其抗衰老作用的研究[J]. 荞麦动态, 2001, (1): 78-10.
- [15] 张政, 王转花, 林汝法, 等. 苦荞麸皮中一种过氧化物酶纯化及部分性研究[J]. 荞麦动态, 2000, (1): 12-15.
- [16] 杨生辉, 陈钰. 强化螺旋藻营养挂面工艺研究[J]. 甘肃工业大学学报, 2003, (2): 68-70.
- [17] 杨生辉, 王进. 强化营养面粉的研究开发[J]. 食品科技, 2003, (4): 65-66.
- [18] 曾文炉, 蔡昭玲, 欧阳藩. 二十一世纪理想的食品—螺旋藻[J]. 生物工程进展, 2001, 21(5): 29-35.
- [19] 罗光宏. 高纯度高海拔地区螺旋藻生产工艺及免疫调节功能测定[J]. 食品科学, 2003, 24(6): 135-138.

correlated humidity and water content falling as well as temperature & NaCl content raising, and proteolysis was continuance in Jinhua ham processing.

Key words: Jinhua ham; proteolysis; non-protein nitrogen (NPN); free-amino acid (FAA)

中图分类号 TS201.21

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2004)10-0173-05

蛋白质分解是干腌火腿工艺过程中重要的生化反应过程,受工艺过程中温湿度条件和过程产品中盐分、水分的影响,其分解产物肽类及游离氨基酸对火腿风味物质形成有重要贡献^[1]。国际上近几年对干腌火腿工艺过程蛋白质分解机理进行了系统深入的研究,L.Martin等(1997)研究了Iberian火腿加工工艺过程中盐和温度对蛋白质水解的影响^[2];采用现代工艺和传统工艺的比较,通过分析测定工艺过程中股二头肌中食盐和非蛋白氮(NPN)的含量来研究确定工艺过程不同温度对蛋白质水解的影响。Jacint Arnau等人^[3](1998)通过测定pH值、氯化钠、NPN、酶活性等,研究了生鲜腿pH值、氯化钠含量对西班牙干腌火腿工艺过程中组织蛋白酶活性及其产品感官特性的影响。Monica Flores(1997)等人通过毛细管电泳和HPLC研究Serrano火腿工艺过程中的肽类物质的形成以及对风味物质的贡献^[4]。

金华火腿是中国传统特色肉制品的代表,沉积历代劳动人民智慧结晶和中华饮食文化底蕴,以其色香味俱全著称于世,对国际干腌火腿加工技术发展产生过重大影响,但对金华火腿的研究很少。1988~1990年,竺尚武、赵晓宁等人对金华火腿产品过程中FAA进行了初步检测研究^[5,6],此后金华火腿的国内研究水平一直停留在90年代的初期水平,国际上也鲜有报道。本文试图通过对金华火腿工艺过程总氮、非蛋白氮及游离氨基酸的分析研究,来确定其蛋白质分解与工艺过程产品水分、NaCl含量及温湿度条件的相关性,旨在为金华火腿工艺现代化研究提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料及取样方法

1.1.1 试验材料 金华火腿工艺过程样品由浙江省食品有限公司兰溪永鑫火腿厂提供。

1.1.2 取样方法 取金华火腿工艺过程中原料、盐后、晒后上架、中温发酵期、高温成熟、成熟下架、后熟4个月7个工艺点的火腿工艺过程产品股二头肌中间部分作试验材料,现场切块包装,在-20℃条件下贮存备用。

1.2 仪器设备

1.2.1 样品制备设备

XHF-1 高速分散机 上海金达生化仪器; DHG-9030A型电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒科技有限公司

SENCO R-21 型旋转蒸发器 上海申胜生物技术有限公司; JA2003 电子天平 上海天平仪器厂; Allegra 64R 型冷冻高速离心机 美国 BECKMAN COULTER 公司。

1.2.2 测试仪器

Buchi AG B-339氮含量测定仪 日立825-50型氨基酸自动分析仪 日立公司生产。

1.3 测试方法

1.3.1 水分含量 采用GB5009.3-85方法(直接干燥法)测定。

1.3.2 NaCl含量 采用GB9695.8-88方法测定。

1.3.3 总氮测定

取股二头肌部分切碎,于60℃烘箱中干燥12h,取出后粉碎。取粉碎后样品五组,每组两个平行,每个样品约0.100g放于大试管中,加入无水硫酸铜以及4ml浓硫酸,加热消化至试管内为淡蓝色透明液体,冷却后用蒸馏水洗至Buchi AG B-339氮测定仪专用试管内测定。

1.3.4 非蛋白氮(NPN)含量的测定

取样品股二头肌部分切碎,60℃干燥12h取出后粉碎。取粉碎后样品五组,每组两个平行,每个样品约2g放于三角瓶中,加入40ml双蒸馏水40℃振摇1h,再加入2ml三氯醋酸溶液后振摇30min,后以3000r/min离心30min,取上清液过滤,吸取滤液20ml于大试管中加入无水硫酸铜以及4ml浓硫酸,加热消化至试管内为淡蓝色透明液体,冷却后用蒸馏水洗至Buchi AG B-339氮测定仪专用试管内测定。

1.3.5 FAA分析

样品切碎、60℃烘干粉碎,称取1g粉样加75% 20ml酒精,在80℃水浴萃取1h,上清液倒入小烧杯如此重复三次;用10ml 75%酒精洗涤残渣,滤液并入小烧杯,于水浴上蒸发掉酒精。将剩余液体移入分液漏斗中,加入10ml乙醚萃取脂肪,水层于水浴上蒸干备用;用0.02mol/L HCl洗入50ml容量瓶,离心15min取上清液上机。

1.4 数据记录和处理方法

1.4.1 温湿度记录 每天在生产车间记录8:00、18:00、最高、最低四点温湿度。

1.4.2 统计分析 用Microsoft Excel统计处理,用SPSS软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 工艺过程温湿度变化

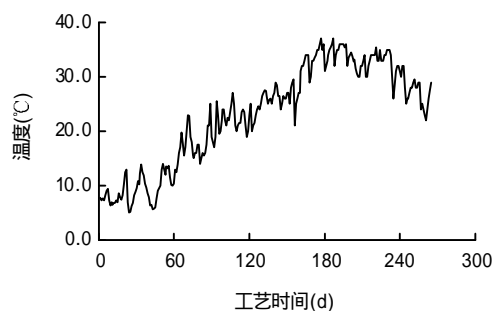


图1 工艺过程温度变化

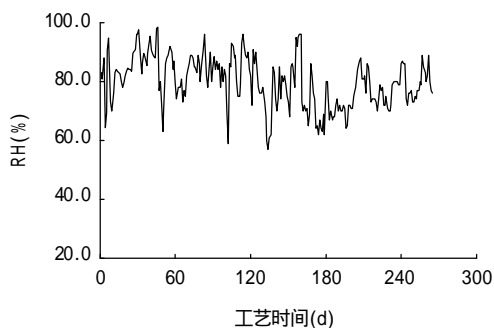
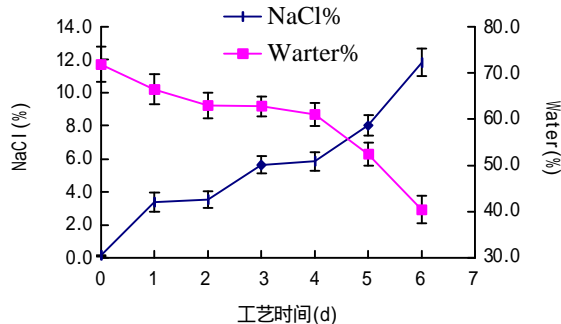


图2 工艺过程湿度变化

从图1图2曲线可知：金华火腿传统工艺过程温湿度变化取决于生产基地的气候环境，金华地区的多阴雨使湿度的波动范围很大，春季长期的阴雨天气会使火腿表面大量繁殖微生物，产生黄色黏液而严重影响火腿内部的水分散发；工艺过程温湿度变化有一定的相关性（相关系数0.79），温度处于中温期，湿度响应处于中湿期，当温度处于高温期，湿度也响应处于低湿期，工艺上称为“中温发酵高温成熟”。温湿度统计分析结果见表1。

2.2 工艺过程产品NaCl及水分含量变化

如图3工艺过程中NaCl含量随产品水分的散发而增加，呈负相关（相关系数0.903），原料和产品中的水分和NaCl含量的标准差较大，说明传统工艺原料和产品的标准化程度很低，金华火腿一级品率偏低。



注：工艺时间编号（全文一致）：0-原料、1-盐后、2-晒后上架、3-发酵中期、4-成熟中期、5-成熟下架、6-后熟4个月

图3 工艺过程NaCl及水分含量变化

2.3 工艺过程总氮、NPN及FAA含量变化

2.3.1 总氮、NPN

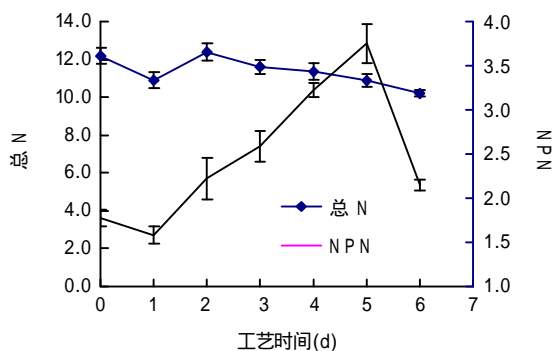


图4 总氮及NPN含量变化

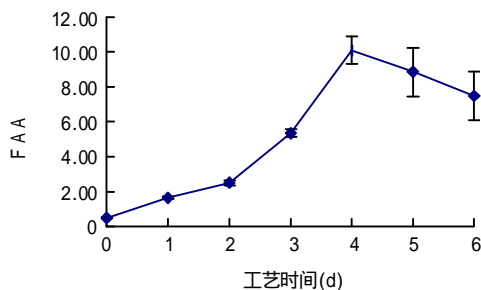


图5 工艺过程产品FAA含量变化

表1 金华火腿传统工艺温湿度变化统计分析

工艺过程	腌制 35d	洗晒 13d	中温发酵高温成熟期 150d					下架后熟 4个月以上
温度范围	低温 5~13℃	低温 6~12.5℃	低温 13d 10~15℃	中低温 24d 15~20℃	中温 73d 20~30℃	次高温 15d 30~35℃	高温 25d 35~37℃	35~15℃
平均温度(℃)	8.3	8.6	12.4	17.3	24	32.8	35	23
湿度范围 (%, RH)	65~97.5	63~98	70~92	73~96	58~96	70~80	62~80	88~70
平均湿度 (%, RH)	83.4	86.4	83.5	84.0	81.3	73.6	69.4	78
日期范围	1/20~2/23	2/24~3/10	3/11~3/23	3/24~4/15	4/16~6/28	6/29~7/13	7/14~8/8	8/9~

如图4、5 总氮和NPN在腌制过程中因盐水渗透、出水流失而降低,在晒腿发酵成熟过程中总氮基本保持稳定,NPN由于蛋白质水解而逐渐增加。

非蛋白氮(NPN)含量指除蛋白质外的多肽、短肽及FAA等的总含量,这些物质的大量增加主要是由于肌肉中蛋白质发生了降解,说明肌肉中组织蛋白酶、Calpain和氨基肽酶等酶在晒腿发酵成熟整个过程中都是活泼的^[7],在一定阶段内内源蛋白酶的活性与温度的提高呈正相关,Toldra, et al (1993a)报道干腌火腿组织蛋白酶B和H在发酵成熟过程中表现出良好活性,在15月的加工后还残留5%~10%活性^[8],组织蛋白酶D在六个月的工艺过程后才趋于消失^[9],NPN含量与温度的提高呈正相关(如图6)也说明了这一观点。

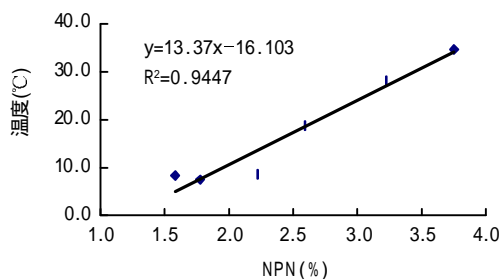


图6 温度与NPN的相关性

2.3.2 FAA(如图5)

蛋白质水解的最后一步是由氨基肽酶对肽类的作用产生游离氨基酸^[10]。FAA在高温成熟中期达到高点,随后逐渐降低,说明氨基肽酶等活性与温度的相关性(如图7),成熟过程中高度蛋白质水解活性使FAA浓度增加,导致斯特雷克尔Stretcher氨基酸反应而形成醛、醇、酮、吡嗪、含硫化合物等挥发性风味物质^[11,12],作为Stretcher反应的结果消耗大量FAA,由于成熟后期和后熟过程中蛋白质水解活性的降低而使FAA含量下降。

2.3.3 NaCl含量与蛋白质水解活性的相关性

长期成熟让肌肉蛋白酶更强烈的作用导致蛋白质的大量降解,但肌肉组织蛋白酶和氨基肽酶活性受肌球蛋白和

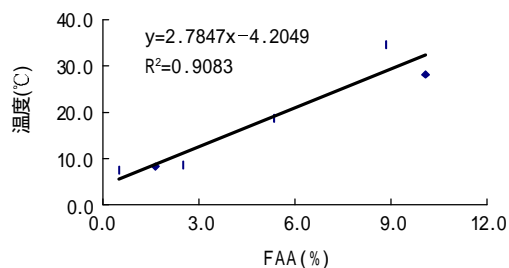


图7 温度与FAA的相关性

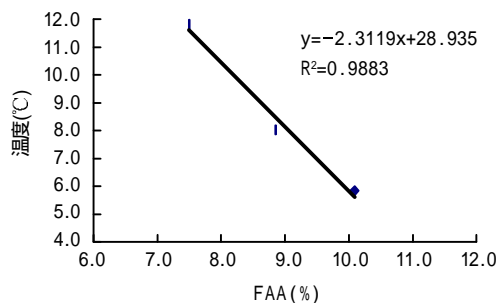


图8 成熟后期NaCl-FAA的相关性

盐的抑制^[13],成熟后期和后熟过程中NaCl含量的大幅度提高而使蛋白质水解活性降低,如图8与FAA呈负相关。

2.4 工艺过程参数的显著性差异分析 见表2。

2.4.1 NaCl及水分含量

腌制前后差异显著,肌肉组织大量出水,也使总氮部分流失;在低中温发酵阶段,由于春季漫长的多阴雨天气,相对湿度较高,产品脱水不显著,NaCl含量的差异也不显著;在高温成熟和后熟阶段相对湿度较低,产品脱水显著,NaCl含量也显著提高。

2.4.2 NPN及FAA含量

传统火腿腌制在冬季,低温使肌肉组织蛋白酶活性受到抑制,蛋白质水解程度很低,晒腿发酵成熟整个过程NPN含量有显著性增加,而FAA增加的显著性略有迟后,在高温成熟的前期FAA增加极其显著说明肌肉蛋白酶强烈的作用导致蛋白质的大量降解,此后的高

表2 金华火腿工艺过程NaCl、水分含量、总氮、NPN和FAA变化及显著性差异分析表

工艺过程 温度(°C) RN(%)			NaCl(%)	水分含量(%)	总氮(%,干基)	NPN(%,干基)	总FAA
0	7.5	83.0	0.15±0.038 ^a	71.88±3.804 ^a	12.19±0.418 ^a	1.78±0.097 ^a	0.49±0.035 ^a
1	8.3	83.4	3.38±0.583 ^b	66.47±3.306 ^b	10.91±0.427 ^c	1.58±0.097 ^a	1.64±0.068 ^a
2	8.6	86.4	3.55±0.505 ^b	62.89±2.789 ^{bc}	12.39±0.446 ^a	2.22±0.233 ^b	2.51±0.145 ^{ab}
3	18.7	83.5	5.65±0.518 ^c	62.77±2.160 ^{bc}	11.60±0.379 ^b	2.59±0.175 ^c	5.35±0.231 ^c
4	28.1	76.0	5.84±0.539 ^c	61.02±2.477 ^c	11.36±0.439 ^{bc}	3.22±0.081 ^d	10.09±0.787 ^e
5	34.6	70.6	8.02±0.629 ^d	52.46±2.492 ^d	10.89±0.331 ^c	3.75±0.222 ^e	8.85±1.396 ^{de}
6	30.4	78.4	11.83±0.838 ^e	40.46±2.994 ^e	10.21±0.162 ^c	2.15±0.062 ^b	7.49±1.412 ^d

注:表中同列数据不同字母表示显著差异($p < 0.05$)。

盐抑制作用和Stretcher反应而使FAA含量缓慢下降。

3 结 论

3.1 金华火腿传统工艺过程蛋白质水解活性和水解产物NPN及FAA含量与环境气候条件密切相关,金华地区春季漫长的多阴雨天气相对湿度较高,使火腿低中温脱水发酵经历较漫长的阶段,温度的显著提高导致产品NPN及FAA含量的显著增加,湿度的显著降低也使产品中水分的显著下降,而温湿度呈显著的负相关。

3.2 高温成熟和后熟阶段相对湿度较低,产品脱水显著,NaCl含量也显著提高,但高盐对内源蛋白酶的活性抑制作用和Stretcher反应而使FAA含量缓慢下降;这个阶段也是形成金华火腿传统风味的必须过程。

3.3 金华火腿传统工艺过程参数统计结果的标准差较大,说明原料、传统工艺和产品的标准化程度很低,在产品质量上反映金华火腿一级品率偏低。因此,金华火腿传统工艺技术的现代化势在必行。

参考文献:

- [1] 章建浩,周光宏.干腌火腿的风味研究[J].食品科学,2003,(3):158-161.
- [2] L Martin, J J Cordoba, T Antequera, et al. Effects of salt and temperature on proteolysis during ripening of iberian ham[J]. Meat Science, 1998, 49: 145-153.
- [3] Jacint Arnan, Luis Guerrero, Carmen Sarrage. The effect of green ham pH and NaCl concentration on cathepsin activities and the sensory characteristics of dry-cured hams[J]. J Sci Food Agric, 1998, 77: 387-392.
- [4] Monica Flores, Gasey C Crimm, et al. Correlations of sensory and volatile compounds of spanish "Serrano" dry-cured ham as a function of two processing times[J]. J Agric Food Chem, 1997, 45: 2178-2186.
- [5] 竺尚武,杨耀寰,王锡渊,等.金华火腿口味及呈味物质的研究[J].食品科学,1993,(3):8-11.
- [6] 竺尚武,胡嘉鑫,等.金华火腿风味物质的研究[J].食品科学,1993,(2):10-17.
- [7] Toldr á F, Flores M. The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1998, 38(4): 331-352.
- [8] Toldr á F, Rico E, Flores J. Cathepsin B, D, H and L activities in the processing of dry-cured ham[J]. J Science of Food Agriculture, 1993, 62: 157-161.
- [9] Rose II C M, Toldr á F. Comparison of muscle proteolytic and lipolytic enzyme levels in raw hams from Iberian and White pigs[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1998, 76: 117-122.
- [10] Buscail hon S, Monin G, Cornet M, et al. Time-related changes in nitrogen fractions and free amino acids of lean tissue of French dry-cured ham[J]. Meat Sci, 1994, 37: 449-456.
- [11] Fidel Toldr á. Proteolysis and lipolysis in flavor development of dry-cured meat products[J]. Meat Science, 1998, 49: 101-110.
- [12] F Shahidi. Flavor of meat, meat products and seafoods[M]. 中国轻工业出版社, 2001. 278-293.
- [13] Rose II C M, Flores M, Toldr á F. Myoglobin as an endogenous inhibitor of proteolytic muscle enzymes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44: 3453-3456.

* 欢迎订阅 *

《中国糖料》

《中国糖料》为中国农业科学院甜菜研究所主办的农业科技期刊,主要报道甜菜、甘蔗、甜叶菊、甜高粱等糖料作物的育种、良种繁育、耕作栽培、病虫害防治、生物技术等方面的研究成果、先进实用的高产栽培技术及国内外科研、生产动态等。主要栏目有“试验研究”、“调查研究”、“问题与探讨”、“综述”、“实用技术”等。本刊面向糖料作物科技工作者、大专院校有关专业师生、糖厂的技术人员及糖料作物种植户等。

本刊为季刊,季中月15日出版,大16开本,64页,每期定价为4.00元。国内统一刊号:CN23-1406/S,国际刊号:ISSN1007-2624,邮发代号:14-69,全国各地邮局(所)均可订阅。

地址:黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路74号 邮编:150080

黑龙江省哈尔滨市呼兰区东直路345号 邮编 150501

联系电话:0451-57314855 联系人:姜淑芬

电子信箱 ZGTI@chinajournal.net.cn

网址 http://ZGTI.chinajournal.net.cn