

冷却牦牛分割肉酶嫩化技术研究

韩 玲

(甘肃农业大学)

摘 要: 牦牛肉色泽鲜红, 风味纯正, 营养丰富, 但肌纤维较粗, 易出现“冷收缩”现象, 使质地坚硬, 嫩度下降。为提高冷却牦牛肉的嫩度, 改善肉质, 该研究将木瓜蛋白酶用于冷却牦牛分割肉嫩化, 通过 $L_9(3^4)$ 正交试验选择出最佳嫩化工艺参数, 即酶浓度 9 mg/kg , 处理温度 15°C , 处理时间 3 h 。采用注射嫩化法, 真空包装, 急速冷却后在 $0\sim 4^\circ\text{C}$ 条件下贮藏。结果表明, 木瓜蛋白酶可明显提高肉的嫩度, 使剪切力值 (48.44 N/cm^2 、肌纤维直径 ($8.03 \mu\text{m}$)、失水率 (5.91%) 下降, 口感改善, 对冷却肉的贮藏性无影响 ($0\sim 4^\circ\text{C}$, 9 d), 操作方法简单, 成本低, 适合工厂化生产, 实用性强。

关键词: 冷却牦牛分割肉; 嫩化; 木瓜蛋白酶; 技术

中图分类号: S823.85; S377; Q556.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2003)02-0171-05

1 引 言

全世界 92% 的牦牛生长在我国以青藏高原为中心的高山草地上。牦牛肉营养丰富, 色泽鲜红, 风味纯正无腥, 加之其生长环境远离工矿区, 无污染, 所以深受消费者欢迎。目前国内已有较多牦牛食品的研究报道。在分割肉生产中, 因牦牛肉与黄牛肉一样, 肌纤维较猪肉、羊肉粗, 屠宰冷却时会因“冷收缩”而使质地坚硬, 嫩度下降, 适口性变差。国内外学者采用了多种嫩化方法来提高肉的嫩度, 可分为物理嫩化法和化学嫩化法, 物理嫩化法主要用电刺激嫩化法、高压嫩化法、机械嫩化法等, 这些方法对提高肉的嫩度均有良好的作用, 但存在成本高、处理时间长、操作复杂等缺陷。化学嫩化法主要是利用内源和外源蛋白酶结合其它辅助成分对肉进行嫩化处理, 酶嫩化法被普遍认为是对肉进行嫩化处理较为可靠且简便的方法。目前, 国内酶嫩化肉的研究主要集中在肉制品加工中, 如马美湖等利用菠萝蛋白酶、氯化钙、复合磷酸盐及腌制剂, 在肉的腌制中进行嫩化; 刘学文等在牛肉干加工中利用木瓜蛋白酶对肉进行嫩化处理等^[1-4]。对冷却分割肉的酶嫩化处理鲜见报道。本研究结合冷却肉生产工艺, 借鉴国内外学者的研究成果, 通过 $L_9(3^4)$ 正交试验, 选择出木瓜蛋白酶 (papain) 嫩化冷却牦牛分割肉的最佳工艺条件, 确定了简便易行的生产工艺流程, 为改善牦牛肉嫩度, 提高肉的品质, 探索出一条有效途径, 为生产实践提供了较可靠的理论依据。

2 材料与仪器设备

2.1 试验材料

牦牛肉: 甘肃省天祝藏族自治县 5 岁阉割牦牛。

木瓜蛋白酶: 广州酶制品厂。

2.2 仪器设备

WW-3 型应变式无侧限压缩仪, C-LM 型肌肉嫩度计, DEQ 400/ZSB 型真空包装机, ZSJ-51 型盐水注射器, 生物显微镜, 测微尺等。

3 试验方法

3.1 试验设计

3.1.1 设计原理

冷却肉生产要求在 20°C 以下, 24 h 内完成对肉的分割、包装、冷却等工艺。而牛肉在温度下降至 10°C 以下时, 会出现“冷收缩”现象, 因此酶处理过程必须在分割后短时间内完成。低温环境下酶活性相对较低, 所以酶的浓度应适当提高。较高浓度的酶短时间内在肉中扩散并发生作用后, 肉温会迅速降至 $0\sim 4^\circ\text{C}$, 在此温度下酶活性受到抑制, 对肉的分解作用几乎停止, 故在贮藏期内肉的组织结构基本稳定, 不会发生大的变化。木瓜蛋白酶对肌原纤维蛋白和胶原纤维蛋白在 $40\sim 70^\circ\text{C}$ 时活性最强, 烹调过程中又会对肉发生作用, 使肉的嫩度呈最佳状态^[4, 5, 10]。综合以上, 本研究确定酶浓度、处理温度和处理时间为影响嫩化效果的主要因素。

3.1.2 酶浓度范围的确定

酶的浓度直接影响冷却肉的嫩化效果, 本研究根据冷却肉生产工艺特点, 参考肉制品嫩化时的使用量, 按每千克肉中添加量计, 以 $1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 \text{ mg/kg}$ 的浓度, 用同量的水溶解注射后, 在 15°C 下放置 4 h 进行感官评定, 结果表明酶浓度过低不能发挥嫩化作用, 浓度过高会使肉过度分解, 肉质糜烂, 感官性状降低, 最后选择冷却肉嫩化时酶浓度的使用范围为 $2\sim 10 \text{ mg/kg}$, 在此范围内的最佳浓度, 通过正交试验确定。

3.1.3 试验设计

本研究以酶浓度、处理温度、处理时间为试验因子, 依据冷却肉生产工艺确定因子水平, 用 $L_9(3^4)$ 正交试验 (见表 1), 以剪切力降幅为指标, 选择最佳嫩化条件, 并进行验证试验。

$$\text{剪切力降幅} = \frac{\text{对照组剪切力} - \text{试验组剪切力}}{\text{对照组剪切力}} \times 100\% \quad [5]$$

收稿日期: 2002-07-22

项目简介: 科技部西部开发项目 (2002BA 901A 29)

作者简介: 韩玲 (1963), 女, 甘肃武威人, 副教授, 主要从事食品工艺、畜产品贮藏加工教学及研究。兰州市 甘肃农业大学食品工程系, 730070。Email: yuqunli1@sina.com

表1 试验因子与水平表

Table 1 Experiment factors and levels

水平	A	B	C
	酶浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	处理温度/ $^{\circ}\text{C}$	处理时间/h
1	3	10	2
2	6	15	3
3	9	20	4

3.2 嫩化液用水量的确定

木瓜蛋白酶为白色粉末状,它必须以水为载体被注入肉中,而水的使用量又影响着酶的分散性和肉的品质,本研究通过观察肉表渗水情况和肉样横切面肌丝变化的均匀程度来确定水的用量。设计用量分别为水占肉质量比例:2%、3%、4%、5%。同时为防止在贮藏过程中肉色的变化,均添加0.02%的抗坏血酸。

3.3 操作方法

屠宰分割:选择5岁健康牦牛,屠宰后1~2h内热分割取其后腿部位肉,分切成1kg大小肉块。

嫩化液配制:按设计浓度称取酶和0.02%抗坏血酸,溶于水中。

注射嫩化液:用注射器将嫩化液均匀注射到肉各个部位,约每 1cm^3 肉中注射0.1mL嫩化液。

包装嫩化:注射后的肉块真空包装,在设计要求的温度、时间下完成酶扩散和嫩化处理。

急速冷却:在 $-10\sim-6$ 条件下,2h内使肉温降至4以下,在0~4下贮藏。

3.4 测定项目与方法

3.4.1 剪切力值

将厚约4cm、质量100g的肉样煮至70,冷却后顺肌丝方向取横截面为 1cm^2 的肌芯,用剪切力仪测定剪切力,每组做3次重复,取平均值 $[\text{N}/\text{cm}^2]$ 。

3.4.2 肌纤维直径

从肉样肌芯截取直径1cm的肉块,用10%甲醛溶液固定48h,经剥离后在显微镜下用测微尺测定。

3.4.3 失水率

取面积 \times 高为 $5\text{cm}^2 \times 1\text{cm}$ 的肉样,用应变式无侧限压缩仪施加343N(35kg)压力,保持5min,称量计算。

$$\text{失水率} = \frac{\text{加压前肉样质量} - \text{加压后肉样质量}}{\text{加压前肉样质量}} \times 100\%$$

3.4.4 感官评定

根据GB 2708-94中鲜牛肉感官标准进行。

肉色:在室内自然光线下,取肉样新鲜横切面与美式标准比色板中标准肉色对照打分。肌肉有光泽,呈均匀鲜红色得2分。

组织状态:观察肉表有无粘液,指压后弹性。肌肉坚韧,表面无粘液,指压后凹陷立即恢复得3分。

煮沸后汤汁:取50g肉样切成 1cm^3 方丁,放入烧瓶加水煮6min,观察汤汁混浊度、气味、漂浮油滴等。

汤汁澄清透明,有脂肪滴漂浮,无异味得2分。

品评:由7人品评小组对煮制后肉样从嫩度、柔软性、汁液性、嚼后残渣量进行综合评定。肌纤维容易咬断,柔软性及汁液好,仅留少量残渣得3分。

对照组真空包装后,在与各试验组相应的温度、时间下存放与试验组同时打分取平均值。

3.5 贮藏试验

为了解酶处理对冷却牦牛肉贮藏性的影响,本研究将肉样嫩化处理后,在0~4条件下贮藏,每天观察其色泽、风味、组织状态并根据GB 2708-94鲜牛肉感官标准^[11]进行十分制打分(见3.4.4),稍有异味时(得分6分)即判定为次鲜肉,之前为鲜肉。

4 结果与分析讨论

4.1 嫩化液用水量确定

在酶浓度、处理温度、时间均相同条件下,不同用水量对肉质的影响结果见表2。

表2 用水量与肉质

Table 2 Water use amount and meat quality

用量	肉质表现
2%	表面无渗出液,切面中肌纤维纹理差异较大,扩散及嫩化不均匀
3%	表面无渗出液,肌纤维纹理均匀细致,扩散及嫩化较均匀
4%	表面有渗出液,肌纤维纹理均匀细致,扩散及嫩化均匀
5%	表面渗出液较多,切面有水样感,扩散及嫩化均匀

结果表明,水的用量越大,酶分布扩散越均匀,嫩化效果越好,但同时肉表面渗出液越多,肉的感官表现越差。综合考虑,本研究选用3%的加水量。

4.2 生产工艺

本研究采用热分割法,在冷却前进行嫩化液的注射、包装、扩散嫩化,最后冷却。生产工艺流程图1。

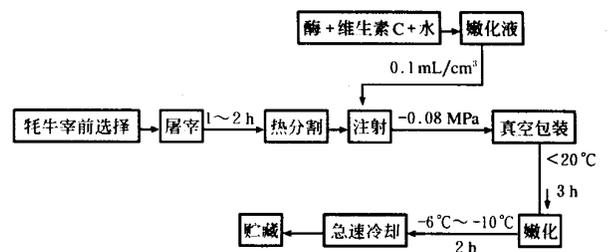


图1 冷却牦牛肉酶嫩化生产工艺流程图

Fig 1 Process chart of tenderizing technology for chilled yak meat

4.3 最佳嫩化工艺参数确定

根据表1所列实验因子和水平,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,以剪切力降幅为指标,通过直观及方差分析,选择最佳嫩化条件,结果见表3。

以上分析结果表明:

1) $F_A > F_B > F_C > 1$,说明3种因素对嫩化效果均有影响,各因素影响的主次顺序为ABC。由 $F_A > F_{0.01}$ 、 $F_B > F_{0.05}$ 、 $F_C < F_{0.05}$ 知,酶浓度和处理温度对嫩化效果有显著影响,处理时间影响较小。

2) 从各因素水平对耗牛肉嫩化效果影响看, $K_{3A} > K_{2A} > K_{1A}$, 说明在酶浓度适宜范围内, 浓度越大, 嫩化效果越好。这是因为酶促反应符合质量作用定律, 产物的生成取决于酶与底物形成中间产物的浓度, 酶浓度越高, 中间产物浓度越大, 反应速度也越快, 效果越好。

表 3 正交试验结果与方差分析

Table 3 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal experiment and analysis of variance

试验组	A	B	C	D	剪切力降幅/%
1	1(3)	1(10)	1(2)	1	33.66
2	1(3)	2(15)	2(3)	2	40.36
3	1(3)	3(20)	3(4)	3	44.73
4	2(6)	1(10)	2(3)	3	42.23
5	2(6)	2(15)	3(4)	1	45.36
6	2(6)	3(20)	1(2)	2	46.96
7	3(9)	1(10)	3(4)	2	54.02
8	3(9)	2(15)	1(2)	3	56.88
9	3(9)	3(20)	2(3)	1	62.95
K_1	118.75	129.91	137.50	141.97	$T = 427.15$
K_2	134.55	142.60	145.54	141.34	
K_3	173.85	154.64	144.11	143.84	$CT = \frac{T^2}{9} = 20273.01$
$Q_j \times (\frac{1}{3} K_j^3)$	20809.70	20374.97	20285.28	20274.14	
偏差平方 ($Q_j - CT$)	536.69	101.96	12.27	1.13	
自由度 f	2	2	2	2	
平均偏差平方和 S/f	268.35	50.98	6.14	0.57	
F 值	470.79**	89.44*	10.76		

注: [$F_{0.05}(2, 2) = 19, F_{0.01}(2, 2) = 99$], 表中 D 为空列, 用以计算 R_e 值判断各因素的可靠性。

3) $K_{3B} > K_{2B} > K_{1B}$, 说明处理温度越高, 酶嫩化效果越好。因为木瓜蛋白酶活性的最适温度范围是 10~85, 本研究所采用的温度为 10、15、20, 符合在最适温度下, 随温度升高, 酶活性增强的规律。在处理时间上, $K_{2C} > K_{3C} > K_{1C}$, 处理时间过长或过短嫩化效果均不好。时间短反应不充分, 则效果差; 但时间过长嫩化效果差的机理尚不完全清楚, 可能是随着时间的推移, 肉自身成熟过程导致 pH 值下降对酶活性产生一定影响所致。

4) 从各因素组合效果看, 第九组嫩化效果最好, 但该组处理后, 肉的嫩度降得过低(见图 2、表 5), 弹性受到影响, 感官性状下降。故选择嫩化效果和肉质表现均较好的第 8 组合(A₃B₂C₁), 而时间对结果的影响较小, 可用效果最好的水平, 因此本研究最后确定最佳嫩化条件为: 酶浓度 9 mg/kg, 处理温度 15, 处理时间 3 h, 即 A₃B₂C₂ 组合。

4.4 验证试验

为进一步检验最佳嫩化条件的可靠性, 本研究进行了重复验证试验, 结果见表 4。验证结果表明, 用 A₃B₂C₂ 组合处理的肉样, 与方差分析所选择的 A₃B₂C₁ 组相比, 感官得分高 0.3 分, 剪切力低 3.63 N/cm², 说明本研究确定的最佳嫩化条件是可靠的。

表 4 最佳组合验证试验结果

Table 4 Results of best combinations validate test

组别	感官得分	剪切力 /N · cm ⁻²
A ₃ B ₂ C ₁ 组合	9.1	43.93
A ₃ B ₂ C ₂ 组合	9.4	37.75
对照组	7.6	101.98

4.5 感官评定

根据 GB 2708-94 中鲜牛肉感官标准, 对肉色、组织状态、煮沸后汤汁及口感进行评定打分, 结果见表 5。

表 5 感官评定结果

Table 5 Results of sensory evaluation

组别	色泽	组织状态	煮制后汤汁	品评	总分
1	1.68	2.77	1.83	1.96	8.24
2	1.74	2.76	1.85	1.98	8.33
3	1.71	2.75	1.79	2.12	8.37
4	1.67	2.73	1.79	2.37	8.56
5	1.72	2.71	1.78	2.35	8.56
6	1.82	2.68	1.75	2.53	8.78
7	1.73	2.67	1.73	2.68	8.81
8	1.74	2.62	1.75	2.79	8.90
9	1.71	2.54	1.68	2.67	8.60
对照组	1.33	2.78	1.85	1.45	7.41

由表 5 可知, 试验组综合感官表现均好于对照组, 平均分 8.58 分比对照组高 1.17 分。1) 在色泽上, 试验组采用了抗坏血酸护色, 其通过自身氧化消耗食品和环境中的氧, 使肉的氧化还原电位下降到还原范畴, 并且抑制不良氧化反应的产生以维持耗牛肉良好的色泽, 所以实验组色泽明显好于对照组。2) 木瓜蛋白酶注入肉中, 水解肌纤维结构蛋白和结缔组织蛋白, 使肌肉结构受到一定程度破坏, 肌纤维发生弯曲和溶断现象, 使肉的弹性受到一定影响, 煮制时分解物溶出, 使汤汁出现混浊现象。这种影响程度与嫩化效果成反比, 尤以第九组较为突出。鉴于此, 选用了第 8 组合为最佳嫩化工艺参数。3) 肉中胶原蛋白的交联数和强度是影响肉质老化的主要原因。木瓜蛋白酶能使胶原蛋白溶解, 使肉的结构松弛易于咀嚼。同时肌原蛋白分解, 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^[5-7]。

4.6 剪切力测定

将各组肉样煮制、冷却后顺肌丝方向取横截面为 1 cm² 的肌芯, 用剪切力仪测定剪切力, 每组做 3 次重复, 取平均值, 结果见图 2。

图 2 表明, 试验组剪切力均低于对照组, 平均降幅 53.93%。这是因为在酶作用下, 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。同时胶原蛋白被水解, 降低了其本身强度和对肌纤维的束缚, 从而使肉的剪切力值降低。但剪切力值过低, 说明嫩化过度, 使肉的适口性下降(如第 9 组)。据 M.F. Miller 等(1993)报道, 牛肉剪切力在烹调时可接受的范围是 42.17~50.99 N^[5,8,9]。这与感官评定结果相符。

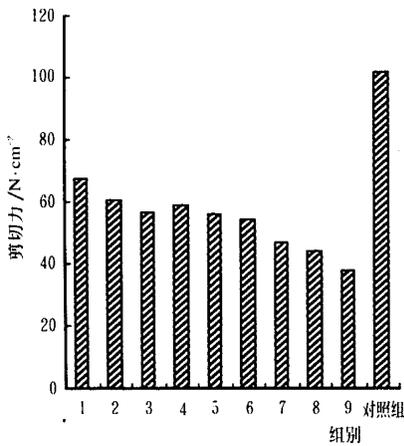


图2 试验组与对照组剪切力值

Fig 2 Shearing force of the test groups and the controlled group

4.7 失水率和肌纤维直径

为检验酶处理后肉质的变化情况,用应变式无侧限

压缩仪和测微尺测定肉样的失水率、肌纤维直径,结果见表6。

由表6可知,试验组平均失水率(34.79%)、平均肌纤维直径(47.6 μm)均小于对照组,这是因为1)在酶的作用下会有肌动球蛋白分解生成肌球蛋白和胶原蛋白分解转化成明胶态两种变化,都能使肉的保水性提高,失水率降低。2)牦牛肉在木瓜蛋白酶作用下,肌钙蛋白与原肌球蛋白的结合亚基消失,同时出现分子量28~32 kDa(千道尔顿)的多肽,这样,位于肌节的明带Troponin-T降解,使肌纤维直径变细。胶原蛋白的分解,也会使肌纤维变细^[10]。

4.8 贮藏试验

为了解酶处理对冷却牦牛肉贮藏性的影响,本研究将肉样嫩化处理,在0~4条件下贮藏,根据GB 2708-94鲜牛肉感官标准,观察其色泽、风味、组织状态,根据3.4.4条件进行十分制打分,稍有异味时(得分6分)即判定为次鲜肉,之前为鲜肉,结果见表7。

表6 失水率和肌纤维直径

Table 6 Rate of water loss and the diameter of muscle fiber

组别	1	2	3	4	5	6	7	8	9	对照组
失水率/%	35.3	36.8	33.8	39.5	34.2	37.5	35.6	29.5	30.9	40.7
肌纤维直径/μm	50.63	48.68	48.45	48.93	46.13	46.55	49.4	45.55	44.5	55.63

表7 贮藏试验结果

Table 7 Results of preservation test

组别	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d
1	9.5	9.2	8.9	8.4	7.9	7.4	6.8	<6	—
2	9.5	9.3	8.9	8.5	8.1	7.5	6.9	<6	—
3	9.6	9.3	8.8	8.2	7.8	7.4	6.9	6.3	<6
4	9.5	9.2	8.7	8.2	7.7	7.3	6.8	<6	—
5	9.7	9.5	8.9	8.3	7.9	7.3	6.9	6.4	<6
6	9.7	9.4	9.0	8.6	8.3	7.8	7.3	6.7	6.3
7	9.8	9.5	9.0	8.5	7.9	7.5	7.0	6.2	<6
8	9.8	9.7	9.3	8.8	8.4	7.9	7.5	6.9	6.4
9	9.4	9.1	8.7	8.1	7.6	7.2	6.7	<6	—
对照组	9.9	9.7	9.2	8.9	8.6	8.0	7.5	6.6	6.3

在贮藏期内,1)试验组在组织状态、煮制后汤汁方面变化不明显,说明在0~4条件下,木瓜蛋白酶活性受到抑制,对肌肉组织的分解作用基本停止,这种对冷却牦牛分割肉的酶嫩化处理方法是可行的。2)在贮藏性上,试验组与对照组差异不明显,试验组平均贮藏期7.8 d,最长可达9 d与对照组相同,这说明用木瓜蛋白酶嫩化处理冷却牦牛肉,只部分破坏了肉的结构,使其松弛,对肉的贮藏性基本无影响。

5 结论

1)通过L₉(3⁴)正交试验及方差分析,并经重复验证选择出最佳冷却牦牛分割肉酶嫩化工艺参数:酶浓度9 mg/kg,处理温度15℃,处理时间3 h。

2)试验组感官评定平均得分8.58分,在色泽、口感方面表现优于对照组。在组织状态上与对照组无明显

区别。

3)试验组平均剪切力(53.54 N/cm²)、失水率(34.79%)、肌纤维直径(47.6 μm),分别比对照组低48.44 N/cm²、5.91%、8.03 μm,说明木瓜蛋白酶对冷却牦牛肉嫩化效果显著。

4)用木瓜蛋白酶处理冷却牦牛肉,对肉的贮藏性无明显影响,在不采取任何其它保鲜措施的情况下,经真空包装,在0~4条件下最长贮藏期可达9 d。

5)确定了酶嫩化冷却牦牛分割肉的生产工艺,方法简单,实用性强,适合工厂化生产。

[参考文献]

- [1] 《中国牦牛学》编写委员会. 中国牦牛学[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1989, 1~105.
- [2] 韩玲. 速溶牦牛油茶生产工艺及参数研究[J]. 农业工程学报, 2002, (3): 113~116.
- [3] 刘学文, 王文贤, 冉旭等. 嫩化型牛肉干的研究开发[J]. 食品科学, 2002, (3): 106~108.
- [4] 马美湖, 唐晓峰. 牛肉嫩化技术的初步研究[J]. 肉类研究, 2001, (2): 16~20.
- [5] 陶祥锦, 张玉华. 提高肉类嫩度的方法和机理[J]. 山东食品科技, 2001, (9): 23~25.
- [6] 晋艳曦. 不同方法对牛肉干嫩化效果的研究[J]. 肉类研究, 1999, (1): 22~25.
- [7] Lee Y B, Ashmore Cr. Effect of early postmortem temperature on beef tenderness[J]. Anim Sci, 1995, (60): 158~159.
- [8] 孔保华, 冯一兵. 肌肉蛋白酶和肉的成熟嫩化[J]. 肉类研究, 1994, (4): 15~17.

- [9] 杨 兰 酶法水解鸡肉蛋白及其水鲜液脱苦方法的研究 [J]. 食品工业科技, 1999, (2): 20~ 23
- [10] Koo Marie M, Doumit M E, Wheeler T L. Meat toughening does not occur when rigor shortening is prevented [J]. Anim. Sci, 1996, (74): 2935~ 2942
- [11] GB 2708-94 牛肉、羊肉、兔肉卫生标准[S]

Tenderizing technology for chilled cut yak meat by fermentation

Han Ling

(Department of Food Sciences and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Yak meat characterized by its bright red color and luster, its purity of flavor and its rich nutrition. Yet its muscle fibre is very thick, and "cold shrink" phenomenon makes its texture hard, and the degree of tenderness is lower. In order to improve both the tenderness of chilled cut yak meat and its quality, the present study applied a tenderizing treatment to chilled cut yak meat with papain. Using $L_9(3^4)$ orthogonal experiment design, a series of the best tenderization technical parameters were selected: the concentration of papain is 9 mg/kg, the reaction temperature is 15 °C, the reaction time is 3 h. After tenderizing, vacuum packaging and quick chilling, meat is preserved at 0~ 4 °C. The results showed that papain can decrease the shearing force (48.44 N/cm²), the diameter of muscle fiber (8.03 μm), and the rate of water loss (5.91%). It also improves the taste and does not affect its shelf life (0~ 4 °C, 9 d). These processes are simple and inexpensive and can be applied to industrialized production.

Key words: chilling cut meat; yak; papain; tenderization