

# 双酶法猪脂氧化改善天然猪肉香精风味的应用

孙佳<sup>1</sup>, 王超<sup>1</sup>, 曹雁平<sup>1,2,\*</sup>, 王蓓<sup>1,2</sup>

(1.北京工商大学食品学院, 北京 100048; 2.食品添加剂与配料北京市高校工程研究中心, 北京 100048)

**摘要:** 研究双酶法氧化猪脂在天然猪肉香精中的应用。首先以过氧化值为评价指标, 单因素试验和正交试验确定的最佳酶解工艺条件为脂肪酶 300  $\mu\text{L}$ 、脂肪氧合酶 400  $\mu\text{L}$ 、pH8.88。感官评价表明, 与使用空气氧化猪脂和未使用氧化猪脂制备的猪肉香精相比, 酶法氧化猪脂制备的猪肉香精香味饱满, 猪肉特征突出且脂香浓郁。用固相微萃取-气相色谱-质谱法分析比较 3 种猪脂制备的猪肉香精的挥发性组成, 结果表明, 3 种猪肉香精主体风味成分一致, 以 2-乙酰呋喃、5-甲基-2-噻吩甲醛、3-甲基噻吩、2-戊基呋喃、2-硫代糠酯等风味成分为主, 并且酶氧化猪脂香精含较高比例的 2-甲基-呋喃、5-甲基-2-噻吩甲醛。

**关键词:** 脂肪酶; 脂肪氧合酶; 猪肉香精; 气相色谱-质谱法

## Application of Pork Fat Oxidized by Dual Enzyme Method for Improving the Flavor of Natural Pork Essence

SUN Jia<sup>1</sup>, WANG Chao<sup>1</sup>, CAO Yan-ping<sup>1,2,\*</sup>, WANG Bei<sup>1,2</sup>

(1. College of Food and Chemical Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China

2. Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients, Beijing 100048, China)

**Abstract:** The application of pork fat oxidized by dual enzyme method for improving the flavor of natural pork essence was explored in this work. The optimal enzymatic reaction conditions for preparing oxidized pork fat, as determined using one-factor-at-a-time and orthogonal array design methods based on peroxide value (PV), were 300  $\mu\text{L}$  of lipase, 400  $\mu\text{L}$  of lipoxygenase and pH 8.88. Sensory evaluation revealed that pork essence based on oxidized pork fat obtained from enzymatic oxidation had a full aroma and outstanding characteristic flavor of porcine fat as compared with pork essences prepared from air-oxidized or non-oxidized pork fat. The results of solid phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry (SPME/GC-MS) analysis indicated that these three pork essences had the same major flavor components, which included 1-(2-furanyl)-ethanone, 5-methyl-2-thiophenecarboxaldehyde, 3-methyl-thiophene, 2-pentyl-furan and 2-furfurylthiol. Moreover, pork essence based on enzymatically oxidized fat was richer in 2-methyl-furan and 5-methyl-2-thiophene formaldehyde.

**Key words:** lipase; lipoxygenase; pork flavor; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

中图分类号: TS264.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)16-0084-07

肉味香精是传统食品现代化和餐饮连锁化的重要基础原料, 其应用涉及方便食品、肉制品、调味品、膨化食品、速冻食品、焙烤食品、菜肴等领域<sup>[1]</sup>。中国肉味香精生产始于 20 世纪 80 年代, 经过约 30 年的发展已经形成独立的产业。2009 年全行业年销售额约 100 亿元人民币, 相关食品工业和餐饮业的产值超过 1 万亿元人民币<sup>[2]</sup>。

脂肪氧化产物是肉类特征风味的主要来源<sup>[3]</sup>。第三代肉味香精<sup>[4-6]</sup>使用的脂肪氧化产物通常采用空气氧化方式制备, 在实验室规模的脂肪调控氧化反应装置是装有机械搅拌和导气管的四口烧瓶<sup>[2]</sup>; 工业化生产规模的设

备是气升式内环反应器<sup>[7]</sup>。空气氧化的缺点是反应温度高, 能耗大。脂肪酶结合脂肪氧合酶氧化法制备氧化脂肪, 即脂肪在脂肪酶作用下水解生成脂肪酸和甘油<sup>[8]</sup>, 然后脂肪酸在脂肪氧合酶作用下氧化产生氢过氧化物, 氢过氧化物通过均裂或  $\beta$ -裂变分解, 形成了小分子的醇、醛、酮、酯等多种风味物质和热反应风味前体物质<sup>[9-12]</sup>, 将其作为天然肉味香精的基料, 用于制备各种类型的肉味香精。与空气氧化方法相比, 酶法氧化方法的原料利用率高、反应条件温和、工艺简单、生产周期短、反应易控制、能耗小, 且不会造成环境污染<sup>[13-14]</sup>。本研究以猪脂为原料, 研究猪脂酶法

收稿日期: 2012-04-02

作者简介: 孙佳(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品化学。E-mail: jiaer0620@163.com

\* 通信作者: 曹雁平(1961—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品化学与安全。E-mail: caoyip@th.btbu.edu.cn

氧化产物对猪肉香精风味的影响,为其工业化生产提供参考依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

猪脂 台湾正义有限公司;猪里脊肉 市售;脂肪酶(2000U/mL)、风味蛋白酶、复合蛋白酶 Novozymes 公司;脂肪氧合酶( $1 \times 10^6$ U/0.4mL) 美国 Sigma 公司; $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、碘化钾、可溶性淀粉、硫代硫酸钠(均为分析纯)、葡萄糖、甘氨酸、丙氨酸、谷氨酸、VB<sub>1</sub>、木糖、L-半胱氨酸、水解植物蛋白(HVP)(均为食品级) 国药集团化学试剂有限公司;三氯甲烷、乙酸(均为分析纯) 北京化工厂。

### 1.2 仪器与设备

6890N-5975C 气相色谱-质谱联用仪 美国 Agilent 公司;pH 计 梅特勒-托利多仪器有限公司;分析天平 北京赛多利斯仪器系统有限公司;DSHZ-300 多用途水浴恒温振荡器 江苏太仓市实验设备厂;恒温水浴锅 山东鄄城华鲁电热仪器有限公司;78-2 磁力搅拌器 国华电器有限公司;电磁空气压缩机 浙江森森实业有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 酶法猪脂氧化单因素试验

固定猪脂 8g、pH8.34 的磷酸缓冲液 2mL、温度 45℃、转速 110r/min。首先加入 100  $\mu$ L 脂肪酶,2h 后加入脂肪氧合酶 100  $\mu$ L,再反应 3h。混匀后采用碘量法<sup>[15]</sup>测其过氧化(peroxide value, PV)值。固定其他条件分别改变:脂肪酶量、脂肪氧合酶量、反应温度、反应 pH 值、转速、反应时间单一条件,考察其对 PV 值的影响。

#### 1.3.2 正交试验

选取脂肪酶量、脂肪氧合酶量和缓冲液 pH 值 3 个因素,设计 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交试验优化猪脂氧化条件,试验设计见表 1。

表 1 双酶法氧化猪脂正交试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal array design for optimization of dual-enzymatic oxidation of pork fat

| 水平 | 因素              |                   |      |
|----|-----------------|-------------------|------|
|    | A 脂肪酶量/ $\mu$ L | B 脂肪氧合酶量/ $\mu$ L | C pH |
| 1  | 150             | 250               | 7.70 |
| 2  | 300             | 400               | 8.34 |
| 3  | 450             | 550               | 8.88 |

#### 1.3.3 空气氧化猪脂的制备

准确称取 8.00g 猪脂,加入 2mL 1/15mol/L pH8.34 的  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲液,通入流速为 0.16m<sup>3</sup>/h 的压

缩空气,在 40℃ 条件下搅拌反应 7h。

#### 1.3.4 热反应猪肉香精的制备

将 100g 鲜猪里脊肉的肉糜和 100g 去离子水加入到 500mL 烧杯中,95℃ 水浴保温 15min 后冷却至 48℃。加入 0.6g 复合蛋白酶处理 0.5h,再加入 1.2g 风味蛋白酶处理 1h,制成猪肉酶解物。

在装有电动搅拌器、温度计、回流冷凝管的 100mL 四口烧瓶中加入猪肉酶解物 20g、葡萄糖 1.2g、甘氨酸 0.6g、丙氨酸 0.6g、VB<sub>1</sub> 0.4g、木糖 0.2g、谷氨酸 0.3g、L-半胱氨酸 1.2g、HVP 2g 以及猪脂、空气氧化猪脂或酶法氧化猪脂进行热反应制备猪肉香精<sup>[16]</sup>,利用感官评价、挥发性成分分析研究不同类型猪脂对猪肉香精风味的影响。

#### 1.3.5 感官评价

将本研究中脂肪酶氧化法制备的猪肉香精(猪肉香精 A)、空气氧化法制备的猪肉香精(猪肉香精 B)和未氧化猪脂制备的香精(猪肉香精 C)按体积分数 5% 用热水稀释品尝。采用描述评分法进行感官评价<sup>[17]</sup>,评价标准见表 2。

表 2 猪肉香精感官评价标准

Table 2 Criteria for sensory evaluation of pork essence

| 项目       | 标准        | 满分 |
|----------|-----------|----|
| 猪肉特征香气强度 | 香气直冲、留香持久 | 20 |
| 香气仿真度    | 和炖猪肉香气一致  | 10 |
| 肉味       | 肉味饱满、圆润   | 20 |
| 汤汁感      | 浓郁的猪肉汤汁感  | 20 |
| 猪脂香      | 猪脂香突出     | 10 |
| 回味感      | 回味鲜香绵长、持久 | 20 |

#### 1.3.6 挥发性成分分析

##### 1.3.6.1 固相微萃取

取 3mL 样品装入萃取玻璃瓶中,放入 50℃ 恒温水浴锅中,平衡 40min。平衡完成后用 SPME 针吸附 40min。

##### 1.3.6.2 GC-MS 分析

色谱条件:DB-WAX 色谱柱(30m  $\times$  0.25mm, 0.25  $\mu$ m);载气为氦气,流速 1.2mL/min;升温程序:起始温度 40℃,以 3℃/min 升温至 160℃,再以 5℃/min 升温至 240℃。

质谱条件:70eV,电子电离(electron ionization, EI),质量扫描范围 30~450u,溶剂延迟 4.00min。

## 2 结果与分析

### 2.1 酶法猪脂氧化与优化

#### 2.1.1 脂肪酶量对猪脂氧化程度的影响

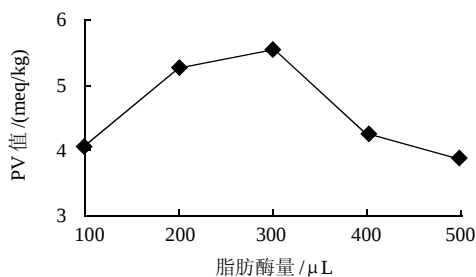


图1 脂肪酶量对PV值的影响

Fig.1 Effect of lipase amount on PV value

脂肪在脂肪酶和脂肪氧合酶的共同作用下会生成氢过氧化物, 过氧化值是评价油脂氧化程度最基本的指标<sup>[18-19]</sup>, 本研究也采用PV值评价油脂氧化程度。由图1可知, 脂肪酶量为300  $\mu\text{L}$ 时, 氧化猪脂的PV值最高, 故最佳脂肪酶量为300  $\mu\text{L}$ 。

#### 2.1.2 脂肪氧合酶量对猪脂氧化程度的影响

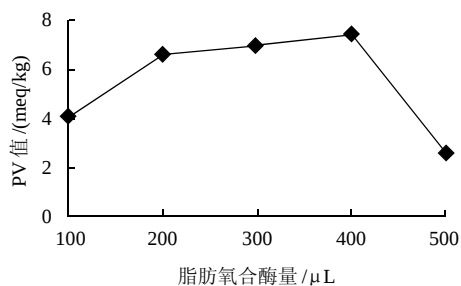


图2 脂肪氧合酶量对PV值的影响

Fig.2 Effect of lipoxigenase amount on PV value

由图2可知, 脂肪氧合酶量为400  $\mu\text{L}$ 时, 氧化猪脂的PV值最高, 故最佳脂肪氧合酶量为400  $\mu\text{L}$ 。

#### 2.1.3 反应温度对猪脂氧化程度的影响

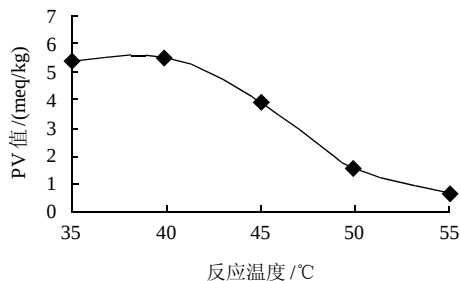


图3 反应温度对PV值的影响

Fig.3 Effect of reaction temperature on PV value

由图3可知, 在35~40  $^{\circ}\text{C}$ 范围内, 随着温度的升高, 猪脂的PV值增大; 40~55  $^{\circ}\text{C}$ 范围内, 温度升高时猪脂的PV值逐渐减小, 说明过高的温度抑制了酶的活

力。其中40  $^{\circ}\text{C}$ 时其PV值最高, 因此反应的最适温度为40  $^{\circ}\text{C}$ 。

#### 2.1.4 pH值对猪脂氧化程度的影响

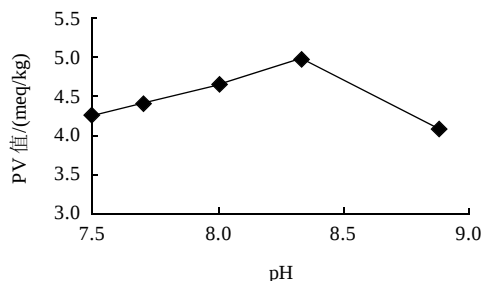


图4 pH值对PV值的影响

Fig.4 Effect of pH on PV value

由图4可知, 在pH7.50~8.88的范围内, 猪脂PV值先增大后减小, 其中pH8.34时氧化产物PV值最大, 故最佳pH值为8.34。

#### 2.1.5 搅拌转速对猪脂氧化程度的影响

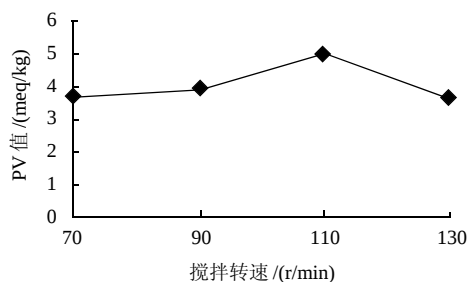


图5 搅拌转速对PV值的影响

Fig.5 Effect of rotation speed on PV value

由图5可见, 转速为110r/min时氧化产物的PV值最大, 因此最适转速为110r/min。

#### 2.1.6 反应时间对猪脂氧化程度的影响

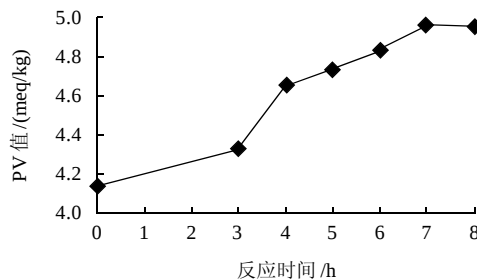


图6 反应时间对PV值的影响

Fig.6 Effect of reaction time on PV value

从图6可以看出, PV值随反应时间的延长而增大,

7h 后趋于平缓, 故 7h 为最佳反应时间。

### 2.1.7 酶法猪脂氧化条件优化

正交试验结果见表 3, 方差分析见表 4。各因素对猪脂氧化状态的影响趋势见图 7。

表 3 酶法猪脂氧化正交试验设计及结果  
Table 3 Orthogonal array design and corresponding results for optimization of dual-enzymatic oxidation of pork fat

| 试验号            | A     | B     | C     | PV 值 |
|----------------|-------|-------|-------|------|
| 1              | 1     | 1     | 1     | 3.72 |
| 2              | 1     | 2     | 2     | 4.04 |
| 3              | 1     | 3     | 3     | 4.54 |
| 4              | 2     | 1     | 3     | 4.42 |
| 5              | 2     | 2     | 1     | 4.48 |
| 6              | 2     | 3     | 2     | 4.25 |
| 7              | 3     | 1     | 2     | 4.06 |
| 8              | 3     | 2     | 3     | 4.68 |
| 9              | 3     | 3     | 1     | 3.96 |
| k <sub>1</sub> | 4.100 | 4.067 | 4.217 |      |
| k <sub>2</sub> | 4.383 | 4.400 | 4.140 |      |
| k <sub>3</sub> | 4.233 | 4.250 | 4.360 |      |
| R              | 0.283 | 0.333 | 0.220 |      |

由表 4 极差  $R$  可以看出, 在正交试验所选择的因素、水平范围内, 脂肪氧化酶量是最重要的影响因素, 脂肪酶量次之, pH 值影响最小。

表 4 方差分析

Table 4 Variance analysis for PV value with various reaction conditions

| 因素     | 偏差平方和 | 自由度 | $F_{比}$ | $F_{临界值}$ |
|--------|-------|-----|---------|-----------|
| 脂肪酶量   | 0.121 | 2   | 1       | 5.14      |
| 脂肪氧化酶量 | 0.167 | 2   | 1.38    | 5.14      |
| pH     | 0.075 | 2   | 0.62    | 5.14      |
| 误差     | 0.36  | 6   |         |           |

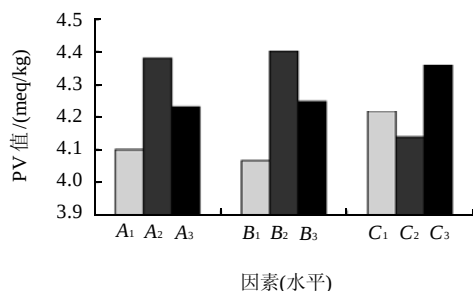


图 7 各因素对猪脂氧化状态的影响趋势

Fig.7 Effects of three factors at three different levels on PV value

由图 7 可以看出: 脂肪酶量 300  $\mu\text{L}$ 、脂肪氧化酶量 400  $\mu\text{L}$ 、pH8.88 时, PV 值最高, 而在其他水平上的 PV 值相对较小。因此, 正交试验获得的猪脂氧化最优组合为  $A_2B_2C_3$ , 即脂肪酶量 300  $\mu\text{L}$ 、脂肪氧化酶量 400  $\mu\text{L}$ 、pH8.88。

### 2.2 感官评价

评价员对 3 种猪肉香精各项指标评分后统一求和, 计算各香精样品的分项得分和综合得分。3 种猪肉香精的分项感官描述得分见图 8。

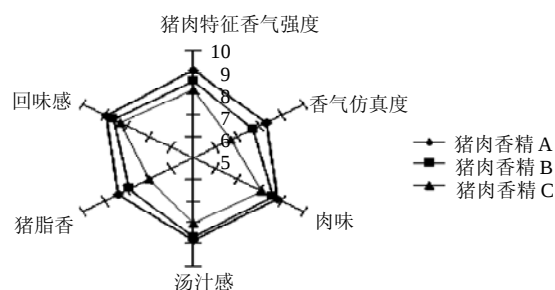


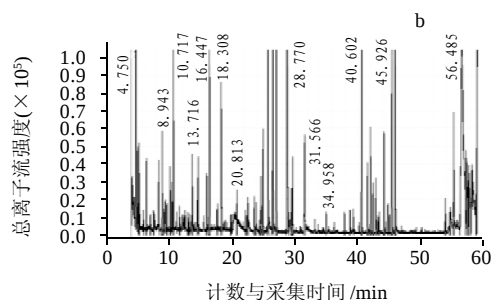
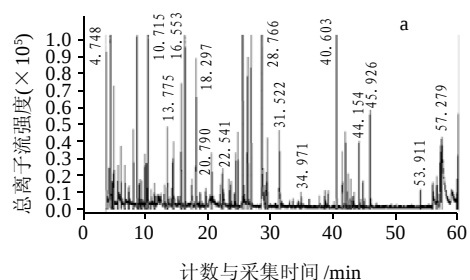
图 8 3 种猪肉香精各项指标平均得分比较

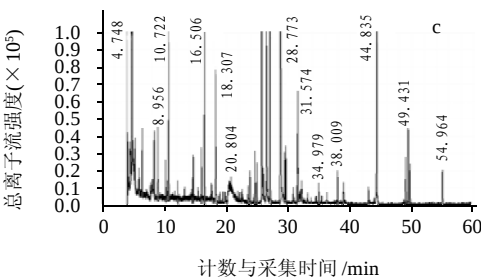
Fig.8 Comparison of average score for each index in three pork essences

由表 5 以及图 8 可知, 在各项指标的感官评价中, 本研究酶氧化法制备的猪肉香精(猪肉香精 A)质量最优, 而且各项指标均处于较高水平, 且脂香浓郁; 空气氧化法制备的猪肉香精(猪肉香精 B) 次之, 其脂香不够突出, 导致其特征香气不够饱满; 未氧化猪脂制备的香精(猪肉香精 C)气味最差, 各项指标得分均较低, 尤其缺少氧化脂肪所产生的香气, 导致其整体香气水平较低。

### 2.3 GC-MS 分析

对酶氧化、空气氧化和未氧化猪脂热反应制得的香精进行 GC-MS 分析, 得到总离子流色谱图(图 9), 鉴定出的主要香味成分(相对含量 > 0.4%)及其相对含量见表 5~7。





a. 未氧化猪脂制备的猪肉香精; b. 空气氧化猪脂制备的猪肉香精; c. 酶氧化猪脂制备的猪肉香精。

图9 猪肉香精的总离子流色谱图  
Fig.9 Total ion current chromatograms of three pork essence

GC-MS 分析结果显示, 3 种猪肉香精含量较高的风味物质都为 2- 乙酰呋喃、5- 甲基 -2- 噻吩甲醛、2- 甲基呋喃、3- 甲基噻吩、2- 戊基呋喃、2- 硫代糠酯等。其中, 2- 戊基呋喃是猪肉香精中对整体香味作出重要贡献的关键芳香活性化合物<sup>[20-21]</sup>。

3 种猪肉香精含量较高的风味物质都为 2- 乙酰呋喃、5- 甲基 -2- 噻吩甲醛、2- 甲基呋喃、3- 甲基噻吩、2- 戊基呋喃、2- 硫代糠酯等。其中, 呋喃类的含量最高, 尤其是含有对猪肉风味做出贡献的关键芳香活性化

合物 2- 戊基 - 呋喃<sup>[22-23]</sup>, 因此 3 种香精都有浓郁的炖猪肉的香味。

酶法氧化猪脂制备的猪肉香精中, 木糖为羰基化合物, HVP 提供氨基化合物, 高含量(25.6%)的乙酸提供了合适的 pH 值环境, 因此酶法制备的香精中含有 1,3- 二噻吩和二氢 -2- 甲基 -3(2H)呋喃酮, 使得酶法制备的猪肉香精在炖肉味的基础上, 还有烤香味<sup>[24]</sup>。与未氧化猪脂制备的猪肉香精对比, 氧化猪脂的加入, 对美拉德反应产生了抑制作用, 造成含硫化合物的含量降低, 而酶法制备香精中含硫化合物的比例远少于空气法制备的香精, 这会导致热反应产物的刺鼻硫化物气味变得柔和, 出现协调的肉香味及猪肉的特征风味<sup>[25]</sup>。其中, 未氧化猪脂制备的猪肉香精中含有较高比例的 3- 甲基 - 噻吩、2- 硫代糠酯, 还含有空气法和酶法没有的吡嗪、2- 乙酰吡咯和 5- 甲硫基四氮唑等; 空气氧化猪脂制备的猪肉香精含有较高比例的噻吩并[3,2-*b*]噻吩, 含有其他方法没有的 1,2- 苯并异噻唑和 2- 乙酰吡咯等, 不含 3- 糠醛; 酶氧化猪脂制备的猪肉香精中含有较高比例的 2- 甲基呋喃、5- 甲基 -2- 噻吩甲醛, 含有较多的 3- 糠醛<sup>[12]</sup>、2- 丁酮、2- 亚丙烯环丁烯、2-(3- 羟丙基)-2- 吡咯烷酮等。

表5 GC-MS 分析未氧化猪脂制备的猪肉香精挥发性风味成分  
Table 5 GC-MS analysis of flavor components in pork essence prepared with non-oxidized pork fat

| 序号 | 时间 /min | 化合物                                    |                       | 保留指数 RI | 相对含量 /% |
|----|---------|----------------------------------------|-----------------------|---------|---------|
| 1  | 4.748   | furan, 2-methyl-                       | 2- 甲基呋喃               | < 940   | 10.9    |
| 2  | 6.423   | furan, 2-ethyl-                        | 2- 乙基呋喃               | 940     | 1.2     |
| 3  | 7.048   | 2-pentanone                            | 2- 戊酮                 | 964     | 0.6     |
| 4  | 8.385   | thiophene                              | 噻吩                    | 1010    | 1.8     |
| 5  | 10.452  | hexanal                                | 己醛                    | 1066    | 0.9     |
| 6  | 10.715  | thiophene, 3-methyl-                   | 3- 甲基 - 噻吩            | 1073    | 6.5     |
| 7  | 13.33   | 3,4-dimethylthiophene                  | 3,4- 二甲基噻吩            | 1136    | 0.4     |
| 8  | 14.727  | thiophene, 2,4-dimethyl-               | 2,4- 二甲基噻吩            | 1168    | 1.3     |
| 9  | 15.987  | pyrazine                               | 吡嗪                    | 1197    | 3.2     |
| 10 | 16.553  | furan, 2-pentyl-                       | 2- 戊基呋喃               | 1209    | 4.3     |
| 11 | 18.297  | 3(2H)-furanone, dihydro-2-methyl-      | 二氢 -2- 甲基 -3(2H)呋喃酮   | 1247    | 2.7     |
| 12 | 18.96   | 4-methylthiazole                       | 4- 甲基噻唑               | 1262    | 0.3     |
| 13 | 23.547  | pyrazine, 2-ethyl-6-methyl-            | 2- 乙基 -6- 甲基吡嗪        | 1364    | 0.5     |
| 14 | 25.737  | 2-furfurylthiol                        | 2- 硫代糠酯               | 1415    | 12.6    |
| 15 | 26.522  | acetic acid                            | 乙酸                    | 1434    | 4.6     |
| 16 | 27.063  | 3-furaldehyde                          | 3- 糠醛                 | 1447    | 8       |
| 17 | 28.766  | ethanone, 1-(2-furanyl)-               | 2- 乙酰呋喃               | 1489    | 100     |
| 18 | 29.644  | 3(2H)-thiophenone, dihydro-2-methyl-   | 二氢 -2- 甲基 -3(2H)- 噻吩酮 | 1548    | 1.5     |
| 19 | 31.522  | 1-methyl-5-mercaptopotetrazole         | 5- 甲硫基四氮唑             | 1621    | 1.7     |
| 20 | 31.565  | 2-furancarboxaldehyde, 5-methyl-       | 5- 甲基糠醛               | 1621    | 0.5     |
| 21 | 34.971  | 2-furanmethanol                        | 2- 糠醇                 | 1671    | 0.1     |
| 22 | 36.1    | 2-thiophenecarboxaldehyde              | 2- 噻吩甲醛               | 1687    | 0.1     |
| 23 | 39.289  | ethanone, 1-(3-thienyl)-               | 1- 乙酰 -3- 噻吩          | 1761    | 0.3     |
| 24 | 40.603  | 5-methyl-2-thiophenecarboxaldehyde     | 5- 甲基 -2- 噻吩甲醛        | 1796    | 7.1     |
| 25 | 42.847  | thieno[3,2- <i>b</i> ]thiophene        | 噻吩并[3,2- <i>b</i> ]噻吩 | 1838    | 0.5     |
| 26 | 45.926  | ethanone, 1-(1 <i>H</i> -pyrrol-2-yl)- | 2- 乙酰吡咯               | 1894    | 2.2     |
| 27 | 53.911  | 5-thiazoleethanol, 4-methyl-           | 4- 甲基 -5- 噻唑乙醇        | > 1894  | 0.2     |

表6 GC-MS 分析空气氧化猪脂制备的猪肉香精挥发性风味成分

Table 6 GC-MS analysis of flavor components in pork essence prepared with air-oxidized pork fat

| 序号 | 时间/min | 化合物                                                    | 保留指数 RI                     | 相对含量/%     |
|----|--------|--------------------------------------------------------|-----------------------------|------------|
| 1  | 4.75   | furan, 2-methyl-                                       | 2- 甲基呋喃                     | < 921 8.8  |
| 2  | 5.024  | ethyl acetate                                          | 乙酸乙酯                        | < 921 1.3  |
| 3  | 5.146  | thiirane                                               | 环硫化乙烯                       | < 921 0.3  |
| 4  | 5.257  | 2-propenoic acid, 3-phenyl-, 2-methyl-2-propenyl ester | 2- 甲基丙烯酸丙酯                  | < 921 0.9  |
| 5  | 5.944  | formic acid                                            | 甲酸                          | 921 0.2    |
| 6  | 6.43   | furan, 2-ethyl-                                        | 2- 乙基呋喃                     | 940 1.1    |
| 7  | 7.569  | 2-(3-methylguanidino)ethanol                           | 2-(3-甲基胍)乙醇                 | 984 0.1    |
| 8  | 8.37   | thiophene                                              | 噻吩                          | 1010 1     |
| 9  | 10.717 | thiophene, 3-methyl-                                   | 3- 甲基- 噻吩                   | 1073 3.4   |
| 10 | 13.716 | 2-hexene, 1-methoxy-3-methyl-, (E)-                    | 1- 甲氧基-3- 甲基-2- 己烯          | 1145 0.7   |
| 11 | 14.652 | 3,4-dimethylthiophene                                  | 3,4- 二甲基噻吩                  | 1166 1.1   |
| 12 | 16.026 | 1,3-diazine                                            | 1,3- 二嗪                     | 1197 0.5   |
| 13 | 16.447 | furan, 2-pentyl-                                       | 2- 戊基- 呋喃                   | 1207 4.1   |
| 14 | 18.308 | 3(2H)-furanone, dihydro-2-methyl-                      | 二氢-2- 甲基-3(2H)呋喃酮           | 1247 2.2   |
| 15 | 20.813 | oxalic acid, hexadecyl 2-methylphenyl ester            | 草酸                          | 1302 0.3   |
| 16 | 25.72  | 2-furfurylthiol                                        | 2- 硫代糠酯                     | 1414 9     |
| 17 | 26.52  | acetic acid                                            | 乙酸                          | 1434 4.9   |
| 18 | 27.07  | furfural                                               | 糠醛                          | 1447 4.4   |
| 19 | 28.77  | ethanone, 1-(2-furanyl)-                               | 2- 乙酰呋喃                     | 1489 100   |
| 20 | 29.471 | (1H)pyrrole-2-carbonitrile, 5-methyl-                  | 5- 甲基-1H- 吡咯-2- 甲酸乙酯        | 1528 0.7   |
| 21 | 29.636 | 3(2H)-thiophenone, dihydro-2-methyl-                   | 二氢-2- 甲基-3(2H)噻吩酮           | 1547 1.2   |
| 22 | 31.511 | 1-methyl-5-mercaptotetrazole                           | 5- 甲基硫基四氮唑                  | 1621 1     |
| 23 | 31.566 | 2-furancarboxaldehyde, 5-methyl-                       | 5- 甲基糠醛                     | 1621 1     |
| 24 | 38.761 | cyclohexanone, 2-acetyl-                               | 2- 乙酰糠醛                     | 1747 0.4   |
| 25 | 40.602 | 5-methyl-2-thiophenecarboxaldehyde                     | 5- 甲基-2- 噻吩甲醛               | 1796 6.2   |
| 26 | 42.011 | 1,3-dithiol[4,5-b]furan, tetrahydro-3a-methyl-         | 四氢-3a- 甲基-1,3- 二硫代[4,5-b]呋喃 | 1823 1.9   |
| 27 | 44.149 | thieno[3,2-b]thiophene                                 | 噻吩并[3,2-b]噻吩                | 1862 2.3   |
| 28 | 45.413 | 1,2-benzisothiazole                                    | 1,2- 苯并异噻唑                  | 1885 3.3   |
| 29 | 45.926 | ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-                          | 2- 乙酰吡咯                     | 1894 4.3   |
| 30 | 53.901 | 5-thiazoleethanol, 4-methyl-                           | 4- 甲基-5- 噻唑乙醇               | > 1894 0.3 |

表7 GC-MS 分析酶氧化猪脂制备的猪肉香精挥发性风味成分

Table 7 GC-MS analysis of flavor components in pork essence prepared with enzymatically oxidized fat

| 序号 | 时间/min | 化合物                                     | 保留指数 RI           | 相对含量/%     |
|----|--------|-----------------------------------------|-------------------|------------|
| 1  | 4.748  | furan, 2-methyl-                        | 2- 甲基呋喃           | < 940 15.9 |
| 2  | 5.273  | 2-butanone                              | 2- 丁酮             | < 940 1.9  |
| 3  | 6.433  | furan, 2-ethyl-                         | 2- 乙基呋喃           | 940 1.8    |
| 4  | 8.389  | thiophene                               | 噻吩                | 1010 1.6   |
| 5  | 8.956  | cyclobutene, 2-propenylidene-           | 2- 亚丙烯环丁烯         | 1026 1.7   |
| 6  | 10.722 | thiophene, 3-methyl-                    | 3- 甲基- 噻吩         | 1073 3.7   |
| 7  | 14.694 | 3,4-dimethylthiophene                   | 3,4- 二甲基噻吩        | 1167 0.9   |
| 8  | 15.999 | 1,3-diazine                             | 1,3- 二嗪           | 1197 1.2   |
| 9  | 16.506 | furan, 2-pentyl-                        | 2- 戊基呋喃           | 1208 3.2   |
| 10 | 18.307 | 3(2H)-furanone, dihydro-2-methyl-       | 二氢-2- 甲基-3(2H)呋喃酮 | 1247 3.4   |
| 11 | 23.547 | pyrazine, 2-ethyl-6-methyl-             | 2- 乙基-6- 甲基吡嗪     | 1364 0.3   |
| 12 | 23.847 | 4-(2-aminoethyl)pyridine                | 4- 嘧啶             | 1371 0.7   |
| 13 | 25.737 | 2-furfurylthiol                         | 2- 硫代糠酯           | 1415 8.5   |
| 14 | 26.522 | acetic acid                             | 乙酸                | 1434 6.2   |
| 15 | 27.073 | 3-furaldehyde                           | 3- 糠醛             | 1447 5.6   |
| 16 | 28.773 | ethanone, 1-(2-furanyl)-                | 2- 乙酰呋喃           | 1489 100   |
| 17 | 29.647 | 3(2H)-thiophenone, dihydro-2-methyl-    | 二氢-2- 甲基-3(2H)噻吩酮 | 1548 1.1   |
| 18 | 31.574 | 2-furancarboxaldehyde, 5-methyl-        | 5- 甲基-2- 糠醛       | 1622 2.4   |
| 19 | 38.009 | azulene                                 | 甘菊蓝               | 1727 0.7   |
| 20 | 44.335 | 5-methyl-2-thiophenecarboxaldehyde      | 5- 甲基-2- 噻吩甲醛     | 1865 7.7   |
| 21 | 49.431 | pyrrolidine-5-one, 2-[3-hydroxypropyl]- | 2-(3-羟丙基)-2-吡咯烷酮  | 1964 1.9   |
| 22 | 49.707 | meta-methoxybenzenethiol                | 3- 甲氧基苯硫酚         | 1969 1     |
| 23 | 54.964 | thieno[3,2-b]thiophene                  | 噻吩并[3,2-b]噻吩      | > 1969 1   |

### 3 结 论

实验确定的酶法猪脂氧化最佳工艺条件为温度 40℃, 反应时间 7h。正交试验最佳组合为脂肪酶量为 300 μL、脂肪氧化酶量为 400 μL、pH8.88。感官评价表明, 与空气氧化法和未氧化法制备的香精相比, 酶解脂肪猪肉香精香味饱满, 猪肉特征突出且脂香浓郁。GC-MS 分析结果显示, 3 种猪肉香精主体风味成分一致, 酶氧化猪脂香精含较高比例的 2- 甲基呋喃、5- 甲基 -2- 噻吩甲醛等。

酶法氧化猪脂制备的天然肉味香精含有的较高的醛类使其猪肉特征风味饱满, 但是含有 2- 戊基呋喃的比例较低, 其炖肉味相比未氧化法和空气法制备的香精较淡。因此, 有必要进一步研究确定其他成分对天然猪肉香精风味的影响, 以及氧化猪脂中各成分形成天然猪肉香精风味成分的机制和途径。

### 参考文献:

- [1] 孙宝国. 肉味香精技术进展[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 339-342.
- [2] 孙宝国. 中国第三代肉味香精生产技术[J]. 中国食品学报, 2010, 10(5): 1-4.
- [3] MOTTRAM D S. The chemistry of meat flavor[M]// SHAHIDI F. Flavor of meat, meat products and seafoods. 2nd. London: Blackie Academic & Professional, 1998: 5-26.
- [4] XIE Jianchun, SUN Baoguo, ZHENG Fuping, et al. Volatile flavor constituents in roasted pork of Mini-pig[J]. Food Chemistry, 2008, 109(3): 506-514.
- [5] YU Ainong, SUN Baoguo. Flavor substances of Chinese traditional smoke-cured bacon[J]. Food Chemistry, 2005, 89(2): 227-233.
- [6] XIE Jianchun, SUN Baoguo, WANG Shuaibin. Aromatic constituents from Chinese traditional smoke-cured bacon of Mini-pig[J]. Food Science and Technology International, 2008, 14(4): 329-340.
- [7] 孙宝国, 蒋国强, 谢建春, 等. 一种采用气升式内环流反应器制备脂肪控制氧化产物的方法: 中国, ZL200610145018.6[P]. 2007-05-09.
- [8] FRANKEL E N. Lipid oxidation[J]. Progress in Lipid Research, 1980, 19(1/2): 1-22.
- [9] 何婷, 赵谋明, 崔春. 脂肪氧化酶的酶学特性及其活性抑制机理的研究进展[J]. 食品工业科技, 2008, 29(2): 291-294.
- [10] 谢建春, 孙宝国, 马洪亮, 等. 氧化猪脂 - 热反应制备猪肉香精研究[J]. 中国调味品, 2005(12): 49-53.
- [11] KENICHI Y, KWANG-GEUN L, HIROTOMO O, et al. Antioxidative activity of heterocyclic compounds formed in Maillard reaction products[J]. International Congress Series, 2002, 1245(9): 335-340.
- [12] 沈晗, 孙宝国, 廖永红, 等. 猪肉复合酶解及其热反应产物挥发性成分分析研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(2): 104-107.
- [13] 曹国民, 盛梅, 高广达. 脂肪酶催化动物脂肪水解[J]. 中国油脂, 1997(2): 29-30.
- [14] 李露, 王金水, 韦志彦. 肉味香精的生产现状及发展研究[J]. 中国调味品, 2009, 34(2): 22-24.
- [15] 贸易部谷物油脂化学研究所. GB/T 5538—1995 油脂过氧化物测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 1995.
- [16] 钟秋, 谢建春, 孙宝国, 等. “酶催化氧化鸡脂 - 热反应” 制备鸡肉香味[J]. 中国食品学报, 2010, 10(4): 124-127.
- [17] 欧阳杰, 武彦文. 肉类香精的感官评价[J]. 香料香精化妆品, 2003, 12(6): 31-34.
- [18] 李书国, 薛文通, 张惠. 食用油脂过氧化值分析检测方法研究进展[J]. 粮食与油脂, 2007(7): 35-38.
- [19] 韩玉莲. 油脂氧化常用检测方法及其评价[J]. 中国食品卫生杂志, 1994, 6(1): 57-60.
- [20] 陈冠清, 宋焕禄, 张振波, 等. 热反应猪肉香精的制备及其气味活性化合物的鉴定[J]. 食品科学, 2009, 30(8): 221-226.
- [21] 廖劲松, 齐军茹. Maillard 反应与食品风味物质( I )热反应肉类香精的研究[J]. 中国食品添加剂, 2005(3): 51-54.
- [22] 陈冠清, 宋焕禄, 张振波, 等. 热反应猪肉香精的制备及其气味活性化合物的鉴定[J]. 食品科学, 2009, 30(8): 221-226.
- [23] 廖劲松, 齐军茹. Maillard 反应与食品风味物质( I )热反应肉类香精的研究[J]. 中国食品添加剂, 2005(3): 51-54.
- [24] 蔡原, 赵有璋, 蒋玉梅, 等. 顶空固相微萃取 - 气 - 质联用检测合作猪肉挥发性风味成分[J]. 西北师范大学学报, 2006, 42(4): 74-79.
- [25] MOTTRAM D S. Flavour formation in meat and meat products: a review[J]. Food Chemistry, 1998, 62(4): 415-424.