

## 金华火腿加工过程中内源脂肪酶活力变化特点研究\*

郇延军<sup>1</sup>, 周光宏<sup>2</sup>, 徐幸莲<sup>2</sup>, 赵改名<sup>2</sup>

1(江南大学食品学院, 江苏无锡, 214036) 2(南京农业大学食品学院, 江苏南京, 210095)

**摘要** 以浙江兰溪两头乌杂交猪后腿为原料, 按传统工艺加工金华火腿。分别在原料、腌制结束、晒腿结束、成熟中期、成熟结束、后熟-1和后熟-2七个工艺点随机取5条腿的股二头肌为样品, 分别测定中性脂肪酶、酸性脂肪酶的活力变化, 以及测定 pH5.8 时脂肪酶综合活力的变化; 同时, 利用响应曲面法研究温度、盐含量、硝酸盐含量、亚硝酸盐含量对脂肪酶活力的影响, 并利用所得回归方程预测金华火腿加工过程中脂肪酶的实际表现活力。结果表明, 加工过程中, 脂肪酶活力持续降低, 在后熟-1工艺点, 酸性脂肪酶和中性脂肪酶活力残留分别是 8.16% 和 3.0%, 至后熟-2 已测不到酶活; 温度、盐含量及其交互项是脂肪酶活力的显著影响因子 ( $P < 0.05$ ), 硝酸盐和亚硝酸盐含量对脂肪酶活力影响不显著 ( $P > 0.05$ )。加工过程中, 预测的脂肪酶实际表现活力在成熟中期工艺点之前低于酸性脂肪酶及中性脂肪酶的潜在活力, 之后则高于潜在活力, 其变化规律与酸性和中性脂肪酶完全不同。

**关键词** 金华火腿, 干腌火腿, 脂肪酶, 响应曲面

金华火腿是我国传统肉制品的典型代表, 已有 900 余年的生产历史, 以其独特的风味品质深受我国及东南亚地区消费者的欢迎, 在世界传统肉制品生产中也占有重要一席。但相关研究, 尤其是对风味形成机理的研究较少, 对传统生产工艺的科学内涵认识不足。目前金华火腿仍停留在传统手工作坊生产方式上。研究金华火腿生产过程中内源酶的作用, 科学认识风味形成机理, 对实现金华火腿的工业化生产具有重要意义。

近年来, 欧洲对干腌火腿风味形成机理进行了广泛研究。众多研究结果显示, 干腌火腿的风味主要来自于酶促反应和相关的生化变化, 如蛋白质水解和 Strecker 降解、脂肪降解及氧化、美拉德反应等<sup>[1~9]</sup>。其中内源酶作用导致的蛋白质和脂肪的变化对风味前体物质和风味物质的形成具有重要作用<sup>[10~12]</sup>, 脂类物质则被认为是主要的干腌火腿风味前体物质<sup>[4]</sup>, 直链的醛、烷烯烃、酮、醇及呋喃类风味成分被认为主要来自于脂类物质的变化<sup>[1, 4, 13~15]</sup>, 金华火腿中约 46% 的风味物质直接来自于脂肪<sup>[4]</sup>。在干腌火腿加工过程中, 脂类物质首先在脂肪酶作用下发生水解, 使游离脂肪酸积累<sup>[16]</sup>, 游离脂肪酸的积累使脂类物质更易发生氧化生成风味成分<sup>[17]</sup>。任何影响脂肪酶作用的因素都会对干腌火腿生产过程中脂类物质的变化产生影响, 进而影响火腿风味的产生<sup>[18~23]</sup>。已

有研究者对欧洲著名干腌火腿生产过程脂肪酶活力的变化进行了相关研究<sup>[10, 23, 24]</sup>, 郇延军等研究了金华火腿生产过程中磷脂酶活力的变化<sup>[28]</sup>。但尚未见有关金华火腿生产过程中脂肪酶活力变化的报道。另外, 以往研究主要集中在生产过程中脂肪酶潜在活力(酶适宜生化条件下的活力)的变化和活力残留, 未对具体生产条件下酶的真实活力进行研究。因不断变化的生产条件完全不同于酶的最适条件, 生产过程中酶的潜在活力和实际表现活力有很大不同, 用潜在活力难以有效客观地评价生产过程中酶的作用。笔者跟踪研究了金华火腿传统工艺条件下脂肪酶的变化情况, 利用响应曲面法对生产过程中酶所表现出的真实水解能力(真实活力)进行了预测, 以期更好地评价脂肪酶在风味形成中的作用, 为金华火腿传统生产工艺的改进提供理论指导。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料

60 条重 6.2~6.9 kg 的两头乌杂交猪(5~6 月龄, 90~100 kg)后腿为原料, 按传统工艺在浙江省食品公司金鑫火腿厂加工。其简要生产工艺过程是:

原料→修坯→摊凉→腌制→洗腿→晒腿→发酵成熟→后熟→成品

分别于主要工艺段随机取 5 只腿的股二头肌为样品, 样品取出后真空封口, 立即于一 25℃ 下冻藏, 取样工艺点和生产天数如表 1 所示。

第一作者: 博士(周光宏为通讯作者)。

\*“十一五”科技支撑项目(2006BAD05A03); 江苏省 973 预研究项目(BK2005213)

收稿日期: 2007-05-17

表 1 取样工艺点和生产时间

取样工艺点	鲜腿	盐后	晒后	成熟中期	成熟结束	后熟-1	后熟-2
生产天数/d	0	30	50	124	203	264	360

## 1.2 常规指标的检测方法

NaCl 含量:ISO1841-1:1996;硝酸盐含量:ISO3091-1975;亚硝酸盐含量:ISO2918-1975;pH 值:ISO2917:1999,用 HI92240 pH 计(NANNA instruments, Portugal)。所用化学试剂均为分析纯。实验结果的数据处理利用 SPSS11.0 进行。

生产过程中每日早中晚 3 次记录环境温度和湿度的变化。

## 1.3 酶活力分析方法

采用 Vestergaard 等的方法<sup>[24]</sup>,稍做改动。

### 1.3.1 酶液提取

5 g 样品(酸性脂肪酶测定时用 6 g)除却可见脂肪和结缔组织,迅速剪碎,加入 50 mL 浓度为 0.1 mmol/L、pH 值为 7.0 的 Tris/HCl 缓冲液。缓冲液中含有 0.2% (w/w) Triton X-100、0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的抑肽素(pepstatin, Sigma)和 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 leupeptin-hemisulphate (Sigma),在冰水浴中用高速均浆机(XHF2I,上海金达)于 25 000 r/min 均浆 4  $\times$  10s,然后在冰水浴中匀速搅拌 30 min,之后于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、10 000 g 离心 20 min,上层液用玻璃纤维过滤,滤液用作酶活力测定。

### 1.3.2 酶活力测定

酸性脂肪酶活力测定:0.1 mL 酶提取液加入到 2.8 mL pH 为 5.0 的 0.103 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、0.049 mol/L 柠檬酸缓冲液(含 0.05% Triton X-100 和 0.8 mg/mL 牛血清白蛋白,BSA)中,之后加入 0.1 mL 浓度为 1.0 mmol/L 的四甲基酮油酸酯(4-methylumbelliferyl-oleate, Sigma)作底物,迅速混匀后于 37 $^{\circ}\text{C}$  保温 30 min,加入 0.5 mL 1 mol/L 的 HCl 溶液终止反应,用荧光光度计(日立 850,日本)于  $\lambda_{\text{ex}} = 328 \text{ nm}$ 、 $\lambda_{\text{em}} = 470 \text{ nm}$  测荧光度。

中性脂肪酶活力测定:取 0.1 mL 酶提取液加入到 2.8 mL pH 为 7.5 的 0.22 mol/L Tris/HCl 缓冲液(含 0.05% 的 Triton X-100)中,之后加入 0.1 mL 浓度为 1.0 mmol/L 的四甲基酮油酸酯(4-methylumbelliferyl-oleate, Sigma)作底物,迅速混匀后于 37 $^{\circ}\text{C}$  保温 30 min,迅速用冰水浴冷却,并在 1 min 内于  $\lambda_{\text{ex}} = 328 \text{ nm}$ 、 $\lambda_{\text{em}} = 443 \text{ nm}$  测定荧光度。

综合酶活力测定:取 0.1 mL 酶提取液加入到 2.8 mL pH 为 5.8 的 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(含 0.05% Triton X-100 和 0.8 mg/mL 牛血清白蛋白,BSA)中。其他测定事项同酸性脂肪酶活力测定。

测定酶活力时,空白样用同体积的提取酶所用缓冲液代替酶提取液。用测定酶活的缓冲液配制系列浓度的 4-甲基形酮(4-methylumbelliferone, Sigma)溶液作标准曲线,定义 1 g 酶蛋白在 1 h 内产 1 nmol 的 4-甲基形酮为 1 个酶活力单位(U)。酶提取液蛋白含量测定采用双缩脲法。实验结果的数据处理利用 SPSS11.0 进行。

## 1.4 响应曲面实验设计和方法

响应曲面实验的因素水平如表 2 所示。

表 2 响应曲面实验因素水平表

水平	亚硝酸盐 /mg $\cdot$ kg $^{-1}$	温度/ $^{\circ}\text{C}$	食盐/%	硝酸盐 /mg $\cdot$ kg $^{-1}$
-1	0	4	0	0
0	10	24.5	5	25
+1	20	45	10	50

用 Design-Expert 6.0 软件(Stat-Ease Inc. Minneapolis, USA)进行实验设计,共计 29 组实验,以鲜腿做样品按 2.3.1 方法提取酶液,用 pH 为 5.8、浓度为 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液(含 0.05% Triton X-100 和 0.8 mg/mL 牛血清白蛋白 BSA)作为酶活测定缓冲液,该缓冲液在使用前按实验设计调整食盐、硝酸盐和亚硝酸盐的含量,测定酶活时保温温度按实验设计要求,其他事项同酸性脂肪酶活力测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 生产过程中酶活力及主要影响指标的变化

生产过程中酶活力及主要影响指标的变化情况如表 3 所示。结果表明,火腿股二头肌的 pH 变化很小,鲜腿的 pH 最低为 5.61,成熟结束后 pH 达到最高为 5.87。盐含量随生产的进行逐渐增高,产品中的盐含量高达 9.5%。硝酸盐和亚硝酸盐含量在生产过程中的变化波动很大,并且都具有较大的标准差,说明火腿中硝酸盐和亚硝酸盐含量具有较大的个体差异。这与目前的手工上盐操作(包括硝酸盐与盐混合的均匀性)有关。温度及湿度的变化主要与季节

有关,生产过程中最高温度记录为 42.3℃,出现在成熟中期到成熟结束工艺段。最低温度为-3.0℃,出现在腌制工艺段。

随生产的进行,酸性脂肪酶活力不断下降,在成熟中期以前的各工艺点,酶活力下降的程度十分显著( $P < 0.05$ ),之后下降不明显( $P > 0.05$ )。中性脂肪

酶的变化与酸性脂肪酶相似,酶活在成熟结束以前各工艺点下降十分显著( $P < 0.05$ ),之后下降不明显( $P > 0.05$ )。酸性脂肪酶和中性脂肪酶活力均在后熟-1 达到最小值,此时的酸性脂肪酶和中性脂肪酶活力分别是鲜腿酶活的 8.16% 和 3.0%,在后熟-2 工艺点 2 种酶均测不到的酶活。

表 3 生产过程中酶活力及主要影响指标的变化

取样点	鲜腿	盐后	晒后	成熟中期	成熟结束	后熟-1	后熟-2
酸性脂肪酶/U	1.96±0.08 <sup>d</sup>	1.52±0.03 <sup>c</sup>	1.08±0.01 <sup>b</sup>	0.19±0.02 <sup>a</sup>	0.17±0.00 <sup>a</sup>	0.16±0.01 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
中性脂肪酶/U	5.33±0.09 <sup>a</sup>	4.11±0.04 <sup>d</sup>	2.38±0.05 <sup>c</sup>	0.74±0.04 <sup>b</sup>	0.22±0.01 <sup>a</sup>	0.16±0.01 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
综合酶活力/U <sup>1)</sup>	1.33±0.02 <sup>d</sup>	1.04±0.03 <sup>c</sup>	0.76±0.01 <sup>b</sup>	0.12±0.02 <sup>a</sup>	0.11±0.01 <sup>a</sup>	0.11±0.01 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
综合酶活残留/%	100	78.20	57.14	9.01	8.27	8.27	0
盐含量/%	0.19±0.01 <sup>a</sup>	3.28±0.43 <sup>d</sup>	4.45±0.33 <sup>c</sup>	8.14±0.35 <sup>b</sup>	8.48±0.3 <sup>ab</sup>	9.49±0.57 <sup>a</sup>	9.50±0.34 <sup>a</sup>
硝酸盐含量/mg·kg <sup>-1</sup>	8.71±3.39 <sup>a</sup>	38.32±10.08 <sup>ab</sup>	46.20±10.1 <sup>a</sup>	29.70±2.15 <sup>ab</sup>	25.09±1.29 <sup>bc</sup>	39.35±2.49 <sup>ab</sup>	38.10±5.04 <sup>ab</sup>
亚硝酸盐含量/mg·kg <sup>-1</sup>	1.12±0.47 <sup>b</sup>	6.75±4.12 <sup>a</sup>	5.12±1.11 <sup>a</sup>	1.53±1.04 <sup>b</sup>	0.68±0.41 <sup>b</sup>	1.12±0.30 <sup>b</sup>	1.10±0.45 <sup>b</sup>
pH 值	5.61±0.04 <sup>c</sup>	5.73±0.04 <sup>ab</sup>	5.65±0.02 <sup>bc</sup>	5.70±0.01 <sup>bc</sup>	5.87±0.04 <sup>a</sup>	5.73±0.03 <sup>ab</sup>	5.80±0.02 <sup>a</sup>
湿度/%	79.0	84.3	70.7	83.5	74.3	77.8	78.2
温度/℃	7.8	7.8	10.3	18.1	29.2	30.1	7.6

注:1)酶活残留为各工艺点所测酶活与鲜腿酶活之比;2)同行中标准差后的角标不同者为差异显著( $P < 0.05$ )。

酶的综合活力表现了在 pH 5.8 时,酸性脂肪酶和中性脂肪酶的综合脂解能力。实验结果可知,酶综合活力随生产过程的变化规律与酸性和中性脂肪酶相似,但在每一个工艺点,酶综合活力均低于中性和酸性脂肪酶的活力。

## 2.2 酶活力响应曲面分析及数学模型建立

本实验中,温度水平的确定依据生产过程记录;硝酸盐和盐含量水平的确定依据实测结果;亚硝酸盐含量水平的确定依据生产实测值并结合国家标准(GB2731-1988)。因生产过程 pH 变化很小,只有 0.26,故未将 pH 作为考察因子,响应曲面实验中酶活力在 pH5.8(生产过程中股二头肌 pH 变化的平均值)的条件下进行。如上所述,该 pH 条件下的酶活是酸性脂肪酶和中性脂肪酶的综合活力,反应了生产过程中股二头肌酸性和中性脂肪酶的综合脂解能力。通过对响应曲面实验结果回归分析得出了酶活力自然对数的最优数学模型(式 1)。该模型的方差分析如表 4 所示。从分析结果可以看出,生产过程中温度、盐含量是酶活力的显著影响因子,其一次项和二次项( $P < 0.01$ )以及二者之间的交互项( $P < 0.05$ )均对酶活产生显著影响。硝酸盐和亚硝酸盐含量分别在 0~50 mg/kg 和 0~20 mg/kg 的范围内时,不对脂肪酶的活力产生显著影响( $P > 0.05$ )。

$$\ln(\text{lipase}) = -1.19869 + 0.09765 \times B + 0.07945 \times C - 0.00112 \times B^2 - 0.01037 \times C^2 + 0.00228 \times B \times C \quad (1)$$

式中,ln(lipase):脂肪酶活的自然对数值;B:温度(℃);C:盐含量(%).

表 4 脂肪酶活力二次回归模型方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	17.19	5	3.44	94.70	<0.0001
B(温度)	14.89	1	14.89	410.03	<0.0001
C(盐)	0.30	1	0.30	8.25	0.0086
B <sup>2</sup>	1.52	1	1.52	41.86	<0.0001
C <sup>2</sup>	0.46	1	0.46	12.78	0.0016
BC	0.22	1	0.22	6.02	0.0222
残差	0.84	23	0.04		
误差	0.35	4	0.09		
总和	18.03	28			

$R^2 = 0.95$  校正(Adj.)  $R^2 = 0.94$  预测(Pred.)

$R^2 = 0.88$  信噪比(Adeq. Precision)=31.09

回归诊断分析表明,数学模型的  $R^2$ 、校正  $R^2$  和预测  $R^2$  均达到较高水平,模型的信噪比为 31.09,远高于临界数值 4。说明了回归方程的可靠和有效性。

温度和盐含量影响酶活力的响应曲面如图 1 所示。

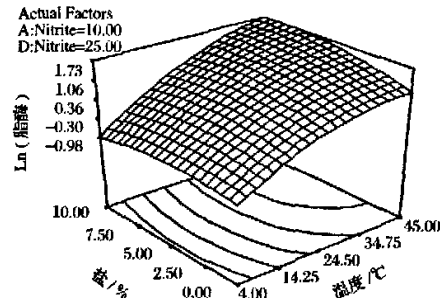


图 1 温度和盐含量对脂肪酶活力的影响

4~45℃,酶活力随温度的升高逐步升高,但在35℃之后,酶活随温度上升的趋势明显趋缓;温度对酶活力影响的程度与盐含量有关,随着盐含量增大,温度对酶活力的影响增强。盐含量对酶活力的影响比较复杂,当盐含量低于某一临界值时,表现出对酶活的促进作用;当高于某一临界值时,则表现出对酶活的抑制作用。盐含量的这一临界值与温度相关,随温度升高,盐含量的临界值增大,4℃时,临界值约为4.5%,45℃时,临界值约为9.5%。

### 2.3 生产过程中脂肪酶实际活力的变化

利用响应曲面实验所得回归方程(式1)及生产过程的综合酶活残留(见表3),可预测生产过程的实际综合酶活(式2),预测的生产过程脂肪酶实际综合

活力的变化情况如表5所示。

$$\text{实际酶活}(U) = A \times d \quad (2)$$

A,利用回归模型(式1)计算出的酶活

d,生产过程中综合酶活残留(见表3)

表5所反映的预测的综合酶活力的变化情况与酸性脂肪酶、中性脂肪酶及pH5.8时的综合酶活力变化情况完全不同。在晒后工艺点之前,实际综合酶活力的变化较小,但每个工艺点的酶活均低于酸、中性脂肪酶活及pH5.8时的综合酶活。成熟中期实际综合酶活达到最低点,之后有所回升,且在成熟结束和后熟-1工艺点,实际综合酶活高于酸性、中性和pH5.8时的综合酶活。

表5 生产过程中脂肪酶实际综合活力预测值

生产过程	鲜腿	盐后	晒后	成熟中期	成熟结束	后熟-1	后熟-2
实际综合酶活/U	0.60	0.57	0.51	0.15	0.27	0.27	0.00

## 4 讨论

目前,尚未见有关金华火腿加工过程中脂肪酶活力变化的报道。研究中,鲜腿酸性脂肪酶和中性脂肪酶的活力分别为1.96和5.33 U,该结果与Vestergaard等<sup>[24]</sup>的研究结果具有一定的可比性。Vestergaard等在研究意大利珀尔玛火腿时,用质量为8~10 kg的猪后腿为原料,其鲜腿中酸性和中性脂肪酶的活力分别是1.52和0.33 U,其酶活力单位表述与本实验相同。Toldrá等<sup>[23]</sup>在研究轻猪腿和重猪腿中脂肪酶活力时指出,轻腿中酸性脂肪酶和中性脂肪酶活力分别为0.18和0.37 U,重腿中的酶活分别是0.17和0.31 U;Flores等<sup>[17]</sup>指出,宰龄为6个月大的雄性杂交猪(Pietrain × Landrace),其背最长肌、半膜肌和股二头肌中酸性脂肪酶活力分别为0.33、0.40和0.39 U,在上述2个实验中,一个酶活力单位表述为1g酶蛋白1h水解1 μmol的底物。本实验结果与上述2个实验结果的差异可能来自于不同的实验方法、样品和猪的屠宰年龄。随着猪龄的增大,中性脂肪酶的活力减小而酸性脂肪酶的活力增大<sup>[25]</sup>。

随着金华火腿加工过程的进行,中性和酸性脂肪酶活力均呈下降趋势,笔者的实验结果与Vestergaard等<sup>[24]</sup>的研究结果有相似之处。研究中,金华火腿加工过程中脂肪酶活力的下降可能来自于酶蛋白的变性和降解。随着加工过程的进行,盐的含量不

断增高,盐浓度的增大带来了细胞质的浓缩效应,会导致酶蛋白变性;另外生产过程中的物理和化学因素会引起细胞结构和细胞器的破坏,使溶酶体蛋白酶释放从而导致脂肪酶降解而使活力下降<sup>[26]</sup>。

金华火腿生产过程中,pH变化很小,均值为5.8,在该pH条件下酸性脂肪酶和中性脂肪酶均能产生脂解作用。测pH5.8时脂肪酶的综合酶活力就是为了了解在生产过程pH条件下酸性脂肪酶和中性脂肪酶综合的脂解能力,以便于更具体分析脂类物质在加工过程中的变化。由实验结果可知,pH5.8时脂肪酶的综合酶活力均低于酸性脂肪酶和中性脂肪酶的活力,说明在偏离最适pH条件下酸性和中性脂肪酶的潜在活力均未得到很好表现。通过数据分析发现,pH5.8时脂肪酶的综合酶活与酸性和中性脂肪酶活力之间的 $R^2$ 分别为0.99和0.97,这在一定程度上说明生产过程中酸性脂肪酶在脂肪水解中起到了更多的作用。

目前尚未见到利用响应曲面法研究干腌火腿生产过程中脂肪酶实际活力变化的报道。相关的利用响应曲面分析脂肪酶的研究认为,脂肪酶最适温度为40℃,其活力受温度、pH和NaCl含量的显著影响<sup>[27]</sup>。该研究结果与文中的实验结果具有相似性,只是考察对象不同。从本研究结果可知,硝酸盐和亚硝酸盐在0~50 mg/kg和0~20 mg/kg范围内,对脂肪酶活不产生显著影响,它们在生产中的作用可能主要

表现为改善产品的色泽,还有报道认为,硝酸盐和亚硝酸盐对于腌火腿的风味会产生影响<sup>[15]</sup>。

表3所示的酸性和中性脂肪酶活分别是在酶的最适生化条件下所测得的结果,综合酶活力则是在pH5.8(生产过程中的平均pH)下测得的活力,均未考虑生产过程中温度和盐含量这2个酶活的显著影响因子所产生的作用。因此只能反映潜在的酶活力,而不能反映真实的酶活,既具体条件下酶真实的脂解能力。通过响应曲面分析既能判定生产过程中酶活力的主要影响因子,又能够利用回归方程预测生产过程中酶在具体生产条件下的实际酶活变化,对科学分析脂肪酶在生产过程中对脂类物质、风味变化的影响具有积极意义。结果显示,生产过程中的实际酶活与酸性脂肪酶、中性脂肪酶和pH5.8时的综合酶活变化趋势完全不同。从鲜腿到晒腿结束工艺段,实际酶活低于潜在的酸性、中性脂肪酶活以及pH5.8时的综合酶活,这是因为该工艺段温度和盐含量均较低。实际酶活力在成熟中期最低,这是由于温度和盐的交互作用所致。在该工艺点,盐含量已达到较高水平,但此时温度仍较低,因此盐表现出对酶活的抑制作用。在成熟结束和后熟-1工艺点,实际酶活回升,且高于潜在的酸性和中性脂肪酶活,这是由于该工艺段较高的温度和盐含量。从实际酶活结果分析可知,晒腿结束之前实际酶活较高,是脂类物质变化和脂质风味前体物质积累的重要阶段,为成熟过程高温条件下的风味物质大量形成奠定了基础;在成熟结束和后熟工艺段,仍有一定的实际酶活,这或许是干腌火腿在后熟时,能进一步产生风味的原因之一。

#### 4 结 论

金华火腿生产过程中酸性脂肪酶和中性脂肪酶的潜在活力不断下降,至后熟-1两种酶分别只有8.16%和3.0%的活力残留。生产过程中,温度和盐含量是影响酶活力的显著因子,硝酸盐和亚硝酸盐在所考察水平范围内不对酶活力产生显著影响。预测的实际酶活力变化趋势与酸性和中性脂肪酶潜在活力的变化完全不同,至成熟中期以前,实际酶活低于酸、中性脂肪酶的潜在酶活,呈不断下降趋势,之后酶活有所回升,且高于潜在酶活。晒腿结束前相对较高的实际酶活为脂类风味前体物质积累创造了条件,后熟过程一定的实际酶活促进了风味的进一步形成。

#### 参 考 文 献

- Andrés A I, Cava R, Ventanas J, et al. Lipid oxidative

- changes throughout the ripening of dry-cured Iberian hams with different salt contents and processing conditions[J]. Food Chemistry, 2004, 84: 375~381
- Coutron-Gambotti C, Gandemer G. Lipolysis and oxidation in subcutaneous adipose tissue during dry-cured ham processing[J]. Food Chemistry, 1999, 64 (1): 95~101
- Flores M, Grimm C C, Toldrá F, et al. 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 (6), 2 178~2 186
- Huan Y J, Zhou G H, Zhao G M, et al. Changes in flavor compounds of dry-cured Chinese Jinhua ham during processing[J]. Meat Science, 2005, 71: 291~299
- Timón, M L, Ventanas J, Carrapiso A I, et al. Subcutaneous and intermuscular fat characterization of dry-cured Iberian hams[J]. Meat Science, 2001, 58: 85~91
- 郇延军, 周光宏, 徐幸莲, 等. 不同等级金华火腿风味特点研究[J]. 食品科学, 2006, 27(6), 39~45
- Sanchez-Pena C M, Luna G, Garcia-Gonzalez, D L, et al. Characterization of French and Spanish dry-cured hams; influence of the volatiles from the muscles and the subcutaneous fat quantified by SPME-GC[J]. Meat Science, 2005, 69(4): 635~645
- Otero L, Horrillo M C, Garcia M, et al. Detection of Iberian ham aroma by a semiconductor multisensorial system [J]. Meat Science, 2003, 69, 635~645
- Luna G, Aparicio R, Garcia-Gonzalez D L. A tentative characterization of white dry-cured hams from Teruel (Spain) by SPME-GC[J]. Food Chemistry, 2006, 97: 621~630
- Toldrá F. Proteolysis and lipolysis in flavor development of dry-cured meat products[J]. Meat Science, 1998, 49 (Suppl. 1): S101~S110
- Zhao G M, Zhou G H, Wang Y L, et al. Time-related changes in cathepsin B and L activities during processing of Jinhua ham as a function of pH, salt and temperature [J]. Meat Science, 2005, 70: 381~388
- Toldrá F, Aristoy M, Flores M. Contribution of muscle aminopeptidases to flavor development in dry-cured ham [J]. Food Research International, 2000, 33: 181~185
- 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
- Frankel E N. Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance[J]. Journal of American oil Chemists' Society, 1984, 61: 1 908~1 917
- Mottram D S. Flavor formation in meat and meat products: a Review[J]. Food Chemistry, 1998, 62, 415~424
- Buscailhon S, Gandemer G, Monin G. Time related changes in intramuscular lipids of French dry-cured ham [J]. Meat Science, 1994, 34: 245~255
- Flores M, Alasnier C, Aristoy M C, et al. Activity of aminopeptidase and lipolytic enzymes in five skeletal muscles with various oxidative patterns[J]. Journal of Science of Food and Agriculture, 1996, 70: 127~130
- Arnau J, Gou P, Comaposada J. Dry-cured ham and fermented meat products: Formulating for flavor[C]. In

- Proceedings of the 49th International Congress of Meat Science and Technology, Brazilian, 2003, 56~66
- 19 Wang F S. Lipolytic and proteolytic properties of dry-cured boneless hams ripened in modified atmospheres[J]. Meat Science, 2001, 59:15~22
  - 20 Dirinck P, Van Opstaele F, Vandendriessche F. Flavor differences between northern and southern European cured hams[J]. Food Chemistry, 1997, 59 (4), 511~521
  - 21 Andres A I, Cava R, Martin D, et al. Lipolysis in dry-cured ham; Influence of salt content and processing conditions[J]. Food Chemistry, 2005, 90:523~533
  - 22 Toldrá F, Flores M, Aanz M et al. Dry-cured ham flavor: enzymatic generation and process influence[J]. Food Chemistry, 1997, 59(4), 523~530
  - 23 Toldrá F, Flores M, Aristoy M C, et al. Pattern of muscle proteolytic and lipolytic enzymes from light and heavy pigs[J]. Journal of Science of Food and Agriculture, 1996, 71 (1) 124~128
  - 24 Vestergaard C S, Schivazappa C, Virgili R. Lipolysis in dry-cured ham maturation[J]. Meat Science, 2000, 5: 1~5
  - 25 Armero E, Barbosa J, Toldrá F, et al. Effect of the terminal sire type and sex on pork muscle cathepsins (B, B+L and H), cystein proteinase inhibitors and lipolytic enzyme activities[J]. Meat Science, 1999, 51:185~189
  - 26 Warriss P D. Meat Science: an introductory text. Wallingford Oxon, UK, CABI publishing Co., 2001. 57,105
  - 27 Gobbetti M, Lanciotti R, Angelis M De, et al. Study of the effects of temperature, pH, NaCl, and Aw on the proteolytic and lipolytic activities of cheese-related lactic acid bacteria by quadratic response surface methodology [J]. Enzyme & Microbial Technology, 1999, 25 (10), 795~809
  - 28 邹延军,周光宏,徐幸莲.应用响应曲面法研究金华火腿生产过程中磷脂酶的变化[J].食品与发酵工业,2005,31(2):120~123

## Studies on the Changing Characteristics of Endogenous Lipase during Processing of Jinhua Ham

Huan Yanjun<sup>1</sup>, Zhou Guanghong<sup>2</sup>, Xu Xinglian<sup>2</sup>, Zhao Gaiming<sup>2</sup>

<sup>1</sup>( School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036,China)

<sup>2</sup> (College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095,China)

**ABSTRACT** Jinhua hams were processed with traditional method using green hams from local Liangtouwu cross-bred pigs' hind legs. *Biceps femoris* sampled from five hams randomly taken after each processing stages, i. e., green ham, end of salting, end of sun-drying, middle of loft-aging, end of loft-aging, post-aging-1 and post-aging-2, were used as samples to measure the potential activities of acid and neutral lipases and the integrative lipase activity at pH 5.8; the effects of temperature, salt content, nitrate content and nitrite content on the lipase activity were studied using response surface methodology (RSM); response surface regression equation was used to predict the actual lipase activity during processing. The results showed that during processing of Jinhua ham, lipase activity decrease gradually, about 8.16% and 3.0% of initial potential activity of acid and neutral lipases were left at the end of post-aging-1, respectively; no activity was measured for both acid and neutral lipases at the end of post-aging-2. Temperature, sodium chloride content and their interaction influenced the lipase activity significantly ( $P < 0.05$ ); nitrate and nitrite contents showed insignificant effects ( $P > 0.05$ ). During processing, the predicted actual activity, which changed in a different rule from the potential activities of acid and neutral lipases, was lower before the end of loft-aging and then higher after the end of loft-aging than the potential activities of acid and neutral lipases.

**Key words** Jinhua ham, dry-cured ham, lipase, response surface methodology

### 《饼干》《面包》新国标 2008 年 5 月实施

2007 年第 6 号国家标准公告发布了 128 项新国标,其中,GB/T20980—2007《饼干》和 GB/T 20981—2007《面包》新国标批准日期为 2007 年 6 月 12 日,并于 2008 年 5 月 1 日实施。

饼干是焙烤食品业中的主要产品之一,原轻工业部于 1988 年首次提出制定全国统一的饼干标准,根据当时饼干的特点,共制定了 13 项相关标准,于 1991 年颁布实施。目前饼干年产量近百万吨。为了更好地引导中国饼干行业的发展,同时更好地适应国内外贸易市场的需要,保护消费者的合法权益,我国将 13 项饼干系列行业标准整合为国家标准。