

酶制剂在肉类嫩化增味中的作用及提取方法

邢秀芹

(白城师范学院生物系 吉林白城 137000)

摘要:肉嫩、肉香是肉制品加工过程中追求的目标,如何来嫩化、增香,本文主要介绍酶制剂在肉品加工中对肉类嫩化增味的几种方法。同时介绍了酶制剂的几种提取方法。

关键词:酶制剂;嫩化;增味;提取方法

Abstract: The tenderness and flavor is the pursuing aim in the processing of meat products. How to tenderize the meat and enhance flavor? This paper is to introduce several methods of tenderizing and enhancing flavor of enzyme preparation in the processing of meat products. At the same time several extraction methods of enzyme preparation are introduced too.

KeyWords: Enzyme preparation, Tenderizing, flavor enhancing, extraction method

近年来,酶在食品工业上的应用研究已普遍引起国内外学者的关注。生物工程是现代科技的一项高新技术,酶工程是生物工程中最重要的一部分。经过几十年的发展,酶制剂已经广泛地应用于肉类食品加工行业,酶给肉类加工行业带来了新的生机和活力。自古以来,酶和食品就有着天然的联系,人们在生产各种食品时,有意无意就利用酶。近年来随着酶技术的发展,酶技术在肉食品加工工业得到了广泛地应用。

酶是细胞原生质合成的一类具有高度催化活性的特殊蛋白质,由许多氨基酸组成,称为生物催化剂。酶普遍存在于动植物和微生物中,通过采取适当的理化方法,将酶从生物组织或细胞以及发酵液中提取出来,加工成具有一定纯度标准的生化制品,称为酶制剂。

在食品方面,核酸酶中肌苷酸与鸟苷酸是强力助鲜剂,如少量添加在谷氨酸钠中,其鲜味就可增加几十倍到百倍,称为强力味精。也可添加在酱油等其它调味品中,有助于增加鲜味。

1、酶制剂在嫩化中的作用

肉质嫩度变化的反应是在多种酶的协同作用下完成的,起主要作用的酶是钙激活酶。酶技术可以促使肉类嫩化。牛肉及其它质地较差的肉(如老动物肉),其结缔组织和胶原蛋白及单性蛋白质含量高而且结构复杂。胶原蛋白是纤维蛋白,由副键连接成为具有很强机械强度的组织,这种交联键可分为耐热和不耐热两种^[1]。幼动物的胶原蛋白中不耐热交联键多,一经加热即行破裂,肉就显得嫩;而老动物的肉因耐热键多,烹饪时软化较难,因而显得肉质粗糙,难以烹调,口感亦差。采用蛋白酶可以将肌肉结缔组织中胶原蛋白分解,从而成功地使肉质嫩化。

蛋白酶作为食品工业添加剂可用来改善食品质量。以蛋白酶配制成嫩化剂,用来有效的促进肉类在加工中的嫩化。屠宰老龄动物所获得的肉,经过烧煮会变得口感粗糙坚硬,从而会导致这样的原料肉难以加工,口感变差,质量下降^[2]。二十世纪八九十年代用于肉类嫩化,主要成分是蛋白酶和食盐等。使用最多、作用最稳定的蛋白酶是木瓜蛋白酶。为了提高肉类嫩度,国外采用向肉畜静脉注射木瓜蛋白酶或菠萝蛋白酶,或宰后注射黄油、植物油、磷酸盐、食盐等,可以显著改善畜肉的嫩度。这种方法开始在牛肉嫩化中应用较多,不久转而在猪和禽肉上广为应用。80年代后期利用番木瓜酶作为改变肉的口感和滋味应用为主,经过番木瓜酶处理的牛肉、猪肉、禽肉可以变得鲜嫩可口。

2、酶制剂的嫩化方法

嫩化肉类的常用外源蛋白酶有木瓜、菠萝、无花果等植物蛋白酶, 枯草蛋白酶、米曲蛋白酶、根霉蛋白酶及黑曲蛋白酶等微生物蛋白酶^[3]。不同的酶水解能力和作用部位也不同, 大多数酶对肌纤维蛋白质具有强烈的作用。这些酶性质稳定, 且可对弹性蛋白进行分解。

酶制剂法嫩化时, 通常采用5%~10%的酶溶液, 在肉畜屠宰前30min内进行注射。嫩化效果首先与酶的种类有关。嫩化效果和处理时间也有关, 通常以10min~20min为宜; 在50℃以下时嫩化作用进行得很缓慢, 当烹煮温度70℃左右时活性最强, 嫩化酶发挥最大水解能力; 肉的pH为7.0时最佳, 酶使用量为肉量的0.5%左右时肉的口感最好^[4]。

3、酶制剂在增味中的作用

美国Doler公司采用专门的蛋白酶, 用肉类作为原料, 经过酶法水解、提取、放大、浓缩等系统工艺, 生产出具有高度浓缩的调味浓缩物(Flavorconcentrates), 其味美、香醇、浓郁, 为绝大多数人欢迎, 被称为是高纯度、纯天然、优秀的开胃调味剂。该公司生产的调味浓缩物被应用到1742种肉、鱼、汤料食品中作为增香剂, 使这些产品增加了各种肉制品的鲜香味, 受到了广大消费者的普遍欢迎^[5]。我国80年代后期才利用番木瓜酶改变肉的口感和滋味, 经过番木瓜酶处理的牛肉、猪肉、禽肉可以变得鲜嫩可口^[6]。

4、酶制剂的提取方法:

酶的制备一般包括三个基本步骤, 即提取、纯化和结晶(或制剂)。首先将所需要的酶从原料中引入溶液, 而后再将酶从溶液中选择地分离出来, 或者从酶溶液中选择地除去杂质, 最后制成纯净的酶制剂^[7]。

1) 酶的提取

酶的提取方法因胞内酶与胞外酶而所不同。

胞外酶可以直接进行提取分离; 胞内游离存在的“离酶”以及与颗粒体(如细胞核、线粒体、微粒体、质膜)结合的“结酶”都有一个破碎细胞过程, “结酶”还有一个转变成水溶液的问题。因此对酶类的提取要采用多种方法, 常用的细胞破碎法如下:

机械法: 分液态破裂和固态破裂。液态破裂可采用机械绞拌、匀浆、加压或超声波等。固态破裂

可采用加压、研磨、研磨时还可加入细砂、石英粉、氧化铝等以利细胞破碎;

非机械法: 分为裂解和自溶法。裂解法包括溶剂干燥、冷冻干燥、真空干燥、空气干燥等; 自溶法包括物理法、化学法、酶解法等。

物理法: 采用反复冷冻并化冻与高渗振动。反复冷冻并化冻时由于细胞中形成了冰晶及剩余液体中盐浓度的增高可以使细胞破裂。

化学法: 用甘氨酸、抗生素、洗涤剂、阳性和阴离子等可使细胞破碎、颗粒体结构解体, 从而把酶释放出来。

酶解法: 用组织自溶或用溶菌酶、脱氧核糖核酸酶、磷脂酶等降解细胞膜结构, 然后再进行提取。但应知道组织自溶法对某些酶的提取是不利的, 如胰蛋白是以酶原形式纯化后再激活成胰蛋白酶的, 若用自溶法提取, 酶原已转成酶, 纯化就很困难。而用纯的工具酶降解法是无此缺点, 但成本较高^[7]。

酶的提取溶剂可以用水、一定浓度的乙醇、乙二醇、丁醇和稀盐溶液、缓冲溶液等; 也可以用稀碱或稀酸溶液, 如用稀硫酸提取胰蛋白酶, 用稀盐酸提取胃蛋白酶。溶剂用量一般为原料重量的1~5倍。搅拌可加速提取, 但转速不宜太快, 否则会产生泡沫而难以过滤或使酶变性。多数酶的提取要在5℃以下操作, 但有的酶在较高温度下提取更好, 如胃蛋白酶在45℃提得收率较高, 一般可在-5~+40℃间适当选择。提取液的pH应在酶的稳定pH范围内, 并应远离其等电点的pH为宜, 如蛋白酶选用pH2.5~3.0, 胰蛋白酶和 α -糜蛋白酶则用0.25N硫酸提取。若在中性或碱性提取时, 最常用的是0.15mol/L氯化钠、0.02~0.05mol/L磷酸缓冲液、0.02~0.05mol/L焦磷酸缓冲液。正丁醇的亲脂性强, 能透入酶的脂质结合物中, 又兼有亲水性, 有类似表面活性剂的作用, 适用于提取“结酶”。

为了减少提取液体积, 可用多段逆流提取或柱型抽提法。液渣分离可用过滤法(如板框压滤、旋转真空过滤)或离心法。过滤时可加硅藻土、纸浆等为助滤剂。离心时可加入氢氧化铝凝胶、磷酸钙凝胶等以除去悬浮的胶体物质。

2) 酶液的浓缩

经过过滤后的清液可以真空浓缩至一定浓度。工业上可用真空减压浓缩、薄膜浓缩、冷冻浓缩和逆向渗透作用进行浓缩。对于少量酶液下述方法

浓缩更合适:

用葡聚糖凝胶(分子筛)浓缩:取相当于酶液量1/5的干葡聚糖凝胶G15或G25,分次加入酶液中,搅拌30min,使凝胶吸水膨胀,进行吸滤。经重复数次操作即可在短时间内把酶液浓缩至所需的体积。也可将酶液装于透析袋内,埋入干凝胶中,袋内酶液也可得到浓缩。

用聚乙二醇浓缩:将稀酶液装入透析袋内,袋外复以聚乙二醇,袋内水份被袋外的聚乙二醇所吸收,在短时间内可以达到浓缩的目的,得到所需的浓酶液。

用超滤法浓缩:超滤技术在其可筛分范围内分离酶分子时不发生“相态”变化,可以避免酶蛋白变性,且分离速度快,所以愈来愈被广泛采用。各种不同孔径的超滤膜,适用于实验室规模及一定工业规模的酶液浓缩。如国产二醋酸纤维素制成10~200埃孔径的超滤膜,用于实验室规模固氮酶液的脱盐和浓缩,效果良好。

3) 酶的纯化

酶是蛋白质,因此凡用于蛋白质的纯化手段均适用于酶的纯化,如盐析法、聚乙二醇沉淀法、有机溶剂分级沉淀法、等电点法、选择性沉淀法、各种柱层析法(吸附层析、离子交换层析、凝胶过滤)、各种电泳法及亲和层析等。

一个典型的酶纯化过程常包括多个单元操作,各单元操作如何串联,需靠实践摸索。每经过一个步骤一般可提高酶纯度2~3倍,总纯度可提高数千倍,而总产率常仅百分之几或十几。总的原则是选用最少的步骤而能取得最好的纯化效果、因为增加步骤势必增加酶的丢失。通常对于含盐浓度高的粗提取液一般不宜采用吸附法而多用盐析法;对于低离子强度的酶溶液则可用吸附法或离子交换法。交替使用不同分级沉淀法常比单独重复同一类型方法更能奏效。所以常将吸附法、盐析法和有机溶剂分级沉淀法串联起来进行纯化。当这些方法仍达不到要求时,还可以采用一些包括电泳、层析法在内的其他类型纯化方法。

(下转第35页)

新希望将募集生猪屠宰等项目资金

四川新希望农业股份有限公司近期发布2007年公开增发A股募集资金运用的可行性研究报告,报告称该公司将通过公开增发A股募集资金,投入合肥千喜鹤食品有限公司生猪屠宰分割项目、合肥千喜鹤食品有限公司肉制品深加工项目和江苏千喜鹤食品有限公司生猪屠宰及肉制品深加工项目。

四川新希望农业股份有限公司近期决定,将利用北京千喜鹤食品有限公司作为北京2008年奥运会冷鲜猪肉及猪肉制品独家供应商形成的品牌效应,加快在全国范围内的产业布局,做大做强公司生猪屠宰及猪肉制品业务,并带动公司国内饲料业务的拓展。

为进军华东市场,北京千喜鹤食品有限公司于2006年决定在安徽省合肥市长丰县和江苏省泰州市兴化市建设生猪屠宰及猪肉制品加工的生产基地,并已完成了项目建设的前期准备工作。新希望与北京千喜鹤食品有限公司实施战略合作后,认为上述项目投资有利于公司冷鲜肉及猪肉制品在华东市场的拓展,预期投资回报较高,具有较大的可行性。

为集中资源,统一投资决策,实现新希望在生猪屠宰及猪肉制品领域的专业化运作,新希望拟利用募集资金投资5.7亿元成立新希望食品控股有限公司作为新希望在生猪屠宰及猪肉制品行业内的投资平台,并由该公司再投资建设合肥千喜鹤食品有限公司生猪屠宰分割项目、合肥千喜鹤食品有限公司肉制品深加工项目和江苏千喜鹤食品有限公司生猪屠宰及肉制品深加工项目。

为迅速扩大公司生猪屠宰及猪肉制品加工领域的产能规模,抢占更多市场,在本次股票发行募集资金到位前,公司计划自筹资金完成合肥千喜鹤食品有限公司的设立(江苏千喜鹤食品有限公司目前已设立),在适当时机对江苏千喜鹤食品有限公司和合肥千喜鹤食品有限公司进行增资或者拨付相应资金等,以尽早启动上述项目建设。

备注: R: 耐药; S: 敏感; +: 90% 以上阳性; ±: 90% 以上弱阳性; -: 90% 以上阴性; d: 11%~89% 性; (): 迟缓反应

表1 凝固酶阴性葡萄球菌两步法检索表

菌株	第一步			第二步			
	葡萄糖	尿素	碱性磷酸酶	鸟氨酸脱羧酶	新生霉素	磷霉素	庆氧生长
表皮葡萄球菌	-	+	±	±		S	+
溶血葡萄球菌	+	-	-	-	-		
腐生葡萄球菌	+	+	-	-			
异鼠葡萄球菌	+	±	-	+	+		
施莱弗葡萄球菌	±	-	+				
人葡萄球菌	±	+	-	-	-	S	-
头葡萄球菌	-	-	-				
头葡萄球菌解亚种	-	+	-			R	
华纳葡萄球菌	+	+	-	-	-		+

备注: ①+: 阳性; -: 阴性; S: 敏感; R: 耐药②尿素、鸟氨酸脱羧酶, 接种后需用灭菌液体石蜡复盖; ③新生霉素抑菌圈 $\geq 16\text{mm}$ 为敏感; 磷霉素($50\text{ }\mu\text{g/片}$)抑菌圈 $\geq 33\text{mm}$ 为敏感。

1.5 为了验证本方法鉴定 CNS 的可靠性, 随机抽取一定量菌株用 APIStaph 试条复核, 按试验设计, 计算符合率与误差。

2 结果

2.1 通过“两步一步法”鉴定出 104 株 CNS 中, 有 36 株腐生葡萄球菌(34.6%), 30 株木糖葡萄球菌 28.8%, 13 株松鼠葡萄球菌(12.5%), 14 株沃氏葡萄球菌(13.4%)、6 株耳氏葡萄球菌(5.8%)、肌肉葡萄球菌 3 株(2.9%)和模仿葡萄球菌 2 株(1.9%) 本方法能鉴定出 CNS 的 22 个种及 2 个亚种, 两步法能鉴定出 77% 以上常见菌种, 仅 23% 的菌株需用补充实验证实。在本组 104 株 CN 中, 24h 能鉴定出木糖葡萄球菌、腐生葡萄球菌、沃氏葡萄球菌供 80 株, 占被检菌株的 76.9%; 仅松鼠葡萄球菌、耳氏葡萄球菌、肌肉葡萄球菌、模仿葡萄球菌计 24 株, 占被检菌株的 23.1%, 需用补充试验鉴定。

2.2 随机抽取 50 株 CNS, 经用法国生物梅里埃 APIStaph 试条复核, 两者符合率 100%。

(上接第 32 页)

参考文献

- [1] 王卫, 转谷氨酰胺酶及其在肉制品加工中的应用, 食品文摘, 1999, (2).
- [2] 刘昌协, 利用微生物生产转谷氨酰胺酶及其在食品加工上之应用, 食品工业, 台湾版, 1999.
- [3] 周光宏, 肉品学, 中国农业科技出版社, 1999, 1.

3 讨论

在本组 104 株凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)中, 共鉴别出七个种, 腐生葡萄球菌、木糖葡萄球菌、肌肉葡萄球菌、松鼠葡萄球菌、沃氏葡萄球菌、耳氏葡萄球菌, 模仿葡萄球菌, 比较集中, 与临床检验有所差别(邓光荣从院内感染患者各类临床标本分离出的 352 株 CNS, 使用“两步一补法”快速鉴定, 4h 能鉴定出 54.8% 以上常见 CNS, 24h 能鉴定出 96.3% 以上 CNS, 48 h 内能得到全部 CNS^[5]), 但与传统采用《常见细菌鉴定手册》中规定的生化鉴定表要鉴定快速, 不会漏检, 简单可靠。

“两步一补”法中所需的微量生化管和药物敏感性纸片等试剂材料价格便宜, 特别适宜基层实验室推广应用, 对其他食品中所含凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)的鉴定同样适用, 值得广泛推广。

参考文献

- [1] 东秀珠, 蔡妙英, 主编. 常见细菌鉴定手册[M]. 科学出版社, 2001: 242~254.
- [2] LIJZ, XIANG QZ, ZHAO Q, et al. The grouping identification of coagulase-negative staphylococci and evaluation of application[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 1996, 14 (5): 264. China.
- [3] DING JZ, TIAN LH, LUO GR. The rapid “two steps” identification of coagulase-negative staphylococci[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 1998, 20 (6): 377. China.
- [4] 叶应妩, 王毓三, 主编. 全国临床检验操作规程[M]. 南京: 东南大学出版社, 1991: 191.
- [5] 邓光荣, 田维珍, 等. 血浆凝固酶阴性葡萄球菌快速“两步一补”鉴定方法[J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16(6).

[4] 李增利, 肉类嫩化技术研究 [J], 食品研究与开发, 2006 (11) 195~198.

[5] 王璋, 食品酶学 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1990 (4): 20~201.

[6] 唐琳, 张春英: 肉类的风味及其形成机制, 山东师大学报. 1996, 2 (11): 74~78.

[7] 张文治, 沈梅生编著. 实用食品微生物学. 中国轻工业出版社, 1991.