

不同因素对秦川牛肉嫩化效果的影响

咎林森¹, 李林强^{1,2}, 张富新², 王迪²

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;

2 陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710062)

【摘要】【目的】研究不同因素对秦川牛肉嫩化效果的影响,探讨肌纤维间隙与嫩化效果的关系。【方法】以秦川牛肉(背最长肌)为原料,用不同质量浓度(3,5,7,9和11 g/L)的氯化钙注射及不同质量浓度(0.03,0.05,0.07,0.09和0.11 g/L)木瓜蛋白酶和不同质量浓度(2,4,6,8和10 g/L)的焦磷酸钠、磷酸氢二钠、三聚磷酸钠进行浸渍,于4℃放置3d,测定各处理肉样的剪切力,并对3种因素处理的最佳嫩化效果肉样作石蜡切片,测定肌纤维间隙。【结果】木瓜蛋白酶、氯化钙、焦磷酸钠均对牛肉有极显著的嫩化效果($P<0.01$),其中以0.09 g/L的木瓜蛋白酶、3 g/L的氯化钙和8 g/L的焦磷酸钠对牛肉的嫩化效果最为理想($P<0.01$);与氯化钙和焦磷酸钠相比,木瓜蛋白酶的嫩化效果较好,且与其嫩化效果的差异达极显著水平($P<0.01$),而氯化钙和焦磷酸钠对牛肉的嫩化效果无显著性差异($P>0.05$),这与以肌纤维间隙作为嫩化指标时的测定结果一致。【结论】木瓜蛋白酶、氯化钙和磷酸盐均对牛肉有极显著的嫩化效果($P<0.01$),但以木瓜蛋白酶的嫩化效果最佳;牛肉肌纤维间隙可以作为嫩化效果的评价指标。

【关键词】 秦川牛肉;嫩化效果;木瓜蛋白酶;磷酸盐;氯化钙

【中图分类号】 TS972.125⁺.1

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)12-0048-05

Influence of different factors on Qinchuan beef tenderization

ZAN Lin-sen¹, LI Lin-qiang^{1,2}, ZHANG Fu-xin², WANG Di²

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China)

Abstract:【Objective】The research investigated the tenderization effects of different factors on Qinchuan beef and explored the relationship between the muscle fibrils gap and tenderization effects.【Method】This study took fresh Qinchuan beef longissimus dorsi as raw material. Different concentrations of calcium chloride solutions (3,5,7,9 and 11 g/L) were injected and the beef was dipped into different concentrations of papain solutions (0.03,0.05,0.07,0.09 and 0.11 g/L) and three kinds of phosphate salt (sodium hydrogen phosphate and sodium pyrophosphate and sodium tripolyphosphate) solution(2,4,6,8 and 10 g/L). Then the beef was stored at 4℃ for 3 days. Each sample's shear force and the muscle fibrils gap of the best tenderized samples were measured.【Result】The results showed that the tenderization effects of 0.09 g/L papain and 3 g/L calcium chloride and 8 g/L sodium pyrophosphate were significant($P<0.01$). Compared with the control and the calcium chloride and the sodium pyrophosphate the tenderization effects of the papain treatment was very significant($P<0.01$), so were the tenderization effects of calcium chloride and sodium pyrophosphate ($P<0.01$), but the effects between them were not significant($P>0.05$). The muscle fibrils gap results were the same with that of shear force.【Conclusion】The tenderization effects of the papain and the cal-

* [收稿日期] 2007-12-19

[基金项目] 农业部“948”项目“肉牛产业链关键技术引进和中国安全优质牛肉生产体系建设”(2006-7);陕西“13115”科技创新工程专项“秦川肉牛新品种选育及标准化生产技术集成与产业化示范”(2007ZDCY-01)

[作者简介] 咎林森(1963—),男,陕西扶风人,教授,博士,博士生导师,主要从事动物生长发育调控及牛的遗传育种与繁殖研究。
E-mail: zanls@yahoo.com.cn

cium chloride and the sodium pyrophosphate were very significant($P<0.01$). Compared with the calcium chloride and the sodium pyrophosphate the tenderization effects of the papain were very significant($P<0.01$). It is possible to take the muscle fibrils gap as tenderization index.

Key words: Qinchuan beef ; tenderization; papain; phosphate salt; calcium chloride

肉嫩度是肉品质量评价的首要指标^[1],也是影响消费者选择的一个重要因素^[2]。因此,如何改善肉的嫩度,特别是牛肉的嫩度,多年来一直是国内外肉品科学研究的热点问题之一。

肉嫩化的方法很多,常用的有物理法、化学法和酶法等,其中后2种方法的嫩化效果较为显著。目前,常用的化学嫩化法有氯化钙嫩化法和磷酸盐嫩化法2种。据 Wheelertal^[3-4]和 Lansdell^[5]报道,尸僵前向分割牛肉注射 CaCl_2 溶液,只需后熟1 d就可以满足一般的嫩度要求,而没必要延长后熟时间。磷酸盐是肉制品加工中常用的添加剂,其可以增加肉制品的保水性,改善肉品的嫩度。很多研究证明,嫩化剂是具有缓冲作用的碱性物质,可以提高肉的pH,并通过促进肌球蛋白和肌动蛋白溶解以及提高肉的保水性来改善肉品嫩度^[6],在肉制品加工中应用的磷酸盐主要是碱性磷酸盐,如三聚磷酸盐、六偏磷酸盐和焦磷酸盐等。酶法嫩化酶类的主要来源有2种,即植物提取和微生物培养。植物中提取的酶类主要有木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶及生姜蛋白酶等,其中木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶是目前商品酶类的主要种类。

目前所采用的 CaCl_2 嫩化法对肉的嫩化效果很好,但若其质量浓度过高则会影响肉的风味和色泽,使肉出现苦味和金属味,且使肉的色泽变得不够均匀^[5]。木瓜蛋白酶和磷酸盐虽然均有较为理想的嫩化效果,但若二者的用量较大,对肉的品质和风味也会造成一定的影响。为此,本试验以剪切力和肌纤维间隙作为嫩化指标,比较研究了 CaCl_2 、磷酸盐及木瓜蛋白酶对牛肉的嫩化效果,并探索了以肌纤维间隙作为嫩化指标的可行性。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 供试牛肉 供试牛肉采自陕西山川畜牧发展有限公司,为秦川牛背最长肌,沿肌纤维方向切成 $5\text{cm}\times 5\text{cm}\times 5\text{cm}$ 的肉块备用。

1.1.2 试剂 CaCl_2 、磷酸氢二钠、焦磷酸钠、三聚磷酸钠(天津市东丽区天大化学试剂厂产品),均为分析纯。

1.1.3 仪器 C-LM型肌肉嫩度计(东北农业大学);Leica显微镜和 Leica V_2 ,系统均为德国 Leica公司产品。

1.2 牛肉的嫩化方法

1.2.1 氯化钙嫩化 分别配制质量浓度为3,5,7,9和11 g/L的氯化钙溶液,用注射针进行注射(取约150 g肉样均匀选点注射2 mL)。

1.2.2 磷酸盐嫩化 分别配制质量浓度为2,4,6,8和10 g/L的三聚磷酸钠、焦磷酸钠、磷酸氢二钠溶液,将牛肉浸渍其中进行嫩化处理。

1.2.3 木瓜蛋白酶嫩化 分别配制质量浓度为0.03,0.05,0.07,0.09和0.11 g/L的木瓜蛋白酶溶液,将牛肉浸渍其中进行嫩化处理。

以上处理肉样均在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下放置3 d,并以未处理肉样作为对照。

1.3 牛肉嫩化效果的检测

1.3.1 剪切力测定 肉块密封包装后放入 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴锅中,加热至中心温度为 $70\text{ }^\circ\text{C}$,取出冷却至室温,用圆形钻孔肌肉取样器顺肌纤维方向取样,在嫩度计上测定其剪切力,每处理重复5次。

1.3.2 嫩化效果的显微检测 将牛肉切成 $0.2\text{ cm}\times 0.2\text{ cm}\times 0.2\text{ cm}$ 的小块,用 Bouin's 液固定24 h,酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋。制作牛肉切片,切片厚约 $1.8\text{ }\mu\text{m}$,H.E染色,用 Leica 显微镜进行观察摄像,用 Leica V_2 系统进行拍照摄像。

1.4 数据统计与分析

运用 SPSS 软件进行数据分析与处理,其结果以“ $\bar{x}\pm SD$ ”表示。

2 结果与分析

2.1 氯化钙对牛肉剪切力的影响

由图1可见, CaCl_2 质量浓度从3 g/L升高到7 g/L时,牛肉剪切力迅速下降($P<0.01$); CaCl_2 质量浓度大于7 g/L时,剪切力又呈上升趋势,这可能是由于高质量浓度的 CaCl_2 使肉样失水过多所致。说明 CaCl_2 质量浓度为7 g/L时的嫩化效果最好。肉样品质分析表明,5~7 g/L的 CaCl_2 会使肉样出现较明显的苦味和金属味,而以3 g/L CaCl_2 处理肉样的嫩度和风味较好。

2.2 3种磷酸盐对牛肉剪切力的影响

2.2.1 磷酸氢二钠 由图2可见,牛肉剪切力随磷酸氢二钠质量浓度的升高而降低,当其质量浓度大于8 g/L时,剪切力再无显著变化($P>0.05$),表明磷酸氢二钠的质量浓度为8 g/L时的嫩化效果较好

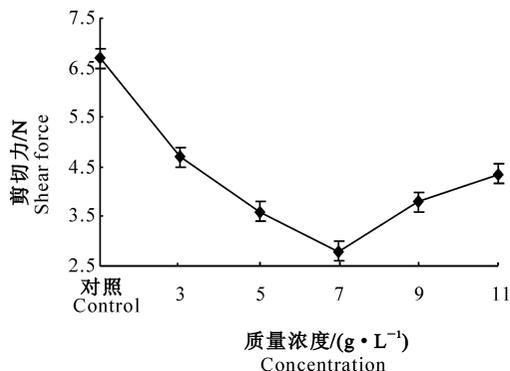


图1 不同质量浓度氯化钙对牛肉剪切力的影响

Fig.1 Influence of the calcium chloride on the beef shear force

($P<0.05$)。

2.2.2 焦磷酸钠 由图3可见,牛肉剪切力随着焦磷酸钠质量浓度的升高而降低。当其质量浓度大于8 g/L后,剪切力再无显著变化($P>0.05$)。表明质量浓度为8 g/L的焦磷酸钠嫩化效果较好。

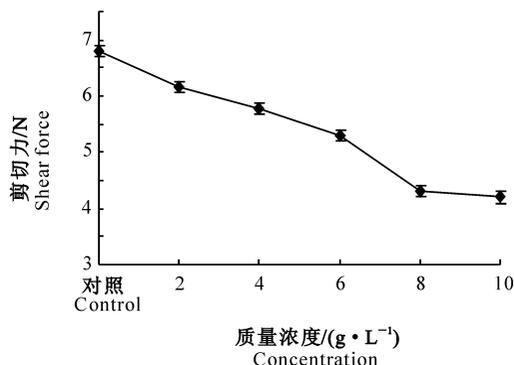


图2 不同质量浓度磷酸氢二钠对牛肉剪切力的影响

Fig.2 Influence of the sodium hydrogen phosphate on the beef shear force

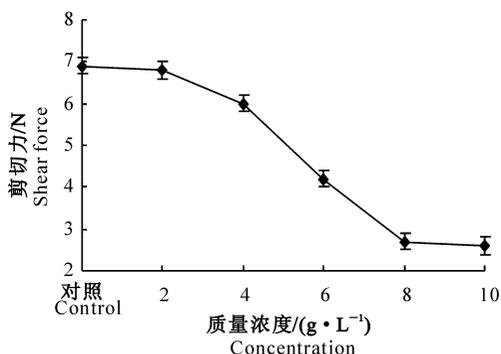


图3 不同质量浓度焦磷酸钠对牛肉剪切力的影响

Fig.3 Influence of the sodium pyrophosphate on the beef shear force

2.2.3 三聚磷酸钠 由图4可见,随着三聚磷酸钠质量浓度的升高,牛肉剪切力下降。当三聚磷酸钠质量浓度为8 g/L时,剪切力下降了45.3%;当其质量浓度由8增至10 g/L时,牛肉剪切力变化不明显($P>0.05$)。表明三聚磷酸钠质量浓度为8 g/L时的嫩化效果较好。

2.3 木瓜蛋白酶对牛肉剪切力的影响

不同质量浓度木瓜蛋白酶对牛肉剪切力的影响如图5所示。由图5可见,当木瓜蛋白酶质量浓度为0~0.09 g/L时,随木瓜蛋白酶质量浓度的增加,牛肉剪切力极显著降低($P<0.01$)。当木瓜蛋白酶质量浓度为0.09和0.11 g/L时,其对牛肉剪切力的影响无显著差异($P>0.05$),所以,0.09 g/L木瓜蛋白酶对牛肉的嫩化效果较好。

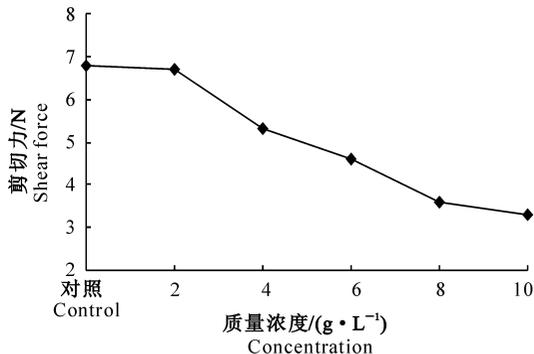


图4 不同质量浓度三聚磷酸钠对牛肉剪切力的影响

Fig.4 Influence of the sodium tripolyphosphate on the beef shear force

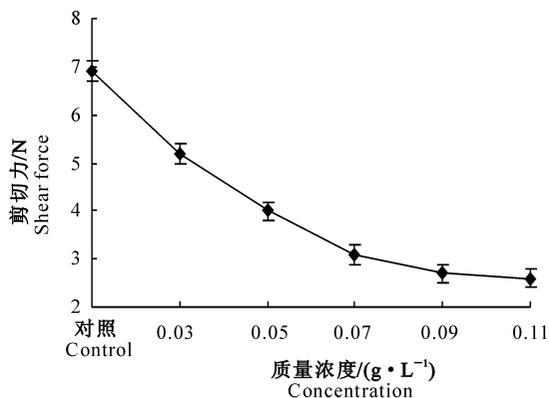


图5 不同质量浓度木瓜蛋白酶对牛肉剪切力的影响

Fig.5 Influence of the different concentrations of papaya on the beef shear force

2.4 嫩化处理后牛肉肌肉纤维的显微结构观察

由图6-A可见,对照样的肌纤维间隙非常小,肌

纤维间连接紧密,纤维结构没有被破坏。由图6-B~D可以看出,嫩化处理的牛肉肌纤维出现了较大间隙,其中以木瓜蛋白酶处理肉样的肌纤维间隙最大,表明该肉样嫩化效果最好,焦磷酸钠和氯化钙溶液处理的肉样次之。由表1可见,0.09 g/L木瓜蛋白酶处理肉样的肌纤维间隙显著大于其他处理($P <$

0.01),3 g/L氯化钙和8 g/L焦磷酸钠处理肉样的肌纤维间隙极显著大于对照($P < 0.01$),但二者之间差异不显著($P > 0.05$)。表明木瓜蛋白酶对牛肉的嫩化效果最佳,这与以剪切力作为嫩化指标时的测定结果基本一致,表明肌纤维间隙可以作为嫩化效果的评价指标。

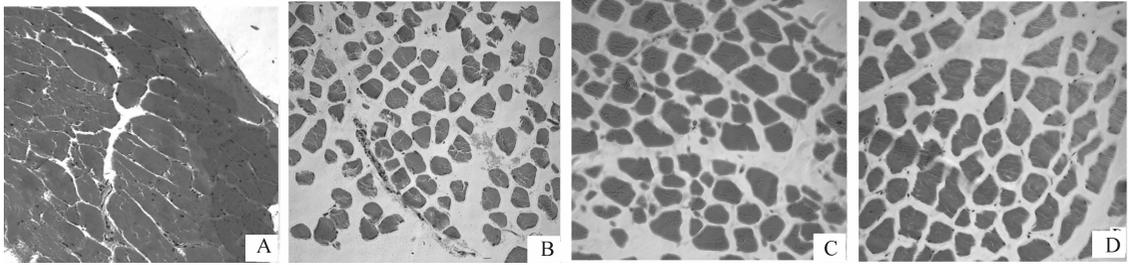


图6 不同处理对牛肉肌纤维间隙的影响($\times 200$)

A. 对照肉样;B. 0.09 g/L木瓜蛋白酶处理肉样;C. 3 g/L氯化钙处理肉样;D. 8 g/L焦磷酸钠处理肉样

Fig. 6 Influence of the different treatments on the muscle fibrils gap

A. Control;B. 0.09 g/L papain beef;C. 3 g/L CaCl_2 beef;D. 8 g/L sodium pyrophosphoric beef

表1 不同处理对牛肉肌纤维间隙的影响($n=30$)

Table 1 Influence of the different treatments on the muscle fibrils gap($n=30$)

处理 Treatment	肌纤维间隙/ μm Average gap
对照 Control	2.53 \pm 0.74 aA
3 g/L氯化钙 3 g/L CaCl_2	11.56 \pm 2.77 bB
8 g/L焦磷酸钠 8 g/L pyrophosphoric sodium	14.13 \pm 4.47 bB
0.09 g/L木瓜蛋白酶 0.09 g/L papain	20.75 \pm 1.68 cC

注:数据后标不同小写字母者表示差异显著($P < 0.05$);标不同大写字母者表示差异极显著($P < 0.01$)。

Note: The different little letters denote the difference significant ($P < 0.05$); the different capitalized letters denote the difference very significant ($P < 0.01$).

3 讨论

3.1 木瓜蛋白酶对肉的分解

木瓜蛋白酶对肉的分解作用主要集中在Z线上,表现为Z线的裂解和肌原纤维的小片化^[7]。木瓜蛋白酶对纤维蛋白和肌原蛋白有较强的水解作用^[8]。在本试验条件下,质量浓度为0.09 g/L的木瓜蛋白酶对秦川牛肉的嫩化效果最为显著($P < 0.01$),可能是由于木瓜蛋白酶促进了秦川牛肉肌纤维中Z线的裂解。与肉的嫩度有关的肌肉蛋白质还有结缔组织蛋白^[9-10],目前对肌原纤维的组成和宰后变化的研究较多,而对结缔组织的研究尚欠缺,木瓜蛋白酶对结缔组织蛋白的作用还有待于进一步研究。

3.2 钙离子对钙激活酶活性的调控

肌肉嫩度变化的反应是在多种酶的协同作用下完成的,其中一个起主要作用的酶就是钙激活酶,因为只有它才能启动肌原纤维蛋白的降解,破坏Z线,释放肌纤维,从而引起其他蛋白酶的作用,促进肌纤维的降解^[11]。牛肉肌细胞中含有可分解肌纤维蛋白的酶,其活性受钙离子的调控,当钙离子质量浓度较低时,酶分子活性中心被封闭,酶无活性;当钙离子质量浓度较高时,酶的活性中心暴露,表现出活性^[12]。钙激活酶还能降解肌间线蛋白,破坏肌原纤维亚结构中的横向交叉联接,使肌纤维周期性丧失,并从肌原纤维表面游离。钙激活酶还可降解其他蛋白,使肌肉的伸张力减弱,促进粗细肌微丝的释放和游离^[12-14]。本试验发现,质量浓度为3 g/L的氯化钙对牛肉剪切力的降低有显著影响($P < 0.05$),这可能是由于 CaCl_2 中的钙离子激活了牛肉中钙激活酶的活性,提高了其对蛋白质的降解能力,改善了牛肉的嫩度。本试验推荐使用低浓度 CaCl_2 ,原因是考虑 CaCl_2 质量浓度过高会影响牛肉的风味和色泽,使肉出现苦味和金属味,并使肉的色泽变得不够均匀^[5]。

3.3 磷酸盐对肉的嫩化作用

磷酸盐能提高牛肉的保水性,加强肌肉蛋白质和水分子的结合能力,使其在加热过程中能有效地保持水分,减少肉汁溢出,从而使肉柔嫩多汁^[6]。保水性不仅对牛肉的滋味有十分重要的影响,而且还关系到肉的质地、风味、组织状态,同时还影响着肉

的嫩度。磷酸盐对增加胶原蛋白的溶解度有很大的促进作用,这可能是其改善嫩度的另一个原因。本试验结果表明,质量浓度 8 g/L 的磷酸盐对牛肉有显著的嫩化效果($P < 0.05$)。通过石蜡切片显微照相技术可以发现,磷酸盐处理使牛肌肉纤维发生解离,肌纤维间隙较对照明显增大($P < 0.01$),表明磷酸盐可能增加了肉中胶原蛋白的溶解度,从而提高了肉的嫩度。另外,牛肉保水性的提高也可能是牛肉嫩度改善的另一个重要原因。

3.4 肉嫩化效果的测定指标

剪切力是衡量肉嫩度的一个常用指标,但是相关报道中的差异极大,这可能主要是由于仪器的差异所致。随着对肉品嫩化研究的深入,研究者提出了胶原蛋白溶解度^[15]、肌原纤维和结缔组织超微结构变化^[16]、肌原纤维小片化指数(MFI)^[7]、肌纤维直径^[17-19]、肌节长度^[20-23]等测定指标,其中对肉胶原蛋白溶解度及肌原纤维和结缔组织超微结构的变化尚未有定量分析结论,肌原纤维小片化指数测定的差异性较大,而对利用肌纤维直径与嫩度的关系来评价肉品嫩化效果,目前尚有争议。因此,客观一致的肉嫩度指标尚需继续研究。本研究探讨了以肌纤维间隙作为嫩化指标的可能性,其结果与剪切力测定结果一致,表明肌纤维间隙也可作为肉品嫩化效果的一个评价指标。

[参考文献]

[1] 周光宏. 肉品学 [M]. 北京:中国农业科技出版社,1999:35-37.
Zhou G H. Meat Science [M]. Beijing, China Agricultural Science and Technology Press,1999:35-37. (in Chinese)

[2] Sims T J, Bailey A J. Developments in Meat Science [M]. 2nd Ed. London: Applied Publishers Ltd. ,1981:25.

[3] Wheelert T L. Effect of calcium chloride injection and hot boning on the tenderness of round muscles [J]. Anim Science, 1991,69:487-494.

[4] Wheelert T L. Effect of post mortem injection time, injection lever and concentration of calcium chloride on beef quality traits [J]. Anim Science, 1993,71:2965-2976.

[5] Lansdell J L. Postmortem injection of calcium chloride effects on beef quality traits [J]. Anim Science, 1995,73:1735-1747.

[6] Zheng M, Detienne N A, Barnes B W. Tenderness and yields of poultry breast are influenced by phosphate type and concentration of marinade [J]. Journal Food Science, 2000,81:82-87.

[7] Culler R D, Parrish F C, Smith G C. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle [J]. Journal Food Science, 1985,50:1370-1379.

[8] Kang C K, Rice E E. Degradation of various meat fractions by tenderizing enzymes [J]. Food science, 1970,35:563-565.

[9] Akatas N, Kaya M. Influence of weak organic acids and salts on the denaturation characteristics of intramuscular connective tissue. A differential scanning calorimetry study [J]. Meat Science, 2001,58:413-419.

[10] Berge P, Ertbjerg P, Larsen L M. Tenderization of beef by lactic acid injected at different times post mortem [J]. Meat Science, 2001,57:347-357.

[11] Steen D C, Clmy E. Early post-mortem conditions and the claspastatin system in relation to tenderness of double-muscled beef [J]. Meat Science, 1997,45:307-319.

[12] Gerelt B, Rusman H, Nishiumi T, et al. Changes in calpain and calpastatin activities of osmotically dehydrated bovine muscle during storage after treatment with calcium [J]. Meat Science, 2005,70:55-61.

[13] 汤晓艳,周光宏,徐幸莲,等. 钙离子浸泡处理对牛肉肌原纤维的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2004,27(3):95-98.
Tang X Y, Zhou G H, Xu X L, et al. Effects of calcium chloride marination on bovine myofibrils [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2004,27(3):95-98. (in Chinese)

[14] Kong B H, Diao X P, Xiong Y L. Postmortem calcium chloride injection alters ultrastructure and improves tenderness of mature chinese yellow cattle longissimus muscle [J]. Journal of Food Science, 2006,71:124-129.

[15] Hill F. The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages [J]. Food Science, 1996,31(2):161-166.

[16] 李雨林,周海英,申琳,等. 无花果蛋白酶与木瓜蛋白酶对牛肉嫩化的研究 [J]. 肉类工业, 2006(11):31-33.
Li Y L, Zhou H Y, Shen L, et al. Investigation on beef-tenderizing by ficin and papain [J]. Meat Industry, 2006(11):31-33. (in Chinese)

[17] Locker R H. Degree of muscle contraction as a factor in the tenderness of beef [J]. Food Research, 1960,25:304-307.

[18] Locker R H, Hagyard C J. A cold shortening effect in beef muscle [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1963,14:787-793.

[19] Locker R H. Cold-induced toughness of meat [M]//Pearson A M, Dulson T R. Advances in Meat Research (Vol. 1). Westport CT: AVI Publishing Company, 1985:1-44.

[20] Herring H K, Cassens R G, Suess G G, et al. Tenderness and associated characteristics of stretched and contracted bovine muscle [J]. Journal of Food Science, 1967,32:317-323.

[21] Koohmaraie M, Kent M P, Shackelford S D, et al. Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? [J]. Meat Science, 2002,62:345-352.

[22] Ahnström M L, Enfält A C, Hansson I, et al. Pelvic suspension improves quality characteristics in *M. semimembranosus* from Swedish dual purpose young bulls [J]. Meat Science, 2006,72:555-559.

[23] White A, O'Sullivan A, Troy D J, et al. Effects of electrical stimulation, chilling temperature and hot-boning on the tenderness of bovine muscles [J]. Meat Science, 2006,73:196-203.