

转谷氨酰胺酶对碎牛肉保水性和微观结构的影响

董建国¹, 李茂华², 潘润淑¹, 潘长庆², 马瑞芬¹, 马汉军^{1,*}

(1. 河南科技学院食品学院, 河南新乡 453003;

2. 开封市技师学院, 河南开封 475000)

摘要:为提高碎牛肉的利用率, 将碎牛肉制成牛肉肠经转谷氨酰胺酶处理, 在单因素实验的基础上, 通过响应面分析得到转谷氨酰胺酶降低牛肉肠蒸煮损失率的最适条件为酶量 0.3%、反应时间 20min、反应温度 30℃, 提高牛肉肠保水性的最适处理条件为酶量 0.4%、反应时间 20min、反应温度 30℃, 且经该条件(酶量 0.4%、反应时间 20min、反应温度 30℃)处理后的牛肉肠各项指标明显优于对照组, 微观结构也更加规则有序。由此可知: 适当的转谷氨酰胺酶处理可以有效改善碎牛肉的保水性能和微观结构, 具有较好的应用前景。

关键词:转谷氨酰胺酶, 碎牛肉, 响应面, 保水性, 微观结构

Effects of transglutaminase on the water-holding capacity and microstructure of minced beef

DONG Jian-guo¹, LI Mao-hua², PAN Run-shu¹, PAN Chang-qing², MA Rui-fen¹, MA Han-jun^{1,*}

(1. School of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China;

2. Kaifeng Institute of Technology, Kaifeng 475000, China)

Abstract: In order to make full use of low-value minced beef, the effect of transglutaminase treatment on the beef sausage based on minced beef were investigated. On the base of single factor experiments, response surface analysis was applied to study the factors of beef sausage. The results showed that: the optimum conditions for cooking loss of minced beef were determined as 0.3% transglutaminase concentration, 20min reaction time and 30℃ reaction temperature. The optimum conditions for water-holding capacity were determined as 0.4% transglutaminase concentration, 20min reaction time and 30℃ reaction temperature, and under these conditions, the major indexes of the obtained product could be significantly improved, whose microstructure was more regular. It could be concluded that appropriate transglutaminase treatment was a promising technology since it could improve the water retention and microstructure of minced beef.

Key words: transglutaminase; minced beef; response surface methodology; water-holding capacity; microstructure

中图分类号: TS205

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2014)09-0145-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.09.023

转谷氨酰胺酶(TG)可以催化蛋白质分子内和分子间发生交联、蛋白质和氨基酸之间连接、以及蛋白质分子内谷氨酰胺基的水解, 催化所形成的异肽键属于共价键, 在一般的非酶催化条件下很难断裂, 所以用该酶处理过的碎肉成型后虽经冷冻、切片、烹调也不会重新散开; 此外, 大量实验表明用谷氨酰胺转氨酶处理的食物对人是安全的, 因为它广泛存在于人类可食用的动物组织, TG 含有 ϵ -(γ -谷氨酰胺基)赖氨酸异肽键, γ -谷氨酰胺赖氨酸也完全可以被人

体吸收利用^[1-2]。基于以上原因, TG 在肉制品中的应用日益频繁, 但多数是关于鱼糜^[3-4]、猪肉^[5-7]、羊肉^[8-9]、禽肉^[10-12]的研究报道, 对碎牛肉的影响与论证相对较少, 缺乏娴熟的工艺和有效的处理手段。因此, 在日常生产过程中, 碎牛肉常常被作为低值肉被进行简单的出售, 造成资源的浪费和经济的损失。

近几年来随着人们对牛肉的喜爱与重视程度的提高, 国内有研究人员开始尝试着将 TG 应用到碎牛肉的研究与开发中: 吕心泉等^[13]以碎牛肉为原料, 通过添加 TG, 经过多次实验, 优化工艺配方, 研制出了一种色、香、味俱全的重组牛肉干; 董建国等将超高压和 TG 结合处理应用到牛肉肠的制作中, 研究发现: 一定范围内将添加了 TG 的碎牛肉经高压处理, 其保水性能和质构特性得到了显著改善, 同时避免了为形成凝胶而添加过多的食盐^[14-15], 但 TG 应用于

收稿日期: 2013-09-16 * 通讯联系人

作者简介: 董建国(1984-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 肉品加工及品质控制工程。

基金项目: 农业部公益性行业科研专项(201303083); 河南省高校科技创新团队支持计划资助(13IRTSTHN006)。

碎牛肉的加工和生产中,尚缺乏充足的工艺参考和实验依据。鉴于此,本文旨在以牛肉分割过程中产生的剔骨肉、角料肉等碎肉为原料制作牛肉肠,以酶添加量、反应时间和反应温度为影响因素,以保水性为主要指标借助统计分析软件研究各个因素对牛肉肠蒸煮损失率和保水性的影响,且在单因素实验的基础上,采用响应面法对 TG 处理改善碎牛肉保水性条件的条件进行优化,确定最佳工艺参数,并对其微观结构进行了观察分析,从而为 TG 在重组牛肉制品中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

碎牛肉 购于河南新乡市思达连锁超市;转谷氨酰胺酶(TG-I 型,食品级,100U/g) 购于江苏泰兴市东圣食品科技有限公司;戊二醛、多聚甲醛缓冲液、乙醇、叔丁醇、磷酸缓冲液等 均购于天津科密欧化学试剂有限公司。

Quanta 200 扫描电子显微镜 美国 FEI 公司;东亚 I 型多功能高效粉碎机 江苏连云港市东亚机电研究所;ZQ500-2SD 真空包装机 温州鹿城黄河包装机械厂;HH-6 杰瑞尔恒温水浴锅 金坛市杰瑞尔电器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理 原料肉经清洗、沥水后绞碎称重,将 1%肉重的食盐溶于 10mL 水中与肉混合均匀后灌肠,4℃下腌制 18h,经不同条件处理后 85℃水浴 30min,冷却后切片,放于 4℃冰箱中待指标测定。

1.2.2 单因素实验设计

1.2.2.1 不同酶量对牛肉肠品质的影响 把经过前处理的样品称重后分别添加 0.3%、0.6%、0.9%、1.2%、1.5%、1.8% 的 TG,反应时间为 40min,恒温水浴 30℃,之后立刻进行水浴、冷却、待指标测定,并以未经酶处理的样品作为对照。

1.2.2.2 不同反应温度对牛肉肠品质的影响 以最佳酶量为条件,反应时间为 40min,采用不同温度 20、30、40、50、60、70℃水浴处理,之后立刻进行水浴、冷却、待指标测定,并设对照。

1.2.2.3 不同反应时间对牛肉肠品质的影响 选定最佳酶量、反应温度,采用不同时间 20、40、60、80、100、120min 的水浴处理,之后立刻进行水浴、冷却、待指标测定,并设对照。

1.2.3 响应面实验设计 综合单因素实验结果,分析不同酶添加量、反应时间和反应温度对牛肉肠蒸煮损失率、保水性的影响,选定最佳酶添加量、反应时间、反应温度(如表 1 所示),确定响应面实验条件。

1.2.4 指标测定方法

1.2.4.1 保水性测定 样品保水性(Water-holding Capacity, WHC)包括两个指标:一是蒸煮损失率(Cooking Loss, CL);二是非压出水分(Non-expressible Water, NW)。

CL 的检测:室温下将形状规则的牛肉肠拭干表面水分后称重为 A,肠衣质量为 B,蒸煮后质量称重为 C,即 $CL(\%) = 100 \times (A - B - C) / (A - B)$,重复检

测 3 次。

表 1 响应面实验设计因素编码及水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experimental design

水平	因素		
	A 酶量(%)	B 时间(min)	C 温度(℃)
-1	0.1	20	30
0	0.3	40	45
1	0.5	60	60

NW 的检测:参照 Supavitpatana^[16]的方法略有改动,将圆柱状肉肠切成 10mm 厚度,称其质量为 D,夹于上下各两层滤纸中,用 TA-XTplus 质构仪的 Hold Until Time 测试模式进行挤压后称其质量为 E,测定参数为:探头型号 P/50,保持 10kg 压缩力压缩 3min,测前速度 2.0mm/s,测试速度 0.5mm/s,返回速度 10.0mm/s,触发力 Auto 为 10g, $NW(\%) = 100 \times [1 - (D - E) / D]$,各处理样重复检测 3 次。

$WHC = (100 - CL) \times NW / 100$ 。

1.2.4.2 微观结构观察 参照屈平等^[17]方法:用切片刀取样切条(3mm×3mm×6mm),放入固定液(2.5%戊二醛,2%多聚甲醛缓冲液)中 4℃固定 3h,用 0.1mol/L 的磷酸缓冲液漂洗 3 次(各 40min),然后用不同浓度的乙醇梯度系列脱水(30%、50%、70%、80%、90%各 15min),接着 100%乙醇 3 次各 10min,再用叔丁醇置换 10min 重复 3 次后,-20℃静置 15min,进行冷冻干燥,粘台喷金,最后扫描电子显微镜下观察拍照。

1.3 数据处理

采用 IBM SPSS Statistics 19.0 进行单因素数据处理,求平均值和标准差,采用 Design-Expert 8.05b 进行二次回归模型统计分析。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

如图 1 所示,牛肉肠的蒸煮损失率随着酶量的增加呈先降后升趋势,保水性与蒸煮损失率正好相反,呈先升后降趋势,在酶量 0.3% 时蒸煮损失率最低、保水性最高,显著优于对照组($p < 0.05$)。陈康在鱼糜制品失水率的研究中也发现:随着 TG 添加量的增加,失水率呈先下降后升趋势,与该实验蒸煮损失率的变化趋势相似。刘茹等^[18]在一定范围内研究了 TG 对鱼肉和猪肉复合凝胶的保水性的影响,结果指出:随着 TG 添加量的增大,两种复合肉糜凝胶的保水性逐渐增加。但聂兴龙^[19]在研究中指出:随着 TG 量的不断增加,过多的 TG 介入会使肌肉蛋白质分子间的交联作用增强,降低肌肉蛋白质分子对水分的束缚能力,势必导致保水性能的下降。该实验在酶量 0%~0.6% 范围内保水性得到显著提高,但之后保水性显著降低进一步证实了此观点。

不同反应温度对牛肉肠保水性能的影响如图 2 所示,蒸煮损失率随着时间的变化呈先降后升趋势,在 30℃ 时显著低于对照组,仅与 40℃ 差异不显著($p > 0.05$),与其他各组差异显著($p < 0.05$);保水性

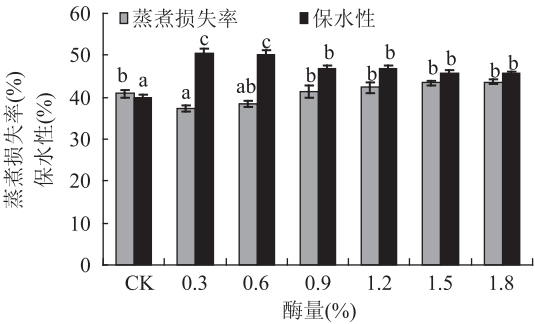


图1 不同酶量处理对牛肉肠蒸煮损失率和保水性的影响
Fig.1 Effect of different concentration of transglutaminase on cooking loss and water-holding capacity of beef sausage

随着时间的延长呈先升后降趋势,在 40℃ 时得到最大值,明显高于其他各组($p < 0.05$)。聂兴龙^[19]在利用结冷胶与谷氨酰胺转氨酶对牛肉凝胶的保水性研究中也得到了类似的规律:牛肉凝胶的保水性随着温度的升高呈先升后降趋势,并在 50℃ 时取得最大值。但其研究的结果中,各添加水平之间无显著性差异。

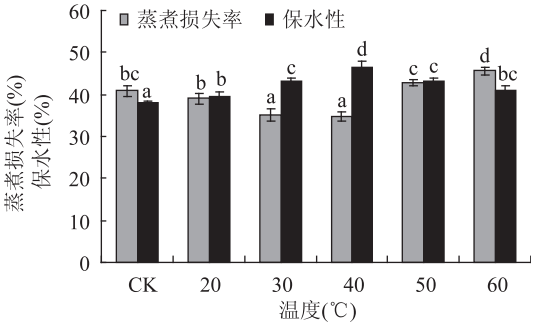


图2 不同反应温度对牛肉肠蒸煮损失率和保水性的影响
Fig.2 Effect of different reaction temperature on cooking loss and water-holding capacity of beef sausage

在酶量 0.3%,反应温度 40℃ 条件下,反应时间对牛肉肠保水性能的影响如图 3 所示,随着反应时间的延长,牛肉肠的保水性均得到显著性提高($p < 0.05$),在 40min 时保水性最高,但在 20~80min 范围内不显著($p > 0.05$);而蒸煮损失率各组之间表现为都不显著($p > 0.05$)。该实验结果与聂兴龙^[19]对保水性的研究结果相似。本实验中研究分析还发现,反应时间对碎牛肉保水性能的影响主要是通过影响酶充分反应的程度而发生变化,当酶反应充分后如

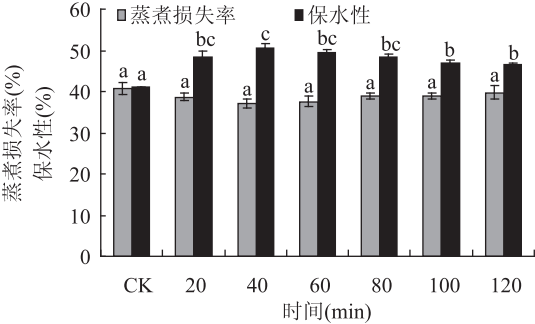


图3 不同反应时间对牛肉肠蒸煮损失率和保水性的影响
Fig.3 Effect of different reaction time on cooking loss and water-holding capacity of beef sausage

果继续在温水中浸泡,时间过长容易使碎牛肉过度吸水而发生涨破现象,反倒影响了保水性能的改善。

2.2 响应面法优化 TG 处理条件

2.2.1 回归模型 实验结果如表 2 所示:

表2 响应面实验设计与结果

Table 2	Response surface experimental design and results				
实验号	A	B	C	蒸煮损失率 (%)	保水性 (%)
1	-1	-1	-1	36.43	36.43
2	1	-1	-1	38.00	38.00
3	-1	1	-1	29.66	29.66
4	1	1	-1	28.11	28.11
5	-1	-1	1	33.46	33.46
6	1	-1	1	37.64	37.64
7	-1	1	1	33.87	33.87
8	1	1	1	41.39	41.39
9	-1	0	0	43.74	43.74
10	1	0	0	46.14	46.14
11	0	-1	0	42.01	42.01
12	0	1	0	45.94	45.94
13	0	0	-1	25.34	25.34
14	0	0	1	38.78	38.78
15	0	0	0	43.84	43.84
16	0	0	0	39.33	39.33
17	0	0	0	41.27	41.27
18	0	0	0	38.58	38.58
19	0	0	0	43.77	43.77
20	0	0	0	39.63	39.63

由回归模型可得蒸煮损失率和保水性回归方程如下:

蒸煮损失率: $Y = -96.4554 - 58.6042A - 0.8542B + 7.9131C + 7.1027 \times 10^{-3}AB + 0.7298AC + 0.0130BC + 60.3074A^2 + 3.6077 \times 10^{-3}B^2 - 0.1047C^2$;

保水性: $Y = 101.5135 + 32.7840A + 0.1150B - 3.0596C + 0.1599AB - 0.5541AC - 2.8855 \times 10^{-3}BC - 32.9200A^2 - 7.0448 \times 10^{-4}B^2 + 0.0405C^2$ 。

回归方程系数显著性检验结果显示,温度二次项对两项指标表现为极显著($p < 0.01$),温度一次项对两项指标表现为显著($p < 0.05$),其它项对各指标显著性不明显,但对于各指标模型, p 值均小于 0.05,失拟值均大于 0.05,表明模型显著,且实验误差较小。

2.2.2 拟合模型可信度分析 拟合模型可信度分析如表 3,在实验设计范围内,两项指标的 R^2 值、分别可以达到 0.85、0.81,表示方程拟合比可信。变异(CV)系数越小,说明实验操作可信度越大。本实验中各项指标 CV 数值较小,说明实验操作可信。

2.2.3 响应面优化 运用软件 Design-Expert 8.05b (原版)对两项指标二次多项回归模型进行最优化求解,得到 TG 提高牛肉肠保水性的最佳处理条件为酶量 0.4%,反应时间 60min,反应温度 30℃;降低牛肉肠蒸煮损失率的最适条件为 0.3%,反应时间 60min,

反应温度 30℃;实验对此结果进行了 3 次验证,获得的蒸煮损失率为 $23.63\% \pm 0.83\%$,获得的保水性为 $50.73\% \pm 0.30\%$,与理想值(软件优化的最优值:蒸煮损失率为 25%,保水性为 51%)较为接近,并明显优于未经酶处理的对照组(蒸煮损失率为 $40.81\% \pm 1.13\%$,保水性为 $39.96\% \pm 1.16\%$)。实验因素及其交互作用对牛肉肠蒸煮损失率影响见图 4~图 5。

表 3 拟合模型的可信度分析

Table 3 Reliability analysis of two established regression models

	平均值	复相关系数 R^2	校正后的复相关系数 R^2_{Adj}	变异系数 (%)
蒸煮损失率	38.35	0.85	0.71	8.15
保水性	46.13	0.81	0.63	3.08

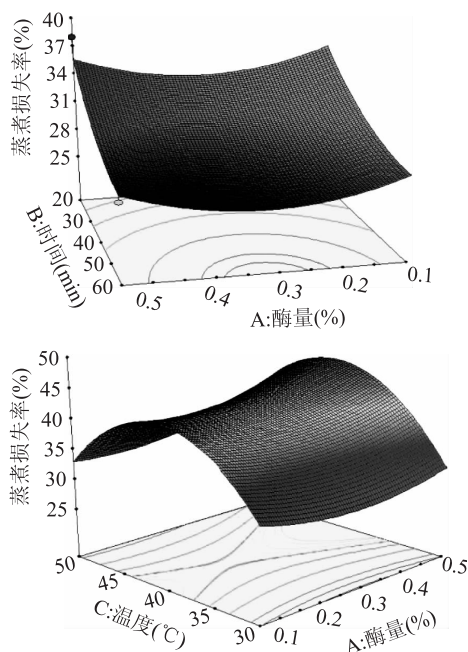


图 4 实验因素及其交互作用

对牛肉肠蒸煮损失率影响的响应曲面图

Fig.4 Response surface of the effect of experimental factors and their mutual interact on cooking loss of beef sausage

由图 4 可知,处理条件在取定范围内,样品的蒸煮损失率随着酶量的增加呈现先下降后上升趋势,随着温度的升高呈现先上升后下降趋势,随着时间的延长呈逐渐下降趋势。反应温度是影响样品蒸煮损失率的最主要因素,其次为酶量和反应时间。

由图 5 可知,处理条件在取定范围内,样品的保水性随着酶量的增加呈先上升后下降趋势,随着时间的延长呈逐渐下降趋势,随着温度的升高呈现先下降后升高趋势,且温度变化的影响要大于酶量,酶量变化的影响大于时间。

2.3 TG 处理对牛肉肠微观结构的影响

牛肉肠经 TG (0.4%、60min、30℃) 处理,放大不同倍数后,由图 6~图 7 不难发现,酶处理后的牛肉肠横截面表面较对照组平坦致密、均匀有序、气孔结构小且较少,而对照组则表现出不平整,粗糙,坑坑洼洼,出现有较多的空穴,并有大的簇出现。该观察结

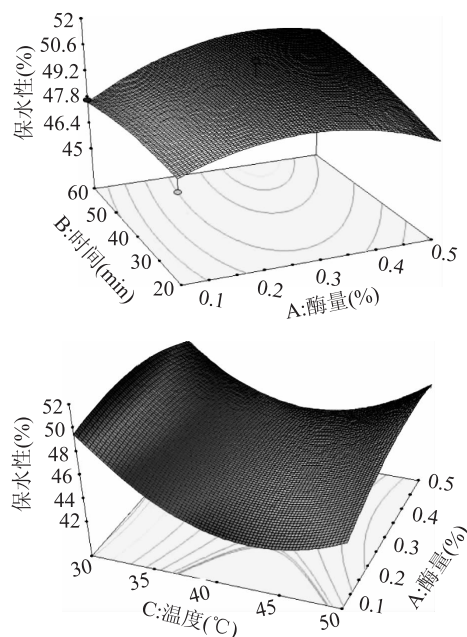


图 5 实验因素及其交互作用

对牛肉肠保水性影响的响应曲面

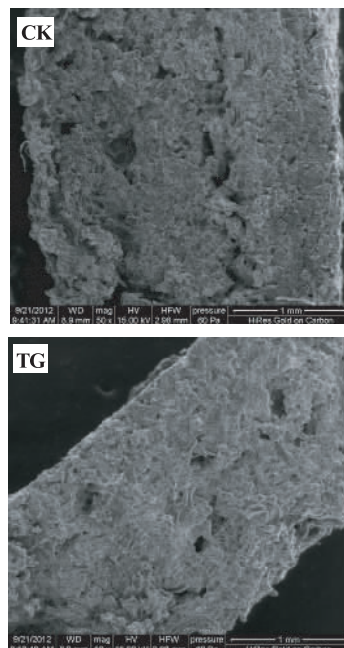
Fig.5 Response surface of the effect of experimental factors and their mutual interact on water-holding capacity of beef sausage
果与 TG 处理对牛肉保水特性的数据分析结果基本一致。

图 6 牛肉肠的扫描电镜图(50 ×)

Fig.6 SEM micrographs of beef sausage(50 ×)

3 结论

在单因素实验的基础上,采用响应曲面法建立了 TG 影响牛肉肠蒸煮损失率、保水性的二次多项回归模型,各项指标模型拟合程度良好,实验误差小,可以用于对样品的蒸煮损失率和保水性进行分析预测。响应面分析结果显示,酶反应温度是影响牛肉肠保水性的最主要因素,其次为酶量和酶反应时间。对牛肉肠各指标进行优化得出:对于蒸煮损失率响

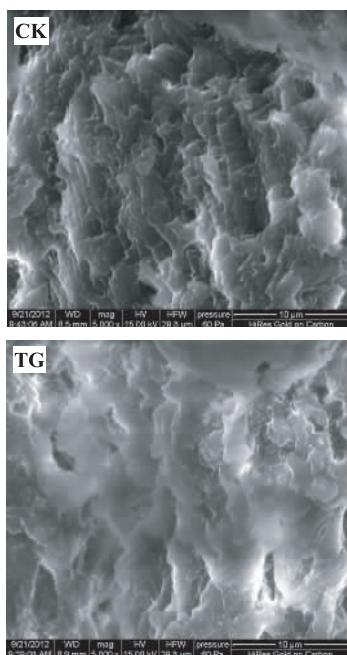


图7 牛肉肠的扫描电镜图(5000×)

Fig.7 SEM micrographs of beef sausage(5000×)

应值,各因素的优化条件为:酶量 0.3%、反应温度 30℃、反应时间 60min;保水性的响应值优化条件为:酶量 0.4%、反应温度 30℃、反应时间 60min,且经过 0.4% TG、30℃水浴 60min 后的牛肉肠其微观结构也更加细密均匀、规则有序。说明在一定条件范围内, TG 可以有效提高碎牛肉的产品得率,并对其微观结构产生了有益影响。

参考文献

- [1] 尚祖萍.牛肉重组方法及效果研究[D].长春:吉林大学,2011.
- [2] 董建国,李斌,赵永红,等.转谷氨酰胺酶和超高压技术在重组肉制品中的应用[J].食品与机械,2012,28(4):62-64.
- [3] Moreno H M, Carballo J, Borderías A J. Use of microbial transglutaminase and sodium alginate in the preparation of restructured fish models using cold gelation: Effect of frozen storage[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2010, 11(2):394-400.
- [4] Moreno H, Carballo J, Borderías J. Raw - appearing Restructured fish models made with Sodium alginate or Microbial transglutaminase and effect of chilled storage[J]. Food Science

and Technology(Campinas), 2013, 33(1):137-145.

- [5] Lee H C, Chin K B. Evaluation of various salt levels and different dairy proteins in combination with microbial transglutaminase on the quality characteristics of restructured pork ham[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2011, 46(7):1522-1528.
- [6] 白艳红,赵电波,张小燕,等.超高压与转谷氨酰胺酶协同对碎猪肉凝胶成型的研究[J].食品工业科技,2012,33(3):114-116.
- [7] 雷跃磊,刘茹,王卫芳,等.三种添加物对鱼肉猪肉复合凝胶品质的影响[J].食品工业科技,2013,34(5):281-284.
- [8] Liang H, Ma L. Use of transglutaminase and non - meat proteins in the processing of restructured mutton rolls[J]. Food Science and Technology, 2006, 2:36-38.
- [9] 梁海燕.转谷氨酰胺酶及非肉蛋白在重组碎羊肉加工中的作用效果研究[D].晋中:山西农业大学,2005.
- [10] De Souza C V, Venzke J G, Flôres S H, et al. Nutritional effects of mechanically deboned chicken meat and soybean proteins cross - linking by microbial transglutaminase[J]. Food Science and Technology International, 2009, 15(4):337-344.
- [11] 孙健.转谷氨酰胺酶及其他功能性添加物对鸡肉肠质构特性的影响[D].南京:南京农业大学,2004.
- [12] Cofrades S, López - López I, Ruiz - Capillas C, et al. Quality characteristics of low - salt restructured poultry with microbial transglutaminase and seaweed[J]. Meat Science, 2011, 87(4):373-380.
- [13] 吕心泉,肖有玉,安辛欣.重组牛肉生产牛肉干的研究[J].食品工业科技,2002,23(11):22-23.
- [14] 董建国,刘勤华,段虎,等.高压对含 TG 的鸡肉糜相关特性的影响[J].食品工业,2012,33(7):15-18.
- [15] 董建国,潘润淑,王正荣,等.超高压和转谷氨酰胺酶对碎牛肉凝胶品质的影响[J].食品工业,2013(8):171-175.
- [16] Supavititpatana T, Apichartsrangkoon A. Combination effects of ultra - high pressure and temperature on the physical and thermal properties of ostrich meat sausage (yor) [J]. Meat Science, 2007, 76(3):555-560.
- [17] 屈平,彭增起,陈德倡,等.牛肉制品的扫描电镜观察[J].电子显微学报,2001,20(4):529-530.
- [18] 刘茹,汪丽,熊善柏,等.三种添加剂在鱼肉猪肉复合凝胶中的作用[J].食品工业科技,2011,32(9):350-353.
- [19] 聂兴龙.结冷胶与谷氨酰胺转氨酶对低脂低盐牛肉凝胶品质的影响[D].合肥:合肥工业大学,2007.

(上接第 144 页)

- [3] 骆超超,高学军,王青竹,等.发酵谷物中产 L-赖氨酸益生菌的筛选与鉴定[J].食品科学,2010,31(21):232-235.
- [4] 王均成,王文凤. L-赖氨酸发酵生产研究进展[J].发酵科技通讯,2010,39(4):39-43.
- [5] 田原,张勇,宋安东,等. pH 反馈控制赖氨酸补料发酵中的碳氮源补加方法[J].过程工程学报,2011,11(3):492-496.
- [6] 张军华.微生物发酵法生产 L-赖氨酸的研究进展[J].生物加工过程,2012,10(2):73-78.
- [7] 周勇,满云,张伟国. L-赖氨酸高产菌发酵的研究[J].食品与生物技术学报,2011,30(6):924-927.
- [8] 陈银芳,张伟国. L-赖氨酸高产菌的选育及发酵培养基的

优化[J].生物技术,2009,19(4):36-40.

- [9] 曾兆国,李承钰,陈永辉,等.赖氨酸发酵过程中不同氮源的代谢作用研究[J].饲料工业,2010,31(6):34-35.
- [10] 廉少杰,张伟国.梯度温度法提高 L-赖氨酸发酵水平的研究[J].食品工业科技,2012(8):242-244,251.
- [11] 张伟国. L-赖氨酸发酵的研究[J].发酵科技通讯,2005,34(1):7-8.
- [12] 龙万凯.我国赖氨酸工业技术新进展[J].化学工程,2003,31(5):74-78.
- [13] 张伟国,顾正华. L-赖氨酸高产菌选育的研究[J].食品与发酵工业,2001,27(8):17-20.