

胰蛋白酶嫩化牛肉效果的研究

明 建^{1,2}, 曾凯芳^{1,2}, 李洪军^{1,2,*}

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400716; 2. 重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400716)

摘 要: 本实验采用 TA-XT2i 质构仪, 研究了胰蛋白酶处理对牛肉嫩度的影响, 并采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优化出最佳嫩化工艺。结果表明: 胰蛋白酶的酶活、pH 值、处理温度、处理时间对牛肉的持水力、烹饪失水率、剪切力均有显著的影响。胰蛋白酶最佳嫩化条件为: 酶用量 100U/g(0.04%)、处理温度 37℃、pH7.0、处理时间 1.5h; 或酶用量 150U/g(0.06%)、处理温度 20℃、pH7.0、处理时间 1.5h。极差分析结果显示, 各因素的显著性次序为: 处理温度>胰蛋白酶用量>处理时间>pH 值。

关键词: 牛肉; 胰蛋白酶; 嫩度

Study on Effect of Trypsin-induced Tenderization on Beef Tenderness

MING Jian^{1,2}, ZENG Kai-fang^{1,2}, LI Hong-jun^{1,2,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China; 2. Center of Special Food Engineering and Technology of Chongqing, Chongqing 400716, China)

Abstract: The effects of trypsin treatment conditions, such as trypsin dosage, pH value, treatment temperature and treatment time on beef tenderness were investigated using TA-XT2i texture analyser, and these conditions were optimized through $L_9(3^4)$ orthogonal test. The results indicated that trypsin dosage, pH, treatment temperature and treatment time all have significantly effects of water holding capacity, water loss rate in cooking and shearing force of beef. The optimum conditions of trypsin-induced tenderization are as follows: 100 U/g beef (0.04%), pH 7.0, 37 °C and 1.5 h; or trypsin dosage 150 U/g beef (0.06%), pH 7.0, 20 °C and 1.5 h. The significance sequence of these factors is: temperature > trypsin dosage > time > pH.

Key words: beef; trypsin; tenderness

中图分类号: TS251.51

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)05-0222-05

牛肉作为重要的肉食品原料, 其丰富的营养和良好的加工特性使其在食品工业中被广泛地应用, 牛肉产品也深受消费者的喜爱^[1-3]。但与猪肉、羊肉相比, 牛肉的纤维较粗、肉质较老、难于咀嚼、口感较差, 因此在牛肉加工中常需进行嫩化处理^[4-6]。胰蛋白酶作为肉类嫩化剂, 可降解肌原纤维和胶原蛋白, 从而提高肉类的嫩度。嫩化效果直接影响牛肉制品的品质, 因此, 对嫩化方法效果的评价在牛肉加工中非常重要。近几年, 随着物性测定仪和 TPA 测定分析技术在食品中的应用^[7-9], 食品品质评价方法有了很大的改进, 评价结果也更加客观和准确。本实验通过 TA-XT2i 物性测定仪研究各个因素在胰蛋白酶嫩化牛肉处理的过程中, 对牛肉剪切力、持水力、烹饪失水率的影响, 并采用正交试验确定胰蛋白酶嫩化牛肉的最佳条件, 旨在为工业化生

产牛肉制品的嫩化工艺提供实验参数。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黄牛肉为市售产品。

胰蛋白酶 1:250(Amresco 0458, 酶活 25 万 U/g)购自北京拜尔迪生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

TA-XT2i 物性测定仪 英国 Stable Micro Systems 公司; DS-1 高速组织捣碎机 上海标本模型厂; GL-20G-II 型高速冷冻离心机 上海安亭科学仪器厂; PHS-3C 型酸度计 成都方舟科技开发公司; DHS16-A 远红外水分测定仪 上海精密科学仪器有限公司。

1.3 方法

收稿日期: 2008-06-11

基金项目: 农业部公益性行业科研专项项目(2008326001)

作者简介: 明建(1972-), 男, 副教授, 博士研究生, 研究方向为食品化学与营养学。E-mail: mingjian1972@163.com

* 通讯作者: 李洪军(1961-), 男, 教授, 博士, 研究方向为肉类科学。E-mail: hongjunli1961@yahoo.com.cn

1.3.1 胰蛋白酶嫩化条件的优化

根据单因素试验,初步确定胰蛋白酶的嫩化条件是:酶用量 150U/g(0.06%), pH7.0, 温度为 37℃, 处理时间为 1.0h。然后以牛肉的持水力、烹饪失水率和剪切力为考察指标,通过正交试验来确定胰蛋白酶最佳嫩化条件。试验因素及水平见表 1。

表 1 胰蛋白酶嫩化条件正交试验因素水平表 $L_9(3^4)$
Table 1 Factors and levels of orthogonal test on tenderizaion conditions of beef with trypsin

水平	因素			
	A 酶用量(U/g)	B 温度(℃)	C pH	D 时间(h)
1	100(0.04%)	4	6.0	0.5
2	150(0.06%)	20	7.0	1.0
3	200(0.08%)	37	8.0	1.5

1.3.2 牛肉嫩化处理的方法^[10]

用 pH 7.0 的磷酸缓冲液配制胰蛋白酶,置于 200ml 烧杯中,于 37℃ 恒温水浴锅内保温,将浸泡在酶液中的大小为 3cm × 3cm × 5cm 的牛肉块进行注射嫩化处理 1.5h;以未嫩化处理牛肉作为对照。

1.3.3 牛肉烹饪失水率的测定^[11]

称取 50g 牛肉切分成小块,放于蒸煮袋中,在 95℃ 水浴锅中加热。当牛肉的中心温度达到 85℃ 时,取出样品,冷却至常温,用滤纸擦干表面水分,然后称重。烹饪失水率按下式计算:

$$\text{烹饪失水率}(\%) = \frac{\text{烹饪前重量} - \text{烹饪后重量}}{\text{烹饪前重量}} \times 100$$

1.3.4 牛肉持水力的测定

采用离心法^[12]利用远红外水分测定仪测定牛肉含水量(%).另外,称取 10g 同等条件下的牛肉样品剁碎,置于离心管中,称重后放在低温离心机中离心 30min(温度为 18~20℃,转速为 7800r/min),取出离心管,将离心出的水倒出并用滤纸将其表面的水分吸干,将样品及离心管一起称重。按下式计算持水力:

$$\text{持水力}(\%) = \text{牛肉含水量} - \frac{\text{离心前重量} - \text{离心后重量}}{10} \times 100$$

1.3.5 剪切力的测定

沿垂直于肌纤维方向切割 2.5cm 厚的肉块,放于蒸煮袋中,尽量排出袋内空气,将袋口扎紧,在 80℃ 水浴锅中加热,当牛肉的中心温度达到 70℃ 时,取出冷却至常温后取样。剪切力测定:顺着肌纤维方向切取 0.8cm 厚、0.8cm 宽的肉条,然后在 TA.XT2i 质构仪^[13]上测其剪切力,在不同位置重复测定 10 次,取平均值。

剪切力测定的 TA-XT2i 参数:探头: HDP/BSW;

测试计数点(PPS): 200.00; 测试模式与选择(test mode and option): TPA; 测试前速度(pre-test speed): 2.00mm/s; 测试速度(test speed): 1.00mm/s; 测试后速度(post-test speed): 1.00mm/s; 测试时间(time): 10.00s。

1.3.6 数据分析

剪切力、硬度、弹性、凝聚性、咀嚼性、胶着性以及回复性等物性数据采用 TPA-macro 软件分析,Excel 2000 用于统计分析其他数据。

2 结果与分析

2.1 不同胰蛋白酶用量对牛肉嫩度的影响

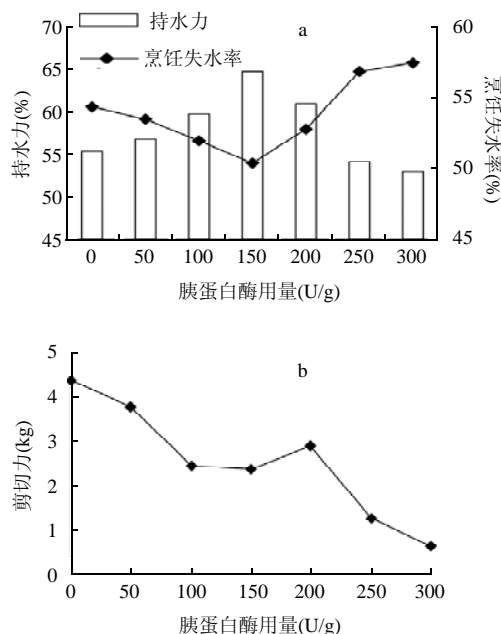


图 1 胰蛋白酶用量对牛肉持水力、烹饪失水率和剪切力的影响
Fig.1 Effects of different trypsin dosages on water-holding capacity and water loss rate in cooking (a) and shearing force of beef (b)

由图 1a 可知,不同用量的胰蛋白酶嫩化液对牛肉的持水力及烹饪失水率均有较显著的影响,酶用量为 150U/g(0.06%)时牛肉的持水力最大,烹饪失水率最小,分别比对照提高 18% 和降低 8%。这主要是因为牛肉中的肌动蛋白在胰蛋白酶的作用下分解生成肌球蛋白和胶原蛋白分解转化成明胶态,胶原蛋白溶解使肉的结构松弛,同时肌球蛋白含量增加,持水性提高,使肉柔嫩多汁,口感明显改善^[13]。当胰蛋白酶用量大于 250U/g(0.1%)时,牛肉的外观及形态完整性被破坏,汁液流失严重,持水力明显下降,烹饪失水率明显增加。

随着嫩化液酶活的增加,蛋白酶作用于肌纤维的能力就越强,牛肉的剪切力逐渐降低,其嫩度也逐渐增

大。一般来讲,在适宜的范围内,酶的用量越大,嫩化效果就越好^[14],胰蛋白酶用量在 100~150U/g(0.04%~0.06%)之间时剪切力降低很多,有较好的嫩化效果。由图 1b 可知,在酶用量为 150U/g(0.06%)时牛肉的剪切力最小,剪切力值比对照下降 46%。这是因为在酶的作用下,肌原纤维上 Z 线弱化和降解,使肌节断裂,肌原纤维的横向交联被破坏,使肌原纤维小片化,同时肌原蛋白被水解,降低了其本身强度和对肌肉的束缚,从而使牛肉的剪切力降低^[13]。但当酶的用量过多时,就会使牛肉的肌原蛋白和肌原纤维的分解过度,牛肉的外观及形态完整性保持不好,失水严重,尽管此时的剪切力很低,但嫩化效果却很差。

2.2 不同嫩化 pH 值对牛肉嫩度的影响

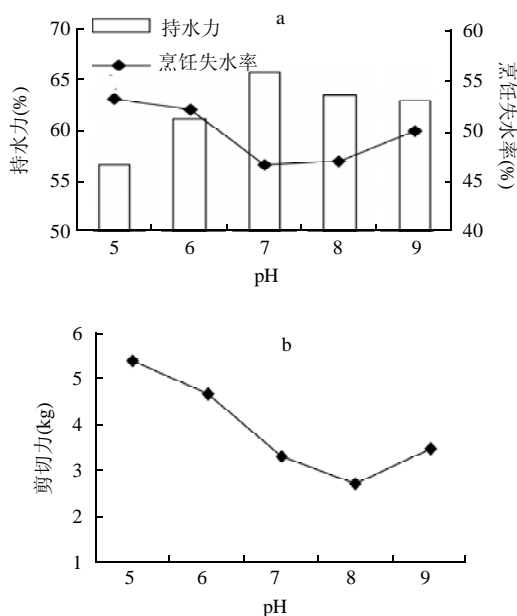


图2 pH值对牛肉持水力、烹饪失水率和剪切力的影响

Fig.2 Effects of different pH values on water-holding capacity and water loss rate in cooking (a) and shearing force of beef (b)

由图 2 可知, pH 值对牛肉的持水力、烹饪失水率及剪切力有显著的影响。胰蛋白酶液 pH 值为 7.0 时牛肉的持水力最大; pH7.0~8.0 时牛肉的烹饪失水率变化不大; pH8.0 时牛肉的剪切力最小,比 pH5.0 时的剪切力降低了近 50%。这可能是因为 pH 值可使胰蛋白酶处于其最佳构象状态,有利于其活性的发挥,同时在此 pH 值下,胰蛋白酶有利于牛肉中的肌纤维蛋白质的弱化和降解以及胶原蛋白的水解^[14]。而胰蛋白酶的最适 pH 值是 7.3~8.5,这说明离它的最适 pH 值越近,牛肉剪切力最小、嫩度最大、嫩化效果越好。

2.3 不同处理温度对牛肉嫩度的影响

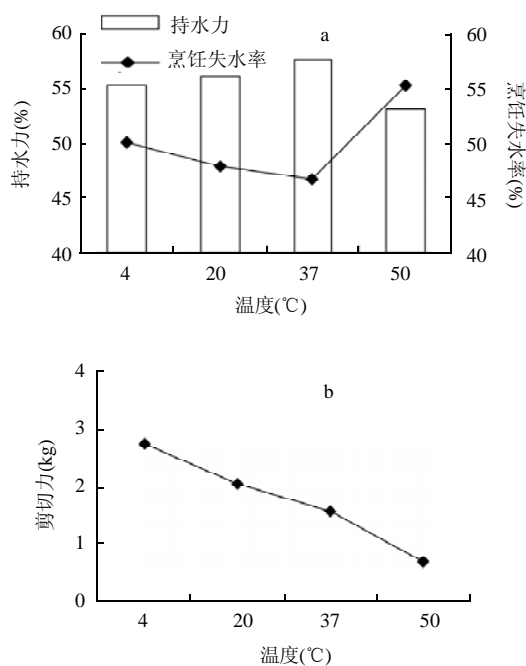


图3 温度对牛肉持水力、烹饪失水率和剪切力的影响

Fig.3 Effects of different temperatures on water-holding capacity and water loss rate in cooking (a) and shearing force of beef (b)

由图 3 可知,处理温度对牛肉持水力、烹饪失水率及剪切力有显著的影响。随温度的升高,由于酶的作用加强,牛肉中蛋白质降解增加,因此牛肉的持水力逐渐增加、剪切力逐渐降低;处理温度在 37℃ 时持水力最大,烹饪失水率最低;当温度在 50℃ 时的牛肉的剪切力虽然很低,但此时牛肉的形态完整性破坏严重、汁液流失很大,造成持水力急剧下降、烹饪失水率升高。主要是因为酶作用过度,牛肉肌纤维几乎完全断裂,牛肉的形态完整性受到严重破坏,所以处理温度在 37℃ 时,牛肉能保持其形态完整性,此时的嫩度也是最好的。

2.4 不同处理时间对牛肉嫩度的影响

由图 4 可知,不同处理时间对牛肉的持水力及的剪切力影响明显,对烹饪失水率的影响不大。处理时间偏低或偏高持水力都很低,偏低是由于嫩化不够;偏高则是嫩化过度,破坏牛肉形态结构所致。处理时间在 1.0~1.5h 时获得最佳嫩化效果,处理时间为 1.0h 时,牛肉的持水力最大。胰蛋白酶液的处理时间在 1.0h 时烹饪失水率最小。随着时间的延长,胰蛋白酶持续降解牛肉蛋白,牛肉的剪切力逐渐减小;继续延长处理时间,牛肉的剪切力有所减小,但变化不大。这表明胰蛋白酶在 1h 内即可作用完全,继续延长时间,作用已不明显,可能是长时间导致胰蛋白酶活性的降低或丧失,其对牛肉蛋白质的降解达到平衡状态;也可能是由于牛肉的降解改变了溶液成分,而不利胰蛋白酶活性的发挥^[14]。

表3 正交试验结果极差分析

Table 3 Range analysis of orthogonal test results in Table 2

项目	剪切力				持水力				烹饪失水率			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
K _{1j}	6513.2	7342.8	7452.1	6805.6	182.37	168.60	170.52	178.92	143.98	149.45	152.80	145.73
K _{2j}	5326.5	5841.3	5634.7	6320.7	177.79	180.21	181.51	169.75	145.86	142.30	144.68	151.71
K _{3j}	6561.5	5217.1	5314.3	5275.0	174.07	185.42	182.19	185.55	150.69	148.77	143.05	143.08
K _{1j}	2171.1	2447.6	2484.0	2268.5	60.789	56.199	56.841	59.641	47.992	49.818	50.933	48.578
K _{2j}	1775.5	1947.1	1878.2	2106.9	59.262	60.040	60.503	56.582	48.621	47.435	48.226	50.571
K _{3j}	2187.2	1739.0	1771.4	1758.3	58.022	61.805	60.730	61.850	50.231	49.591	47.685	47.695
R _j	411.6	708.6	712.6	510.2	2.767	5.607	3.889	5.268	2.239	2.157	3.248	2.876
单指标优组合	A ₂	B ₃	C ₃	D ₃	A ₁	B ₃	C ₃	D ₃	A ₁	B ₂	C ₃	D ₃
单指标因子主次	ADBC				DBCA				BADC			
综合平衡主次	BADC											
综合平衡优组合	B ₃ A ₁ D ₃ C ₃ 或 B ₂ A ₂ D ₃ C ₃											

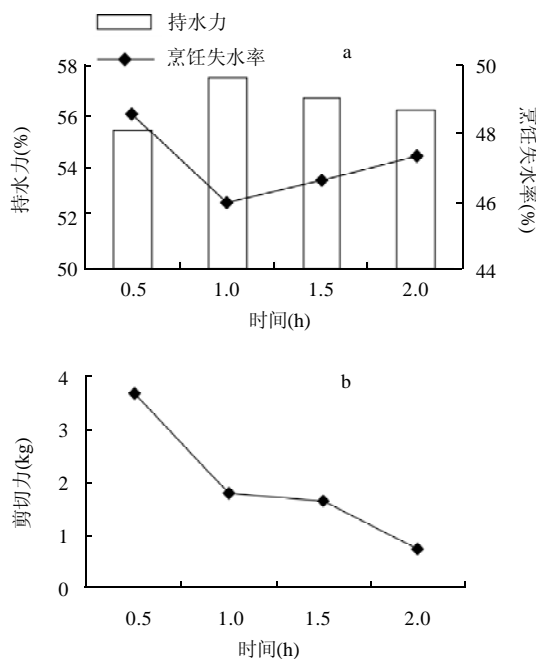


图4 处理时间对牛肉持水力、烹饪失水率和剪切力的影响

Fig.4 Effects of different treatment time on water-holding capacity and water loss rate in cooking (a) and shearing force of beef (b)

2.5 胰蛋白酶嫩化条件的优化

在单因素试验的基础上,进行正交试验优化胰蛋白酶嫩化条件,结果见表2;并进行极差分析,结果见表3。

由表2、3可知,对牛肉剪切力影响最大的是胰蛋白酶用量,其次是处理时间,再次是处理温度,pH值影响最小;对持水力影响最大是处理时间,其次是处理温度,再次是pH值,胰蛋白酶用量影响最小;对牛肉烹饪失水率影响最大的是处理温度,其次是胰蛋白酶用量,再次是处理时间,pH值影响最小;但考虑到嫩度的主要指标是以剪切力为主,综合以上分析得出胰蛋

白酶最佳嫩化条件是A₁B₃C₃D₃或A₂B₂C₃D₃,即胰蛋白酶用量100U/g(0.04%)、处理温度37℃、pH7.0、处理时间1.5h;或胰蛋白酶用量150U/g(0.06%)、处理温度20℃、pH7.0、处理时间1.5h。极差分析结果显示,各因素的显著性次序为:处理温度>胰蛋白酶酶活>处理时间>pH值。

表2 胰蛋白酶嫩化正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test on tenderization conditions of beef with trypsin

试验号	A 酶用量(U/g)	B 温度(℃)	C pH	D 时间(h)	剪切力(kg)	持水力(%)	烹饪失水率(%)
1	1(100)	1(4)	1(6)	1(0.5)	3237.51	55.3956	50.4773
2	1	2(20)	2(7)	2(1.0)	1969.54	59.8706	47.3796
3	1	3(37)	3(8)	3(1.5)	1306.11	67.1006	46.1196
4	2(150)	1	2	3	1725.96	59.7410	47.5154
5	2	2	3	1	1628.84	61.6298	45.4744
6	2	3	1	2	1971.74	56.4165	52.8731
7	3(150)	1	3	2	2379.37	53.4592	51.4609
8	3	2	1	3	2242.89	58.7097	49.4496
9	3	3	2	1	1939.21	61.8983	49.7817

3 结论

3.1 胰蛋白酶对牛肉嫩化效果显著,在单因素试验基础上,通过正交试验确定的胰蛋白酶对牛肉嫩化的最佳嫩化条件是:酶用量100U/g(0.04%)、处理温度37℃、pH7.0、处理时间1.5h;或酶用量150U/g(0.06%)、处理温度20℃、pH7.0、处理时间1.5h。在该条件下,用胰蛋白酶溶液对牛肉进行浸泡处理,可使牛肉的嫩度达到最佳使用状态,而且柔嫩多汁并富有较好的弹性,牛肉的食用品质得到显著提高。

3.2 由正交试验结果的直观分析可知,胰蛋白酶嫩化牛肉中各因素的显著性次序为:处理温度>胰蛋白酶用量>处理时间>pH值。处理温度对牛肉嫩化影响最明

显, 而 pH 值对牛肉嫩化影响最差。

参考文献:

- [1] 周光宏. 畜产食品加工学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 11-12; 40-47.
- [2] 王光慈. 食品营养学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 77-78; 194-195.
- [3] 罗欣. 中国肉牛业的现状与发展思考[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2004(8): 1-3.
- [4] TUCKER G A, WOODS L F J. 酶在食品加工中的应用[M]. 2 版, 李雁群, 肖功年, 译. 北京: 中国轻工业出版社, 2002.
- [5] 吴巧玲. 肉类蛋白酶嫩化剂的研究进展[J]. 食品工业科技, 2001, 22(5): 88-90.
- [6] 马美湖, 唐晓峰. 氯化钙和木瓜蛋白酶对牛肉嫩化效果的研究[J]. 湖南农业大学学报, 2001, 27(1): 63-66
- [7] 周建勇, 王玉芬. 质构仪在肉制品研究中的应用[J]. 食品科技, 2003(增刊): 192-195.
- [8] PALLKA K, DAUN H. Changes in texture, cooking losses, and myofibrillar structure of bovine *M. emitendinosus* during heating[J]. Meat Science, 1999, 51(3): 237-243.
- [9] ROCHA-GARZA A E, ZAYAS J F. Quality of broiled beef patties supplemented with wheat germ protein flour[J]. Journal of Food Science, 1996, 61 (2): 418-421.
- [10] 明建. 酶嫩化处理对牛肉及其制品物性影响的研究[D]. 重庆: 西南农业大学, 2004.
- [11] 晋艳曦, 胡铁军. 不同方法对牛肉干嫩化效果的研究[J] 肉类研究, 1999(1): 22-25.
- [12] 张伟力. 猪肉系水力的测定方法[J]. 养猪, 2002(3): 25-26.
- [13] 韩玲. 冷却牦牛分割肉酶嫩化技术研究[J]. 农业工程学报, 2003, 19(2): 171-175.
- [14] 孙国梁, 凡敏, 刘涛, 等. 生姜蛋白酶嫩化牛肉效果的研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(3): 244-246.