

牛肉的外源性蛋白酶嫩化技术研究进展

聂远洋, 李璐, 温文婷, 夏白雪, 孙群*
(四川大学生命科学学院, 四川 成都 610064)

摘要: 牛肉嫩度是一项肉质评定的重要指标, 也是消费者评判肉质优劣的最常用指标。外源性蛋白酶嫩化技术具有方法简单, 条件要求相对低, 能显著提高牛肉的品质等优点, 且处理后的牛肉具有柔软、适口、多汁和易于咀嚼等特点, 多年来一直受到肉类加工行业的重视, 并已得到了广泛的研究和应用。本文主要论述了外源性蛋白酶对牛肉的嫩化机理和近年来在利用各类外源性蛋白酶嫩化处理牛肉的研究上取得的进展, 以期为牛肉嫩化的研究提供参考。

关键词: 牛肉; 嫩化; 嫩化技术; 嫩化机理; 外源性蛋白酶

Recent Progress on Application of Exogenous Proteases for Beef Tenderization

NIE Yuan-yang, LI Lu, WEN Wen-ting, XIA Bai-xue, SUN Qun*
(College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: Beef tenderness is both an important indicator of meat quality assessment and the most commonly used indicator to evaluate consumer acceptance. Exogenous proteases have attracted considerable interest from the meat processing industry and have been widely used to tenderize beef due to simple operation, low requirements and high efficacy in improving beef quality as well as soft mouth feel, good palatability and high juiciness and high chewiness of tenderized beef. This paper focuses on the mechanism for the tenderization of beef by exogenous proteases and the recent progress on this application, which will provide guidelines for beef tenderization.

Key words: beef; tenderization; tenderization mechanism; exogenous protease

中图分类号: TS251.52

文献标志码: A

文章编号: 1001-8123(2013)06-0044-05

牛肉作为一种重要的肉食品原料, 具有丰富的营养和良好的加工特性, 在食品工业中有着广泛的应用基础, 随着人们生活水平的不断提高, 饮食习惯的改变和膳食结构的不断调整, 牛肉不仅越来越受到消费者的喜爱, 而且其质量也受到了广泛重视^[1-3]。牛肉的嫩度作为一项肉质评定和消费者购买意愿评价的重要指标^[4-6], 指的是牛肉的适口性, 它反映了牛肉中肌纤维的脂肪数量和分布状态以及各种蛋白质的结构特性等, 一般用剪切力值反映^[4,7-8]。而与猪肉、羊肉等相比, 牛肉的纤维较粗, 肉质较老, 难于咀嚼, 口感较差, 因此在牛肉加工中常常需进行嫩化处理^[9-11]。

现行的牛肉嫩化方法主要包括物理法、化学法和生物法。物理法主要有低温成熟^[12]、机械滚揉法^[13]、电刺激法^[14-15]、高压法^[16]和超声波法^[17]; 化学法主要有盐法^[18]和有机酸法^[19]; 生物法主要指的是外源性蛋白酶嫩化技术^[20],

这类酶大多具有分解肌纤维膜和肌原纤维蛋白的特性, 处理后的牛肉具有柔软、适口、多汁和易于咀嚼等特点, 且该方法简单, 条件要求相对低, 能显著提高牛肉的品质, 因而多年来一直受到肉类加工行业的重视, 并已得到了广泛的研究和应用。

1 外源性蛋白酶对牛肉的嫩化机理

1.1 肌原纤维对嫩度的作用

肌原纤维的结构构成主要包括肌球蛋白和肌动蛋白以及一些起稳定作用的骨架蛋白, 而这些骨架蛋白又主要由 α -肌动素、伴肌球蛋白、伴肌动蛋白、肌钙蛋白T、副原肌球蛋白和肋状带结构等构成^[21](图1)。

1.1.1 α -肌动素

α -肌动素是Z丝结构中的一种重要蛋白质, 由分子质

收稿日期: 2013-03-12

基金项目: 四川省统筹城乡发展科技行动项目(2012NZ0047-04/05); 肉类加工四川省重点实验室项目(2013LF3002)

作者简介: 聂远洋(1986—), 男, 博士研究生, 研究方向为资源微生物。E-mail: yuanyang8238@163.com

*通信作者: 孙群(1967—), 女, 教授, 博士, 研究方向为肉品科学。E-mail: qunsun@scu.edu.cn

2 外源性蛋白酶技术嫩化牛肉的应用

2.1 植物性蛋白酶的应用

表1 常用植物性蛋白酶的使用条件^[27]

Table 1 Reaction conditions for common plant proteases^[27]

酶类	最适温度/℃	最适pH值	失活温度/℃	备注
木瓜蛋白酶	65	7.0~7.5	90	丰富, 低廉
菠萝蛋白酶	30~35	6.0~8.0	60	
无花果蛋白酶	40~45	6.0~8.0	100	
生姜蛋白酶	60	5.5	70	可作用弹性蛋白, 对胶原蛋白的水解活性比对肌球蛋白高几倍
猕猴桃蛋白酶	55~65	5.0~7.0	75	酸性环境嫩化效果较好

木瓜蛋白酶、生姜蛋白酶、猕猴桃蛋白酶、无花果蛋白酶和菠萝蛋白酶等是应用于牛肉嫩化的常用植物性蛋白酶, 其中较广泛应用的为木瓜蛋白酶, 各种酶的使用条件及情况如表1^[27]所示。

2.1.1 木瓜蛋白酶

木瓜蛋白酶是一种内切酶, 含有巯基(-SH)肽链, 具有蛋白酶和酯酶的双重活性, 能降解肌原纤维和结缔组织, 它可催化肌动球蛋白和胶原蛋白降解为多肽甚至氨基酸, 导致肌肉的肌丝和筋腱丝断裂, 从而使牛肉嫩化^[28]。Minh等^[29]将木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、生姜蛋白酶和猕猴桃蛋白酶这4种常见的市售植物性蛋白酶分别用于牛肉肌纤维和结缔组织的嫩化处理, 并比较了他们的嫩化效果。结果表明决定牛肉嫩化效果的主要因素是使用蛋白酶的浓度, 猕猴桃蛋白酶嫩化处理牛肉肌纤维的效果最好, 生姜蛋白酶嫩化处理牛肉结缔组织的效果最好, 显示了它们的特殊嫩化用途。而木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶的高活性和可控性, 使其更适于牛肉的嫩化处理。雷昌贵等^[30]分别用不同浓度的氯化钙溶液、磷酸盐溶液、木瓜蛋白酶溶液浸渍新鲜牛肉(背最长肌), 4℃放置3d后测定肉样肌原纤维小片化指数(myofibrillar fragmentation index, MFI)和剪切力。结果表明, 木瓜蛋白酶对牛肉的嫩化有显著的作用, 能够显著增加MFI和降低剪切力。

应用木瓜蛋白酶对牛肉嫩化的工艺条件优化的研究也有很多报道。刘昭等^[31]采用均匀设计试验法优化了木瓜蛋白酶处理嫩化牛肉的最佳工艺参数: 木瓜蛋白酶溶液的浓度0.03%、pH5.9、嫩化时间13h, 相应的嫩化牛肉剪切力为1.64kg, 各因素影响的主次顺序为: 木瓜蛋白酶溶液浓度>嫩化时间>pH值。史晓燕等^[32]测定了在不同浓度木瓜蛋白酶、嫩化温度、嫩化时间处理下牛肉嫩度和风干肉感官品质的变化, 结果表明: 木瓜蛋白酶在55℃下嫩化2h的最佳质量分数为0.04%, 木瓜蛋白酶浓度对牛肉嫩度的影响显著($P<0.05$), 其次是嫩化温度, 嫩化时间对其影响不显著($P>0.05$)。明建等^[33]以酶活力、pH值、处理温度和处理时间为优化条件进行 $L_9(3^4)$ 正交

试验, 确定了用木瓜蛋白酶嫩化处理牛肉的最佳嫩化工艺条件为: 用20U/g(0.01%)的木瓜蛋白酶在pH7.0和37℃下处理1.5h; 或用40U/g(0.02%)的木瓜蛋白酶在pH 7.0和20℃下处理1.5h, 因素的显著性次序为: 处理温度>处理时间>酶活>pH值。

2.1.2 生姜蛋白酶

生姜蛋白酶其结构中含有巯基醇, 可以催化分解胶原蛋白和肌动球蛋白, 且对胶原蛋白的分解能力要远高于肌动球蛋白, 因此该酶可通过降解肌原纤维而提高牛肉的嫩度^[34]。俞沛初^[35]、Mega^[36]等成功地利用生姜蛋白酶对牛肉、猪肉等进行了嫩化, 证明了生姜蛋白酶对肉的嫩化作用。孙国梁等^[37]研究了生姜蛋白酶对牛肉的嫩化效果, 对酶用量、pH值、处理温度、处理时间进行了测试, 并且进一步通过 $L_9(3^4)$ 正交试验选择出最佳嫩化工艺条件为: 用0.06%的生姜蛋白酶在pH7.0和50℃条件下处理2h, 其嫩化效果十分显著。唐晓珍等^[38]通过测定猪肉的最大剪切力研究了生姜蛋白酶和生姜汁对猪肉的嫩化效果, 结果表明生姜蛋白酶和生姜汁对猪肉的嫩化效果都非常显著, 其中生姜蛋白酶的最佳用量为0.01%、最佳pH值为7.0、最佳预处理温度为30℃; 生姜汁中对肉起嫩化作用的主要物质是生姜蛋白酶。

2.1.3 猕猴桃蛋白酶

猕猴桃蛋白酶是一种较新的有待开发利用的植物性蛋白酶, 发现于木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶之后, 对于植物蛋白酶嫩化剂种类的扩展及深入研究有着重要的意义^[39]。Minh等^[40]将猕猴桃蛋白酶和芦笋蛋白酶提取物用于牛肉肌纤维和结缔组织的嫩化处理, 并比较了他们的嫩化效果。结果表明猕猴桃蛋白酶提取物嫩化处理牛肉肌纤维和胶原蛋白的效果要优于芦笋蛋白酶提取物, 显示了猕猴桃蛋白酶更适于作为牛肉的一种嫩化剂。王海丽等^[39]测定了不同成熟度软枣猕猴桃的出汁率、酸度、糖度及粗蛋白酶活力的变化情况, 并且采用硫酸铵沉淀法从软枣猕猴桃中提取蛋白酶, 确定最佳盐析条件及最佳pH值。结果表明: 成熟度最好的软枣猕猴桃出汁率、酸度、糖度及粗蛋白酶活力最好, 为提取软枣猕猴桃蛋白酶的最佳成熟度, 最佳盐析条件为70%硫酸铵饱和度; 最佳pH值为7.0时粗蛋白酶活力最高, 分解肌动球蛋白效果最佳。

2.1.4 无花果蛋白酶和菠萝蛋白酶

无花果蛋白酶和菠萝蛋白酶也可作为牛肉嫩化剂使用, 分别提取自各自的植物, 但是这两种酶来源相对较少。李雨林等^[41]以平均剪切力值为指标, 通过相差显微镜镜检比较了经同等活力浓度无花果蛋白酶与木瓜蛋白酶嫩化后老牛肉的细胞结构变化, 研究了无花果蛋白酶嫩化牛肉的工艺条件: 无花果蛋白酶嫩化10mm×10mm×25mm牛肉, 适宜用量为0.01%, 有最

小平均剪切力的条件为：pH7.0，预处理温度50℃，处理时间120min。相比木瓜蛋白酶，无花果蛋白酶的嫩化效果更加明显。薛力荔等^[42]选择几种添加物作用于菠萝蛋白酶酶液，并在不同pH值缓冲液中保存，定期测定蛋白酶活力，研究添加物及缓冲液对菠萝蛋白酶的稳定性和抑制作用的影响。结果显示：VB₁、L-半胱氨酸、异抗坏血酸钠、NaCl对菠萝蛋白酶酶活均有促进作用，而NaNO₂、乙酸锌、ZnCl₂对菠萝蛋白酶酶活都有一定的抑制作用，KCl和NaNO₃对菠萝蛋白酶酶活影响并不显著。

2.2 动物性蛋白酶的应用

研究证明，动物性蛋白酶如胰酶、胶原酶等可以显著提高对牛肉中蛋白质的水解率，能分解肌原纤维和破坏肌纤维的Z线和H带，使肉软化。用胰酶嫩化处理牛肉，胰酶进入肌间后与组织中的蛋白酶(如胶原酶)配合分解肌间缔结组织中的胶原纤维，使其结构破坏导致牛肉软化；同时也作用于肌纤维，使部分肌细胞组合蛋白裂解为多肽、氨基酸和水溶性钙、磷、锌、铜、铁等微量元素，显著改进肉品的营养和风味，而且仍可保持一级鲜度，pH值和感官指标正常^[43]。

Pietrasik等^[44]通过测定系水率、烹调损失、剪切力和感官特性等指标，研究了胰酶嫩化处理牛肉(半腱肌)的效果，结果表明胰酶能显著对牛肉进行嫩化，提高了适口性，其使用质量分数不低于0.02%。明建等^[45]采用L₉(3⁴)正交试验优化出胰蛋白酶处理牛肉的最佳嫩化工艺条件为：酶用量100U/g(0.04%)、处理温度37℃、pH7.0、处理时间1.5h；或酶用量150U/g(0.06%)、处理温度20℃、pH7.0、处理时间1.5h。胰蛋白酶的酶活、pH值、处理温度和处理时间对牛肉的持水力、烹饪失水率和剪切力均有显著影响，各因素的显著性次序为：处理温度>胰蛋白酶用量>处理时间>pH值。

2.3 微生物性蛋白酶的应用

微生物性蛋白酶作为一种嫩化牛肉的生物制剂，近年来也有较大发展。这类酶在适宜温度条件下可以催化结构复杂的蛋白质中某些肽键断裂，有效降解胶原纤维和结缔组织中的蛋白质，减弱弹性蛋白的交联作用，从而使牛肉品质变得柔软滑爽、汁多，易于消化吸收^[46]。枯草芽孢杆菌中性蛋白酶及弹性蛋白酶、米曲蛋白酶、根酶蛋白酶和黑曲蛋白酶等是微生物性蛋白酶中的主要酶类。

Sullivan等^[47]将木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶、菠萝蛋白酶、生姜蛋白酶、枯草芽孢杆菌蛋白酶和两种米曲蛋白酶等共7种蛋白酶分别用于嫩化处理高含量结缔组织和低含量结缔组织的牛肉(肱三头肌和冈上肌)，通过测定剪切力和感官评价评定各蛋白酶的嫩化效果，结果表明所有这7种外源性蛋白酶都能通过降解肌纤维蛋白和胶原蛋白达到嫩化牛肉的效果，且高含量和低含量结缔组织的

牛肉无显著性差异，其中两种米曲蛋白酶尤能降解牛肉产生大量的盐溶性蛋白。

Pietrasik等^[48]用磷酸盐溶液、分割排酸、米曲蛋白酶和枯草芽孢杆菌蛋白酶4种方法分别和两两结合嫩化处理牛肉(半膜肌)，以烹调损失、剪切力和感官特性为指标评定各方法的嫩化效果，与对照组相比，4种方法都能显著提高牛肉的嫩度，而磷酸盐溶液和分割排酸相结合，或者磷酸盐溶液与米曲蛋白酶或枯草芽孢杆菌蛋白酶相结合的方法嫩化效果最好，米曲蛋白酶或枯草芽孢杆菌蛋白酶的最佳使用质量浓度为20mg/kg。刘书亮等^[49]以枯草芽孢杆菌紫外诱变株BEM01产生的弹性蛋白酶、胰弹性蛋白酶和木瓜蛋白酶为材料，以剪切力和感官评定为指标，探讨了该酶对蛋白质分解和牛肉嫩化的影响。结果表明这3种蛋白酶都可以不同程度的降解这些蛋白质，但弹性蛋白酶处理的牛肉样品的嫩度明显优于木瓜蛋白酶，显示了枯草芽孢杆菌弹性蛋白酶替代木瓜蛋白酶成为一种新型牛肉嫩化剂的可能性。

3 结语

外源性蛋白酶作为一类牛肉嫩化剂，其安全、卫生、无毒的特点，不仅有助于提高牛肉的色、香、味和增加牛肉的营养价值，而且不产生任何不良风味，是一种极有前途的牛肉嫩化剂^[50]。随着科学技术的发展，外源性蛋白酶对牛肉的嫩化机理将会有更深入的研究，在各种嫩化酶的制备、提取、分离、纯化等方面也会有更先进的技术出现，从而使牛肉的嫩化技术达到一个新的高度，使牛肉的营养食用价值更加丰富、安全可靠，并促进牛肉市场占有率的扩大，为人们提供更高品质的牛肉食品，同时也不断满足人们对牛肉鲜嫩美味的时尚追求。

参考文献：

- [1] 周光宏. 畜产食品加工学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 11-12; 40-47.
- [2] 王光慈. 食品营养学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 77-78; 194-195.
- [3] 罗欣. 中国肉牛业的现状与发展思考[C]. 南京: 中国畜产品加工业发展科技年会组委会, 2003: 84-85.
- [4] VON SEGGERN D D, CALKINS C R, JOHNSON D D, et al. Muscle profiling: Characterizing the muscles of the beef chuck and round[J]. Meat Science, 2005, 71(1): 39-51.
- [5] 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.
- [6] MILLER M F, CARR M A, RAMSEY C B, et al. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness[J]. Journal of Animal Science, 2001, 79(12): 3062-3068.
- [7] SAVELL J W, CROSS H R. The role of fat in the palatability of beef, pork, and lamb[C]. Washington, DC: National Academy Press, 1988: 345-355.



- [8] 甘泉. 生鲜牛肉嫩度的影响因素和嫩化技术[J]. 肉类工业, 2012, 376(8): 51-53.
- [9] TUCKER G A, WOODS L F J. 酶在食品加工中的应用[M]. 2版. 李雁群, 肖功年译. 北京: 中国轻工业出版社, 2002.
- [10] 吴巧玲. 肉类蛋白酶嫩化剂的研究进展[J]. 食品工业科技, 2001, 22(5): 88-90.
- [11] 马美湖, 唐晓峰. 氯化钙和木瓜蛋白酶对牛肉嫩化效果的研究[J]. 湖南农业大学学报, 2001, 27(1): 63-66.
- [12] 刘丽, 周光宏, 王丽哲, 等. 宰后成熟时间对牛肉品质的影响[J]. 食品科学, 2002, 23(1): 33-36.
- [13] 陈泽刚, 李述瑞. 真空滚揉、静腌对平遥牛肉品质的影响[J]. 肉类工业, 2011, 361(5): 6-8.
- [14] HOPE-JONES M, STRYDOM P E, FRYLINCK L, et al. The efficiency of electrical stimulation to counteract the negative effects of beta agonists on meat tenderness of feedlot cattle[J]. Meat Science, 2010, 86(3): 699-705.
- [15] 胡鹏, 丁玉, 蔡荣宝, 等. 电刺激对牛背最长肌中钙激活酶活性及嫩度的影响[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(8): 162-167.
- [16] 李斌, 高海燕, 刘勤华, 等. 高压处理对牛肉理化特性的影响[J]. 农产品加工, 2009(9): 74-76.
- [17] 李林强, 咎林森, 张宝驹. 超声辅助氯化钙浸泡处理对牛肉嫩度的影响[J]. 农业工程学报, 2009, 25(6): 290-295.
- [18] 邱燕, 崔薇, 陈韬. 氯化钙处理对牛肉嫩化的研究进展[J]. 肉类研究, 2009, 120(2): 10-13.
- [19] SHUMING K, YAN H, ERIC A, et al. Impact of citric acid on the tenderness, microstructure and oxidative stability of beef muscle[J]. Meat Science, 2009, 82(1): 113-118.
- [20] 周强, 张富新. 嫩化酶及其在肉类加工中的应用进展[J]. 工艺探讨, 2007, (10): 56-58.
- [21] TAYLOR R G, GEESINK G H, THOMPSON V F, et al. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization?[J]. Journal of Animal Science, 1995, 73(5): 1351-1367.
- [22] 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.
- [23] 王晓华, 曹恺, 甘泉, 等. 肉品的嫩化机制、方法及其影响因素[J]. 中国农学通报, 2008, 24(9): 94-98.
- [24] 马美湖, 唐晓峰. 氯化钙和木瓜蛋白酶对牛肉嫩化效果的研究[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2001, 27(1): 63-66.
- [25] 马美湖, 刘成国, 廖仁昌, 等. 脆嫩方便型牛肉火锅加工技术研究[J]. 肉类工业, 1999, 219(9): 33-36.
- [26] 吕东坡, 胡永金, 朱仁俊, 等. 宰后肉的嫩化机制及其影响因素[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 704-709.
- [27] 刘鹭, 李洪军. 肉类嫩化方法及技术研究进展[J]. 肉类工业, 2001, 247(11): 40-42.
- [28] 李玉伟. 外源性因素在肉类嫩化中的作用[J]. 肉类研究, 2002(3): 14-19.
- [29] MINH H, ALAA EI-DIN A B, ALAN C, 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.
- [30] 雷昌贵, 孟宇竹, 席会平, 等. 氯化钙、磷酸盐、木瓜蛋白酶对牛肉 MFI 及剪切力的影响[J]. 肉类工业, 2009, 334(2): 23-25.
- [31] 刘昭, 宋江良, 安风平. 均匀试验设计法在木瓜蛋白酶嫩化牛肉中的应用研究[J]. 福建轻纺, 2010(3): 51-53.
- [32] 史晓燕, 腾克, 华晓青, 等. 氯化钙、木瓜蛋白酶对风干肉感官品质的影响[J]. 食品工业, 2012, 33(10): 10-12.
- [33] 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.
- [34] 冯敏, 唐春红. 生姜蛋白酶的研究概述[J]. 中国食品添加剂, 2008(6): 58-60.
- [35] 俞沛初, 胡一匡. 生姜汁对肉类致嫩效应初探[J]. 上海农学院学报, 1994, 12(2): 96-99.
- [36] MEGA, MITSUHASHI, TOMIKO, et al. Effects of ginger proteases on meat collagen[J]. Nippon Kasei Gakkai-Shi, 1987, 38(10): 923-926.
- [37] 孙国梁, 孔凡敏, 刘涛, 等. 生姜蛋白酶嫩化牛肉效果的研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(3): 244-246.
- [38] 唐晓珍, 黄雪松, 王明林, 等. 生姜蛋白酶和生姜汁对猪肉嫩化效果的比较[J]. 山东农业大学学报, 2003, 34(1): 15-19.
- [39] 王海丽, 金清, 杨震. 软枣猕猴桃粗蛋白酶的提取研究[J]. 食品科技, 2013, 38(4): 277-280.
- [40] MINH H, ALAA EI-DIN A B, ALAN C, et al. Characterisation of kiwifruit and asparagus enzyme extracts, and their activities toward meat proteins[J]. Food Chemistry, 2013, 136(2): 989-998.
- [41] 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, 307(11): 31-33.
- [42] 薛力荔, 宋珊珊, 江霞, 等. 不同添加剂对菠萝蛋白酶活稳定性和抑制作用的影响[J]. 肉类研究, 2011, 25(4): 7-11.
- [43] 刘家忠. 肌肉的加酶嫩化[J]. 肉类工业, 1997(3): 25-26.
- [44] PIETRASIK Z, AALHUS J L, GIBSON L L, et al. Influence of blade tenderization, moisture enhancement and pancreatin enzyme treatment on the processing characteristics and tenderness of beef *semitendinosus* muscle[J]. Meat Science, 2010, 84(3): 512-517.
- [45] 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.
- [46] 权美平, 张丽华. 肉嫩化的生物学方法初探[J]. 农产品加工: 学刊, 2012, 286(7): 81-82.
- [47] 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.
- [48] PIETRASIK Z, SHAND P J. Effects of moisture enhancement, enzyme treatment, and blade tenderization on the processing characteristics and tenderness of beef *semimembranosus* steaks[J]. Meat Science, 2011, 88(1): 8-13.
- [49] 刘书亮, 詹莉, 吴琦. 枯草芽孢杆菌弹性蛋白酶对蛋白质水解及肉类嫩化的效果[J]. 食品科技, 2010, 35(6): 162-165.
- [50] 吴巧玲. 肉类嫩化剂研究进展[J]. 肉类工业, 2001, 241(6): 28-30.