

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2015.04.020

# 三峡库区牛肉复合酶快速嫩化技术<sup>①</sup>

肖 夏, 李洪军, 贺稚非

西南大学 食品科学学院, 重庆 400716

**摘要:** 以三峡库区丰都县西门塔尔与蒙古牛杂交牛的牛肉为研究对象, 在较低温度下采用复合酶快速嫩化牛肉. 选用木瓜蛋白酶与菠萝蛋白酶 1:1 复合, 采用注射浸泡法嫩化牛肉. 在不同酶添加量、嫩化时间、嫩化温度、pH 下测定了牛肉的剪切力、质构特性、熟肉率等指标, 并分析指标间相关性. 通过正交试验获得最佳工艺条件为复合酶添加量 0.03%, 嫩化时间 20 min, 嫩化温度 20 ℃, pH 中性. 嫩化后样品剪切力降至 3 727.6 g, 弹性 0.875, 内聚性 0.382, 表明该条件下处理牛肉能显著提高肉品的嫩度, 保持较好的弹性、内聚性及熟肉率, 适于进行肉制品加工.

**关键词:** 丰都牛肉; 快速嫩化; 质构特性; 加工品质

**中图分类号:** TS251.5+2

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9868(2015)04-0114-09

牛肉营养丰富, 深受消费者喜爱. 但因其富含结缔组织, 肉质较硬, 造成感官嫩度评分低<sup>[1-2]</sup>. 我国肉牛产业开始注重提升产品竞争力, 越来越多地推出高附加值的低温肉制品、熟肉制品. 工业生产中, 牛肉的嫩化意味着肉品质地的提高以及熟制时间的缩短, 学者对此做了大量研究. 其中最快速有效的方法是添加外源蛋白酶<sup>[3-4]</sup>. 外源蛋白酶大多具有将肉类蛋白质的大分子蛋白水解为易吸收的小分子蛋白与氨基酸使之嫩化, 同时水解的氨基酸和多肽能增加肉制品的风味与营养, 该方法简单易行, 一直受到肉类加工行业的重视<sup>[5]</sup>. 考虑到食品加工的特殊性, 为避免微生物大量繁殖, 应尽量短时、低温. 山东大学赵国琰<sup>[6]</sup>对一种嗜冷蛋白酶 MCP-01 在肉类嫩化中的应用进行了研究, 但目前看来其来源太少, 价格昂贵, 并不适于工业生产. 对一般蛋白酶嫩化肉品的研究, 如植物性蛋白酶(木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、生姜蛋白酶、猕猴桃蛋白酶)<sup>[2-3, 7-10]</sup>, 动物性蛋白酶(胰酶、胶原酶)<sup>[4, 11]</sup>, 微生物蛋白酶(枯草杆菌的碱性蛋白酶、中性蛋白酶、嗜热芽孢杆菌的耐热性蛋白酶、米曲霉蛋白酶)<sup>[2, 12-13]</sup>, 均集中于中温条件下的嫩化. 因此本文选择安全廉价、应用最多的菠萝蛋白酶和木瓜蛋白酶, 探索在相对较低温度下快速嫩化牛肉的方法.

本文以三峡库区丰都县的西门塔尔与蒙古牛杂交牛的牛肉为研究对象, 采用不同比例、不同浓度的木瓜蛋白酶与菠萝蛋白酶注射浸泡处理牛肉, 在不同的时间、温度、pH 下测定其剪切力、质构特性、熟肉率的变化, 为改善牛肉品质, 提高其加工适性提供实验参数.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

三峡库区优质肉牛后腿肌肉, 购自丰都县恒都牛厂. 清洗修整, 剔除表面脂肪、结缔组织, 分袋密封包

① 收稿日期: 2014-06-03

基金项目: 国家自然科学基金(31071566); 三峡库区优质肉牛安全生产关键技术集成与示范(2011BAD36B01).

作者简介: 肖夏(1989-), 男, 四川资阳人, 硕士研究生, 主要从事食品微生物学的研究.

通信作者: 贺稚非, 教授, 博士研究生导师.

装, 于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻藏.

木瓜蛋白酶(200 ku/g)、菠萝蛋白酶(300 ku/g), 广西南宁东华恒道生物科技有限责任公司; 磷酸氢二钠及磷酸二氢钠, 成都市科龙化工试剂厂.

## 1.2 仪器与设备

DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海齐欣公司; TA.XT2i 型物性测定仪, 英国 Stable Micro System 公司; UB-7 型 pH 计, 德国 Sartorius AG 公司; HH-4 型数显恒温水浴锅, 国华电器有限公司; TP3001 型食品中心温度计, 北京飞扬天地科技有限公司; RXZ-500D 型人工气候箱, 宁波东南仪器有限公司.

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 牛肉嫩化处理方法

原料肉分割为  $3\text{ cm}\times 3\text{ cm}\times 2\text{ cm}$  小块. 将复合蛋白酶溶于 100 mL 磷酸缓冲液(pH 为 7.0)配制成酶溶液. 肉样与酶溶液均置于人工气候箱, 备用.

采用多次均匀注射法, 每块样品注射酶液 15 mL<sup>[14]</sup>, 滚动揉搓 5 min, 使酶液在样品内部分布均匀, 然后将样品放进酶液中进行浸泡嫩化处理. 以同样处理条件不添加蛋白酶的样品为对照.

### 1.3.2 木瓜蛋白酶与菠萝蛋白酶复合比例的确定

两种酶都是最常用的中温蛋白水解酶. 木瓜蛋白酶最适 pH 为 5~8, 菠萝蛋白酶最适 pH 为 6~7<sup>[15]</sup>. 通过预试验确定两种酶最适添加量范围. 设置木瓜与菠萝蛋白酶之间比例为 3:1, 3:2, 2:1, 1:1, 1:2, 2:3, 1:3, 在添加量 0.02%, 作用温度  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 处理时间 30 min 条件下进行分组试验, 以单独添加木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶以及不添加蛋白酶的 3 组样品为对照组. 测定各组处理样品的剪切力.

### 1.3.3 单因素试验设计

两种酶按 1:1 比例复合, 酶添加量(肉质量分数)为 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%. 以不添加嫩化酶的样品做对照. 各组样品均在  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pH 为 7.0 条件下嫩化处理 30 min. 测定样品的剪切力、质构特性、熟肉率, 确定适宜的酶添加量.

各组样品均添加 0.02% 复合蛋白酶, 在  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pH 为 7.0 条件下分别处理 10, 30, 50, 70 min. 测定样品的剪切力、质构特性、熟肉率, 确定适宜的酶嫩化时间.

各组样品均添加 0.02% 复合蛋白酶, 分别在 0, 20, 30, 37, 50  $^{\circ}\text{C}$ , pH 为 7.0 条件下作用 30 min. 测定样品的剪切力、质构特性、熟肉率, 确定适宜的酶嫩化温度.

各组样品均添加 0.02% 复合蛋白酶, 分别在 pH 为 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0,  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  下作用 30 min. 测定样品的剪切力、质构特性、熟肉率, 确定适宜的酶嫩化 pH.

### 1.3.4 嫩化条件优化

通过单因素试验, 选择酶添加量、嫩化时间、嫩化温度、pH 4 个因素, 研究其对牛肉剪切力、质构特性的影响. 为获得最佳牛肉嫩化条件, 设计  $L_9(3^4)$  正交试验.

### 1.3.5 熟肉率

准确称取切分好的 50.0 g 形状大小相近的牛肉样品, 装入蒸煮袋中, 密封, 于  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴锅中加热. 当样品的中心温度达到  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  时, 取出样品, 冷却至常温, 滤纸擦干表面水分, 用电子天平准确称质量并记录数据. 试样加热后质量与加热前质量的百分比作为该试样的熟肉率, 按公式(1)计算:

$$\text{熟肉率} / \% = \frac{A_2}{A_1} \times 100 \quad (1)$$

其中:  $A_1$  为试样加热前质量,  $A_2$  为试验加热后质量.

### 1.3.6 TPA 测试

依据文献[16—17]方法加以改进. 采用质构仪测定样品的质构, 使用 Texture Exper4.0 软件控制. 测

定参数:探头型号:P5;测试模式:TPA;测试前速度:5 cm/s;测试速度:2 cm/s;测试后速度:2 cm/s;压缩比:50%;时间:20s;触发力:5 g;探头距离30 mm.

测前样品用滤纸擦干,于4℃放置1 h.将样品切分为2 cm厚的肉块,肉块表面平整,随机选取3个点,以硬度、弹性、内聚性为主要指标,沿肌纤维垂直方向测量,每组至少6次重复,取平均值.

### 1.3.7 剪切力测定

根据国标方法<sup>[18]</sup>以及文献<sup>[19]</sup>加以改进,采用质构仪测定样品的嫩度,使用Texture Exper4.0软件控制.测定参数:探头型号:HDP/BSW;测试模式:compression;测试前、后速度均为5 cm/s;测试速度:2 cm/s;探头距离:30 mm;剪切距离:40 mm;触发力:5 g.

将处理好的样品置于高温蒸煮袋内,排出袋内气体,于90℃水浴中加热至样品中心温度达到70℃.取出蒸煮袋,流动水隔袋冷却,肉样于0~4℃放置2h.顺肌纤维方向切取厚为1.0 cm,宽为1.0 cm,长为2.5 cm的肉条.重复测定5次,取平均值.

## 1.4 统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用SPSS 17.0软件对各指标进行分析,差异性分析采用LSD法,并计算指标间皮尔逊相关系数,应用excel 2007作图.

## 2 结果与分析

在TPA测试所得硬度、弹性、内聚性、胶着性、咀嚼性、回复性6个指标中,硬度、胶着性、咀嚼性、回复性代表肉的咀嚼特性,弹性、内聚性代表肉的抗压特性.马龙等<sup>[20]</sup>通过对牛肉质构特性测定结果进行主成分分析,发现硬度、弹性、内聚性三者累计方差贡献率达到98.14%,基本涵盖了样品质构指标特征.因此本试验将TPA测试结果也分为两部分:硬度与剪切力测定结果一起说明肉的嫩度变化情况,弹性与内聚性同熟肉率结果一起,部分说明样品加工抗压特性的变化.文中所有图内大小写字母不同表示各处理间差异有统计学意义( $p < 0.05$ ).

### 2.1 木瓜蛋白酶与菠萝蛋白酶复合比例的确定

剪切力是指测试仪器刀具切断被测样品时所用的力,值越低样品嫩度越高<sup>[21]</sup>.

由图1可知,各组样品测得剪切力值均显著低于空白对照组,降幅均在40%以上.在该实验条件下,木瓜蛋白酶组样品剪切力值低于菠萝蛋白酶组,说明单独使用时木瓜蛋白酶能更有效地嫩化牛肉,Sullivan等<sup>[2]</sup>的研究得出了相同结论.当两种酶以3:1,1:1复合时,测得剪切力值均低于单一酶组样品.其中当两种酶复合比例为1:1时,样品剪切力值最低,为3 657.3 g,显著低于其余实验组.说明在试验条件下,该比例复合酶有较好的协同作用,能更好地对牛肉进行嫩化.

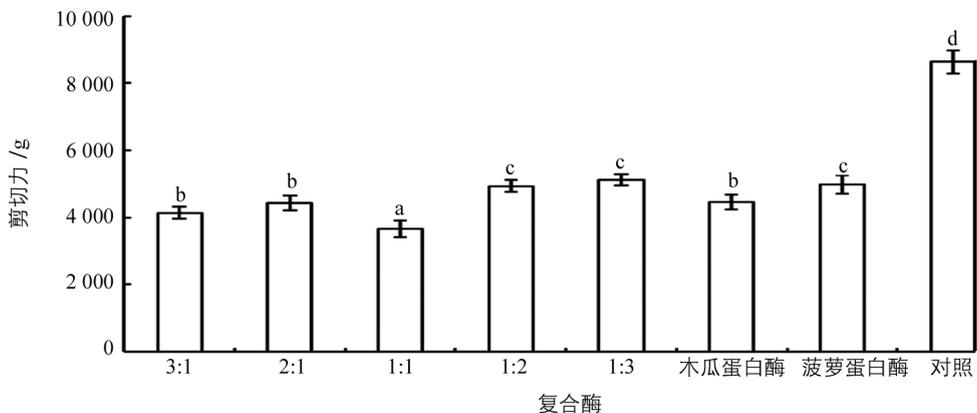


图1 嫩化酶复合比例对牛肉嫩度的影响

## 2.2 复合酶添加量对牛肉嫩度的影响

硬度是指食品变形或穿透产品所需的力有关的机械质地特性,是保持物体形状的内部结合力,硬度越高,嫩度越低<sup>[16]</sup>。

由图 2 所示,随着复合酶添加量的增加,样品剪切力与硬度均显著降低,且二者之间 Pearson 相关系数为 0.984,呈极显著正相关,这是因为嫩化过程中,酶水解肌原纤维蛋白、胶原蛋白,使牛肉内部蛋白质空间结构发生变化<sup>[22]</sup>,肽键断裂,质地变嫩,导致了切断肉样以及使肉样形变所需的力同时显著降低,二者能同时说明样品的嫩度升高,这一点与陈磊<sup>[21]</sup>、刘兴余<sup>[23]</sup>等人研究结果相同。

样品的剪切力与硬度在复合酶添加量 0.01%~0.03% 的范围内急速下降,当添加量为 0.03% 时,剪切力值降至 2 728.3 g,根据预试验结果,当样品剪切力下降到 3 000 g 左右时,开始出现内部软烂,外观及形态完整性不能很好保持,感官上不被接受,可视为嫩化过度<sup>[7]</sup>。因此最适添加量为 0.02% (3 905.2 g)。

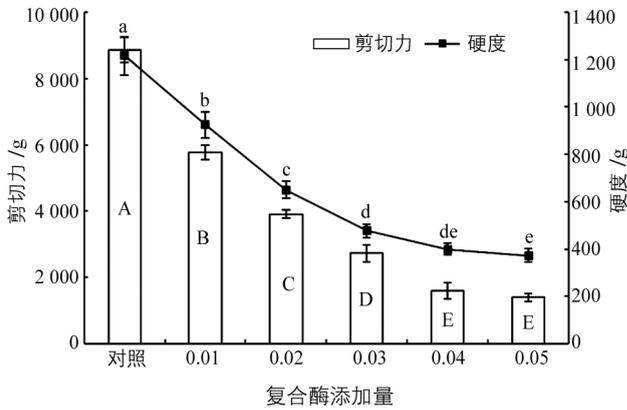


图 2 复合酶添加量对牛肉嫩度的影响

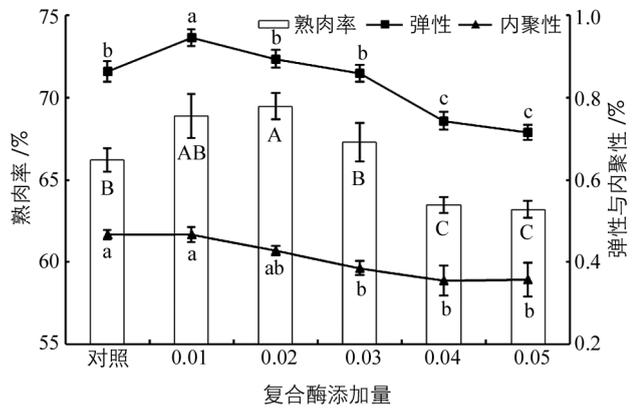


图 3 复合酶添加量对牛肉物性及熟肉率的影响

弹性是指物体形变之后恢复原形态的能力,肉品的弹性由蛋白质及其水化层决定,因此与蛋白质理化变化相关,同时一定范围内与肉品含水量密切相关<sup>[23]</sup>。内聚性是指食品咀嚼时保持完整的能力,代表了样品内部结合键强度,同样与蛋白变化密切相关,与肉品感官品质密切相关<sup>[24]</sup>。熟肉率代表了肉品系水力、加工损失的大小。

由图 3 所示,随着复合酶添加量增加,弹性与熟肉率先升高后降低,内聚性总体呈下降趋势,少量添加复合酶(0.01%~0.02%)时,弹性、熟肉率比对照组有所提高,这可能是因为酶作用使肉样蛋白结构发生变化,吸附了一定水分使含水量增加,随后降低则是因为酶解导致肌纤维间空隙增大而不能保持水分,这一点与胡永金<sup>[25]</sup>、明建<sup>[7]</sup>等人研究相符。综合看弹性、内聚性、熟肉率 3 项指标,也印证了前述当剪切力降至 3 000 g 时,样品的感官状况:内部软烂、不能保持形态完整、水分大量流失,结合剪切力测定结果,选择 0.02% 作为最优添加量。

## 2.3 复合酶嫩化时间对牛肉嫩度的影响

如图 4 所示,随着复合酶作用时间延长,样品的剪切力、硬度显著降低,嫩度升高,且二者之间皮尔逊相关系数达 0.955,极显著正相关。在 10~50 min 之间,样品嫩度急速升高。当嫩化时间为 50 min 时,样品的剪切力值降低至 2 769.8 g,虽然剪切力值低,但是同样属于嫩化过度。嫩化时间为 30 min 时,样品的剪切力值为 3 933.5 g,嫩度较高,嫩化效果较好。

如图 5 所示,处理时间在 10~30 min 内,样品的熟肉率、弹性、内聚性 3 个指标有较好测定结果,说明在该范围内样品因为蛋白酶的作用系水力、含水量有所增加,抗压性质也保持得较好。综合来看,认为较优的嫩化时间为 30 min。

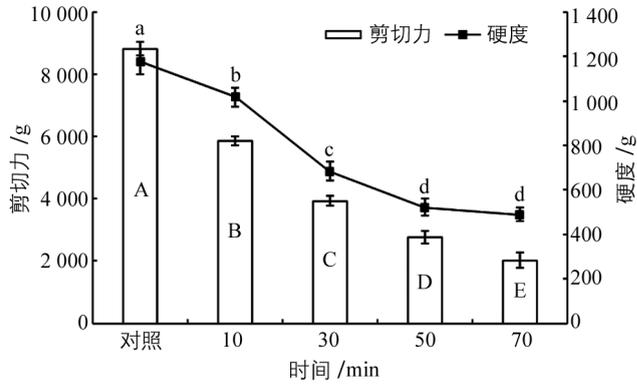


图4 酶处理时间对牛肉嫩度的影响

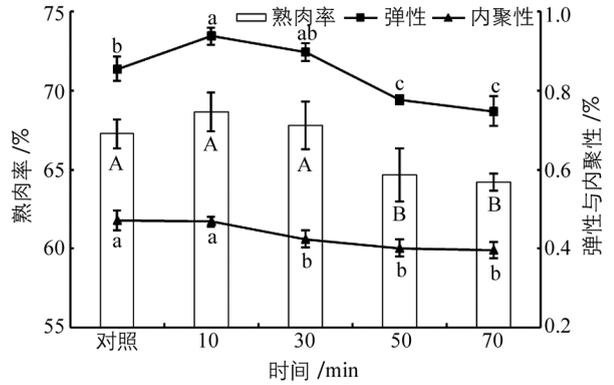


图5 酶处理时间对牛肉物性及熟肉率的影响

## 2.4 复合酶嫩化温度对牛肉嫩度的影响

由图6可知,随着复合酶作用温度的升高,样品的剪切力、硬度显著降低,嫩度升高,且二者之间皮尔逊相关系数达0.969,极显著正相关。0℃组样品剪切力为8472.0g,与对照组(8731.2g)相比,仅有少许下降,不显著。说明当作用温度为0℃时,复合酶短时间内不会对牛肉的嫩度造成显著影响。在0~37℃间,样品嫩度快速升高。50℃时,样品剪切力低于3000g,嫩化过度。因此认为复合酶在37℃(3107.2g)下处理牛肉所得样品嫩度最佳。

如图7所示,作用温度在20℃时,样品的熟肉率有一定提高,系水力较好。在20~30℃范围,样品弹性有所提高,同时内聚性在20℃时保持得较好。说明复合酶在20℃左右嫩化牛肉所得产品拥有较好的质构特性,系水力较佳,加工损失小。

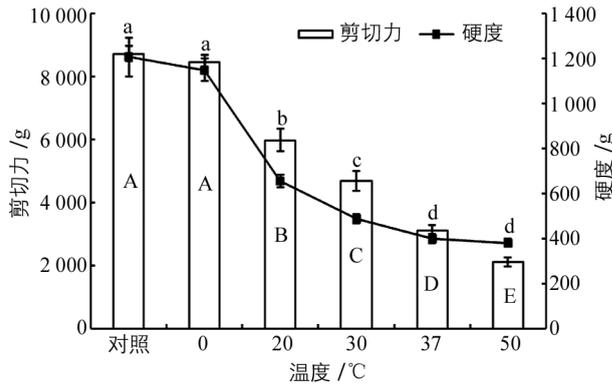


图6 酶嫩化温度对牛肉嫩度的影响

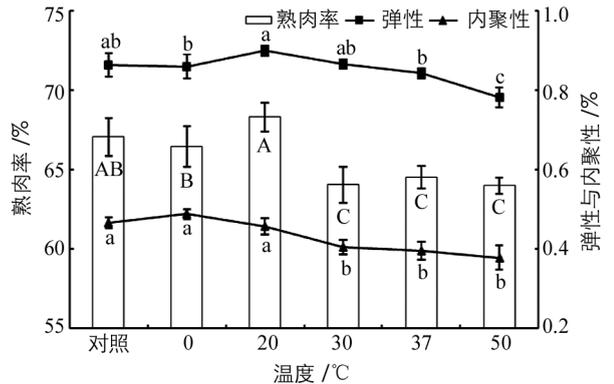


图7 酶嫩化温度对牛肉物性及熟肉率的影响

虽然37℃条件下样品嫩化情况最优,但是考虑到样品的质构特性,以及实际生产中在这个温度下对肉品进行处理必然导致微生物大量繁殖,在之后的正交试验中,选择20℃作为中心点。

## 2.5 复合酶缓冲液pH对牛肉嫩度的影响

如图8所示,复合酶所处缓冲液的pH值对牛肉的剪切力值有一定影响。在pH6.0~8.0的范围内,样品的剪切力与硬度总体呈先降后升的趋势。样品在pH6.0时剪切力值较高,嫩度较低。这可能是因为该pH接近肌球蛋白

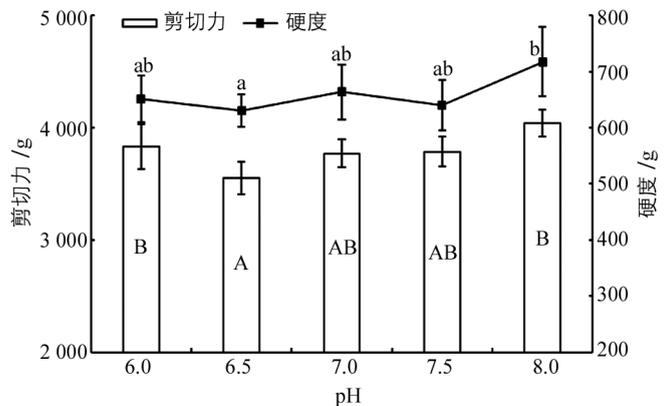


图8 酶嫩化pH对牛肉嫩度的影响

白的等电点(5.4),肉持水力低,嫩度差,这一点与朱秀娟<sup>[26]</sup>,明建<sup>[7]</sup>等人采用木瓜蛋白酶单独嫩化牛肉时测得的最适 pH 在 5.5 左右结论不同.而 pH8.0 则不在两种酶共同最适 pH 范围内.pH6.5 时剪切力最低,但剩余 3 个点差异不显著.除 pH8.0 时样品测得硬度值外,也没有显著变化.出现这样的结果原因可能是本试验采用的嫩化酶是木瓜与菠萝蛋白酶复合而成,二者最适 pH 分别为 5~8 和 6~7,复合之后在中性 pH(6.0~8.0)范围内对其活性影响不大.因此可以认为,在中性 pH 范围内,缓冲液 pH 值对复合酶嫩化牛肉没有显著影响.但不排除对其他因素有影响.选择 pH6.5 进行正交设计.

## 2.6 复合酶最佳嫩化条件优选

如表 1 所示,对各单因素试验质构及熟肉率测定结果进行相关性分析,弹性与内聚性、熟肉率皮尔逊相关系数均超过 0.6,极显著正相关,因此正交结果分析中选择弹性为代表进行分析.

正交试验设计方案及试验结果如表 2 所示,试验结果方差分析见表 3、表 4.

表 1 弹性、内聚性、熟肉率间皮尔逊相关系数表

	添加量弹性	添加量内聚性	温度弹性	温度内聚性	时间弹性	时间内聚性
添加量熟肉率	0.818**	0.716**	—	—	—	—
添加量内聚性	0.763**	—	—	—	—	—
温度熟肉率	—	—	0.603**	0.626**	—	—
温度内聚性	—	—	0.623**	—	—	—
时间熟肉率	—	—	—	—	0.832**	0.649**
时间内聚性	—	—	—	—	0.746**	—

注: \*\* 表示在 0.01 水平上显著相关,有统计学意义.

表 2 正交试验结果与分析

试验号	A	B	C	D	剪切力/ g	弹性
	复合酶添加量/ %	嫩化时间/ min	嫩化温度/ ℃	pH		
1	1(0.01)	1(20)	1(15)	1(6.0)	7 478.1	0.943
2	1	2(30)	2(20)	2(6.5)	6 905.3	0.931
3	1	3(40)	3(25)	3(7.0)	6 661.4	0.912
4	2(0.02)	1	3	2	6 015.2	0.899
5	2	2	1	3	6 383.9	0.908
6	2	3	2	1	5 982.7	0.884
7	3(0.03)	1	2	3	3 959.3	0.875
8	3	2	3	1	3 763.2	0.864
9	3	3	1	2	4 306.6	0.871
剪切力	k1	7 014.9	5 817.5	6 056.2	5 741.3	
	k2	6 127.3	5 684.1	5 615.8	5 742.4	
	k3	4 009.7	5 650.2	5 479.9	5 668.2	
R	3 005.2	167.3	576.3	74.2		
指标最优	A <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>3</sub>		
指标因素主次	ACBD					
弹性	k1	0.929	0.906	0.907	0.897	
	k2	0.897	0.901	0.897	0.900	
	k3	0.870	0.889	0.892	0.898	
R	0.059	0.017	0.016	0.003		
指标最优	A <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>		
指标因素主次	ABCD					
综合平衡最优组合	A <sub>3</sub> C <sub>2</sub> B <sub>1</sub> D <sub>2</sub>					

由表2可知,对于剪切力而言,极差 $R$ 由大到小顺序是 $A>C>B>D$ ,表明对牛肉嫩度影响最大的因素是复合酶的添加量,其次为嫩化温度,再次是嫩化时间,pH的影响最不明显,筛选水平组合为 $A_3B_3C_3D_3$ .对于弹性而言,极差 $R$ 由大到小顺序是 $A>B>C>D$ ,表明对牛肉弹性等质构特性影响最大的因素是复合酶的添加量,其次为嫩化时间,再次是嫩化温度,pH的影响最不明显,筛选水平组合为 $A_1B_1C_1D_2$ .

pH影响最小,以之为误差列进行方差分析.剪切力方差分析结果显示处理时间20 min,30 min,40 min,样品嫩度差异不显著( $p>0.05$ ),没有统计学意义.从生产实际考虑,选择处理时间20 min,pH则不用刻意调节.综合弹性方差分析结果,以嫩度为主要评定指标,优选出的嫩化条件为 $A_3B_1C_2$ ,即复合酶添加量0.03%,嫩化时间20 min,嫩化温度20℃.进行验证试验,并与正交试验中效果最好的第8组对比.

对比试验结果见表5,两组样品均能得到较好的嫩化效果.优化组与第8组对比,样品的嫩度无显著差异,验证了正交方差分析结果,嫩化时间对牛肉嫩化效果影响不显著.弹性指标稍优,表明在优化条件下进行嫩化,肉品的质构特性以及系水力能更好地保持.故确定 $A_3B_1C_2$ ,即复合酶添加量0.03%,嫩化时间20 min,嫩化温度20℃为最优嫩化条件.

表3 剪切力方差分析

方差来源	自由度	离差平方和	均方	F值	p值
A	2	1.430E7	7 151 734.043	1 318.262	0.001
B	2	46 934.060	23 467.030	4.326	0.188
C	2	544 515.487	272 257.743	50.185	0.020
误差	2	10 850.247	5 425.123		

表4 弹性方差分析

方差来源	自由度	离差平方和	均方	F值	p值
A	2	0.005	0.003	306.329	0.003
B	2	0.000	0.000	26.263	0.037
C	2	0.001	0.000	22.750	0.042
误差	2	1.689E-5	8.444E-6		

表5 验证试验结果

处理	嫩化条件	剪切力/g	弹性	内聚性
正交优化	$A_3B_1C_2$	3 727.6±93.7	0.875±0.013	0.382±0.017
正交第8组	$A_3B_2C_3$	3 763.2±149.6	0.864±0.009	0.384±0.011

### 3 结论

对使用两种来源丰富的蛋白酶进行牛肉的快速嫩化的工艺条件进行了探索,通过试验研究得到了嫩度适宜,质构特性、系水力都能较好保持,适于继续进行精深加工的牛肉.

木瓜蛋白酶与菠萝蛋白酶以1:1比例复合后对牛肉的嫩度有显著影响.通过正交试验得到的最佳优化条件是:复合酶添加量0.03%,嫩化时间20 min,嫩化温度20℃,pH在中性范围即可.在该条件下嫩化牛肉,能极大提高牛肉的嫩度,较好地保持系水力与抗压特性.对于牛肉精深加工而言,较低的嫩化温度与较短的嫩化时间能在一定程度上避免微生物大量繁殖,经嫩化的牛肉预计能提高其加工适性,缩短热处

理时间,降低能耗.

由正交试验结果显示,在复合酶嫩化牛肉时,各因素显著性次序由大到小为复合酶添加量,嫩化温度,嫩化时间,pH.酶添加量影响最大,pH影响最小.

### 参考文献:

- [1] RHEE M S, WHEELER T L, SHACKELFORD S D, et al. Variation in Palatability and Biochemical Traits Within and Among Eleven Beef Muscles [J]. *Journal of Animal Science*, 2004, 82(2): 534—550.
- [2] SULLIVAN G A, CALKINS C R. Application of Exogenous Enzymes to Beef Muscle of High and Low-Connective Tissue [J]. *Meat Science*, 2010, 85(4): 730—734.
- [3] LIZUKA K, AISHIMA T. Comparing Beef Digestion Properties of Four Proteolytic Enzymes Using Infrared Spectrometry and Chemometric Analysis [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80(9): 1413—1420.
- [4] HAYET B K, RYM N, ALI B, et al. Low Molecular Weight Serine Protease from the Viscera of Sardinella aurita with Collagenolytic Activity: Purification and Characterisation [J]. *Food Chemistry*, 2011, 124(3): 788—794.
- [5] 汤晓艳,周光宏,徐幸莲,等.肉嫩度决定因子及牛肉嫩化技术研究进展 [J]. *中国农业科学*, 2007, 40(12): 2835—2841.
- [6] 赵国琰.深海适冷蛋白酶 MCP-01 对胶原蛋白的催化机制及其在肉类嫩化中的应用基础研究 [D]. 济南:山东大学, 2011: 113—121.
- [7] 明建,曾凯芳,李洪军.木瓜蛋白酶嫩化牛肉效果的研究 [J]. *食品科学*, 2009, 30(7): 210—214.
- [8] HA M, BEKHIT A E, CARNE A, et al. Characterisation of Commercial Papain, Bromelain, Actinidin and Zingibain Protease Preparations and Their Activities Toward Meat Proteins [J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(1): 95—105.
- [9] HA M, BEKHIT A E, CARNE A, et al. Characterization of Kiwifruit and Asparagus Enzyme Extracts, and Their Activities Toward Meat Proteins [J]. *Food Chemistry*, 2012, 136(2): 989—998.
- [10] NAVEENA B M, MENDIRATTA S K, ANJANEYULU A S R, et al. Tenderization of Buffalo Meat Using Plant Proteases from Cucumis Trigonus Roxb (Kachri) and Zingiber Officinale Roscoe (Ginger rhizome) [J]. *Meat Science*, 2004, 68(3): 363—369.
- [11] 明建,曾凯芳,李洪军.胰蛋白酶嫩化牛肉效果的研究 [J]. *食品科学*, 2009, 30(5): 222—226.
- [12] 王稳航,刘婷,赵可,等.外源酶在肉品加工中的应用研究进展 [J]. *食品科学*, 2013, 34(15): 318—323.
- [13] HMIDET N, BALTI R, NASRI R, et al. Improvement of Functional Properties and Antioxidant Activities of Cuttlefish (*Sepia officinalis*) Muscle Proteins Hydrolyzed by *Bacillus Mojavensis* A21 Proteases [J]. *Food Research International*, 2011, 44(9): 2703—2711.
- [14] 李博文.酱牛肉生产加工中关键技术控制及对产品质量影响的研究 [D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2012: 42—44.
- [15] 曹健,师俊玲.食品酶学 [M]. 郑州:郑州大学出版社, 2011: 203—204.
- [16] 张馨木.质构仪测定冷鲜肉新鲜度方法的研究 [D]. 长春:吉林大学, 2012: 15—16.
- [17] PALKA K. The Influence of Post-Mortem Ageing and Roasting on the Microstructure, Texture and Collagen Solubility of Bovine Semitendinosus Muscle [J]. *Meat Science*, 2003, 64(2): 191—198.
- [18] 刘素英,刘勇军,尤华,等. NY/T 1180-2006 肉嫩度的测定 剪切力测定法 [S]. 北京:中国标准出版社, 2006.
- [19] LINDAHL G, LAGERSTEDT A, ERTBJERG P, et al. Ageing of Large Cuts of Beef Loin in Vacuum or High Oxygen Modified Atmosphere-Effect on Shear Force, Calpain Activity, Desmin Degradation and Protein Oxidation [J]. *Meat Science*, 2010, 85(1): 160—166.
- [20] 马龙,武杰,吴玲玲,等.酱牛肉肉质构特性主成分分析 [J]. *食品工业科技*, 2013, 34(8): 111—117.
- [21] 陈磊,王金勇,李学伟.仪器测定的猪肉肉质构性状与感官性状的回归分析 [J]. *农业工程学报*, 2010, 26(6): 357—362.
- [22] 董全,穆建稳,李洪军.腊牛肉腌制过程中酶对蛋白质变化影响的研究 [J]. *西南大学学报:自然科学版*, 2007, 29(7): 116—120.

- [23] 刘兴余,金邦荃,詹巍,等.猪肉质构的仪器测定与感官评定之间的相关性分析[J].食品科学,2007,28(4):245-248.
- [24] MA H J, LEDWARD D A. High Pressure/Thermal Treatment Effects on the Texture of Beef Muscle [J]. Meat Science, 2004, 68(3): 347-355.
- [25] 胡永金,吕东坡,朱仁俊,等. CaCl<sub>2</sub>和木瓜蛋白酶处理对羊肉品质的影响[J].食品科学,2010,31(11):123-127.
- [26] 朱秀娟,余群力,李儒仁,等.采用响应面优化法研究木瓜蛋白酶嫩化牦牛肉的条件[J].食品工业科技,2013,34(20):230-234.

## Compound Enzyme-Based Fast Tenderizing Technology for Beef from the Three Gorges Reservoir Area

XIAO Xia, LI Hong-jun, HE Zhi-fei

*School of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China*

**Abstract:** With the bovine muscle samples taken from Simmental x Mongo cattle hybrid in Fengdu County of the Three-Gorges Reservoir Area as the experiment material, the fast tenderizing technology of bovine muscles with a compound enzyme at relatively low temperature was studied. The compound enzyme was prepared with papain and bromelain in a proportion of 1 to 1 and used to treat the bovine muscles samples with injection and imbibition. The samples were subjected to shear force, texture property and cooked meat percentage determination at different enzyme dosages, treatment time and temperature and pH, and correlation analyses were made. The optimal technology conditions identified with an orthogonal test were 0.03% compound enzyme + treatment time 20 min and temperature 20 °C + pH 7.0. Under such conditions, the shear force was 3 727.6 g, springiness was 0.875 and cohesiveness was 0.382, suggesting that the tenderizer could significantly improve the tenderness of the bovine muscles under the optimal conditions while keeping satisfactory springiness, cohesiveness and cooked meat percentage.

**Key words:** Fengdu county beef; fast tenderization; texture property; processing quality

责任编辑 周仁惠

