

响应面法优化酶法制备羊肉特征风味前体工艺

马雪平¹, 詹萍², 田洪磊², 未志胜¹, 席嘉佩¹, 张芳¹

(1. 石河子大学食品学院, 新疆石河子 832000) (2. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西西安 710119)

摘要:以精炼羊脂为原料, 利用脂肪酶酶解以得到小分子脂解产物。选取底物浓度、加酶量、酶解时间为单因素, 脂解率为响应指标进行单因素试验, 并在此基础上采用 Box-Behnken 响应面法设计优化羊脂酶解工艺, 且对不同酶解程度羊脂特征性挥发成分进行顶空固相微萃取/气相色谱-质谱(SPME/GC-MS)分析, 确定酶解程度与挥发物之间的关系。结果表明, 在酶解温度为 50 ℃, pH 为 6.5 时, 最佳酶解体系参数为: 底物质量分数达到 60%, 酶添加量为 140 U/g 底物, 酶解时间 6 h, 脂解率可达 29.76%。GC-MS 结果表明: 在此脂解率时, 可富集大量比其它酶解程度更多挥发性的醛类、酮类、酸类、醚类。且在此脂解率时, 对香气贡献最大的醛种类最多, 总含量最高为(1.868±0.013) ng/g, 可作为最适酶解程度。本研究参数为后续羊脂氧化及美拉德反应制备羊肉特征风味香精奠定基础。

关键词: 羊脂; 酶解; 脂解率; 响应面分析; 气相色谱-质谱; 挥发性成分

文章编号: 1673-9078(2019)01-198-205

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.1.028

Optimization of Enzymatic Preparation of a Flavor Precursor with Mutton Characteristics by Response Surface Methodology

MA Xue-ping¹, ZHAN Ping², TIAN Hong-lei², WEI Zhi-sheng¹, XI Jia-pei¹, ZHANG Fang¹

(1. Food College of Shihezi University, Shihezi 832000, China)

(2. College of Food Engineering and Nutritional Science Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: Refined mutton was digested by lipases to obtain small molecular products. The substrate concentration, enzyme dosage and enzymatic hydrolysis time were selected as single factors, and the lipolysis rate was used as the response index. The Box-Behnken response surface method was used to optimize the lipolytic process based on the experiment of single factors. The characteristic volatile components with different degree of enzymatic hydrolysis were analyzed by a headspace solid phase microextraction / gas chromatography-mass spectrometry (SPME)/GC-MS), and the relationship between the degree of enzymatic hydrolysis and volatiles was determined. The optimum enzymatic hydrolysis conditions were determined as enzymatic temperature 50 ℃, pH 6.5, substrate mass fraction 60%, enzyme dosage 140 U/g substrate and hydrolysis time 6 h, under which the lipolysis rate was up to 29.76%. GC-MS analysis showed that with this lipolysis rate, the hydrolyzate was rich in characteristic volatiles such as aldehydes, ketones, acids and ethers, and aldehyde species contributed to the flavor, with the highest total content of 1.868±0.013 ng/g. This study laid the foundation for the subsequent preparation of mutton flavor by oxidation of mutton tallow and Maillard reaction.

Key words: mutton tallow; enzymatic hydrolysis; lipolysis rate; response surface analysis; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); volatile compounds

脂肪在肉制品特征风味的形成中发挥关键作用。脂肪氧化降解或形成一些香味前体物质与美拉德反应中间产物相互作用是肉香味形成的一个重要途径。大

收稿日期: 2018-09-19

基金项目: 国家“十三五”重点研发计划专项(2016YFD0400705); 国家自然科学基金项目(31460408); 石河子大学杰出青年项目(2015ZRKXJQ04)

作者简介: 马雪平(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能食品与食品配料

通讯作者: 詹萍(1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品风味化学;

田洪磊(1976-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 功能食品与食品配料

量实验表明, 瘦肉仅产生基本肉味, 而不同畜禽肉的风味差异则源于脂肪^[1]。Pearson^[2]研究发现, 将牛肉、羊肉中的水溶性提取物加热时产生相似的香味, 而分别加热其脂肪时则产生特征的肉香味。然而, 最近研究表明, 高温氧化脂肪在热反应过程中赋予肉类特征风味的同时, 还存在部分热反应产物油脂味过重以及脂肪在高温氧化过程中存在的安全隐患等问题^[3]。林庆斌^[4]等发现, 羊脂氧化温度升高, 其参与美拉德反应的产物随之产生酸败味, 甚至浓烈的臭味。为了解决这一问题, 有研究者在进行美拉德反应之前, 对脂

肪进行适度酶解,发现这个过程不仅可有效避免脂肪单纯高温氧化时有害成分的产生,而且可生成大量与高温氧化脂类类似的肉类风味前体物质。颜伟强^[5]等通过酶解处理之后的鸡脂肪制备鸡肉香精,发现其风味变得更为丰富、突出。唐琪^[6]等对猪肉进行适宜的酶解后探究其特征风味前体物质,发现富集了大量具有特征风味的挥发性醛类以及游离脂肪酸。然而,目前关于羊肉特征风味前体物质的研究,主要集中在分析羊骨或羊肉蛋白酶解后添加适量经定向调控氧化的羊脂形成的挥发性成分方面,及研究制备羊肉香精,而对酶解工艺及不同酶解程度羊脂挥发性成分的分析鲜有报道。

本研究旨在单因素试验基础上利用响应面优化设计分析确定最佳酶解工艺条件,并利用 SPME/GC-MS 分析酶解程度对羊肉特征香气的影响,确定酶解程度与特征挥发物之间的关系。以期为后续有酶解脂肪参与美拉德反应制备羊肉香精奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

羊脂,天津天源油脂有限公司;脂肪酶(6145 U/g),上海源叶生物科技有限责任公司;实验中所用试剂均购自国药集团化学试剂有限公司;正构烷烃混合标准品(C₇-C₄₀),1,2-二氯苯(色谱纯),美国 Sigma-Aldrich 公司;实验用水均为超纯水。

1.2 仪器与设备

GX-2015 超级恒温循环器,上海谷宁实业有限公司;PHS-W 型 pH 计,上海般特仪器有限公司;85-2 数显恒温磁力搅拌器,上海梅香仪器有限公司;SPME 装置、50/30 μm 二乙基苯/碳分子筛/聚二甲基硅氧烷(DVB/CAR/PDMS)萃取头,美国 Supelco 公司;7890B-5975A14 型 GC-MS 联用仪,美国 Agilent 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 羊脂酶解工艺

准确称取精炼羊脂(50.0 g)于磷酸缓冲盐溶液中(pH=6.5),配制成不同梯度底物质量分数、不同梯度加酶量的羊脂酶解液,于初始温度 50 °C 下在酶解罐中进行酶解反应,同时用 700 r/min 磁力搅拌器进行搅拌。待反应一定时间后,于 95 °C 热水浴中灭酶 10 min,在冰水浴中迅速冷却后于-18 °C 下冷冻保藏备用,此样品即为酶解样品。羊脂酶解程度用脂解率表示,其计算公式如下:

脂解率(%)=(反应前后酸价的变化量/反应后的皂化值)×100% (1)

其中:酸价(A.V.)的测定参照 GB/T 5530-200 标准,皂化价的测定参照 GB/T 5534-2008 测定。

1.3.2 响应面设计优化羊脂酶解工艺条件

根据单因素试验,选择底物质量分数、酶添加量和酶解时间为因素,脂解率为响应指标进行 Box-Behnken 设计,通过响应面法优化分析得到二次多项式回归方程的预测模型,旨在探求羊脂酶解的最优工艺,以求为羊脂的深入研究及产品开发提供理论依据。

1.3.3 不同酶解程度羊脂的制备

在单因素试验基础上,选择脂解率变化较大的酶解时间为变量,其它条件按响应面法优化的最优条件,制备不同酶解程度羊脂。即在酶解温度为 50 °C, pH 为 6.5 时,底物质量分数 60%,酶添加量 140 U/g 底物,酶解时间 2 h、4 h、6 h、8 h、10 h 制备获得的羊脂样品分别编号为 S1、S2、S3、S4、S5,未处理羊脂编号为 S0。

1.3.4 羊脂样品挥发性物质 SPME-GC-MS 分析

在 15 mL 样品萃取瓶中,准确加入 5.0 g 羊脂,并加入 10 μL 的 1,2-二氯苯(0.216 μg,以甲醇为溶剂)作为内标化合物,于 55 °C 水浴中平衡 5 min,再将老化的 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头插入样品瓶中,同时推出纤维头,顶空吸附 30 min。吸附后,收回纤维头并迅速移至 GC 进样口,在 250 °C 热解吸 7 min,同时启动 GC-MS 联动仪,采集数据。

GC-MS 分析条件:色谱毛细管柱为 HP-INNOWAX (30 m×0.25 mm,液膜厚度为 0.25 μm);载气为 He,流速 1.2 mL/min;进样方式:不分流进样;程序升温,起始温度 40 °C,保持 3 min,以 5 °C/min 的速率升温到 100 °C,然后以 12 °C/min 的速率升温到 230 °C,保持 10 min;检测器温度为 250 °C。MS 条件:传输线温度 280 °C,接口温度 250 °C;离子源温度 230 °C;四极杆温度 150 °C;电子电离源;电子能量 70 eV;质量扫描范围 30~450 u。

定量方法:采用内标法对样品中的挥发性化合物进行定量分析,根据被测化合物和内标物相应的色谱峰面积之比,计算被测组分的相对含量,具体计算方法见公式(2):

$$Q_i(\text{ng/g}) = \frac{F_i}{F_{\text{内标}}} \times C_{\text{内标}} \times 1000 / m \quad (2)$$

其中:Q_i 为 i 相对含量;F_i, F_{内标} 分别为 i 峰和内标峰峰面积;C_{内标} 为内标物质含量(μg);m 为样品质量(g)。

定性方法：将通过 GC-MS 进行分析鉴定的挥发性化合物的质谱信息与 WILEY 和 NIST14 谱图库中已知化合物的质谱信息进行比对，依据相似度 (SI) > 800 的原则对鉴定化合物进行选取。同时依据 Vandendool H^[7] 的方法测定保留指数 (retention indices, RI)，使用 Standard Reference Data 平台比对文献中化合物的相对保留指数 (library retention indices, LRI) 对羊脂的挥发性风味成分进行定性分析。

1.3.5 数据统计分析

用软件 Origin8.0 进行单因素图表的绘制；利用 Design-Expert8.0 进行响应面优化的设计和绘图。

2 结果与分析

2.1 响应面试验设计方案及结果

表 1 响应曲面试验因素水平表

因素	水平		
	-1	0	1
A 酶添加量/ (U/g)	120	140	160
B 底物质量分数/%	50	60	70
C 时间/h	6	8	10

在单因素试验的基础上，利用 Design Expert 中的

Box-Behnken 中心组合试验对三个因素进行三因素三水平试验设计，其试验因素及水平设计见表 1，响应面设计方案及响应结果见表 2。

表 2 响应曲面设计方案及结果

Table 2 Test scheme and results for response surface analysis

实验号	A	B	C	脂解率/%
1	0	-1	1	18.03
2	0	0	-1	17.54
3	0	-1	-1	16.99
4	0	0	0	36.18
5	0	0	0	37.06
6	0	0	0	37.97
7	1	0	-1	16.71
8	-1	-1	0	13.21
9	-1	0	1	15.95
10	0	0	0	36.92
11	1	1	0	17.94
12	1	-1	0	17.14
13	1	0	1	22.41
14	-1	0	-1	15.12
15	-1	1	0	17.11
16	0	0	0	35.72
17	0	1	1	19.78

表 3 回归方程的方差分析结果

Table 3 Regression equation of the results of variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Prop>F	显著性
模型	1387.82	9	154.2	168.91	<0.0001	**
A-酶添加量	20.51	1	20.51	22.47	0.0021	**
B-底物质量分数	6.13	1	6.13	6.71	0.0359	*
C-酶解时间	12.03	1	12.03	13.18	0.084	
AB	2.40	1	2.40	2.63	0.1488	
AC	5.93	1	5.93	6.49	0.0382	*
BC	0.36	1	0.36	0.39	0.5500	
A ²	462.33	1	462.33	506.43	<0.0001	**
B ²	416.12	1	416.12	455.81	<0.0001	**
C ²	321.91	1	321.91	352.61	<0.0001	**
残差	6.39	7	0.91			
失拟项	3.39	3	1.13	1.51	0.3409	
纯误差	3.00	4	0.75			
总和	1394.22	16				

注：(1) $p < 0.01$ 为极显著，用**表示； $p < 0.05$ 为显著，用*表示； $p > 0.05$ 为不显著；(2) $R^2 = 0.9954$ ， $R_{Adj}^2 = 0.9854$ 。

2.2 建立回归方程及统计分析

Box-Behnken 试验获得的脂解率数据，利用响应面法进行多元二次方程回归，分别拟合三个主要因素与它的函数关系，得到需要的数学模型并通过方差分析来判别模型拟合的优良程度，拟合得到的二阶多项式模型为：

脂解率 = -987.09750+7.40419A+1243.95B+30.42688C0.38750AB+0.030437AC+1.5000BC-0.026197A²-994.12500B²-2.18594C²

统计分析表 2 中的试验结果，得到方差分析结果见表 3。由表 3 可以看出，自变量和因变量与回归方程的线性关系明显，且回归方程高度显著 ($p<0.0001$)，失拟项不显著，表明该模型与响应变量收集的数据一致。模型的适用性由确定系数 $R^2=0.9954$ 决定，其校正决定系数 $R_{Adj}^2=0.9854$ ，表明约 98.54% 的反应变异归因于变量，而 1.5% 观察到的变异必然是由未知的异常值引起的。

2.3 响应面分析

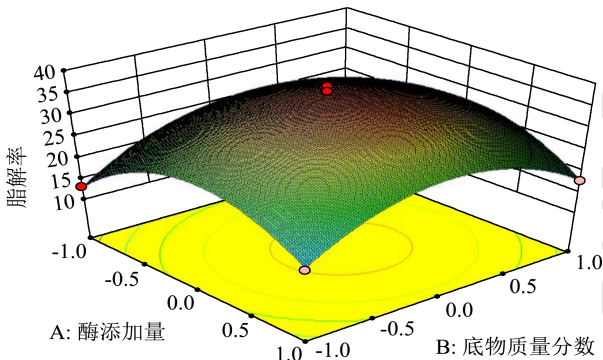


图 1 酶添加量与底物质量分数对脂解率的交互作用图

Fig.1 The interaction of lipase amount and substrate mass fraction to the lipolytic rate

回归方程响应面如 1~3 图所示，任何两个交互因素的响应面都存在最高点。图 1 显示了酶添加量与底物质量分数对脂解率的影响。从图中可以看出，脂解率随着酶添加量和底物质量分数的增加先增加后减少。图 2 显示酶添加量与时间对脂解率的影响，随着时间的增长，脂解率先增加达到极限值后，开始下降。图 3 显示底物质量分数与时间对脂解率的影响，然而底物质量分数升高会增加脂解率，经过一定时间后又略有下降。分析原因可能是与酶的催化特性有关。一是脂肪酶与体系中底物接触达到饱和后，脂解率会保

持不变甚至下降。二是随着酶解时间的增加，脂肪酶逐渐失活，脂解率下降。

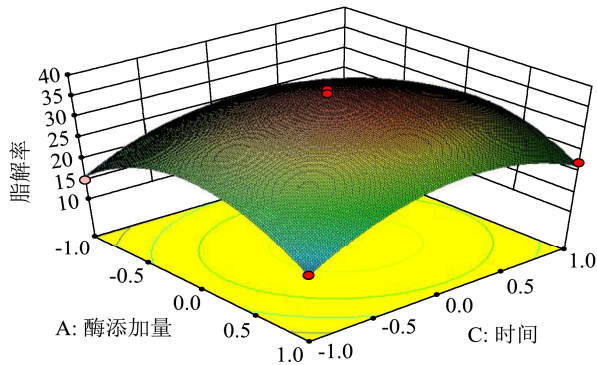


图 2 酶添加量与时间对脂解率的交互作用图

Fig.2 The interaction of lipase concentration and time to the lipolytic rate

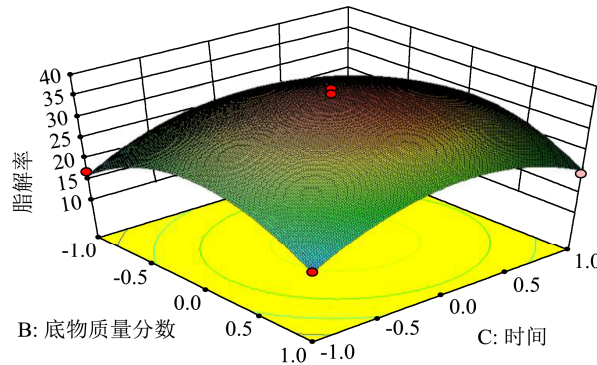


图 3 底物质量分数与时间对脂解率的交互作用图

Fig.3 The interaction of substrate mass fraction and time to the lipolytic rate

2.4 羊脂酶解脂解率的最优值预测及验证

验证实验在进行响应面分析得出条件后进行证明，实验结果相当接近预测值，确认了预测模型的有效性和充分性。酶解条件的最优解是酶添加量为 140 U/g 底物干重、底物质量分数 60%、酶解温度 50 ℃，pH 6.5，时间 6 h，脂解率为 29.76%。通过使用这些参数获得的上述结果表明响应面预测与实验结果良好的一致。

2.5 羊脂酶解挥发性物质分析

根据羊脂酶解程度不同，对 S1 (脂解率 13.11%)，S2 (脂解率 20.31%)，S3 (脂解率 29.76%)，S4 (脂解率 29.90%)，S5 (脂解率 31.04%) 及 S0 进行 SPME/GC-MS 鉴定，分析其主要挥发性成分随脂解率的变化规律，结果如表 4。

表 4 羊脂酶解挥发性成分

Table 4 Volatile compounds identified in enzymatic hydrolyzed mutton tallow

编号	化合物	LRI	RI	化合物相对含量/ (ng/g)					
				S0	S1	S2	S3	S4	S5
1	己醛	1093 ^[8]	1143	0.125 ± 0.013	0.053 ± 0.005	0.087 ± 0.009	0.14 ± 0.014	0.071 ± 0.007	0.083 ± 0.008
2	庚醛	1183 ^[8]	1147	0.120 ± 0.012	0.057 ± 0.006	0.098 ± 0.010	0.15 ± 0.015	0.078 ± 0.008	0.089 ± 0.009
3	正辛醛	1287 ^[9]	1098	0.228 ± 0.023	0.010 ± 0.001	0.156 ± 0.016	0.241 ± 0.024	0.146 ± 0.015	0.169 ± 0.017
4	(Z) -2-庚醛	ND	1320	0.070 ± 0.007	0.031 ± 0.003	0.043 ± 0.004	0.076 ± 0.008	0.047 ± 0.005	0.052 ± 0.005
5	壬醛	1390 ^[10]	1376	0.288 ± 0.029	0.166 ± 0.017	0.204 ± 0.020	0.356 ± 0.036	0.286 ± 0.029	0.262 ± 0.026
6	2-辛烯醛	1428 ^[10]	1419	0.137 ± 0.014	0.045 ± 0.005	0.062 ± 0.006	0.097 ± 0.01	0.072 ± 0.007	0.077 ± 0.008
7	癸醛	1506 ^[9]	1489	0.102 ± 0.010	0.029 ± 0.003	0.038 ± 0.004	0.15 ± 0.015	0.056 ± 0.006	0.057 ± 0.006
8	(Z)-6-壬烯醛	ND	1109	0.288 ± 0.029	0.075 ± 0.007	0.103 ± 0.010	0.177 ± 0.018	0.141 ± 0.014	0.148 ± 0.015
9	E-2-癸烯醛	ND	1245	0.245 ± 0.024	0.065 ± 0.006	-	0.132 ± 0.013	0.127 ± 0.013	0.128 ± 0.013
10	2-十一烯醛	ND	1749	0.117 ± 0.012	0.028 ± 0.003	0.036 ± 0.004	0.06 ± 0.006	0.06 ± 0.006	0.06 ± 0.006
11	E-2,4-癸二烯醛	1826 ^[11]	1794	0.057 ± 0.006	0.012 ± 0.001	0.016 ± 0.002	0.132 ± 0.013	0.025 ± 0.002	-
12	苯甲醛	1543 ^[12]	1.426	-	0.161 ± 0.016	0.294 ± 0.029	0.265 ± 0.026	0.249 ± 0.025	0.14 ± 0.014
13	(2E,4Z) -2,4-癸二烯醛	ND	1196	-	-	0.016 ± 0.002	0.029 ± 0.003	-	0.024 ± 0.002
14	(E,E)-2,4-壬二烯醛	ND	1608	-	-	-	0.04 ± 0.004	0.03 ± 0.003	-
15	戊醛	988 ^[13]	1003	-	-	-	0.046±0.005	-	-
醛类 (15 种) 总含量				1.778 ± 0.015	0.821 ± 0.007	1.138±0.010	1.868 ± 0.013	1.386 ± 0.011	1.289 ± 0.010
16	4-乙基环己醇	ND	1203	0.051 ± 0.005	0.013 ± 0.001	0.017 ± 0.002	0.027 ± 0.003	0.022 ± 0.002	0.023 ± 0.002
17	3-甲基-2-己醇	ND	901	-	0.017 ± 0.002	-	-	-	-
18	(1S,2S,3S,5R)-(+)-异松莪醇	ND	1178	-	-	0.015 ± 0.002	0.025 ± 0.003	-	0.017 ± 0.002
19	(2Z)-2-十烯醇	ND	1252	-	-	0.083 ± 0.008	-	-	-
20	2,4-二甲基-3-己醇,	ND	1332	-	-	-	0.014 ± 0.001	-	-
21	2-癸醇	ND	1197	-	-	-	-	0.014 ± 0.001	-
22	4-乙氧基- 1-丁醇	ND	1203	-	-	-	-	-	0.020 ± 0.002
23	2-壬醇	ND	1516	-	-	-	-	-	0.018 ± 0.002
醇类 (8 种) 总含量				0.051 ± 0.005	0.030 ± 0.001	0.115 ± 0.003	0.066 ± 0.002	0.036 ± 0.001	0.078 ± 0.002
24	仲辛酮	ND	1285	-	-	0.016 ± 0.002	0.037 ± 0.004	0.019 ± 0.002	0.018 ± 0.002
25	2-庚酮	ND	1.216	-	-	0.017 ± 0.002	0.025 ± 0.002	-	-
26	2-壬酮	1388 ^[14]	1298	-	-	-	0.019 ± 0.002	0.015 ± 0.001	-

转下页

接上页

27	5-甲基-2-己酮	ND	1188	-	-	-	-	0	0.017 ± 0.002
酮类 (4 种) 总含量				-	-	0.033 ± 0.002	0.081 ± 0.003	0.034 ± 0.002	0.035 ± 0.002
28	(1-羟基-2,4,4-三甲基戊-3-基) 2-甲基丙酸酯	ND	1469	-	-	-	0.014 ± 0.001	-	-
29	己酸-2-苯乙酯	ND	1194	-	-	-	0.031 ± 0.003	-	-
酯类 (2 种) 总含量				-	-	-	0.045 ± 0.002	-	-
30	3-乙基-2-甲基-1,3-己二烯	ND	2849	-	0.014 ± 0.001	0.017 ± 0.002	0.03 ± 0.003	0.02 ± 0.002	-
31	正癸烯	ND	1043	-	-	0.015 ± 0.002	-	-	-
32	(Z)-3-十一烯	ND	1932	-	-	0.083 ± 0.008	0.017 ± 0.002	0.017 ± 0.002	0.019 ± 0.002
33	苯乙烯	ND	1438	-	-	-	-	-	0.02 ± 0.002
烯类 (4 种) 总含量				-	0.014 ± 0.001	0.115 ± 0.005	0.047 ± 0.002	0.037 ± 0.002	0.039 ± 0.002
	辛酸	2050 ^[9]	2069	-	0.020 ± 0.002	0.032 ± 0.003	0.060 ± 0.006	0.066 ± 0.007	0.065 ± 0.006
	癸酸	2288 ^[11]	2314	-	0.018 ± 0.002	0.031 ± 0.003	0.058 ± 0.006	0.065 ± 0.007	0.064 ± 0.006
	2-苯基乙醇酯月桂酸	ND	2243	-	0.012 ± 0.001	0.016 ± 0.002	-	0.024 ± 0.002	0.021 ± 0.002
	2-苯乙基酯肉桂酸	ND	2264	-	-	0.016 ± 0.002	-	-	-
	肉豆蔻酸	ND	2719	-	-	-	0.036 ± 0.004	0.048 ± 0.005	0.133 ± 0.013
酸类 (5 种) 总含量				-	0.050 ± 0.002	0.095 ± 0.003	0.424 ± 0.005	0.203 ± 0.005	0.283 ± 0.002
34	4-烯丙基苯甲醚	ND	1662	0.060 ± 0.006	0.022 ± 0.002	0.029 ± 0.003	-	-	-
35	对丙基苯甲醚	ND	1606	-	-	0.015 ± 0.001	0.024 ± 0.002	0.021 ± 0.002	0.019 ± 0.002
36	六甘醇单十二醚	ND	1983	-	-	0.053 ± 0.005	-	-	-
37	茴香脑	ND	1764	-	-	-	0.048 ± 0.005	0.049 ± 0.005	0.044 ± 0.004
醚类 (4 种) 总含量				0.060 ± 0.006	0.022 ± 0.002	0.097 ± 0.004	0.072 ± 0.003	0.070 ± 0.004	0.063 ± 0.003
39	2-正戊基咪喃	1228 ^[14]	1249	0.057 ± 0.006	0.027 ± 0.003	0.031 ± 0.003	-	-	0.033 ± 0.003
40	2,6-二叔丁基对甲酚	ND	1920	0.364 ± 0.037	0.129 ± 0.013	0.168 ± 0.017	0.270 ± 0.027	0.278 ± 0.028	0.279 ± 0.028
杂环类 (2 种) 总含量				0.421 ± 0.02	0.156 ± 0.005	0.199 ± 0.01	0.270 ± 0.027	0.278 ± 0.028	0.33 ± 0.015

注：1：“-”表示未检出；“ND”表示未检测到文献中的RI值；“LRI”表示比对文献中化合物的相对保留指数。

试验结果表明,6个样品中挥发性物质的种类少,含量低。在S0、S1、S2、S3、S4、S5中分别检测到15、23、29、31、26、28种挥发性物质。与未酶解羊脂相比,酶解样品的挥发性物质种类增多。且随着脂解率的增加,挥发性物质种类增加,含量也相对较高。在脂解率为29.76%时,挥发性物质种类最高,含量也较高。这些物质的形成可能是由于酶解过程中磷脂及游离脂肪酸中氨基的释放,尽管其含量低,但有助于整体香气的行成^[15]。

醛类是羊脂中检测到的种类最多、含量最高的物质。醛类,尤其是不饱和醛是非常重要的前体物质,能够参与美拉德反应^[16]。未处理羊脂中醛类含量高但种类少,在酶解过程中,醛种类呈现先增加后减少的趋势,而含量呈现先降低后增加再降低的趋势,在S3中含量达到最高为 (1.868 ± 0.013) ng/g,此时S3的脂解率为29.76%。不饱和醛,如E-2,4-癸二烯醛在S3中含量最高 0.132 ± 0.013 ng/g,它能够进一步参与羊肉风味相关的吡啶、噻吩等物质的形成,在特征风味形成过程中发挥关键作用^[17]。

据研究,不饱和醇类,如1-辛烯-3-醇,1-戊烯-3-醇是煮牛肉所具有的风味物质^[18]。D.S. Mottram^[19]研究发现1-辛烯-3-醇是由花生四烯酸氧化产生,对肉味有重要贡献。而在此次酶解羊脂中却未检测到这两种醇,可能是酶解无法生成这两种醇,只能通过氧化来生成,这为本研究后续的温和氧化奠定基础。酯类是醇和羧酸经过酯化作用而生成的,具有水果香气、使人愉悦的脂肪族酯仅在S3中检测到。酮类物质来自于甘油三酯的热处理过程,有研究表明酮类可能具有新鲜的果味和黄油味,有增强肉味的作用^[20]。与不同酶解程度羊脂相比,S3的酮类含量最高 0.081 ± 0.003 ng/g,种类最多是四种。风味阈值较高的脂肪酸,如辛酸、癸酸可能作为前体物质,间接参与肉类风味的形成。这两种物质含量在S3、S4、S5中含量最高,在未酶解羊脂中未检测到,表明酶解在一定程度上可以增加肉类风味前体物质的形成。2-正戊基呋喃,具有青草味及豆腥味,在水中阈值较低^[21],其含量在S0中含量最高。检测到杂环类物质在S0中含量最高。

3 结论

本研究在单因素试验的基础上,使用Box-Benken响应面分析方法进行优化。在初始温度为50℃,pH为6.5时,优化的最佳酶解条件时底物质量分数达到60%、酶添加量140 U/g底物、时间为6 h,在此条件下羊脂的脂解率可达29.76%。通过对脂肪酶酶解羊脂挥发性风味物质的分析可知,在脂肪酶酶解

的最优条件下,脂解率为29.76%,此时挥发性物质含量最高,种类最丰富。且在此样品中,对香气贡献最大的醛类种类最多,总含量最高为 (1.868 ± 0.013) ng/g,因此选择脂解率为29.76%作为最佳酶解程度。

参考文献

- [1] 索效军,张年,李晓峰,等.羊肉风味物质及影响因素的研究进展[J].湖北农业科学,2012,51(23):5259-5263
SUO Xiao-jun, ZHANG Nian, LI Xiao-feng, et al. Research progress in mutton flavor substances and influencing factors [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2012, 51(23): 5259-5263
- [2] Pearson A M, Wenham L M, Carse W A. Observations on the contribution of fat and lean to the arom of cooked beef and lamb [J]. Animal Science, 1973, 36: 511-515
- [3] 何小燕,田洪磊,詹萍,等.鸡肉香精最适风味前体 PLSR 分析与研究[J].现代食品科技,2016,32(10):268-275
HE Xiao-yan, TIAN Hong-lei, ZHAN Ping, et al. Analysis and study of the desirable precursor of the chicken flavor based on PLSR [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(10): 268-275
- [4] 林庆斌,孙宝国,谢建春.以热反应制备羊肉香精为目的的羊脂控制氧化工艺研究[J].食品科学,2005,26(8):142-146
LIN Qing-bin, SUN Bao-guo, XIE Jian-chun. Study on the technology of suet oxidized in control for p reparation of muttoney flavor by the thermal reaction [J]. Food Sciences, 2005, 26(8): 142-146
- [5] 颜伟强,唐彬婧.脂肪降解及其产物在美拉德反应中应用的研究[J].食品科学,2006,3:272-274
YAN Wei-qiang, TANG Bing-jing. Study on application of fat by enzymatic degradation in maillard reaction [J]. Food Sciences, 2006, 3: 272-274
- [6] 唐琪,肖作兵,宋诗清,等.猪肉特征风味前体酶法制备工艺[J].中国食品学报,2016,16(6):112-121
TANG Qi, XIAO Zuo-bing, SONG Shi-qing, et al. The enzymatic preparation technology of characteristic flavor precursors of pork [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(6): 112-121
- [7] Vandendool H, Kratz P D. A Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 1963, 11(c): 463-471
- [8] Charoensiddhi S, Anprung P. Bioactive compounds and volatile compounds of Thai bael fruit (*Aegle marmelos* (L.) Correa) as a valuable source for functional food ingredients, Internat [J]. Food Res. J., 2008, 15(3): 287-295

- [9] Thakeow P, Angeli S, Weissbecker B, et al. Antennal and behavioral responses of *Cis boleti* to fun-gal odor of *Trametes gibbosa* Chem [J]. Senses, 2008, 33(4): 379-387
- [10] Isogai A, Utsunomiya H, Kanda R, et al. Changes in the aroma compounds of sake during Aging [J]. Agricultural Food Chem., 2005, 53, 10, 4118-4123
- [11] Kundakovic T, Fokialakis N, Kovacevic N, et al. Essential oil composition of *Achillea lingulata* and *A. umbellata* [J]. Flavour Fragr J, 2007, 22(3): 184-187
- [12] Adamiec J, Rossner J, Velise K J, et al. Minor Strecker degradation products of phenylalanine and phenylglycine [J]. Eur Food Res Technol., 2001, 212(2): 135-140
- [13] Cajka T, Riddellova K, Klimankova E, et al. Traceability of oliveoil based on volatiles pattern and multivariate analysis [J]. Food Chem, 2010, 121(1): 282-289
- [14] Narain N, Galvao M S, Madrugá M S. Volatile compounds captured through purge and trap technique in caja-umbu (*Spondias* sp.) fruits during maturation [J]. Food Chem, 2007, 102(3): 726-731
- [15] Ladikos D, Lougovois V. Lipid oxidation in muscle foods: A review [J]. Food Chemistry, 1990, 35: 295-324
- [16] Adams A, Kitryte V, Venskutonis R, et al. Formation and characterisation of melanoidin-like polycondensation products from amino acids and lipid oxidation products [J]. Food Chemistry, 2009, 115: 904-911
- [17] Rochat S, Chaintreau A. Carbonyl odorants contributing to the in-oven roast beef top note [J]. Jo-urnal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53: 9578-9585
- [18] Shahidi F, Rubin L J, D Souza L A. Meat flavor volatiles: A review of the composition, techniques of analysis, and sensory evaluation [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 1986,24 (2):141-243
- [19] Mottram D S. Flavour formation in meat and meat products: a review [J]. Food Chem,1998, 62: 415-424
- [20] Selke E, Rohwedder WK, Dutton HJ. Volatile components from tristearin heated in air [J]. J. Am.Oil Chem. Soc, 1975, 52 (7): 232-235
- [21] Buttery R G, Orts W J, Takeoka G R, et al. Volatile flavor components of rice cakes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47: 4353-4356

(上接第 256 页)

- [8] Guzzetti S, Calzari L, Buccarello L, et al. Taurine administration recovers motor and learning deficits in an angelman syndrome mouse model [J]. International Journal of Molecular Science, 2018, 19(4): 1088
- [9] Waldron M, Patterson S D, Tallent J, et al. The effects of oral Taurine on resting blood pressure in humans: a meta-analysis [J]. Current Hypertension Reports, 2018, 20(9): 81
- [10] 彭杰,林树梅,胡建民.牛磺酸对 STZ 诱导大鼠胰岛细胞外液中SOD,GSH-Px,MDA 及 T-AOC 含量的影响[J].中国畜牧兽医,2011,38(7):58-62
PENG Jie, LIN Shu-mei, HU Jian-min. The impact of taurine on SOD, GSH-PX, MAD and T-AOC in extracellular fluid of STZ-induced islet cell [J]. Journal of China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2011, 38(7): 58-62
- [11] GB 14880-2012,食品安全国家标准食品营养强化剂使用标准[S]
GB 14880-2012, National Food Safety Standard the Usage of Nutrition Enrichment [S]
- [12] Ricciutelli M, Caprioli G, Cortese M, et al. Simultaneous determination of taurine, glucuronolactone and glucuronic acid in energy drinks by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (triple quadrupole) [J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1364: 303-307
- [13] GB 10765-2010,食品安全国家标准婴儿配方食品[S]
GB 10765-2010, National Food Safety Standard Infants Formula [S]
- [14] GB 10767-2010,食品安全国家标准较大婴儿和幼儿配方食品[S]
GB 10767-2010, National Food Safety Standard Older Infants and Young Children Formula [S]
- [15] GB 29922-2013,食品安全国家标准特殊医学用途配方食品通则[S]
GB 29922-2013, National Food Safety Standard General Rules for Foods for Special Medical Purposes [S]