

肉制品中唾液酸含量和形态分析及在加工中的变化

郑婉婷, 何恩祺, 何荣鑫, 沈清武

(湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410128)

摘要: 本文主要运用了高效液相色谱法测量了我国牛肉、猪肉等常见肉类及常见熟食制品如火腿、香肠、卤牛肉、风干羊肉、香辣鸭脖中的两种唾液酸 N-羟乙酰神经氨酸(N-Glycolylneuraminic acid, Neu5Gc)、N-乙酰神经氨酸(N-Acetylneuraminic acid, Neu5Ac)的含量、存在形式以及不同加工方式对其含量及存在形式的影响。结果表明红肉中 Neu5Gc 含量: 牛肉 $46.57 \pm 2.53 \mu\text{g/g}$ > 猪肉 $28.69 \pm 1.03 \mu\text{g/g}$ > 羊肉 $29.09 \pm 2.32 \mu\text{g/g}$, 红肉中同时含有结合态 Neu5Gc 和游离态 Neu5Gc, 结合态 Neu5Gc 含量普遍高于游离态 Neu5Gc。红肉中 Neu5Ac 含量: 羊肉 $200.15 \pm 24.96 \mu\text{g/g}$ > 猪肉 $110.89 \pm 5.71 \mu\text{g/g}$ > 牛肉 $80.97 \pm 5.60 \mu\text{g/g}$ 。白肉中不含 Neu5Gc, 鸭肉的 Neu5Ac 含量最高, 为 $185.73 \pm 23.11 \mu\text{g/g}$ 。熟食肉制品中, 牛肉制品的 Neu5Gc 含量仍高于其他红肉熟食制品, 并在白肉熟食制品中检测出了 Neu5Gc 的存在。对红肉进行蒸煮、油炸及腌制处理后 Neu5Gc 和 Neu5Ac 含量都有所下降, 其中经过油炸处理的样品 Neu5Gc 和 Neu5Ac 含量下降最为明显, 其次是腌制、蒸煮。本文还研究了蒸煮时间对猪肉中唾液酸含量的影响, 即随着蒸煮时间的增加, Neu5Gc、Neu5Ac 含量变化的总体趋势减少, 蒸煮 45 min 后结合态唾液酸明显减少, 游离态增多。即红肉中特异性含有 Neu5Gc, 白肉类熟食制品中也可能含有 Neu5Gc, 通过加工可改变肉制品中唾液酸的含量和形式, 但是每种加工方式对于唾液酸含量及形式的改变不同。

关键词: N-羟乙酰神经氨酸; N-乙酰神经氨酸; 红肉; 白肉; 加工处理; 唾液酸

文章编号: 1673-9078(2020)10-100-107

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.10.0520

Analysis of Sialic Acid Content and Morphology in Meat Products and its Changes in Processing

ZHENG Wan-ting, HE En-qi, HE Rong-xin, SHEN Qing-wu

(College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: In this paper, high performance liquid chromatography (HPLC) method was used to measure the contents, existing forms and effects of different processing methods on the contents and existing forms of N-hydroxyacetylneuraminic acid (Neu5Gc) and N-acetylneuraminic acid (N-Gln) in Chinese beef, pork and other common cooked products, such as ham, sausage, brine beef, air dried mutton and spicy duck neck. The results showed that the content of Neu5Gc in red meat was $(46.57 \pm 2.53) \mu\text{g/g}$ > in beef $(28.69 \pm 1.03) \mu\text{g/g}$ > in mutton $(29.09 \pm 2.32) \mu\text{g/g}$. The content of Neu5Gc in red meat was higher than that in free Neu5Gc. Neu5Ac in red meat: mutton $(200.15 \pm 24.96) \mu\text{g/g}$ > pork $(110.89 \pm 5.71) \mu\text{g/g}$ > beef $(80.97 \pm 5.60) \mu\text{g/g}$. White meat did not contain Neu5Gc, while duck meat had the highest Neu5Ac content $(185.73 \pm 23.11) \mu\text{g/g}$. In cooked meat products, the content of Neu5Gc in beef products was still higher than that in other cooked red meat products, and the presence of Neu5Gc was detected in cooked white meat products. After cooking, frying and curing red meat, the content of Neu5Gc and Neu5Ac decreased, among which the content of fried sample Neu5Gc and Neu5Ac decreased most obviously, followed by the content of pickled and cooking. This paper also studied the influence of cooking time on the sialic acid content in pork, that is to say, with the increase of cooking time, the overall trend of the Neu5Gc and Neu5Ac content changes decreased, the combined sialic acid decreased

引文格式:

郑婉婷, 何恩祺, 何荣鑫, 等. 肉制品中唾液酸含量和形态分析及在加工中的变化[J]. 现代食品科技, 2020, 36(10): 100-107

ZHENG Wan-ting, HE En-qi, HE Rong-xin, et al. Analysis of sialic acid content and morphology in meat products and its changes in processing [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(10): 100-107

收稿日期: 2020-06-04

基金项目: 国家自然科学基金项目 (5026301-0517018)

作者简介: 郑婉婷 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 沈清武 (1973-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 肉品研究

significantly and the free state increased after cooking 45 minutes. In other words, red meat specifically contains Neu5Gc, and white meat deli products may also contain Neu5Gc. The content and form of sialic acid in meat products can be changed through processing, but each processing method has different changes in the content and form of sialic acid.

Key words: N-glycolylneuraminic acid; N-acetylneuraminic acid; red meat; white meat; processing; sialic acid

唾液酸(Sia)大量存在于人类和各种脊柱动物体内,也存在于个别无脊柱动物和真菌、细菌中^[1-4],其中 Neu5Gc (N-glycolylneuraminic acid, N-羟乙酰神经氨酸)、Neu5Ac (N-acetylneuraminic acid, N-乙酰神经氨酸)是唾液酸中最为重要的两种。Neu5Ac 是动物体内唾液酸的主要存在形式,是人体内源性唾液酸,参与神经的发育,促进认知能力和表现能力的发展,是人体中的有益唾液酸。而 Neu5Gc 属于外源性非人唾液酸,其促使人体长期处于低度炎症的状态^[5],影响人体健康。目前动物体内唯一已知的 Neu5Gc 合成途径是由 CMP-Neu5Ac 羟化酶 CMAH 对 Neu5Ac 进行加羟基修饰,使 Neu5Ac 转化为 Neu5Gc,其中的 CMAH 是动物体内能完成该转化的唯一酶^[6-8]。由于人类进化过程中,CMAH 基因外显子发生缺失突变,导致健康人体内无法正常合成 Neu5Gc^[9-11],所以当 Neu5Gc 进入人体时,会被当做特异性抗原与人体内产生的 Neu5Ac 抗体反应^[12],刺激炎症的发生,长此以往会加大人类患心血管疾病及癌症的风险^[13,14]。Neu5Gc 存在形式的不同也会影响人体对 Neu5Gc 的消化吸收,Varki 等证明游离态的 Neu5Gc 会随人类尿液排出体外,结合态 Neu5Gc 则会被人体消化系统解离后通过细胞迁移进入血细胞,后通过血细胞蓄积在人体肾脏、小肠等组织器官中^[11,15],对人体产生危害。

研究表明,外源性食品的摄入是人体内 Neu5Gc 的主要来源。Varki 实验室研究证明,日粮中添加的 Neu5Gc 可以整合到小鼠体内,并可促进肝癌的发生和 B16 黑色素瘤细胞的生长^[13,16-18]。大量流行病学数据显示,红肉的过多摄入与癌症的发生密切相关^[19,20],红肉及其加工制品中的 Neu5Gc 含量直接决定着进入人体胃肠道可被消化吸收的 Neu5Gc 含量^[21]。同时有研究证明,Neu5Gc 和 Neu5Ac 之间存在竞争性抑制,即 Neu5Ac 摄入量越大、Neu5Gc 在人体内的存在时间越短,对人体健康影响越小^[22]。同时,Neu5Gc 与 Neu5Ac 之间已被证明存在代谢竞争关系,即 Neu5Ac 会阻止 Neu5Gc 在溶酶体上的循环以及在糖基生物合成过程中的再利用,从而使 Neu5Gc 在人体细胞中被淘汰^[23]。目前,对于肉制品中 Neu5Gc 与 Neu5Ac 含量的检测文章较多,但是未见关于不同加工方式对 Neu5Gc 与 Neu5Ac 存在形式及含量影响的研究,同时鲜少有关于中国常用的烹饪方式对唾液酸的影响的研

究。因此,本文对我国不同新鲜肉制品、常见熟食肉制品中 Neu5Gc 与 Neu5Ac 的存在形式及含量进行了广泛和系统的分析,并研究了腌制、蒸煮、油炸三种加工方式对红肉中 Neu5Gc 与 Neu5Ac 的存在形式及含量的影响,为人们健康饮食提供科学指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜猪肉、猪肉、鸡肉、鸭肉湖南农业大学东之源超市;新鲜羊肉内蒙古包头迎宾菜市场;唐人神美味腊肠、唐人神水晶香肠湖南唐人神肉制品有限公司;金子飘香火腿块金华金字火腿有限公司;猪肉脯江苏双鱼食品有限公司;卤汁牛肉内蒙古蒙都羊业股份有限公司;风干羊肉内蒙古食乐康食品有限公司;盐焗鸡腿无穷食品有限公司;酱鸭脖湖南长沙口口香实业有限公司;山茶籽调和油湖南省长康实业有限公司;氢氧化钠(分析纯)、盐酸(分析纯)、乙酸(分析纯)、连二亚硫酸钠(分析纯)、三氟乙酸(化学纯)国药集团化学试剂有限公司; β -巯基乙醇(生化试剂)Biosharp; Neu5Gc ($\geq 95\%$)、Neu5Ac ($\geq 98\%$)、1,2-二氨基-4,5-亚甲基二氧苯盐酸盐 Sigma-Aldrich。

1.2 仪器与设备

FiveEasy Plus FE20K pH 计,梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司;H2050R 高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;LC-20A 荧光高效液相色谱仪,岛津企业管理(中国)有限公司;T 10 basic S25 匀浆机,艾卡(广州)仪器设备有限公司;GZX-9246MBE 电热鼓风干燥箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;SHZ-D(III)循环水式多用真空泵,巩义市予华仪器有限责任公司;DGG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海森信实验仪器有限公司;SC-15 数控超级恒温槽,宁波新芝生物科技股份有限公司;HH-S 数显恒温油浴锅,江苏科析仪器有限公司;FP3010 食物调理机,德国博朗公司。

1.3 试验方法

1.3.1 不同加工方式处理食物样品

将猪肉、牛肉、羊肉分别切成 1 cm^3 的小块,每

份 17 g。

蒸煮: 将猪肉于沸水浴分别加热 10、20、30、45、60 min; 将羊肉与牛肉分别放入蒸煮袋中于沸水浴加热 30 min。

油炸: 将 200 mL 植物油倒入锅中, 油温到达 150 °C 后, 将肉样放入锅中油炸 4 min 至表面金黄, 不停翻转, 使肉样受热均匀。

腌制: 将 75 g 食盐, 0.05 g 亚硝酸钠, 0.75 g 异抗坏血酸钠溶于蒸馏水中配成 500 g 腌制液。将肉样平铺于烧杯底, 倒入腌制液, 使腌制液面没过肉样, 于 4 °C 腌制 6 h, 弃去腌制液。

每种处理方法平行三次。处理后的肉样分别置于液氮中研磨至粉末, 用于游离态或结合态 Neu5Gc 与 Neu5Ac 含量测定。

1.3.2 食物样品中不同形式的 Neu5Gc、Neu5Ac 的提取^[24]

取 5~10 g 食物样品, 液氮中研磨, 研磨后的样品用于唾液酸的提取和测定。

称取 0.1 g 样品, 加入 0.9 mL 的 0.1 mol/L 氢氧化钠。样品匀浆后, 37 °C 孵育 30 min, 然后用 2 M 盐酸中和 pH 至 7。吸取 0.3 mL 中和后的匀浆, 加入 4 M 乙酸 0.3 mL 于 80 °C 反应 3 h, 冷却至室温, 14000 g 离心 10 min, 上清液 0.22 μm 滤膜过滤, 滤液以备衍生用, 此为总唾液酸的提取; 吸取 0.2 mL 中和后的匀浆, 加入 4 M 乙酸 0.2 mL, 14000 g 离心 10 min, 上清液 0.22 μm 过滤膜过滤, 滤液以备衍生用, 此为游离态唾液酸的提取。结合态 Neu5Gc 含量即为总 Neu5Gc 含量减去游离态 Neu5Gc 含量。

1.3.3 高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 对 Neu5Gc 与 Neu5Ac 定量分析^[24]

总唾液酸的衍生: 将样品与 1,2-二氨基-4,5-亚甲基二氧苯 (1,2-diamino-4,5-methylenedioxybenzene, DMB) 混合进行衍生, 其中 DMB 14 mmol/L, 连二亚硫酸钠 18 mmol/L, β-巯基乙醇 0.75 mol/L, 冰醋酸 1.6 mol/L, 于 50 °C 避光衍生 2.5 h。

游离态唾液酸的衍生: 将样品与 DMB 试剂混合进行衍生, 其中 DMB 14 mmol/L, 连二亚硫酸钠 18 mmol/L, β-巯基乙醇 1 mol/L, 三氟乙酸 40 mmol/L, 于 4 °C 避光衍生 48 h。

检测条件: 色谱柱为 Waters Symmetry C18 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱温 30 °C。荧光检测器激发波长 373 nm, 发射波长 448 nm。流动相为甲醇-乙腈-超纯水 7:5:88 (V/V/V), 流速为 0.9 mL/min, 进样体积 20 μL。

通过比较标准品溶液及样品中游离态或结合态 Neu5Gc 与 Neu5Ac 的保留时间进行定性, 根据测定待测组分的峰面积, 用标准品溶液所得色谱峰响应值绘制而成标准曲线, 利用外标法计算食物样品中游离态或结合态 Neu5Gc 与 Neu5Ac 的含量。

1.4 肉样中 Neu5Gc 和 Neu5Ac 解离率的测定

经过不同方式处理后红肉样品中 Neu5Gc、Neu5Ac 解离率按照下式进行计算:

$$\text{解离率}/\% = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \times 100\%$$

式中 C_1 为空白对照中 Neu5Gc 和 Neu5Ac 的含量; C_2 为经过不同加工方式加工后 Neu5Gc 和 Neu5Ac 的含量。

1.5 数据分析

采用 Excel 2010 和 SPSS 25.0 软件对样品中 Neu5Gc 和 Neu5Ac 含量及存在形式进行相关性分析 (检验水准 $\alpha=0.05$)。采用 GraphPad Prism 8.0 作图。

2 结果与讨论

2.1 常见肉品样品中 Neu5Gc、Neu5Ac 含量及

存在形式分析

2.1.1 新鲜肉品中 Neu5Gc、Neu5Ac 含量及存在形式分析

表 1 常见肉制品中游离态或结合态 Neu5Gc 含量和 Neu5Ac 含量

Table 1 Neu5Gc and Neu5Ac contents in free or combined states in common meat products

样品/(μg/g)	游离态 Neu5Gc	结合态 Neu5Gc	总 Neu5Gc	游离态 Neu5Ac	结合态 Neu5Ac	总 Neu5Ac
猪肉	3.22±0.05 ^c	25.47±1.01 ^b	28.69±1.03 ^b	32.67±0.72 ^b	78.22±5.02 ^b	110.89±5.71 ^b
牛肉	9.55±0.81 ^a	37.01±2.82 ^a	46.57±2.53 ^a	29.26±0.15 ^c	51.70±5.53 ^b	80.97±5.60 ^b
羊肉	6.28±0.93 ^b	22.81±1.45 ^b	29.09±2.32 ^b	53.00±0.22 ^a	147.15±24.76 ^a	200.15±24.96 ^a
鸭脖	0	0	0	93.90±1.41	91.83±21.72	185.73±23.11
鸡腿	0	0	0	21.57±0.51	89.33±11.62	110.90±12.09

注: 表中数据为平均数±标准误, n=3; 同列不同小写字母表示不同红肉之间在 0.05 水平存在显著差异。

由表 1 展示了一些常见新鲜肉样中游离态或结合态 Neu5Gc 含量和 Neu5Ac 含量。白肉类食品鸭肉、鸡肉中不存在 Neu5Gc，但存在游离态和结合态的 Neu5Ac，其中鸭脖的 Neu5Ac 含量较高，达 185.73 $\mu\text{g/g}$ 。红肉类食品中 Neu5Gc 含量从高到低依次是牛肉、猪肉、羊肉，且结合态 Neu5Gc 含量远大于游离态 Neu5Gc 含量，牛肉中 Neu5Gc 含量高达 46.57 $\mu\text{g/g}$ ，猪肉中 Neu5Gc 含量为 28.69 $\mu\text{g/g}$ 。Chen 等人^[25]用液

质联用方法检测出牛肉中 Neu5Gc 含量为 30.3 $\mu\text{g/g}$ ，猪肉中 Neu5Gc 含量为 5.6 $\mu\text{g/g}$ ，同时 Varki 等人^[26]检测出牛肉中 Neu5Gc 含量为 30.1 $\mu\text{g/g}$ ，猪肉中 Neu5Gc 含量为 25.5 $\mu\text{g/g}$ 。故可推测摄入相同重量（干重）的牛肉、羊肉、猪肉时，牛肉将会在人体内蓄积更多的 Neu5Gc。

2.1.2 熟食肉制品中 Neu5Gc、Neu5Ac 含量及存在形式分析

表 2 熟食肉制品中游离态或结合态 Neu5Gc 含量和 Neu5Ac 含量

Table 2 Neu5Gc and Neu5Ac contents in free or combined states in deli meat products

样品/($\mu\text{g/g}$)	游离态 Neu5Gc	结合态 Neu5Gc	总 Neu5Gc	游离态 Neu5Ac	结合态 Neu5Ac	总 Neu5Ac
香肠	5.15 $\pm$ 0.76 ^b	16.25 $\pm$ 1.38 ^b	21.40 $\pm$ 1.57 ^{ab}	31.92 $\pm$ 7.83 ^{bc}	77.49 $\pm$ 11.57 ^{bc}	109.41 $\pm$ 5.31 ^c
腊肉	6.80 $\pm$ 1.10 ^b	18.72 $\pm$ 2.50 ^{ab}	25.52 $\pm$ 2.83 ^a	60.56 $\pm$ 7.58 ^{ab}	94.04 $\pm$ 8.44 ^b	154.60 $\pm$ 8.42 ^{ab}
火腿	14.38 $\pm$ 3.99 ^a	16.29 $\pm$ 3.62 ^b	30.67 $\pm$ 5.13 ^a	86.58 $\pm$ 16.28 ^a	61.93 $\pm$ 3.48 ^c	148.52 $\pm$ 12.80 ^b
猪肉脯	1.32 $\pm$ 0.21 ^b	11.38 $\pm$ 1.48 ^b	12.70 $\pm$ 1.58 ^b	8.11 $\pm$ 0.72 ^d	175.87 $\pm$ 12.53 ^a	183.97 $\pm$ 13.24 ^a
卤牛肉	9.44 $\pm$ 0.75	53.33 $\pm$ 4.02 [*]	62.77 $\pm$ 4.70 [*]	21.06 $\pm$ 2.04 [*]	104.31 $\pm$ 6.02 [*]	125.37 $\pm$ 5.75 [*]
风干羊肉	2.44 $\pm$ 0.30 [*]	15.88 $\pm$ 3.76	18.32 $\pm$ 4.05	11.76 $\pm$ 0.40 [*]	105.46 $\pm$ 12.55	117.21 $\pm$ 12.91 [*]
口口香鸭脖	2.48 $\pm$ 0.96 [*]	1.65 $\pm$ 0.83	4.14 $\pm$ 1.20 [*]	41.64 $\pm$ 2.47 [*]	324.10 $\pm$ 58.07 [*]	365.74 $\pm$ 55.60 [*]
盐焗鸡腿	0	1.66 $\pm$ 0.12 [*]	1.66 $\pm$ 0.12 [*]	24.98 $\pm$ 1.25	138.33 $\pm$ 11.71 [*]	163.32 $\pm$ 10.89 [*]

注：表中数据为平均数 $\pm$ 标准误，n=3；同列不同小写字母表示不同猪肉及其制品之间在 0.05 水平存在显著差异；*表示同种类肉样同一指标之间在 0.05 水平存在显著差异。

表 2 展示了国内超市常见的熟食肉制品中的唾液酸含量。与红肉新鲜样品结果类似，红肉熟食制品中既存在游离态的 Neu5Gc 和 Neu5Ac，也存在结合态的 Neu5Gc 和 Neu5Ac。但是口口香鸭脖、盐焗鸡腿也检测出了 Neu5Gc 的存在。该结果与鸭肉、鸡肉、蔬菜新鲜样品中不含任何形态的 Neu5Gc 的结果不符。可能是在熟食制品加工过程中，掺杂了含有 Neu5Gc 的物质。

从表中数据可以看出红肉熟食制品中，牛肉熟食制品卤牛肉的总的 Neu5Gc 含量仍远高于其他两种红肉熟食制品，为 62.77 $\mu\text{g/g}$ ，其中结合态 Neu5Gc 也高达 53.33 $\mu\text{g/g}$ ，约占总 Neu5Gc 含量的 85%。几种猪肉熟食制品中，火腿中的总 Neu5Gc 含量为 30.67 $\mu\text{g/g}$ ，其中结合态占比 53.11%，由于游离态 Neu5Gc 对人体危害小，主要是结合态 Neu5Gc 在体内沉积和危害人体健康^[15]，此结果说明对于肉制品加工，发酵也许是一种健康的加工方式，能提高肉质品的 Neu5Gc 安全性，发酵对红肉中 Neu5Gc 的影响需要进一步研究。猪肉脯虽然总 Neu5Gc 含量最少，仅为 12.70 $\mu\text{g/g}$ ，但其中结合态 Neu5Gc 占比近 90%。白肉熟食制品中虽检测出含有结合态 Neu5Gc，但含量较少。

除火腿外其余肉制品 Neu5Ac 大多以结合态的形式存在，其中口口香鸭脖中 Neu5Ac 含量最高，达到 365.74 $\mu\text{g/g}$ ，结合态 Neu5Ac 占比 88.61%，香肠中

Neu5Gc 含量相对较少。可以看出，口口香鸭脖、盐焗鸡腿等非红肉类熟食制品与羊肉、牛肉、猪肉类熟食肉制品相比，Neu5Ac 含量较高。

2.2 加工对红肉中 Neu5Gc 含量及存在形式的影响

2.2.1 加工时间对红肉中唾液酸含量及存在形式的影响

由于我国是猪肉消费和生产大国，猪肉制品占市场份额首位，超 60%。故本实验重点研究了加工对猪肉中 Neu5Gc 和 Neu5Ac 的影响。

图 1 可以看出随着蒸煮时间的增加，猪肉中的唾液酸的变化趋势是减少的，另外，游离态的唾液酸含量增多，而结合态唾液酸含量逐渐减少。由此推测，结合态的 Neu5Gc 或 Neu5Ac 中的一部分由于末端糖基解离而变为了游离态，而另外一部分则可能降解为了其他物质。

由图 1a 可以看出，0~30 min 的蒸煮时间对于猪肉中结合态及游离态的 Neu5Gc 含量没有显著性影响。45 min 后，结合态 Neu5Gc 含量明显减少，而游离态 Neu5Gc 含量明显增多，即蒸煮 45 min 时，结合态 Neu5Gc 开始大量解离成游离态。Neu5Gc 变化情况为：0 min 时，游离态含量为 3.22 $\mu\text{g/g}$ ，结合态含量

为 25.47 $\mu\text{g/g}$; 60min 时, 游离态含量为 4.18 $\mu\text{g/g}$, 结合态含量为 19.01 $\mu\text{g/g}$, 结合态解离率为 74.6%。Neu5Ac 变化情况为: 0 min 时, 游离态含量为 32.67 $\mu\text{g/g}$, 结合态含量为 78.22 $\mu\text{g/g}$; 60 min 时, 游离态含量为 40.65 $\mu\text{g/g}$, 结合态含量为 44.14 $\mu\text{g/g}$ 。

由图 1b 可以看出, 同样是在 45 min 时游离态 Neu5Ac 和结合态 Neu5Ac 含量发生明显变化, 游离态 Neu5Ac 含量开始高于结合态 Neu5Ac 含量。

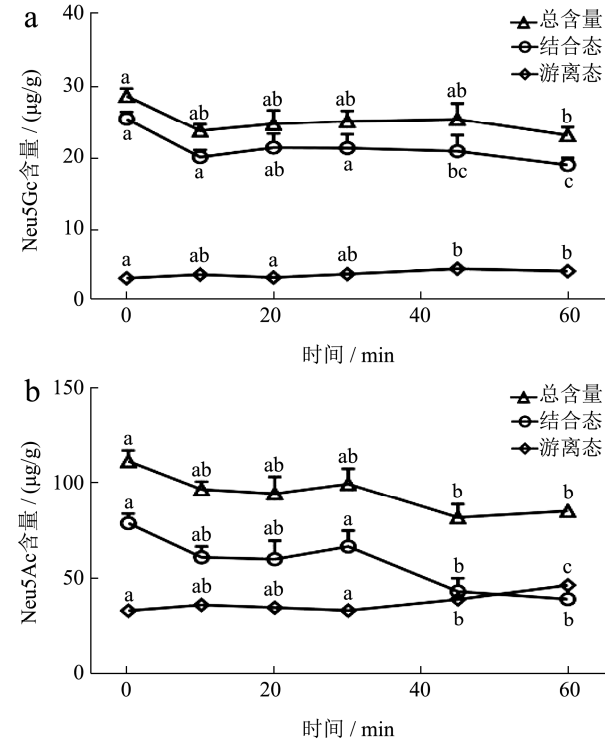


图 1 蒸煮时间对猪肉中游离态或结合态 Neu5Gc 含量 (a)、Neu5Ac 含量 (b) 的影响

Fig.1 Effect of cooking time on free or bound Neu5Gc (a) and Neu5Ac (b) content in pork

注: 图中数据表示为平均数 $\pm$ 标准误, $p < 0.05$, 同指标不同小写字母表示不同加热处理时间在 0.05 水平存在显著差异, $n=3$ 。

梁美莲等^[8]研究了蒸煮时间对牛肉汤中 Neu5Gc 含量的影响, 蒸煮 10 min 中后肉中 Neu5Gc 解离, 肉汤中的 Neu5Gc 含量迅速增加, 60 min 后增速减缓, 故其建议不要食用经过长时间蒸煮的肉汤。为了在加工过程中能除去一部分结合态的 Neu5Gc, 保证结合态的 Neu5Ac 损失较小, 并且考虑到蒸煮时间过长将会减少肉中风味物质及其他营养成分, 建议蒸煮新鲜猪肉的时间为 45 min。

2.2.2 加工方式对红肉中唾液酸含量及存在形式的影响

2.2.2.1 加工方式对猪肉中唾液酸含量及存在形式的影响

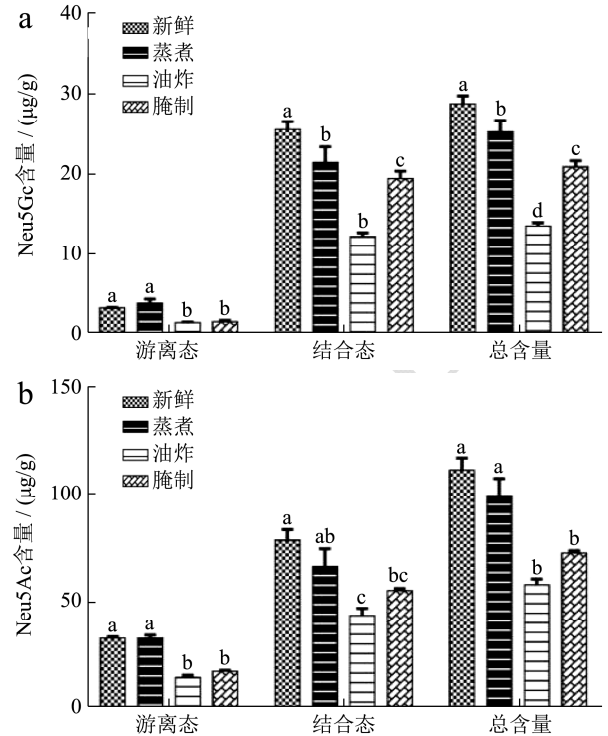


图 2 加工方式对猪肉中 Neu5Gc (a)、Neu5Ac (b) 含量及存在形式的影响

Fig.2 Effects of processing methods on the content and existing form of Neu5Gc (a) and Neu5Ac (b) in pork

注: 图中数据表示为平均数 $\pm$ 标准误, $p < 0.05$, $n=3$ 。其中标明的小写字母表示同一组内不同处理方式之间存在显著差异 ($p < 0.05$), 下同。

由图 2a 可知, 经过煮沸、油炸、腌制处理后, 猪肉中 Neu5Gc 含量有所下降, 其中油炸对于降低 Neu5Gc 含量有显著影响, Neu5Gc 解离率达到 53.10%, 推测因为油炸温度较高, 其释放的热能可以攻击链接唾液酸的糖苷键, 使唾液酸解离。其中煮沸后游离态 Neu5Gc 含量较新鲜猪肉有所上升, 而 Neu5Gc 总量减少, 即煮沸可有效将结合态 Neu5Gc 解离成游离态。

由图 2b 可知, 油炸和腌制降低了 Neu5Ac 的含量, 油炸后 Neu5Ac 解离率为 48.13%。但煮沸处理后 Neu5Ac 含量降低不明显。

2.2.2.2 加工方式对牛肉中唾液酸含量及存在形式的影响

由图 3 可知, 油炸和腌制对于 Neu5Gc 和 Neu5Ac 含量有显著性影响, 但水煮对于牛肉中唾液酸含量几乎无影响, 即与猪肉和羊肉相比, 牛肉的肌原纤维更为粗大, 牛肉中的 Neu5Gc 更难通过煮沸解离^[27], 在与猪肉、羊肉相同的煮沸时间、煮沸温度条件下, 牛肉更难煮熟, 其中结合态唾液酸更难解离。煮沸的时长对猪肉中 Neu5Gc 含量的影响趋势与蒋芸等^[27]研究

结果一致。

油炸处理后的牛肉中游离态 Neu5Gc 含量为 2.48 $\mu\text{g/g}$, 结合态 Neu5Gc 含量为 19.14 $\mu\text{g/g}$, 总 Neu5Gc 含量为 21.63 $\mu\text{g/g}$ 解离率达到 53.56%, 可见油炸处理可以明显降低牛肉中 Neu5Gc 含量, 同时腌制加工后的牛肉中 Neu5Gc 含量也有显著下降, 解离率为 34.43%。

从图 3b 可以看出, 与猪肉、羊肉不同, 经过蒸煮的牛肉中游离态 Neu5Ac 含量较新鲜牛肉来说是减少的, 而结合态 Neu5Ac 略有增加。

梁美莲等人^[8]研究了油炸温度对牛肉中 Neu5Gc 含量的影响, 前期由于牛肉中水分减少, Neu5Gc 含量随着温度升高而增高, 而温度达到 150 $^{\circ}\text{C}$ 时, 牛肉中 Neu5Gc 含量开始减少, 其建议油炸牛肉时将温度控制在 150 $^{\circ}\text{C}$ 左右。

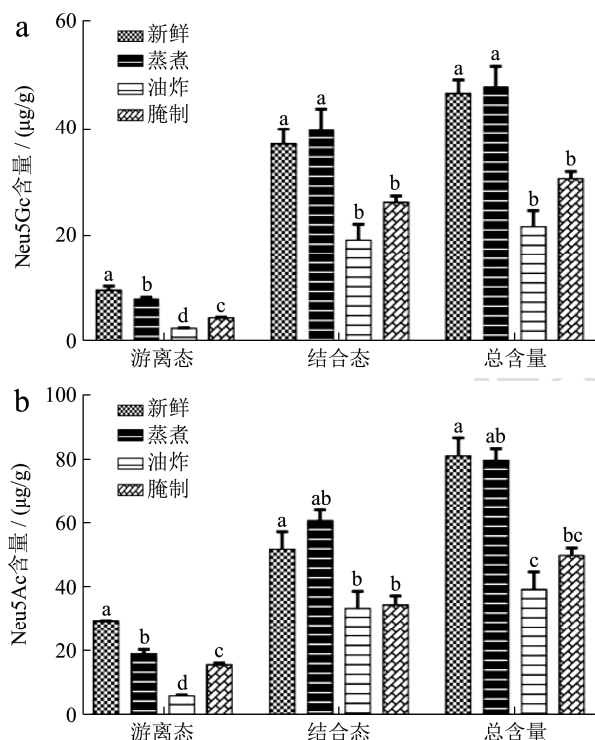


图 3 加工方式对牛肉中 Neu5Gc (a)、Neu5Ac (b) 含量及存在形式的影响

Fig.3 Effects of processing methods on the content and existing form of Neu5Gc (a) and Neu5Ac (b) in beef

2.2.2.3 加工方式对羊肉中唾液酸含量及存在形式的影响

由图 4 可以看出, 经过蒸煮、油炸、腌制处理后, 羊肉中 Neu5Gc 及 Neu5Ac 含量均有所下降。其中, 油炸和腌制对于 Neu5Gc 和 Neu5Ac 含量有显著性影响。油炸处理后的羊肉中游离态 Neu5Gc 含量为 1.84 $\mu\text{g/g}$, 结合态 Neu5Gc 含量为 11.76 $\mu\text{g/g}$, 总 Neu5Gc 含量为 13.60 $\mu\text{g/g}$, Neu5Gc 解离率达到了 53.25%, 其

次是腌制, 解离率为 33.73%。

由图 4b 可知, 蒸煮对于羊肉中 Neu5Ac 的影响较猪肉、牛肉更为明显, 蒸煮后羊肉中 Neu5Ac 解离率为 54.38%, 而蒸煮后猪肉 Neu5Ac 解离率仅为 10.79%。

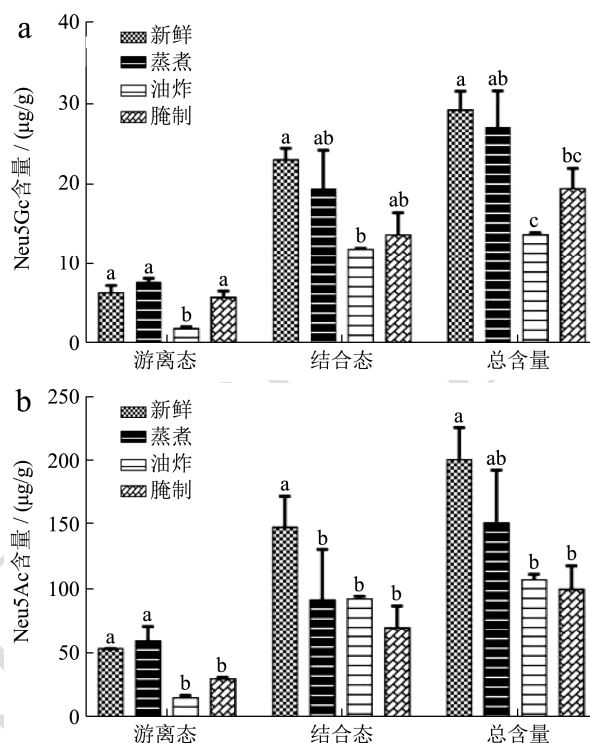


图 4 加工方式对羊肉中 Neu5Gc (a)、Neu5Ac (b) 含量及存在形式的影响(干重)

Fig.4 Effects of processing methods on the content and existing form of Neu5Gc (a) and Neu5Ac (b) in lamb (dry weight)

3 结论

3.1 本实验研究了国内常见肉类以及常见熟食肉制品中唾液酸的存在形式及含量, 常见肉品中红肉 Neu5Gc 含量最高, 三种红肉中牛肉 Neu5Gc 含量最高, 羊肉的 Neu5Ac 含量最高。猪肉类熟食肉制品中火腿 Neu5Gc 含量较高, 猪肉脯中 Neu5Gc 含量虽然最低, 但存在形式几乎都为结合态。同时, 在白肉新鲜样品中未发现 Neu5Gc 的存在, 但在白肉熟食制品中发现了 Neu5Gc 的存在。三种不同的加工方式中, 油炸较其他方式能显著降低唾液酸含量, 从而降低结合态 Neu5Gc 含量, 蒸煮对牛肉中结合态 Neu5Gc 的解离效果不明显。即加工可降低肉中 Neu5Gc 含量。

3.2 在加工方式对 Neu5Gc 的影响方面, 未来还需进一步讨论其他加工方式(烧烤、发酵、风干等)对红肉中唾液酸含量及存在形式的影响, 以及各种加工方式的温度、时间等参数对其唾液酸的影响, 进一步为人类健康饮食提供科学指导。

参考文献

- [1] Klein A, Diaz S, Ferreira I, et al. New sialic acids from biological sources identified by a comprehensive and sensitive approach: liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry (LC-ESI-MS) of SIA quinoxalinones [J]. *Molecular Breeding*, 1997, 30(4): 1767-1779
- [2] Soares R M D A, Alviano D S, Angluster J, et al. Identification of sialic acids on the cell surface of *Candida albicans* [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2000, 1474(2): 262-268
- [3] 陶素媛,丛培旭,徐杰,等.马粪海胆单唾液酸神经节苷脂的结构鉴定[J].*中国海洋大学学报(自然科学版)*,2016,46(2): 61-68
TAO Su-yuan, CONG Pei-xu, XU Jie, et al. Structure analysis of monosialoganglioside from the sea urchin *hemacentrotus pulcherrimus* [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2016, 46(2): 61-68
- [4] 张启伟,郑琦.基于色谱法与质谱法分析唾液酸的衍生方法的研究进展[J].*色谱*,2019,37(12):1261-1267
ZHANG Qi-wei, ZHENG Qi. Advances in derivatization for the analysis of sialic acids by chromatography and/or mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2019, 37(12): 1261-1267
- [5] 王毛毛.动物性食品中唾液酸测定及唾液酸复合物高通量提取方法研究[D].南京:南京农业大学,2015
WANG Mao-mao. Establishment and optimization of method for sialic acid detection from animal-originated foods and the high-throughput method for sialylatedconjunction extraction [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015
- [6] Bergfeld A K, Samraj A N, Varki A. Metabolism of N-glycolylneuraminic acid in human and nonhuman cells and potential relationships to human disease [J]. *Glycoscience: Biology and Medicine*, 2014, 20: 1311-1318
- [7] Perota A, Galli C. N-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc) null large animals by targeting the CMP-Neu5Gc hydroxylase (CMAH) [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1-8
- [8] 梁美莲,朱秋劲,刘春丽,等.不同加工处理方式对牛肉中 Neu5Gc 解离的影响[J].*食品科学*,2018,39(10):28-34
LIANG Mei-lian, ZHU Qiu-jin, LIU Chun-li, et al. Dissociation effect of different treatments on N-glycolylneuraminic acid in beef [J]. *Food Science*, 2018, 39(10): 28-34
- [9] Hayakawa, T. Fixation of the human-specific CMP-N-acetylneuraminic acid hydroxylase pseudogene and implications of haplotype diversity for human evolution [J]. *Genetics*, 2005, 172(2): 1139-1146
- [10] Hedlund M, Tangvoranuntakul P, Takematsu H, et al. N-glycolylneuraminic acid deficiency in mice: Implications for human biology and evolution [J]. *Molecular & Cellular Biology*, 2007, 27(12): 4340-4346
- [11] Varki A. Loss of N-glycolylneuraminic acid in humans: mechanisms, consequences, and implications for hominid evolution [J]. *Am J Phys Anthropol*, 2001, Suppl 33: 54-69
- [12] Peri S, Kulkarni A, Feyertag F, et al. Phylogenetic distribution of CMP-Neu5Ac hydroxylase (CMAH), the enzyme synthesizing the proinflammatory human xenoantigen Neu5Gc [J]. *Genome Biology & Evolution*, 2017, 10(1): 207-219
- [13] Tangvoranuntakul P, Gagneux P, Diaz S, et al. Human uptake and incorporation of an immunogenic nonhuman dietary sialic acid [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(21): 12045-12050
- [14] ZHANG Qi, ZHU Bo, LI Yong-sheng. Resolution of cancer-promoting inflammation: a new approach for anticancer therapy [J]. *Frontiers in Immunology*, 2017, 71(8): 1-11
- [15] Kalyan B, J G C, Renee C, et al. Metabolism of vertebrate amino sugars with N-glycolyl groups: mechanisms underlying gastrointestinal incorporation of the non-human sialic acid Xeno-autoantigen, N-glycolylneuraminic acid [J]. *JBC Papers in Press*, 2012, 287(34): 28852-28864
- [16] N S A, T P O M, Heinz L, et al. A red meat-derived glycan promotes inflammation and cancer progression [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(2): 542-547
- [17] Hedlund M, Padler-karavani V, Varki N M, et al. Evidence for a human-specific mechanism for diet and antibody-mediated inflammation in carcinoma progression [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(48): 18936-18941
- [18] Pearce O M T, Laubli H, Verhagen A, et al. Inverse hormesis of cancer growth mediated by narrow ranges of tumor-directed antibodies [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(16): 5998-6003
- [19] Silva, Abreu E O D. Higher red meat intake may be a marker of risk, not a risk factor itself [J]. *Archives of Internal*

- Medicine, 2009, 169(16): 1538
- [20] 范杏丹,李红卫.红肉、N-羟乙酰神经氨酸与癌症关系的研究进展[J].食品科学,2014,35(15):326-329
- FAN Xing-dan, LI Hong-wei. The relationship between red meat, N-Glydroxyacetylneuraminic acid and cancer [J]. Food Science, 2014, 35(15): 326-329
- [21] Fernandez-marrero Y, Hernandez T, Roque-navarro L, et al. Switching on cytotoxicity by a single mutation at the heavy chain variable region of an anti-ganglioside antibody [J]. Molecular Immunology, 2011, 48(8): 1059-1067
- [22] 王文娇.氘代化合物 X-Gal-Neu5GcD 的合成纯化及在红肉 N-羟乙酰神经氨酸(Neu5Gc)检测中的应用研究[D].南京:南京农业大学,2017
- WANG Wen-jiao. The synthesis and purification of deuterium labeled X-Gal-Neu5GcD and the application of neusgc detection in red meat [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017
- [23] Alisson-silva F, Kawanishi K, Varki A. Human risk of diseases associated with red meat intake: analysis of current theories and proposed role for metabolic incorporation of a non-human sialic acid [J]. Molecular Aspects of Medicine, 2016, 51: 16-30
- [24] Samraj A N, Pearce O M, L Ubli h, et al. A red meat-derived glycan promotes inflammation and cancer progression [J]. Pnas Early Edition, 2015, 112(2): 542-7
- [25] CHEN Yue, PAN Li-li, LIU Ni, et al. LC-MS/MS quantification of N-acetylneuraminic acid, N-glycolylneuraminic acid and ketodeoxynonulosonic acid levels in the urine and potential relationship with dietary sialic acid intake and disease in 3- to 5-year-old children [J]. The British Journal of Nutrition, 2014, 111(2): 332-341
- [26] Varki A. Sialic acids in human health and disease [J]. Trends in Molecular Medicine, 2008, 14(8): 351-60
- [27] 蒋芸,付浩,冯昌雨,等.不同处理方式对红肉中 N-羟乙酰神经氨酸解离的影响[J].肉类研究,2015,29(12):52-57
- JIANG Yun, FU Hao, FENG Chang-yu, et al. Effects of different treatments on N-glycolylneuraminic acid dissociation in red meat [J]. Meat Research, 2015, 29(12): 52-57
-
- (上接第 85 页)
- [29] JIN Cheng-yu, LIU Hong, XU Dan, et al. Glycoalkaloids and phenolic compounds in three commercial potato cultivars grown in Hebei, China [J]. Food Science & Human Wellness, 2018, 7(2): 156-162
- [30] 赵一博,牛丽娟,郇海龙,等.张家口坝上地区马铃薯品种比较试验[J].现代农业科技,2020,1:73-74
- ZHAO Yi-bo, NIU Li-juan, LI Hai-long. Comparative test of potato varieties in Bashang area of Zhangjiakou [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2020, 1: 73-74
- [31] 田甲春,胡新元,田世龙,等.19 个品种马铃薯营养成分分析[J].营养学报,2017,39(1):102-104
- TIAN Jia-chun, HU Xin-yuan, TIAN Shi-long, et al. Analysis of nutrient composition of 19 variety potatoes [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2017, 39(1): 102-104
- [32] 刘振亚.不同品种马铃薯的加工适应性及应用研究[D].银川:北方民族大学,2019
- LIU Zhen-ya. Study on processing adaptability and application of different potato varieties [D]. Yinchuan: North Minzu University, 2019
- [33] 刘宇航,朱永,张敏,等.不同品种马铃薯加工鲜湿面条的适宜性比较研究[J/OL].食品科学技术学报:1-9[2020-09-02]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/10.1151.TS.20200326.1546.002.html>
- LIU Yu-hang, ZHU Yong, ZHANG Min, et al. Comparative research on processing suitability of fresh-wet noodles of different potato varieties [J/OL]. Journal of Food Science and Technology: 1-9[2020-09-02]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/10.1151.TS.20200326.1546.002.html>
- [34] 陈丽.甘薯块根质构特性的评价研究[D].杭州:浙江农林大学,2013
- CHEN Li. Study on texture properties evaluation of sweet potato [D]. Hangzhou: Zhejiang A & F University, 2013
- [35] 周慧卿,朱静坚,王升台,等.缙云县马铃薯品种比较试验[J].浙江农业科学,2016,57(7):1085-1086
- ZHOU Hui-qing, ZHU Jing-jian, WANG Sheng-tai, et al. Comparative test of potato varieties in Jinyun county [J]. Zhejiang Agricultural Science, 2016, 57(7): 1085-1086
- [36] 刘娟.马铃薯种质资源加工性状评价及品种筛选[D].兰州:甘肃农业大学,2018
- LIU Juan. Assessment of processing traits and screening varieties from potato germplasm resources [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2018