

## 专家组稿专栏

**编者按:**生物技术是食品制造的重要方法,而酶作为生物催化剂,被广泛地应用于食品加工贮藏中,以提高或改善产品加工特性、品质指标或得率。在“淘汰蛋鸭肉质蛋白酶嫩化研究”文章中,蛋白酶被用于肉的嫩化,以提高其品质;同样,在“TGase 酶法交联改善低温花生粕分离蛋白功能特性的研究”一文中,用转谷氨酰胺酶处理花生蛋白以提高其加工特性。

食品质量与安全是食品工业永恒的主题,可喜的是,这两个主题在本期中被得到了足够的重视。

(栏目主持人:宋焕禄教授)

文章编号:1671-1513(2011)05-0012-04

## 淘汰蛋鸭肉质蛋白酶嫩化研究

秦卫东, 马利华, 陈学红, 韦黎黎

(徐州工程学院 食品学院, 江苏 徐州 221008)

**摘要:**对木瓜蛋白酶和风味蛋白酶嫩化淘汰蛋鸭肉的效果进行了探讨,比较了酶解条件下鸭胸肉的肌原纤维小片化指数和剪切力的变化,并分析了肌原纤维小片化指数与剪切力的相关性。结果表明:木瓜蛋白酶对鸭肉的酶解作用更强烈,达到相同的嫩化效果(即相同的肌原纤维小片化指数或剪切力值)所需的酶用量大约为风味蛋白酶的一半。嫩化后鸭肉的肌原纤维小片化指数和剪切力之间存在着显著的相关性,木瓜蛋白酶和风味蛋白酶的这种相关性分别为  $-0.965$  和  $-0.950$ 。

**关键词:**淘汰蛋鸭;嫩化;蛋白酶;肌原纤维小片化指数;剪切力;相关性

**中图分类号:** TS251.5

**文献标志码:** A

嫩度是肉类重要的质量属性之一,肉类的嫩度主要受两种肌肉组分的影响:结缔组织和肌原纤维。结缔组织对肉类嫩度的影响取决于其含量、类型和胶原蛋白中分子间交联的程度。由于交联程度随动物的年龄而增大,所以从年老的动物得到的胴体要比年轻动物坚韧得多。徐幸莲等比较了淘汰蛋鸡和普通肉鸡的肉质差别,发现淘汰蛋鸡肌肉的系水力较普通鸡低,而剪切力明显高于普通鸡<sup>[1]</sup>。Northcutt等确认鸡胸肉片的 Warner-Bratzler 剪切力随鸡年龄的增大而增加<sup>[2]</sup>。

大多数改进肉类质量的方法都将会对肌肉组分的一种或多种产生影响。来源于植物、微生物的外源性酶由于蛋白质水解活性可用于改善肉类的嫩度。美国联邦政府确认5种植物和微生物外源酶在

改进肉类嫩度方面是公认安全的,它们是:木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶、菠萝蛋白酶、米曲霉蛋白酶和枯草芽孢杆菌蛋白酶。本研究以木瓜蛋白酶和米曲霉制备的风味蛋白酶对淘汰蛋鸭胸肉进行嫩化处理,比较2种蛋白酶嫩化对鸭胸肉的肌原纤维小片化指数和剪切力的影响,并分析肌原纤维小片化指数与剪切力之间的关系。

### 1 原料与方法

#### 1.1 原料与试剂

淘汰蛋鸭:育龄600天以上的蛋鸭,由睢宁惠农鸭业有限公司提供。蛋鸭宰杀后,取胸肉,于冷藏柜中4℃贮藏24h用于嫩化实验。

木瓜蛋白酶:200 000 U/g,广西南宁庞博生物工

程有限公司;风味蛋白酶:50 000 U/g,NOVO 公司.

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 鸭肉的嫩化处理

按 1 g 肉样与 2 mL 酶液的比例置于不同浓度的酶液中于冷藏柜中 4 ℃ 浸泡 1 h,进行嫩化处理.

### 1.2.2 肌原纤维小片化指数(MFI)的测定

按 Veiseth 等<sup>[3]</sup>的方法进行.取 4 g 样品,放入小型植物组织捣碎机中,加 40 mL 2 ℃ 的 MFI 缓冲液(100 mmol/L KCl、8.8 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、11.2 mmol/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、1 mmol/L CaCl<sub>2</sub>、0.1 mmol/L EDTA, pH7.0),组织充分捣碎后用数个 10 mL 离心管冷冻离心(1 000 r/min、15 min、2 ℃),弃去上清液,将沉淀用 40 mL 2 ℃ 的 MFI 缓冲液悬浮,再离心(1 000 r/min、15 min、2 ℃),弃去上清液,用 10 mL 预冷后的 MFI 缓冲液将沉淀充分悬浮,将悬浮液用 4 层纱布过滤除去结缔组织,再用 10 mL MFI 缓冲液洗涤离心管,并进行过滤.将过滤后的悬浮液用双缩脲法测蛋白质浓度,然后用 MFI 缓冲液稀释悬浮液蛋白质质量浓度为 0.5 mg/mL.在 540 nm 测吸光度(A),按下式计算 MFI 值:

$$\text{MFI 值} = A \times 200.$$

### 1.2.3 剪切力的测定

将嫩化后的鸭肉在 85 ℃ 加热至中心温度达到 70 ℃ 并保持 30 min,取出迅速冷至室温,用吸水纸吸干表面水分后,用直径 1 cm 的空心取样器顺着肌纤维方向取样,然后在嫩度计(C-LM3B 型数显式肌肉嫩度仪,东北农业大学工程学院)上测定其剪切力值.每个处理样测定 3 次,求平均值.

## 2 实验结果

### 2.1 淘汰蛋鸭肉酶解嫩化的效果

木瓜蛋白酶嫩化鸭胸肉的结果如图 1.随着酶用量的增加,肌原纤维小片化指数快速增大,当酶用量达到 2.0 mg/mL 时,肌原纤维小片化指数趋于恒

定.另外,鸭肉的剪切力却随着酶用量的增加而降低,但降低速度较慢,至酶用量达到 2.5 mg/mL 时,剪切力几乎不再下降,此时的剪切力值为 3.44 kg/cm<sup>2</sup>.

与木瓜蛋白酶不同,风味酶处理鸭肉的肌原纤维小片化指数在酶用量达到 0.4 mg/mL 时增加速度变慢,而剪切力值在酶用量为 0.5 mg/mL 仍有下降的趋势,如图 2.

图 2 风味酶质量浓度对鸭肉 MFI 和剪切力的影响  
Fig.2 Effects of flavourzyme concentrations on MFI and Shear force value

### 2.2 肌原纤维小片化指数与剪切力值关系的相关性

肌原纤维小片化指数和剪切力是描述肉类嫩度的两个指标,Culler 等人<sup>[4]</sup>指出,肌原纤维小片化指数是牛排嫩度最好的预测指标.已有文献报道,在牛排中肌原纤维小片化指数与其嫩度指标高度相关<sup>[5]</sup>.剪切力大小反映了牙齿咬切肉的程度,该数值与肉类的嫩度呈负相关关系<sup>[6]</sup>.

将木瓜蛋白酶和风味蛋白酶处理鸭肉的肌原纤维小片化指数与剪切力值进行回归,分别得到 2 个线性关系,如图 3 和图 4,且具有较高的相关性(木瓜蛋白酶和风味蛋白酶分别为  $R^2 = 0.9306$  和  $R^2 = 0.9018$ ).

图 3 木瓜蛋白酶嫩化鸭肉的 MFI 和剪切力的关系  
Fig.3 Relationship between MFI and shear force value of duck breast tendered by papain

### 2.3 木瓜蛋白酶和风味蛋白酶嫩化鸭肉比较

以残留剪切力值为指标,比较木瓜蛋白酶和风味蛋白酶处理鸭肉的结果如图 5.达到相同残留剪切力值(约为 60%)时的风味蛋白酶用量几乎为木瓜蛋白酶的 2 倍.

图 1 木瓜蛋白酶浓度对鸭肉 MFI 和剪切力值的影响

Fig.1 Effects of papain concentrations on MFI and shear force value

图4 风味酶嫩化鸭肉的 MFI 和剪切力的关系

Fig. 4 Relationship between MFI and shear force value of duck breast tendered by flavourzyme

图5 木瓜蛋白酶和风味酶质量浓度与嫩化鸭肉的残留剪切力值的关系

Fig. 5 Comparison of residual shear force value of duck breast tenderized by papain and flavourzyme

## 3 讨论

### 3.1 鸭肉的酶法嫩化

本研究中木瓜蛋白酶在 0.3 mg/mL 质量浓度下的肌原纤维小片化指数和剪切力降低程度分别为 38.4 和 38.20%, 而由米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 制得的风味蛋白酶两种指标则分别为 27.6 和 29.95%, 明显低于木瓜蛋白酶. 这一结果与 Gerelt 等<sup>[7]</sup>的结论一致. Ashie 等<sup>[8]</sup>也确认, 与米曲霉蛋白酶相比木瓜蛋白酶对肌原纤维蛋白显示大约 7 倍的活力, 并且米曲霉蛋白酶没有水解胶原蛋白的能力. Sullivan 等<sup>[9]</sup>比较了木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶、生姜以及 *Bacillus subtilis* 蛋白酶和 *Aspergillus oryzae* 蛋白酶时确认, 只有木瓜蛋白酶能够增加可溶性胶原蛋白的量, 暗示着对胶原蛋白的水解. 由于胶原蛋白也对肉类的嫩度产生影响, 因此, 胶原蛋白的水解必然会增大肉类的嫩度. 本实验中木瓜蛋白酶与风味蛋白酶嫩化鸭肉效果的差异似乎也与胶原蛋白的变化有关.

木瓜蛋白酶属巯基蛋白酶, 具有较宽的底物特异性, 作用于蛋白质中 L-精氨酸、L-赖氨酸、甘氨酸和 L-瓜氨酸残基羧基参与形成的肽键. 此酶属内肽酶, 能切开全蛋蛋白质分子内部肽链生成分子

量较小的多肽类. 但是, 木瓜蛋白酶作用于肉类时会不加选择地断裂肌肉蛋白质, 包括肌原蛋白和肌原纤维蛋白, 有时会导致过度嫩化和糊状感<sup>[8]</sup>. Gerelt 等研究发现, 用木瓜蛋白酶处理的肉可能会产生一定的苦味<sup>[7]</sup>. Takahashi 等发现鸡胸肉的肌原纤维小片化程度随死后贮藏时间的增长而增大<sup>[10]</sup>. Chou 等也指出鸭胸肉的肌原纤维小片化指数随死后时间而变, 这主要是由于钙肌蛋白 T 的消失, 继而出现 32~30 ku 的组分<sup>[11]</sup>. 但在本研究中, 当木瓜蛋白酶用量达到 2.0 mg/mL 时, 肌原纤维小片化指数趋于恒定, 剪切力几乎不再下降. 这可能是由于嫩化作用是在低温(4℃)下进行, 未能达到木瓜蛋白酶的最适作用温度所致.

### 3.2 肌原纤维小片化指数与剪切力值之间的关系

许多研究确认了肌原纤维小片化指数与剪切力值之间的关系. Olsen 等<sup>[5]</sup>确认小牛牛排的肌原纤维小片化指数与 Warner-Bratzler 剪切力的相关性为 -0.95, 而与感官嫩度评价的相关性为 0.97. Shackelford 等<sup>[12]</sup>报导了牛背长肌的肌原纤维小片化指数与剪切力的相关性随死后时间而变化, 从第一天的 -0.91 到第 14 天的 -0.40. 马美湖等<sup>[13]</sup>对牛二股头肌给出了 -0.736 的肌原纤维小片化指数与相应剪切力的关系. 李诚等<sup>[14]</sup>对猪腰大肌和背最长肌的剪切力与肌原纤维小片化指数的相关关系分别为 -0.998 和 -0.978. Karumendu 等<sup>[15]</sup>证实羊肉的肌原纤维小片化指数与剪切力之间存在一定的负相关(-0.382). 本研究确定的两种酶嫩化鸭肉的肌原纤维小片化指数与剪切力之间存在着显著的相关性, 分别为: 木瓜蛋白酶  $R^2 = 0.9306$  ( $r = -0.965$ )、风味蛋白酶  $R^2 = 0.9018$  ( $r = -0.950$ ). 这一结果与上述研究基本保持一致. 由于实验用鸭的贮藏时间仅为 1 天, 故相关关系保持较高的水平.

## 4 结论

木瓜蛋白酶和风味蛋白酶嫩化淘汰蛋鸭胸肉具有较好的效果, 均可将鸭肉的剪切力降低至 4 kg/cm<sup>2</sup> 以下, 但木瓜蛋白酶的用量较低, 为 0.2 mg/mL; 而风味蛋白酶需要 0.4 mg/mL. 这种差异可能源于木瓜蛋白酶能够水解胶原蛋白, 风味蛋白酶却无此能力.

肌原纤维小片化指数和剪切力是反映肉类嫩度的两个指标, 本实验中确定两者之间存在显著的相关性. 对于木瓜蛋白酶嫩化的鸭肉, 两者的相关性为 -0.965, 风味蛋白酶嫩化鸭肉时两者的相关性为 -0.950.

## 参考文献:

- [1] 徐幸莲,周光宏,刘海斌. 淘汰蛋鸡与普通肉鸡肌内品质的比较研究[J]. 食品工业科技,2001, 22(6):28-30.
- [2] Northcutt J K, Buhr R J, Young L L, et al. Influence of age and postchill carcass aging duration on chicken breast fillet quality[J]. Poultry Science, 2001, 80(6):808-812.
- [3] Veiseth E, Shackelford S D, Wheeler T L, et al. Technical note: comparison of myofibril fragmentation index from fresh and frozen pork and lamb longissimus[J]. Journal of Animal Science, 2001, 79(4):904-906.
- [4] Culler R D, Parrish F C, Smith G C, et al. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle[J]. Journal of food Science, 1978, 43(4):1177-1180.
- [5] Olsen D G, Parrish F C. Relationship of myofibril fragmentation index to measures of beefsteak tenderness[J]. Journal of Food Science, 1977, 42(2):506-509.
- [6] Caine W R, Aalhus J L, Best D R, et al. Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks[J]. Meat Science, 2003, 64:333-339.
- [7] Gerelt B, Ikeuchi Y, Suzuki A, et al. Meat tenderization by proteolytic enzymes after osmotic dehydration[J]. Meat Science, 2000, 56(3):311-318.
- [8] Ashie I N A, Sorensen T L, Nielson P M, et al. Effects of Papain and a Microbial Enzyme on Meat Proteins and Beef Tenderness[J]. Journal of Food Science, 2002, 67(6):2138-2142.
- [9] 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.
- [10] Takahashi K, Fukazawa T, Yasui T. Formation of myofibrillar fragmentation and reversible contraction of sarcomeres in chicken pectoral muscle[J]. Journal of Food Science, 1967, 32:409-413.
- [11] Chou R G, Lin K J, Tseng T F. Post-mortem changes in breast muscles of mule duck[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1996, 71(1):99-102.
- [12] Shackelford S D, Moommaraie M, Whipple G, et al. Predictors of beef tenderness: development and verification[J]. Journal of Food Science, 1991, 56:1130-1135.
- [13] 马美湖,唐晓峰,林亲录. 可溶性胶原蛋白含量、肌原纤维小片化指数和粗钙激活因子活性的测定及其与牛肉嫩化效果之间的关系研究[J]. 食品科学,2002, 23(7):36-41.
- [14] 李诚,谢婷,付刚,等. 猪肉宰后冷却成熟过程中嫩度指标的相关性分析[J]. 食品科学,2009, 30(17):163-166.
- [15] Karumendu L U, van de Ven R, Kerr M J, et al. Particle size analysis of lamb meat: Effect of homogenization speed, comparison with myofibrillar fragmentation index and its relationship with shear force[J]. Meat Science, 2009, 82:425-431.

## Studies on Tenderization of Spent Laying Duck Meat by Protease

QIN Wei-dong, MA Li-hua, CHEN Xue-hong, WEI Li-li

(Food School, Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou 221008, China)

**Abstract:** The tendering effects of spent laying duck breast muscle by papain and Flavourzyme were researched, changes of myofibril fragmentation index (MFI) and shear force value at proteolysis by two proteases were compared, and dependence between MFI and shear force value were analyzed. The results indicated that proteolytic degree of spent laying duck breast muscle by papain was more stronger than Flavourzyme, the papain concentrations required to reach same tenderizing effect (i. e. to reach same MFI or shear force value) was about the half of Flavourzyme. There were significant dependence between MFI and shear force value after the duck tenderization. For papain and Flavourzyme, the dependence were  $-0.965$  and  $-0.950$ , respectively.

**Key words:** spent laying duck; tenderization; protease; MFI; shear force; dependence

(责任编辑:叶红波)