

牛肉酶解工艺及其产物的研究进展

陈 珍, 安 鑫, 王亚茜, 廖鲜艳, 黄俊逸*
(上海大学生命科学学院, 上海 200444)

摘 要: 常用于水解牛肉的酶有木瓜蛋白酶、动物蛋白水解复合酶、风味复合酶等, 本文总结了蛋白酶水解牛肉的工艺以及酶法水解牛肉的研究现状, 归纳了牛肉酶解的3种工艺方法: 单酶水解、多酶复合水解和多酶分步水解。结果表明: 牛肉经过酶解释放出氨基酸或形成多肽, 更利于人体消化吸收, 并且具有一定的生物活性, 牛肉酶解工艺在肉制品行业中有广阔的发展前景。

关键词: 蛋白酶; 牛肉; 氨基酸; 活性多肽; 水解

Advances in the Research of Enzymatic Hydrolysis of Beef and Its Products

CHEN Zhen, AN Xin, WANG Ya-xi, LIAO Xian-yan, HUANG Jun-yi*
(School of Life Sciences, Shanghai University, Shanghai 200444, China)

Abstract: The use of papain, protamex and flavourzyme to hydrolyze beef is widespread. This paper reviews the current status of research on enzymatic hydrolysis of beef and its hydrolysate. Three hydrolysis procedures for beef are summarized, namely single enzymatic hydrolysis, and one-step or stepwise hydrolysis with multiple enzymes. It has been demonstrated that enzymatic hydrolysis of beef results in the release of amino acids or the formation of polypeptides, which are readily absorbed by the human body and have diverse bioactivities. The hydrolyzed beef has broad prospects for application in the meat industry.

Key words: protease; beef; amino acid; bioactive peptide; hydrolysis

中图分类号: Q814

文献标志码: A

文章编号: 1001-8123 (2014) 10-0029-04

中国是世界第四大牛肉消费国^[1], 市场销售以黄牛肉和水牛肉为主, 牦牛肉和小牛肉是最近两年发展起来的非常受消费者喜爱的肉品^[2-3]。牛肉蛋白质的氨基酸组成比猪肉更接近人体需要, 可提高机体抗病能力, 对于生长发育及手术后、病后调养的人在补充失血、修复组织等方面特别适宜^[4]。然而, 许多人却不能享受这种美味佳肴, 例如老年人和儿童咀嚼或吞咽不便; 肠胃功能紊乱者; 病后、术后需额外补充蛋白质者。因而要根据这些人群的营养需求为他们开发生产新型的牛肉制品^[5], 例如牛肉粉、氨基酸口服液等。将食物中的蛋白质水解成多肽或者游离氨基酸更有利于消化吸收, 且水解后得到的多肽往往还具有抗氧化等多种生物活性^[6]。

蛋白质水解形成氨基酸在肉类加工过程中有着重要的应用, 而通常将蛋白质肽键裂解的方法有化学法和酶法两种。化学法又分为酸水解和碱水解。酸水解是在110℃条件下水解24h以上, 色氨酸被破坏且过程难以控制; 而碱水解会降低胱氨酸、精氨酸、苏氨酸、丝氨酸、异亮氨酸和赖氨酸的含量。只有酶法水解是在较温

和的条件下进行的, 避免了化学法产生的不利因素, 并且不会降低蛋白质的营养价值^[7-8]。本文主要对牛肉酶解的工艺及牛肉酶解物的营养价值与保健功能进行了论述, 以期后续研究提供参考。

1 牛肉酶解的工艺研究

牛肉通过酶解可大大提高其营养价值和商业价值。目前, 我国活性肽和蛋白水解物的研究主要集中在大豆蛋白、乳蛋白、鱼蛋白方面。其他类蛋白, 尤其是水解牛肉蛋白的研究较少^[9]。对牛肉蛋白水解的研究主要集中在酶解条件的优化和水解度的提高方面。水解度 (degree of hydrolysis, DH) 的含义为水解打断的肽键数目占原料蛋白质中总肽键数的百分数。牛肉的水解方法有单酶水解, 多酶复合水解以及多酶分步水解。

1.1 单一酶水解研究

对牛肉蛋白水解的初期研究一般以单一蛋白酶水解为主, 即水解过程中只使用一种蛋白酶。可用于牛肉水

收稿日期: 2014-08-11

基金项目: 上海市研究生创新创业能力培养专项 (18679662575)

作者简介: 陈珍 (1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养与功能。E-mail: 33442124@qq.com

*通信作者: 黄俊逸 (1972—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品营养与功能。E-mail: jy-huang@shu.edu.cn

解的蛋白酶有木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶、中性蛋白酶、胃蛋白酶等。

孟祥河等^[9]采用木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶、中性蛋白酶、中性蛋白酶(As1.398)4种蛋白酶分别对牛肉进行水解,来制备富含生物活性多肽、肉碱的混合液。最终确定了牛肉水解最适宜的酶制剂为木瓜蛋白酶,其最佳条件为酶与底物之比为1 540 IU/g,底物质量浓度为3 g/100 mL, pH值为6.4,温度为60℃,此时DH达到20.8%。徐怀德等^[10]通过正交试验对比了胃蛋白酶(500~1 000 U/g)和木瓜蛋白酶(1 000~1 500 U/g)对牛肉的水解效果,结果发现,木瓜蛋白酶比胃蛋白酶更适于牛肉酶解。木瓜蛋白酶在酶添加量(酶与底物之比)8 g/kg,温度60℃,pH 7.0的条件下水解4 h,水解后游离氨基酸含量增加到40.1 mg/kg。

以上研究表明,酶的种类、酶解条件以及酶与底物比都会影响酶解效果。无论从最终的水解度还是氨基酸的产量来看,木瓜蛋白酶都是水解牛肉的最适酶。尽管单一酶水解操作简单,成本较低,但所得水解液的水解度较低,不能达到较好的水解效果,需要进一步采用多酶或多步复合水解。

1.2 多酶复合水解研究

孟祥河等^[11]采用木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶2种蛋白酶复合水解牛肉,制备富含生物活性多肽、肉碱的混合液,采用响应面法确定了复合酶解的最佳条件为酶与底物比1 540 IU/g pro、碱性蛋白酶与木瓜蛋白酶质量比1:7.5、底物质量浓度为3 g/100 mL、pH 7.0、温度55℃,此时的DH达到24.67%。谭斌等^[12]采用风味复合酶(flavourzyme, F)、复合蛋白酶(含内肽酶和外肽酶, protamex, P)、中性蛋白酶(neutrase, N)、碱性蛋白酶(alcalse, A)4种酶组合水解牛肉。以F+P、F+A、F+N两两组合的3种方式进行水解比较,结果发现F+P为最佳组合,其水解条件为底物质量浓度4.8 g/100 mL、反应pH 7.0、水解温度52.5℃,在此优化条件下DH最高,可达到50.65%。张谦益^[13]采用响应面法对复合蛋白酶水解牛肉的条件进行了研究,他获得的最佳水解工艺条件为pH 6.4、温度54℃、水解6 h、固液比为1:5.2(m/V)、酶与底物比2%, DH为12.62%。王岩^[14]用复合蛋白酶和复合风味蛋白酶同步水解牛肉,经过优化得到最佳酶解条件为底物质量浓度为16 g/100 mL、复合蛋白酶和风味蛋白酶添加量均为1.0%、水解温度50℃、起始pH 6.5、酶水解时间8 h, DH为21.0%。

以上研究表明,只用复合蛋白酶对牛肉进行水解,所得水解液的水解度并不高,与风味复合酶同时使用时,水解度有大幅度的提升。谭斌^[12]和王岩^[14]等都是采用风味复合酶和复合蛋白酶对牛肉进行复合水解,但谭斌研究的水解度最终高达50.65%,为王岩实验结果

(21.0%)的2倍,造成这种差异的原因可能是两者水解酶F和P所使用的比例不同,水解条件也不一样。综上,多酶复合水解的效果可能优于单一酶水解,但影响多酶复合水解的因素比单一酶解要复杂的多,最佳酶解条件较难确定,需多次实验,需要合理选择不同的酶类。

1.3 多酶分步水解研究

多酶分步水解是指水解过程中一次只加入一种蛋白酶,待反应一段时间后,再调节pH值和温度等条件,加入另外的酶继续水解。毛善勇等^[15]以复合蛋白酶和复合风味酶分步水解牛肉蛋白,首先单独用2%的复合蛋白酶在温度55℃、pH 6.0条件下水解牛肉6 h,其DH可达到12.57%。为了进一步提高水解度,调整温度为50℃,加入6.0%的复合风味酶,继续水解6 h,其水解度上升到24.62%。闫爽等^[16]用复合蛋白酶和风味蛋白酶(质量比2:1)、木瓜蛋白酶和风味蛋白酶(质量比2:1)分别进行分步酶解,其中风味蛋白酶为酶解开始2 h后再添加。并将其结果与单独用复合蛋白酶酶解的结果进行比较,结果发现3种方式得到的水解度分别为22.67%、25.58%、12.29%。

多酶分步水解的水解度也高于单一酶水解,并且反应过程中只需要确定单一酶的水解条件而不用经过多次实验确定复合反应的条件,相对多酶复合水解简单一些。但该方法耗时长、条件的调控和变换过于繁琐。综上所述,3种酶解牛肉的方法都有各自的优缺点,实际操作中应根据不同的需求以及实际条件选择不同的水解方法。

2 牛肉酶解物的成分分析

牛肉含有丰富的营养物质,例如蛋白质、脂肪、矿物质和B族维生素等。经过酶解以后,这些牛肉中的各种营养物质将释放出来,例如游离的氨基酸、生物活性肽、矿物质等,更易于人体吸收利用。

2.1 牛肉酶解液中氨基酸的分析

张谦益等^[17]采用复合蛋白酶对牛肉进行水解,并采用氨基酸自动分析仪测定了牛肉酶解物的氨基酸含量。结果表明,酶解物中氨基酸含量非常丰富,配比良好,其氨基酸的总含量最高为12.78%,最低为0.7%,呈鲜味的谷氨酸和天冬氨酸含量高,另外还含有较高含量的人体必需氨基酸。谭斌等^[12]对水解液中的氨基酸进行分析,得出不同DH的水解液中主要的游离氨基酸和完整蛋白质中的氨基酸含量等同,说明牛肉经过蛋白酶水解可以较好保留氨基酸成分。此外,水解液中游离氨基酸的含量与水解度呈正相关。

2.2 牛肉酶解液中活性多肽的分析

张谦益等^[18]用Tricine-SDS-PAGE电泳法对牛肉酶解物的分子质量进行测定,结果表明,产物的分子质量分



布在1 060~24 000 D范围, 分子质量在5 000 D以下的低分子质量蛋白成分含量约75%。一般认为分子质量在2 000~5 000 D范围内的小肽产生的肉味强度值最高, 可以作为一种肉味的前体物质并且对肉味有强化作用。

此外, 牛肉中含有丰富的矿物质元素: 钙、磷、镁、铜、铬和硒等, 这些矿物质不仅对牛肉的肉质产生影响, 在营养方面也能为人民的生理健康提供补充。经检测发现, 牛肉水解液中保留了绝大部分矿物质, 可以制成矿物质补充剂等。

3 牛肉酶解物功能的研究

酶法水解广泛应用于提高蛋白质的功能特性和营养特性^[20-21]。牛肉蛋白经过水解后, 水解液中含有多种游离氨基酸和小分子肽段。氨基酸是肉类风味形成的重要前体物质, 因此牛肉蛋白水解液可以用于高级调味剂的生产。近年研究发现, 小分子多肽可以由肠道直接吸收, 且小分子多肽的吸收途径比氨基酸具有更大的输送量^[15]。

3.1 营养功能

氨基酸是构成蛋白质的基础, 人们常说的蛋白质营养价值, 其实质就是构成蛋白质的氨基酸数目、含量及其结构比例。如果一种食物的蛋白质的氨基酸构成比例跟人体蛋白质的氨基酸构成比例相似, 则称这种食物营养价值高。

供给蛋白质不仅在数量方面要满足总氮的需要, 且在氨基酸的组成上也要达到最低量, 且有适宜比例^[22]。牛肉中含有优质蛋白质, 尤其是氨基酸的含量和比例都很适合人体的合成模式^[23]。而张谦益等^[17]对牛肉酶解物氨基酸的检测表明牛肉酶解物很好地保留了牛肉的营养成分。

3.2 加香功能

孙皎林^[24]用酶法得到牛肉蛋白水解物并制备牛肉香精, 得到复合蛋白酶和复合风味蛋白酶复合水解牛肉可以获得较高的水解度; 还进一步研究了热反应条件对牛肉香精的影响。宋诗清等^[25]以5种不同水解度牛肉酶解物分别制备得到5种热反应牛肉香精。利用定量感官分析和气相色谱-质谱/嗅觉测量法(gas chromatography-mass spectrometry/olfactometry, GC-MS/O)分析考察5种热反应牛肉香精香气成分的变化, 结果显示, 添加DH 29.13%水解液的牛肉香精样品其牛肉味、肉香味和仿真度相比于其他样品是最强的。赵中胜等^[26]应用风味分析法研究了pH值、牛肉水解蛋白添加量、反应时间、温度以及对美拉德反应制备食用香精的影响, 获得的最优条件为pH 7.0、牛肉水解蛋白添加量60%、时间115 min、温度105℃。在优化条件下得到的牛肉香精, 肉香浓郁, 烤肉味特征香气明显, 留香时间久。

3.3 抗氧化功能

酶法水解制备的抗氧化多肽具有螯合金属离子、捕捉自由基和抗氧化作用。Sarmadi等^[27]阐述了酶解蛋白制备抗氧化多肽的意义和国内外研究现状, 对抗氧化机理和研究过程中存在的问题进行分析, 并展望了其开发应用前景。酶解蛋白制备抗氧化多肽是开发天然抗氧化的重要途径, 它将广泛应用到饲料、食品加工、食品贮藏等^[28]方面。周小理等^[29]研究了复合酶所制备的牛肉水解液抗氧化活性, 当采用复合酶酶解牛肉蛋白时, 酶与底物比为462 414 U/g、温度60℃、pH 4.5、水解时间5 h, 底物质量浓度8 g/100 mL, 抗氧化活性最好。

4 牛肉蛋白酶解物的应用

目前, 酶解技术已在肉味香精前体物的制备方面得到广泛应用。牛肉酶解后释放出大量的游离氨基酸, 酶解物和糖类物质等发生美拉德反应, 可制得肉味香精前体物^[30-31]。目前, 我国肉味香精的生产厂家有100多家, 年销售额约20亿元人民币, 每年以超过10%的速度递增, 相关食品等工业的产值约200亿元人民币^[32]。肉味香精市场将以很快的速度增长, 应用领域也将不断扩大。

酶解法可以产生大量的小肽并且成本较低, 此外其底物、反应剂不会对反应环境造成危害^[33-34]。抗氧化性多肽是生物活性肽的一种, 通过减少氧自由基、羟自由基从而达到抗衰老的功能^[35-36], 使用安全性高。同时还能防止油脂氧化, 作为抗氧化剂使用时, 这类多肽安全、高效、无助氧化作用^[37]。而酶解蛋白制备抗氧化多肽是开发天然抗氧化的重要途径, 它将广泛应用到饲料、食品加工、食品贮藏等方面^[28]。另外, 抗氧化性多肽可以应用于化妆品行业, 作为一些修复型化妆品的添加剂, 如营养霜和面膜, 可以快速恢复皮肤的光泽与弹性, 减少皱纹, 对延缓衰老起着积极的作用; 用于护发, 有很好的光泽效果和高效的保护作用, 可使头发免受环境条件和化学因素的破坏^[38]。目前对于牛肉水解物抗氧化活性的研究已全面展开, 随着研究的深入, 将具有更大的开发价值和应用前景。

5 结 语

未来中国的肉类行业发展前景广阔, 利用肉类资源开发具有调节机体功能、提高免疫力和智力、延缓人体衰老、增强体质和抵抗力的功能肉食品是21世纪研究的重要课题, 特别是开发老年、儿童保健肉制品和绿色肉食品更是具有广阔的市场前景和投资前景^[39]。酶解制备的牛肉水解液富含多种氨基酸和生物活性肽, 并保留了牛肉中其他营养物质, 将在保健肉制品的开发中



发挥重要的作用。此外,国内乳业经过迅猛的发展,每年都有大量奶公犊牛产生,但仅作为血清的生产材料,没有充分发挥经济效益^[38]。若将牛肉蛋白的酶解技术和奶公犊牛的开发利用结合起来,用于保健品的生产,不仅增加了奶公犊牛的附加值,降低了保健肉制品的生产成本,还弥补了我国营养保健品在这一方面的空缺。

参考文献:

- [1] 潘力,田露,曹建民,等.世界牛肉消费趋势及影响因素分析[J].中国畜牧杂志,2012(16): 20-23.
- [2] 王喜群,王明金.牦牛肉营养成分分析与研究[J].肉类研究,2006,20(5): 24-26.
- [3] 孙柏超.小牛肉生产的要点[J].养殖技术顾问,2013(3): 32.
- [4] 麻海峰,常征,杨光辉.牛肉的营养价值及排酸、速冻工艺研究[J].农业科技与装备,2010(7): 34-36.
- [5] 刘燕.从营养角度看肉类制品加工业的发展[J].肉类研究,2006,20(1): 3-5.
- [6] TAVANO O L. Protein hydrolysis using proteases: an important tool for food biotechnology[J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2013, 90: 1-11.
- [7] 李宏凯.酶法水解植物蛋白概况[J].中国食品添加剂,2010(4): 233-237.
- [8] 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.
- [9] 孟祥河,段善海,王晓忠.牛肉酶法水解的研究[J].食品科技,2001(4): 13-15.
- [10] 徐怀德,段旭昌,提高兰.牛肉酶解条件和饮料加工技术研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2003(增刊1): 89-92.
- [11] 孟祥河,张铁华,洪伯铿.复合酶水解牛肉的研究[J].食品科技,2002(2): 17-20.
- [12] 谭斌,丁霄霖.牛肉蛋白水解物的酶解制备[J].无锡轻工大学学报:食品与生物技术,2005(1): 59-64.
- [13] 张谦益.复合蛋白酶水解牛肉的研究[J].肉类工业,2006(6): 18-22.
- [14] 王岩.双酶水解牛肉的研究[J].肉类工业,2009(4): 37-39.
- [15] 毛善勇,周瑞宝.复合酶水解牛肉的研究[J].肉类工业,2004(9): 16-18.
- [16] 闫爽,高献礼,陆健.协同发酵法与酶解法制备牛肉呈味料的对比研究[J].食品工业科技,2013(8): 196-200.
- [17] 张谦益,张明德,王香林.牛肉酶解物的氨基酸组成分析[J].肉类研究,2006,20(6): 29-30.
- [18] 张谦益,吴洪华.牛肉酶解物的Tricine-SDS-PAGE电泳分析[J].肉类工业,2006(7): 21-22.
- [19] 张谦益,臧勇军,吴洪华,等. GC/MS法分析牛肉酶解物衍生肉香风味的化学成分[J].农产品加工: 学刊,2006(2): 19-21.
- [20] MOURE A, DOMINGUEZ H, PARAJO J C. Fractionation and enzymatic hydrolysis of soluble protein present in waste liquors from soy processing[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(19): 7600-7608.
- [21] de la BARCA A M C, RUIZ-SALAZAR R A, JARA-MARINI M E. Enzymatic hydrolysis and synthesis of soy protein to improve its amino acid composition and functional properties[J]. Journal of Food Science, 2000, 65(2): 246-253.
- [22] 陈幼春.牛肉与体育锻炼、保健和运动员康复:论牛肉的十大保健因子[C]//第三届中国牛业发展大会.穆棱,2008.
- [23] LEMIEUX F C, FILION M E, BARBAT-ARTIGAS S, et al. Relationship between different protein intake recommendations with muscle mass and muscle strength[J]. Climacteric, 2014, 17(3): 294-300.
- [24] 孙姣林.水解牛肉蛋白制备牛肉香精研究[D].长沙:湖南农业大学,2011.
- [25] 宋诗清,张晓鸣,刘芳,等.牛肉酶解物对牛肉特征香味形成的影响研究[J].食品工业科技,2012(19): 76-81.
- [26] 赵中胜,谭雪莹,查恩辉,等.牛肉香精制备工艺的研究[J].食品研究与开发,2013(9): 54-56.
- [27] SARMADI B H, ISMAIL A. Antioxidative peptides from food proteins: a review[J]. Peptides, 2010, 31(10): 1949-1956.
- [28] 焦骝文,孔繁东,祖国仁,等.酶解蛋白制备抗氧化多肽的研究现状与展望[J].中国酿造,2007(3): 5-7.
- [29] 周小理,张正强.牛肉水解液的制备及其抗氧化活性的研究[J].食品工业,2007(2): 24-27.
- [30] 李珺,钟耀广,刘长江.肉味香精制备的研究进展[J].食品工业科技,2010(1): 429-432.
- [31] SONG S, TANG Q, HAYAT K, et al. Effect of enzymatic hydrolysis with subsequent mild thermal oxidation of tallow on precursor formation and sensory profiles of beef flavours assessed by partial least squares regression[J]. Meat Science, 2014, 96(3): 1191-200.
- [32] 欧阳杰,韦立强,武彦珍,等.肉味香精的过去、现在和将来[J].中国调味品,2006(11): 42-45.
- [33] 舒夏娃,王春维.动物蛋白制备生物活性肽酶解工艺的研究进展[J].饲料与畜牧,2006(2): 38-41.
- [34] BAUCHART C, REMOND D, CHAMBON C, et al. Small peptides (<5 kDa) found in ready-to-eat beef meat[J]. Meat Science, 2006, 74(4): 658-666.
- [35] 吴继卫,何海伦,路敬涛,等.海洋生物蛋白的酶解及酶解产物的抗氧化活性[J].海洋科学,2005(3): 76-80.
- [36] YOU L, ZHAO M, CUI C, et al. Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2009, 10(2): 235-240.
- [37] DARINE S, CHRISTOPHE V, GHOLAMREZA D. Production and functional properties of beef lung protein concentrates[J]. Meat Science, 2010, 84(3): 315-322.
- [38] HOGAN S, ZHANG L, LI J, et al. Development of antioxidant rich peptides from milk protein by microbial proteases and analysis of their effects on lipid peroxidation in cooked beef[J]. Food Chemistry, 2009, 117(3): 438-43.
- [39] 周映霞.我国肉类加工的现状与研究[J].肉类研究,2009,23(2): 3-6.