

柱前衍生-反相高效液相色谱法测定不同方法煮制的猪肉及其汤汁中的游离氨基酸

顾伟钢¹, 张进杰¹, 辛 梅², 姚燕佳¹, 纪 蓉¹, 吕兵兵¹, 陈健初^{1*}

(1. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江 杭州 310058; 2. 青岛市渔业技术推广站, 山东 青岛 266071)

摘要: 建立了反相高效液相色谱(RP-HPLC)分离检测用不同方法煮制的猪肉及其汤汁中 17 种游离氨基酸的方法。样品经 6-氨基喹啉基-N-羟基琥珀酰亚氨基甲酸酯(AQC)柱前衍生后,采用 Nova-PakTM C18 色谱柱分离,以 AccQ • Tag Eluent A 稀释液、乙腈和超纯水为流动相,梯度洗脱,检测波长为 248 nm,在 47 min 内实现了 17 种氨基酸衍生物的基线分离。各氨基酸在 1 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ (胱氨酸在 0.5 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$) 范围内呈现出良好的线性关系,相应的线性相关系数(r^2)均大于 0.99; 17 种氨基酸的检出限(以信噪比为 3 计)为 0.29 ~ 0.96 $\mu\text{mol/L}$; 在汤汁中的加标回收率为 86.5% ~ 101.0%。该方法前处理过程简单,分离效果好,是检测肉及其汤汁中氨基酸的有效手段,可应用于肉制品的质量评定和工艺优化。

关键词: 反相高效液相色谱; 柱前衍生; 游离氨基酸; 猪肉; 汤汁

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2011)10-1041-05

Determination of free amino acids in the pork and its broth cooked by different methods using reversed-phase high performance liquid chromatography coupled with pre-column derivatization

GU Weigang¹, ZHANG Jinjie¹, XIN Mei², YAO Yanjia¹, JI Rong¹,
LÜ Bingbing¹, CHEN Jianchu^{1*}

(College of Biosystem Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

2. Qingdao Centre of Popularization of Fisheries Technology, Qingdao 266071, China)

Abstract: A reversed-phase high performance liquid chromatographic (RP-HPLC) method was developed for the determination of 17 amino acids in the pork and its broth cooked by different methods. 6-Aminoquinolyl-N-hydroxyl-succinimidyl-carbamate (AQC) was used as pre-column derivatization reagent. In the RP-HPLC method, a Nova-PakTM C18 column was used with the dilution of AccQ • Tag Eluent A, acetonitrile and water as the mobile phases in a gradient elution mode. The 17 amino acids were baseline separated within 47 min with ultraviolet (UV) detection at 248 nm. Each amino acid showed good linearity in the range of 1 – 100 $\mu\text{mol/L}$ except cystine (Cys₂) in the range of 0.5 – 50 $\mu\text{mol/L}$ with the correlation coefficient (r^2) more than 0.99. The detection limits ($S/N=3$) of 17 amino acids were ranged from 0.29 to 0.96 $\mu\text{mol/L}$, and the spiked recoveries in a cooked broth sample were from 86.5% to 101.0%. The results showed that the proposed method can be applied to determine amino acids for meat quality assessment and process optimization with simple pretreatment and good separation.

Key words: reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC); pre-column derivatization; free amino acids; pork; broth

猪肉是我国居民主要的肉食品来源,其富含蛋白质、脂肪和适宜的水分。烹饪过程使其更有利于人体消化和吸收。中式烹饪中,有水煮、高压蒸煮和

炖煮 3 种基本煮制方法,而各种煮制方法都有其不同的特点^[1]。经过煮制的猪肉蛋白质及其降解产

* 通讯联系人: 陈健初,博士,副教授,主要从事食品加工和分析检测方面的研究。E-mail: jc@zju.edu.cn.

基金项目: 浙江省科技厅资助项目(No. 2010C12012)。

收稿日期: 2011-04-25

物具有良好的口感和风味^[5]。蛋白质降解过程中, 氨肽酶作用于肽类, 使其分解产生游离氨基酸^[6]。游离氨基酸不仅促进滋味产生, 而且参与美拉德反应形成己醛、壬醛和庚醛等, 有一部分则通过 Strecker 降解形成酯类、醇类和酮类等物质, 这些物质再和脂类氧化产物反应, 形成食品特有风味^[6]。因此, 不同煮制方法的猪肉和汤汁中游离氨基酸的检测和定量对评价肉制品风味和营养价值具有重要意义。

目前, 氨基酸的测定主要采用茚三酮柱后衍生, 用氨基酸自动分析仪进行测定^[7]。气相色谱 (GC)^[8]、毛细管电泳 (CE)^[9]、离子交换色谱 (IEC)^[10] 等也可用于氨基酸的分离与检测。由于小分子氨基酸不带有紫外 (UV) 或者荧光基团, 因此在采用液相色谱 (LC) 进行分离检测时必须进行衍生处理^[11]。常用的衍生试剂有邻苯二甲醛 (OPA)、异硫氰酸苯酯 (PITC) 等。AccQ·Tag 法是一种氨基酸柱前衍生技术, 它以 6-氨基喹啉基-N-羟基琥珀酰亚氨基甲酸酯 (AQC) 为衍生剂, 可与所有含氨基化合物快速定量反应生成高稳定性的脎, 然后用反相高效液相色谱 (RP-HPLC) 分离衍生产物^[12]。由于此技术选择性好、分离度高, 已被用于猪血浆中氨基酸的测定^[13]。

目前尚未见到采用 AQC 柱前衍生进行猪肉煮制后游离氨基酸含量测定的报道。本实验采用 AccQ·Tag 柱前衍生 RP-HPLC 技术, 对不同煮制方法 (水煮、炖煮、高压蒸煮) 的猪肉及其汤汁中的游离氨基酸进行了测定, 为进一步评价肉制品营养和风味提供了基础。

1 实验部分

1.1 主要仪器、材料与试剂

2695 高效液相色谱仪, 配有 2998 光电二极管阵列检测器和 Empower 色谱工作站 (美国 Waters 公司); BR4 冷冻离心机 (法国 Jouan 公司); Testo 826-T4 红外测温仪 (德国 Testo 公司); YL209F 高压锅 (浙江苏泊尔股份有限公司); JYZS-M201 紫砂煲 (九阳股份有限公司); 家用煮锅; 电磁炉; Milli-Q 净水器 (美国 Milli-Q 公司)。

美国 Waters 公司 AccQ·Tag 氨基酸试剂包, 包括 AccQ·Tag 氨基酸分析柱 Nova-PakTM C18 (150 mm × 3.9 mm, 4 μm), 专用衍生试剂 AccQ. Fluor Buffer 和 17 种氨基酸 (天冬氨酸 (Asp)、丝氨酸 (Ser)、谷氨酸 (Glu)、甘氨酸 (Gly)、组氨酸 (His)、精氨酸 (Arg)、苏氨酸 (Thr)、丙氨酸 (Ala)、脯氨酸

(Pro)、胱氨酸 (Cys₂)、酪氨酸 (Tyr)、缬氨酸 (Val)、蛋氨酸 (Met)、赖氨酸 (Lys)、异亮氨酸 (Ile)、亮氨酸 (Leu)、苯丙氨酸 (Phe)) 混合标准液 (原始浓度为 2.5 mmol/L, 只有 Cys₂ 为 1.25 mmol/L); 冷鲜猪肉背长肌 (联合康康公司) 当天购于杭州世纪联华超市。

1.2 色谱方法的建立

1.2.1 柱前衍生

将氨基酸混合标准液分别稀释至 0.5、1、5、10、25、50、75、100 μmol/L。准确移取 10 μL 已稀释的标样注入 50 mm × 6 mm 衍生管底部, 涡旋混合, 加入 70 μL AccQ·Fluor Buffer 到衍生管中, 再吸取 20 μL 现配的 AccQ·Fluor 衍生剂, 在涡旋状态下加到衍生管中, 并保持涡旋混合 10 s, 在室温下放置 1 min, 将衍生管用石蜡膜封口, 置于 55 °C 烘箱内加热 10 min, 取出后即可进样。

1.2.2 色谱条件

色谱柱: Nova-PakTM C18 柱; 柱温: 37 °C; 紫外检测波长: 248 nm; 进样量: 10 μL; 流动相 A: 按 1:10 (v/v) 将 AccQ·Tag Eluent A 用超纯水稀释而得; 流动相 B: 乙腈 (色谱纯); 流动相 C: 超纯水; 洗脱条件见表 1。

表 1 流动相的梯度洗脱程序
Table 1 Program of gradient elution

Time/min	φ(A) /%	φ(B) /%	φ(C) /%	Curve No.
0	100	0	0	*
0.5	99	1	0	11
18	95	5	0	6
19	91	9	0	6
29.5	83	17	0	6
35	0	60	40	11
38	100	0	0	11
47	100	0	0	6

A. dilution of AccQ·Tag Eluent A with water (1:10, v/v); B. acetonitrile; C. water. Flow rate: 1.0 mL/min.

1.3 实际样品的处理

1.3.1 猪肉不同烹制方法的工艺条件

剔去冷鲜猪肉背长肌中的可见脂肪和结缔组织, 将红色肌肉部分切成大小均匀 (3 cm × 2 cm × 1 cm) 的小块, 清洗沥干, 供烹饪处理。采取 3 种传统的中式烹饪方法 (水煮、炖煮、高压蒸煮), 采用料水比为 1:1.5 (w/w)^[14], 加入 1% (w/w) 的食盐^[15]。为排除调料对所测物质的影响, 本实验不加其他佐料。

水煮烹制: 称取约 300 g 清洗沥干的红色肌肉样品, 放入盛有 450 mL 水 (含 1% (w/w) 食盐) 的煮锅中, 盖上锅盖, 在电磁炉上将水烧开, 水温 100 °C

(测得肉中心温度为 85 ℃) 时开始计时。

炖煮烹制: 称取约 300 g 清洗沥干的红色肌肉样品,放入盛有 450 mL 水(含 1% (w/w) 食盐)的紫砂煲中,加盖,将开关调至“自动加热”档开始计时。

高压蒸煮: 称取约 300 g 清洗沥干的肌肉样品,放入盛有 450 mL 水(含 1% (w/w) 食盐)的家用高压锅中,盖上锅盖,加热至高压锅排气状态开始计时。

采用模糊数学综合感官评定法^[4] 确定最佳烹制时间为水煮 30 min,炖煮 2 h,高压蒸煮 15 min。烹制结束后冷却至室温,将肌肉和汤汁分开,汤汁用两层纱布过滤并最终用开水定容至原始体积,随即进行肉和汤汁游离氨基酸的提取及测定。

1.3.2 实际样品中游离氨基酸的提取及测定

参考 Roseiro 等^[3] 的方法,略有修改: 称取约 5 g 搅碎的鲜肉或采用不同方法烹制的熟肉,加入去离子水 20 mL,冰浴中于 18 000 r/min 速率下匀浆 3 次(每次 10 s,间隔 10 s),加入 20 mL 5% (v/v) 三氯

乙酸(TCA)水溶液,混合均匀,于 4 ℃ 下放置 12 h;以定性滤纸过滤,滤液先用 4 mol/L KOH 调 pH 至 6.0,然后用去离子水定容至 50 mL,取 5 mL 用 0.45 μm 滤膜过滤。汤汁混匀后,于 4 ℃、15 000 r/min 下离心 10 min,上清液用 0.45 μm 滤膜过滤。移取所得的肉及汤汁的滤液 10 μL 按 1.2.1 节所述柱前衍生方法处理后,采用 RP-HPLC 测定样品中游离氨基酸的含量。

2 结果与讨论

2.1 标准样品图谱和实际样品图谱

采用 1.2.2 节所述的梯度洗脱程序,氨基酸混合标准品和高压蒸煮汤汁样品的氨基酸衍生物的分离图谱分别见图 1 和图 2。从中可以看出,在 47 min 内所有氨基酸衍生物都被洗脱出来,各氨基酸衍生物的峰形对称,且无杂质干扰,17 种氨基酸的衍生物得到了基线分离。

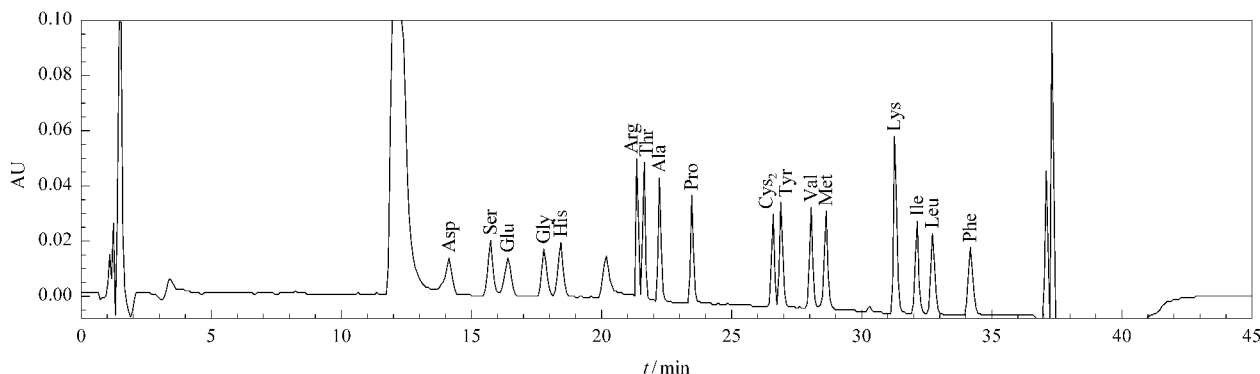


图 1 氨基酸标准品的 RP-HPLC 谱图

Fig. 1 RP-HPLC chromatogram of the amino acid standards (75 μmol/L)

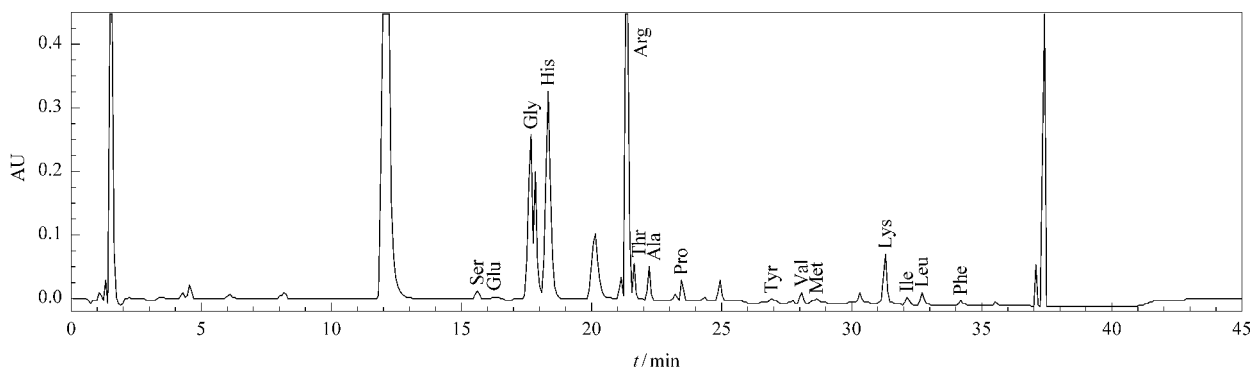


图 2 高压蒸煮法制备的猪肉汤汁样品的 RP-HPLC 谱图

Fig. 2 RP-HPLC chromatogram of the amino acids in the broth cooked by high pressure steaming

2.2 线性关系和检出限

将氨基酸混合标准液配成浓度分别为 0.5、1、5、10、25、50、75、100 μmol/L 的溶液,依次进样,按照 1.2 节所述方法进行 RP-HPLC 分析测定。以各

氨基酸的峰面积(A) 对其浓度(C , μmol/L) 作线性回归,得到的回归方程及相关系数见表 2。结果表明,除了 Cys₂(0.5 ~ 50 μmol/L) 外,其余氨基酸在 1 ~ 100 μmol/L 浓度范围内呈良好的线性关系,相关

系数 (r^2) 在 0.990 0 ~ 0.999 4 之间,均大于 0.990 0,符合测定要求。将 1 $\mu\text{mol/L}$ 混合标准液逐步稀释后衍生,以峰高 3 倍于噪声 ($S/N=3$) 所对应的浓度为检出限,得到各氨基酸的检出限为 0.29 ~ 0.96 $\mu\text{mol/L}$ 。该方法灵敏度高,可满足样品测定要求。

表 2 17 种氨基酸的回归方程、相关系数 (r^2) 和检出限
Table 2 Regression equations, correlation coefficients (r^2) and detection limits of the 17 amino acids

Amino acid	Regression equation	r^2	Detection limit/ ($\mu\text{mol/L}$)
Asp	$A = 2624.2C - 10489$	0.9966	0.74
Ser	$A = 3401.3C - 19121$	0.9900	0.63
Glu	$A = 2492.4C - 6654.3$	0.9964	0.82
Gly	$A = 2851.8C - 13169$	0.9930	0.55
His	$A = 2782.2C - 4349.6$	0.9968	0.78
Arg	$A = 3202.3C - 14938$	0.9973	0.96
Thr	$A = 3332.1C - 6896$	0.9948	0.83
Ala	$A = 3041.2C - 14023$	0.9959	0.85
Pro	$A = 2659.5C - 7906.9$	0.9909	0.95
Cys ₂	$A = 5531.5C - 7330.7$	0.9940	0.29
Tyr	$A = 3226.7C - 7603.6$	0.9982	0.65
Val	$A = 3345.6C - 14951$	0.9994	0.84
Met	$A = 3265.1C - 5809.2$	0.9974	0.66
Lys	$A = 5610.8C - 9408$	0.9975	0.86
Ile	$A = 3298.7C - 8343.1$	0.9962	0.72
Leu	$A = 3199.3C - 9342.8$	0.9958	0.68
Phe	$A = 3259.3C - 8587.1$	0.9947	0.74

A: peak area; C: concentration, $\mu\text{mol/L}$. Linear range: 0.5 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$ for Cys₂, 1 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ for the others.

2.3 加标回收率、精密度和稳定性

分别取 0.1 mL 的高压蒸煮汤汁样品和 100 $\mu\text{mol/L}$ 氨基酸混合标准溶液,置于衍生管中,体系中氨基酸标准液的终浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ (Cys₂ 为 25 $\mu\text{mol/L}$)。样品按 1.2.1 节所述方法衍生后,进行 RP-HPLC 分析,测定氨基酸的加标回收率,结果见表 3。从表 3 可以看出,各氨基酸的加标回收率在 86.5% ~ 101.0% 之间,精密度 (以相对标准偏差 (RSD) 计) 均小于 3%,表明该方法用来检测汤汁体系中游离氨基酸的含量是可靠的。

将高压蒸煮汤汁样品提取液衍生后在室温条件下分别放置 0、4、8、12、24 h 后进行 RP-HPLC 测定。结果表明,24 h 内供试样品中 17 种氨基酸峰面积的 RSD 在 1.25% ~ 4.96% 之间,表明供试品溶液在 24 h 内化学性质稳定。

2.4 不同方法烹制的猪肉和汤汁中游离氨基酸的含量

对鲜肉和 3 种不同方法烹制的猪肉及其汤汁中

游离氨基酸的含量进行了测定,结果见表 4。鲜肉中 Arg 含量显著高于其他游离氨基酸,除 Ser、Arg 和 Pro 外,其他游离氨基酸含量显著高于水煮、炖煮和高压蒸煮后的猪肉,但是由于 Arg 含量的显著降低,鲜肉中总游离氨基酸含量显著低于水煮和高压蒸煮的猪肉,原因与烹饪后游离氨基酸流失到汤汁中有关。另一方面,从猪肉和汤汁中游离氨基酸的绝对含量来看,鲜肉经 3 种不同烹制方式后蛋白质发生了显著降解。

表 3 高压蒸煮汤汁中 17 种氨基酸的加标回收率 ($n=3$)

Table 3 Spiked recoveries of the 17 amino acids in the broth cooked by high pressure steaming ($n=3$)

Amino acid	Added/ ($\mu\text{mol/L}$)	Found/ ($\mu\text{mol/L}$)	Recovery/ %	RSD/ %
Asp	50	43.25	86.5	1.1
Ser	50	48.13	96.3	1.6
Glu	50	49.55	99.1	0.3
Gly	50	44.07	88.1	1.7
His	50	45.26	90.5	1.4
Arg	50	46.77	93.5	1.5
Thr	50	45.09	90.2	1.5
Ala	50	48.74	97.5	0.9
Pro	50	50.50	101.0	0.7
Cys ₂	25	24.06	96.2	0.3
Tyr	50	46.14	92.3	0.8
Val	50	44.33	88.7	2.1
Met	50	45.31	90.6	1.8
Lys	50	44.10	88.2	1.5
Ile	50	47.80	95.6	0.7
Leu	50	47.69	95.4	1.5
Phe	50	46.85	93.7	0.6

在煮制过程中,肉中的蛋白质逐渐降解并转移到汤汁中,最终达到一个动态平衡。在本实验所确定的最佳条件下,Asp 在猪肉和汤汁中都没有检测到。煮制后 Arg 在肉汤体系中的含量远远高于其他游离氨基酸,这与 Zhao 等^[6]对腌制前后金华火腿中的 Arg 含量研究结果一致。Buscailhon 等^[7]报道干腌火腿中 Arg 含量不高,这可能是由于原料、加工方法和检测方法不同所致。烹制结束后,在肉汤体系中含量较高的游离氨基酸还有 His、Glu、Thr、Ala。文献报道,Glu 具有鲜味,Thr 和 Ala 具有甜味^[8],炖煮汤汁中的上述呈味氨基酸总量显著高于水煮和高压汤汁,这可能是其滋味更加鲜美清甜的原因之一,与感官评定结果一致。本文所建立的方法可有效测定猪肉和汤汁中的游离氨基酸含量,可用于猪肉品质的检测和烹饪工艺的优化。

表 4 不同方式煮制的猪肉和汤汁中游离氨基酸的含量
Table 4 Contents of free amino acids (FAAs) in pork and its broth by different cooking methods

FAA	Raw	Boiling		Stewing		High-pressure steaming	
	pork/ (mg/kg)	Pork/ (mg/kg)	Broth/ (mg/L)	Pork/ (mg/kg)	Broth/ (mg/L)	Pork/ (mg/kg)	Broth/ (mg/L)
Asp	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ser	42.2 ± 5.7 ^{b)}	49.4 ± 6.5 ^{a)}	11.6 ± 1.2 ^{B)}	35.8 ± 4.5 ^{c)}	17.8 ± 3.8 ^{A)}	31.2 ± 9.6 ^{d)}	8.6 ± 0.6 ^{B)}
Glu	146.0 ± 36.6 ^{a)}	134.5 ± 12.7 ^{a), b)}	92.2 ± 13.4 ^{B)}	125.9 ± 27.9 ^{b)}	110.4 ± 14.2 ^{A)}	133.6 ± 31.4 ^{a), b)}	82.9 ± 13.4 ^{B)}
Gly	85.1 ± 8.7 ^{a)}	85.7 ± 14.3 ^{a)}	34.7 ± 1.6 ^{B)}	53.3 ± 8.7 ^{c)}	50.1 ± 4.8 ^{A)}	68.5 ± 12.5 ^{b)}	27.9 ± 1.3 ^{B)}
His	222.3 ± 42.3 ^{a)}	103.7 ± 15.6 ^{b)}	53.7 ± 9.8 ^{A)}	43.6 ± 2.3 ^{d)}	42.3 ± 5.4 ^{B)}	50.2 ± 0.6 ^{c)}	26.7 ± 1.2 ^{C)}
Arg	1829.6 ± 230.3 ^{b)}	2612.6 ± 153.9 ^{a)}	530.2 ± 85.3 ^{B)}	2696.2 ± 358.1 ^{a)}	828.7 ± 88.2 ^{A)}	2709.4 ± 391.2 ^{a)}	41.05 ± 54.6 ^{B)}
Thr	229.1 ± 30.8 ^{a)}	158.0 ± 34.6 ^{b)}	66.0 ± 12.2 ^{A)}	108.5 ± 26.0 ^{c)}	67.3 ± 5.3 ^{A)}	141.4 ± 32.7 ^{b)}	60.1 ± 2.5 ^{A)}
Ala	170.1 ± 25.6 ^{a)}	148.7 ± 23.4 ^{b)}	54.3 ± 3.5 ^{B)}	99.6 ± 14.9 ^{d)}	75.9 ± 10.8 ^{A)}	123.7 ± 12.8 ^{c)}	34.7 ± 4.9 ^{C)}
Pro	32.3 ± 8.6 ^{b)}	32.7 ± 6.8 ^{b)}	12.2 ± 4.6 ^{B)}	21.1 ± 0.5 ^{c)}	17.4 ± 2.1 ^{A)}	66.2 ± 0.3 ^{a)}	9.2 ± 1.7 ^{B)}
Cys ₂	7.9 ± 1.2 ^{a)}	4.9 ± 1.2 ^{b)}	0.9 ± 0.1 ^{B)}	6.1 ± 1.3 ^{a), b)}	1.2 ± 0.3 ^{A)}	5.4 ± 0.5 ^{b)}	ND
Tyr	34.0 ± 8.5 ^{a)}	27.6 ± 6.8 ^{b)}	9.2 ± 0.5 ^{B)}	23.2 ± 0.8 ^{c)}	12.3 ± 1.5 ^{A)}	27.8 ± 3.7 ^{b)}	8.9 ± 0.5 ^{B)}
Val	49.3 ± 9.7 ^{a)}	36.1 ± 7.6 ^{b)}	12.8 ± 1.3 ^{A), B)}	28.2 ± 9.4 ^{c)}	18.9 ± 5.7 ^{A)}	33.6 ± 2.9 ^{b)}	9.5 ± 1.1 ^{B)}
Met	25.4 ± 2.2 ^{a)}	13.7 ± 2.4 ^{b)}	5.8 ± 0.2 ^{B)}	11.1 ± 0.4 ^{c)}	7.7 ± 0.6 ^{A)}	14.6 ± 0.7 ^{b)}	5.3 ± 0.8 ^{B)}
Lys	56.9 ± 10.7 ^{a)}	37.3 ± 8.8 ^{b)}	12.7 ± 0.4 ^{A), B)}	28.1 ± 7.6 ^{c)}	18.6 ± 3.3 ^{A)}	35.7 ± 2.6 ^{b)}	6.9 ± 0.4 ^{B)}
Ile	37.8 ± 6.6 ^{a)}	29.6 ± 9.3 ^{b)}	9.2 ± 1.2 ^{A), B)}	24.4 ± 2.5 ^{c)}	13.3 ± 0.9 ^{A)}	28.5 ± 4.7 ^{b)}	7.1 ± 0.9 ^{B)}
Leu	51.8 ± 12.4 ^{a)}	42.3 ± 3.9 ^{b)}	14.3 ± 2.9 ^{B)}	34.9 ± 5.6 ^{d)}	22.4 ± 5.3 ^{A)}	39.8 ± 3.7 ^{c)}	10.8 ± 2.4 ^{B)}
Phe	40.2 ± 3.5 ^{a)}	31.1 ± 0.5 ^{b)}	9.3 ± 0.5 ^{B)}	26.4 ± 0.8 ^{c)}	13.7 ± 2.6 ^{A)}	31.9 ± 13.2 ^{b)}	9.5 ± 0.5 ^{B)}
Total	3204.0 ± 466.0 ^{b)}	3547.9 ± 336.1 ^{a)}	929.0 ± 84.6 ^{A), B)}	3366.4 ± 497.6 ^{b)}	1318.0 ± 123.9 ^{A)}	3541.5 ± 556.5 ^{a)}	718.5 ± 74.0 ^{B)}
Flavor	704.8 ± 133 ^{a)}	609.0 ± 126.1 ^{b)}	271.0 ± 46.2 ^{B)}	444.2 ± 118.8 ^{c)}	338.8 ± 72.3 ^{A)}	564.6 ± 129.7 ^{b)}	223.3 ± 43.1 ^{C)}
AAs							

a - d: significant difference ($P < 0.05$) in different pork samples within a row; A - C: significant difference ($P < 0.05$) in different broth samples within a row; Flavor AAs: umami AAs (Asp, Glu) + sweet AAs (Ser, Gly, Thr, Ala, Pro).

3 结语

以 6-氨基喹啉基-N-羧基琥珀酰亚氨基甲酸酯为衍生试剂,建立了猪肉及汤汁中游离氨基酸的 RP-HPLC 测定方法。使用该方法各氨基酸衍生物得到基线分离。经方法学验证,各氨基酸衍生物线性关系良好,线性范围为 1 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ (Cys₂ 为 0.5 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$)。以 TCA 为提取溶剂,各氨基酸的加标回收率在 86.5% ~ 101.0% 之间,方法可靠。

采用上述方法测定了鲜猪肉和经 3 种不同方法(水煮、炖煮、高压蒸煮)煮制的肉和汤汁中的游离氨基酸含量,结果表明不同方法煮制的猪肉和汤汁中游离氨基酸含量有显著差异,煮制过程使猪肉蛋白质发生降解。

参考文献:

- [1] Lü Z Z. Meat Research (吕自治. 肉类研究), 2003(2): 49
- [2] Pérez-Juan M, Flores M, Toldrá F. J Agric Food Chem, 2006, 54(13): 4802
- [3] Bergen W G. J Anim Sci, 2008, 86(14): 3
- [4] Lee E J, Yoo K S, Jifon J, et al. J Food Sci, 2009, 74(6): 475
- [5] Zhang J S, Jia C X, Li Y Q, et al. Tobacco Science and Technology (张峻松, 贾春晓, 李炎强, 等. 烟草科技), 2004(8): 26

- [6] Zhang H M, Yu W T, Ouyang P K, et al. Amino Acids and Biotic Resources (张红漫, 于文涛, 欧阳平凯, 等. 氨基酸和生物资源), 2004, 26(2): 62
- [7] Zhang C L, Liu Q, Li S H, et al. Progress in Modern Biomedicine (张春兰, 刘清, 李树华, 等. 现代生物医学进展), 2010, 10(1): 35
- [8] Ding Y S, Mou S F. Chinese Journal of Analytical Chemistry (丁永胜, 牟世芬. 分析化学), 2005, 33(4): 557
- [9] Chen L M, Shang Y F, Zhao M B, et al. Chinese Journal of Chromatography (陈丽梅, 尚艳芬, 赵孟彬, 等. 色谱), 2010, 28(12): 1154
- [10] Lu Z H, Guo C H. Food Science (卢珍华, 郭彩华. 食品科学), 2006, 27(2): 238
- [11] Reverter M, Lundh T, Lindberg J E. J Chromatogr B, 1997, 696: 1
- [12] Yang M D, Gou Z X, Shi C B, et al. Food Science (杨铭铎, 缙仲轩, 石长波, 等. 食品科学), 1998, 19(11): 56
- [13] Zhai M Y, Zhang R X, Zhao S M, et al. Food Science and Technology (翟明勇, 张瑞霞, 赵思明, 等. 食品科技), 2007, 12(12): 123
- [14] Zhang G Y, Lu Q Y. Cereals and Oils (张国印, 陆启玉. 粮食与油脂), 2006(11): 20
- [15] Roseiro L C, Santos C, Sol M, et al. Meat Sci, 2008, 79: 784
- [16] Zhao G M, Zhou G H, Tian W, et al. Meat Sci, 2005, 71: 612
- [17] Buscailhon S, Monin G, Cornet M, et al. Meat Sci, 1994, 37: 449
- [18] Ardö Y. Biotechnol Adv, 2006, 24: 238