研究论文

DOI:10.3969/j.issn. 1673–1689.2017.09.012

油炸兔肉酶法预处理及改良剂配方优化

宋丽坤[1]，李 诚[*1]，杨 勇[1]，刘爱平[1]，卓永贤[2]，彭翔东[2]，付 刚[1]，黄子芮[1]

（1. 四川农业大学 食品学院，四川 雅安 625014；2. 四川哈哥集团有限公司，四川 乐山 614000）

摘要：以鲜兔肉为原料，利用蛋白酶预处理后，再使用改良剂来协同改善油炸兔肉产品口感。首先选用木瓜蛋白酶、胰蛋白酶对原料进行前处理，通过单因素和正交试验确定最佳酶解条件为：木瓜蛋白酶和胰蛋白酶用量复配比为 300∶150，温度为 45 ℃，时间为 60 min。然后再使用大豆蛋白、变性淀粉、小苏打作为改良剂对产品品质进行改善，最终确定最佳的改良剂配方为小苏打添加质量分数 0.6%，变性淀粉添加质量分数 10%，大豆蛋白添加质量分数 4%。各因素的显著性次序为：大豆蛋白量>变性淀粉量>小苏打量。

关键词：油炸兔肉；改良剂；蛋白酶；加工工艺

中图分类号：TS 251.1　**文献标志码：**A　**文章编号：**1673—1689(2017)09—0966—09

Optimization of Enzymatic Pretreatment Process and Modifier Formula for Fried Rabbit Meat

SONG Likun[1]，*LI Cheng*[*1]，*YANG Yong*[1]，*LIU Aiping*[1]，

ZHUO Yongxian[2]，*PENG Xiangdong*[2]，*FU Gang*[1]，*HUANG Zirui*[1]

（1. College of Food，Sichuan Agriculture University，Yaan 625014，China；2. Sichuan Hage Group Co.Ltd，Leshan 614000，China）

Abstract： In this work，the taste of fried rabbit meat products was mproved by enzymatic pretreatment process and using amendment. The enzymatic pretreatment was carried out by using papain and trypsin. By using one-factor-at-a-time and orthogonal array design methods，the optimal enzymatic pretreatment conditions were obtained as follows：the dosage ratio of papain and trypsin 300∶150，temperature 45 ℃，time 60 min. The product quality was improved by using soy protein，modified starch and baking soda，the optimal modifier formula was determined as 0.6%baking soda，10% modified starch and 4% soy protein. The sequence of the significance of these factors is as follows：soy protein dosage>modified starch dosage>baking soda dosage.

Keywords： fried rabbit meat，modifier formula，protease，processing technology

收稿日期：2015–04–07

基金项目：国家星火计划项目(2012GA810004)。

* **通信作者：**李 诚(1964—)，男，四川三台人，农学硕士，教授，博士研究生导师，主要从事畜产品加工与安全控制方面的研究。

E–mail：lichenglcp@163.com

引用本文：宋丽坤，李诚，杨勇，等. 油炸兔肉酶法预处理及改良剂配方优化[J]. 食品与生物技术学报，2017，36(09)：966–974.

我国是家兔养殖、兔肉生产加工、消费和贸易大国,其中油炸兔肉加工比较普遍[1]。但在传统的油炸兔肉产品中,肉品的保水性不高,在油炸过程中,食品中大量的水分流失会造成肉质干硬、弹性不够、口感粗糙、难咽难嚼等现象[2],不宜于老年人和儿童人群的食用。而单纯通过提高油炸兔肉的水分含量来改善其品质特性,会使产品因水分含量的增高而出现不够香脆、难以保藏等问题,利用外源蛋白酶酶解处理如今已成为人们普遍使用的改善肉制品品质的手段之一[3]。木瓜蛋白酶[4-7]和胰蛋白酶[8-9]对肉制品具有嫩化作用,不仅可以改善油炸兔肉产品质构,还可以增加保水性,提高出产率[10-11]。所以通过酶法预处理和优化改良剂配方对油炸兔肉产品的肉品品质改善具有重要意义。作者研究了木瓜蛋白酶、胰蛋白酶嫩化兔肉的最佳工艺条件,分析酶解处理后蛋白质相对分子质量大小及兔肉微观结构的变化。同时,利用小苏打、大豆蛋白[12]、变性淀粉[13]作为品质改良剂对产品口感进行改善,优化改良剂配方。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲜兔:购买于雅安鲜活批发市场;食盐、鸡蛋、味精、蜂蜜、香辣酱、胡椒粉、花椒粉、食用色拉油、香油等:雅安市售;木瓜蛋白酶(100 000 U/g)、胰蛋白酶(3 500 U/g):诺奥科技发展有限公司;大豆蛋白、小苏打、变性淀粉:均为食品级;盐酸、无水乙醇、无水乙醚、石油醚、多聚甲醛:均为分析纯。

1.2 仪器与设备

SC-3610 低速离心机:安徽中科中佳公司;BT-124S 电子天平:北京赛多利斯公司;DHG-9245A 电热恒温鼓风干燥箱:上海一恒科技有限公司;HH-6 数显恒温水浴锅:国华电器公司;CX21 显微镜:奥林巴斯公司;TA.XTPlus 物性测试仪:英国 Stable Micro System 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 工艺流程 原料肉处理→嫩化→腌制→预煮→冷却→成型切丁→真空油炸→包装→杀菌→品质评定。

1.3.2 原料兔肉预处理操作要点

1)原料肉选择:选择健康无病的肉兔,按常规方法宰杀、清洗去血污、剔骨头、修整,除去内脏、可见的脂肪、结缔组织、筋腱等。

2)酶处理:将整理好的兔肉在一定的温度、时间下对其进行酶解处理,处理方式为浸泡。

3)改良剂处理:先加入食盐与兔肉全部混合均匀后,再加入一定量的品质改良剂,进行腌制。

1.3.3 酶处理条件优化 单因素实验:木瓜蛋白酶、胰蛋白酶分别采用 4 个不同的添加量,木瓜蛋白酶酶活单位/兔肉肉用量梯度为 200、250、300、350 U/g,胰蛋白酶酶活单位/兔肉肉用量梯度为 50、100、150、200 U/g;作用温度为 45、55、65、75 ℃,作用时间为 30、60、90、120 min。处理后对水分质量分数、持水率、剪切力进行测定。根据木瓜蛋白酶、胰蛋白酶实验结果得出的合适的用量、作用温度、作用时间,以含水量、持水率、剪切力为主要评定指标,确定复合蛋白酶的最优作用条件。

1.3.4 品质改良剂优化 单因素实验:小苏打的添加质量分数分别设定为 0.2%、0.4%、0.6%、0.8%;变性淀粉的添加质量分数分别设定为 5%、10%、15%、20%;大豆蛋白的添加质量分数分别设定为 3%、4%、5%、6%,经感官评价确定小苏打、变性淀粉、大豆蛋白添加量的适当水平范围。根据单因素试验结果,采用正交试验优化改良剂配方,选择三因素三水平 $L_9(3^4)$的正交试验,以感官评价为主要指标,确定最佳配方。

1.3.5 测定指标

1)水分质量分数的测定:参照 GB/T9695.15-2008 测定。

2)持水力测定:参照杨宝进等[14]的测定方法。

3)肌纤维结构观察:参照王水清等[16-17]的测定方法。

4)剪切力测定:采用食品质构仪进行测定[15]。探头:HDP/BS,测试前速度 1.00 mm/s;测试后速度 0.5 mm/s;时间 5.00 s;测试速度 0.50 mm/s。室温下进行检测,每组试验重复 4 次,试验结果为 4 次测定结果的平均值。

5)SDS-PAGE 电泳:称取肉样 10 g,加入 0.03 mol/L 的磷酸缓冲液 150 mL 均质后,在 4 ℃放置 30 min,10 000 *g* 离心 20 min。取沉淀加入 75 mL 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液混合均匀,4 ℃下磁力搅拌 30 min,同温度下 10 000 *g* 离心20 min,取上清液。分离胶质量浓度为10 g/dL,浓缩胶质量浓度为 5 g/dL。取待测蛋白质和 2×样品缓冲以 1:1 混合,沸水中煮

10 min,上样量 10 μL。电泳电压为 100 V,时间 4 h。

6)感官评定标准:通过查阅相关资料,并结合本实验实际情况,制定如下所示的感官评价方案,成立 10 人感官评价小组(男女各 5 人)分别对产品的质地、色泽、滋味和气味 4 项指标进行评价,确定产品整体可接受性,总分 100 分,各项感官评价标准见表 1。

表 1 感官评定标准

Table 1 Sensory evaluation criteria

评分项目	评价标准	偏好	得分
色泽 30 分	金黄色,色泽均匀	好	25~30
	浅白色或棕褐色,色泽均匀	一般	15~25
	其它杂色,色泽不匀	差	0~15
质地 20 分	富有弹性,软硬适中	好	15~20
	弹性一般,较软或较硬	一般	10~15
	无弹性,很软或很硬	差	0~10
滋味 30 分	有油炸兔肉固有的滋味	好	25~30
	兔肉滋味正常	一般	15~25
	兔肉滋味异常	差	0~15
气味 20 分	有油炸兔肉固有的香味	好	15~20
	香气一般	一般	10~15
	无兔肉香味	差	0~10

1.4 数据处理与分析

用 Excel 和 SPSS19.0 软件进行数据处理和正交分析。

2 结果与分析

2.1 木瓜蛋白酶酶解单因素实验

2.1.1 酶解用量对剪切力的影响 从图 1 可以看出,木瓜蛋白酶对兔肉具有显著的嫩化效果,当木瓜蛋白酶用量从 0 增加到 300 U/g 时,兔肉剪切力随着木瓜蛋白酶用量的增加而下降,当木瓜蛋白酶用量从 300 U/g 增加到 350 U/g 时,兔肉的剪切力开始变大。

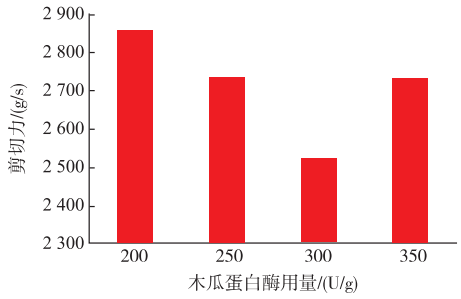


图 1 木瓜蛋白酶用量对剪切力的影响

Fig. 1 Effect of papain quantity on shear force

从图 2 可以看出,木瓜蛋白酶用量在 200 U/g 时,兔肉的水分质量分数和持水率较低,随着木瓜蛋白酶用量的逐渐增加,其水分质量分数和持水率逐渐增加,当木瓜蛋白酶用量在 250 U/g 到 300 U/g 时,兔肉的水分质量分数和持水率达到较高水平,之后又随着木瓜蛋白酶用量的增加而降低。而木瓜蛋白酶用量过大造成剪切力上升,水分质量分数、持水率下降的原因可能是肌动球蛋白的过度裂解和结缔组织过分降解造成的。由于嫩化过度,兔肉的完整形态遭到破坏,汁液流失,保水性降低,某些老化物质增加,硬度增加[8]。因此,综合考虑木瓜蛋白酶用量对兔肉品质的影响,木瓜蛋白酶用量在 300 U/g 左右时,其对兔肉的嫩化效果最好。

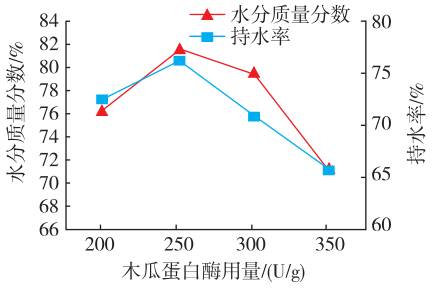


图 2 木瓜蛋白酶用量对水分质量分数、持水率的影响

Fig. 2 Effect of papain quantity on water content and water holding capacity

2.1.2 酶解温度对剪切力的影响 从图 3-4 可知,当木瓜蛋白酶作用温度从 45 ℃升到 65 ℃时,随着温度的升高,剪切力逐渐降低,水分质量分数、持水率也逐渐变大,而在 55~65 ℃时变化显著。当作用温度超过 65 ℃时,剪切力又逐渐变大,这可能是由于温度过高导致木瓜蛋白酶部分失活[18],致使兔肉嫩化效果变差,或者是由于温度过高,松散的肌肉过度收缩,使肉变硬[19-20]。由此可以看出,作用温度在 55~65 ℃时,木瓜蛋白酶对兔肉的影响较大。

2.1.3 酶解时间对剪切力的影响 从图 5-6 可知,当木瓜蛋白酶的作用时间从 0-120 min 递增时,随着作用时间的延长,兔肉的剪切力不断减小,在 90 min 内木瓜蛋白酶对兔肉的影响较大,剪切力随着时间的增加而大幅度减小,水分质量分数、持水率的变化较大;在 60 min 左右时,水分质量分数、持水率达到最大。当作用时间从 90 min 增加到 120 min 时,剪切力继续下降,而水分质量分数、持水率基本没有变化。说明此时木瓜蛋白酶对兔肉嫩度的影响

逐渐减小,由于酶解时间过长,肌肉结构的完整形态遭到了破坏,肌纤维几乎完全破裂,并不能真实反映肉的嫩度[15]。

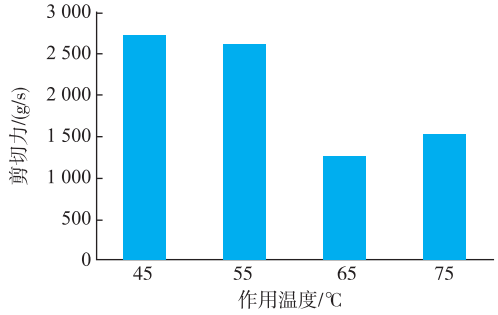


图 3 木瓜蛋白酶作用温度对剪切力的影响

Fig. 3 Effect of papain working temperature on shear force

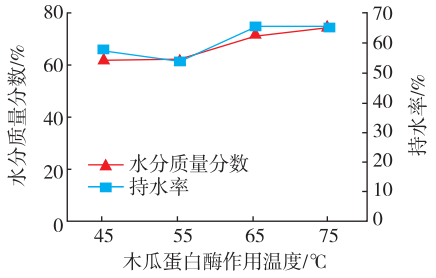


图 4 木瓜蛋白酶作用温度对水分质量分数、持水率的影响

Fig. 4 Effect of papain working temperature on water content and water holding capacity

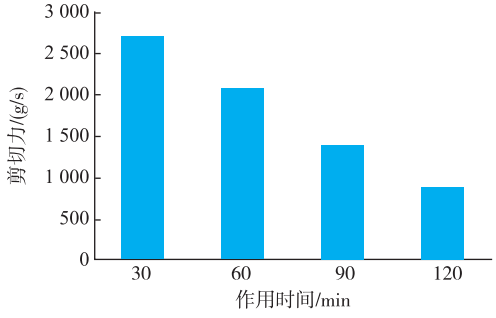


图 5 木瓜蛋白酶作用时间对剪切力的影响

Fig. 5 Effect of papain working time on shear force

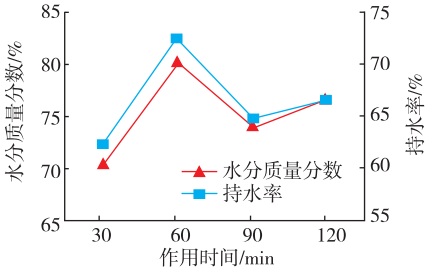


图 6 木瓜蛋白酶作用时间对水分质量分数、持水率的影响

Fig. 6 Effect of papain working time on water content and water holding capacity

2.2 胰蛋白酶酶解单因素实验

2.2.1 酶解用量对剪切力的影响 从图 7–8 可以看出,胰蛋白酶用量对兔肉的嫩化效果同木瓜蛋白酶作用效果相似。当胰蛋白酶用量从 0 增加到 200 U/g 时,兔肉的剪切力变化呈先下降后上升的趋势,且在 150 U/g 时,剪切力最小,持水率最大。综合胰蛋白酶对剪切力、持水率、水分质量分数影响的考虑,初步确定胰蛋白酶用量在 150 U/g 左右时,其对兔肉的嫩化效果最好。

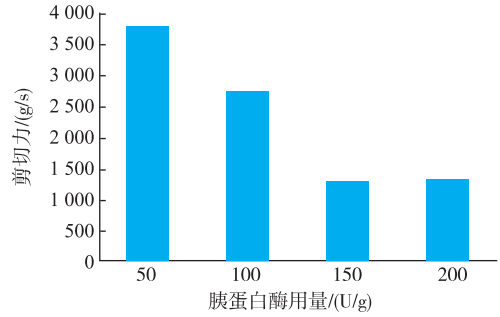


图 7 胰蛋白酶用量对剪切力的影响

Fig. 7 Effect of trypsin quantity on shear force

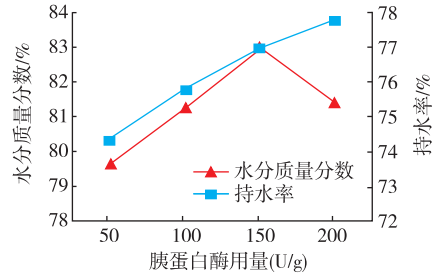


图 8 胰蛋白酶用量对水分质量分数、持水率的影响

Fig. 8 Effect of trypsin quantity on water content and water holding capacity

2.2.2 酶解温度对剪切力的影响 从图 9–10 可知,胰蛋白酶作用温度在65 ℃时,对剪切力的作用效果最好,在 55 ℃升到65 ℃时,兔肉的水分质量分数、持水率均处于较高的水平。所以综合考虑,胰蛋白酶的作用温度在 55~65 ℃时,其对兔肉的嫩化效果最为明显。

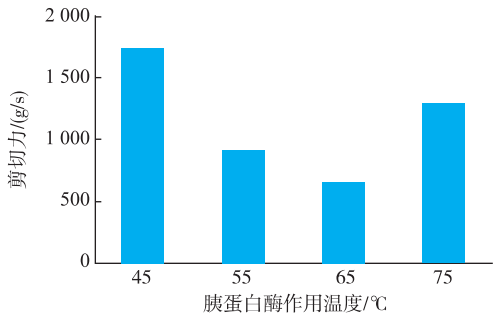


图 9 胰蛋白酶作用温度对剪切力的影响

Fig. 9 Effect of trypsin working temperature on shear force

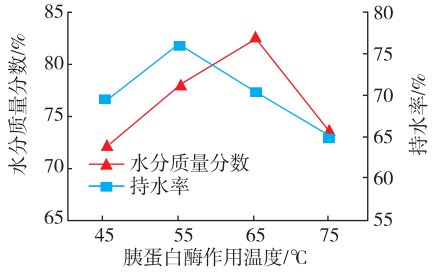


图 10 胰蛋白酶作用温度对水分质量分数、持水率的影响

Fig. 10 Effect of trypsin working temperature on water content and water holding capacity

2.2.3 酶解时间对剪切力的影响 从图 11–12 可知,当胰蛋白酶的作用时间从 0~120 min 递增时,随着作用时间的延长,兔肉的剪切力不断减小,而水分质量分数、持水率在 60~90 min 时处于较高水平,又由于随着嫩化时间的增长,肌肉结构遭到完全破坏,并不能真实的反应兔肉的真实嫩度。所以综合作用时间对剪切力、水分质量分数、持水率的影响,可以看出,当作用时间在 60~90 min 时,胰蛋白酶对兔肉的嫩化效果比较明显。

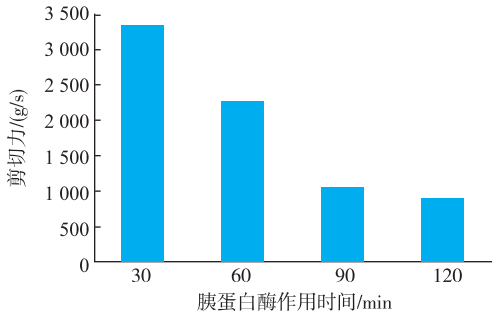


图 11 胰蛋白酶作用时间对剪切力的影响

Fig. 11 Effect of trypsin working time on shear force

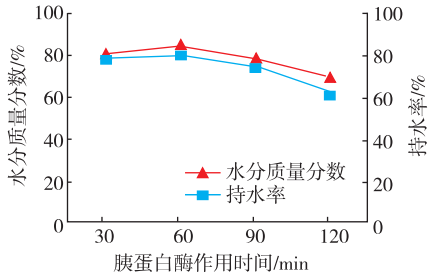


图 12 胰蛋白酶作用时间对水分质量分数、持水率的影响

Fig. 12 Effect of trypsin working time on water content and water holding capacity

2.3 双酶作用条件优化

正交试验设计及结果见表 2–5。

表 2 复合蛋白酶正交试验设计及结果

Table 2 Orthogonal experiment design and results of protease complex

试验号		*A* 复合蛋白酶用量/(U/g)	*B* 复合蛋白酶作用温度/℃	*C* 复合蛋白酶作用时间/min	空列	水分质量分数/%	持水率/%	剪切力/(g·s)
1		1(300:300)	1(45)	1(30)	1	79.90	73.06	1 703
2		1	2(55)	2(60)	2	72.31	69.17	1 107
3		1	3(65)	3(90)	3	66.00	69.52	727
4		2(300:150)	1	2	3	89.32	79.33	2 945
5		2	2	3	1	72.07	68.81	1 541
6		2	3	1	2	73.73	72.32	1 167
7		3(300:100)	1	3	2	83.91	76.61	2 529
8		3	2	1	3	75.11	72.09	1 499
9		3	3	2	1	74.61	71.65	1 364
水分质量分数	k_{1j}	72.73	84.38	76.24	因素主次		*B*>*A*>*C*	
	k_{2j}	78.37	73.16	78.75				
	k_{3j}	77.88	71.45	73.99	最优方案		$B_1A_2C_2$	
	R	5.64	12.93	4.76				

续表 2

试验号		A 复合蛋白酶用量/(U/g)	B 复合蛋白酶作用温度/℃	C 复合蛋白酶作用时间/min	空列	水分质量分数/%	持水率/%	剪切力/(g·s)
持水率	k_{1j}	70.58	76.33	72.49	因素主次		$B>A>C$	
	k_{2j}	73.48	70.02	73.38				
	k_{3j}	73.45	71.16	71.64	最优方案		$B_1A_2C_2$	
	R	2.90	6.31	1.74				
剪切力	k_{1j}	1 179	2 392	1 456	因素主次		$B>A>C$	
	k_{2j}	1 884	1 382	1 805				
	k_{3j}	1 797	1 086	1 599	最优方案		$B_1A_2C_2$	
	R	705	1 306	349				

表 3 复合蛋白酶正交设计各因素方差分析表

Table 3 Variance analysis of orthogonal factors

	变异来源	平方和 SS	自由度 Df	均方 MS	F 值	显著水平	显著水平
水分质量分数	酶量	58.568	2	29.284	19.909	0.048	*
	温度	295.997	2	147.999	100.619	0.010	**
	时间	33.962	2	16.981	11.545	0.080	–
	误差 e	2.942	2	1.471			
	总和	52 831.834					
持水率	酶量	16.648	2	8.324	1.782	0.359	–
	温度	67.845	2	33.922	7.261	0.121	–
	时间	4.525	2	2.263	0.484	0.674	–
	误差 e	9.344	2	4.672			
	总和	47 413.313					
剪切力	酶量	887 015	2	443 507	16.340	0.058	–
	温度	2 816 331	2	1 408 165	51.881	0.019	*
	时间	54 284	2	92 197	3.397	0.227	–
	误差 e	2 757 681	2	27 142			
	总和	3 942 026					

注:** 表示在 0.01 水平下差异极显著,* 表示在 0.05 水平下差异显著,–表示差异不显著。

表 4 各因素回归系数分析表

Table 4 Variance analysis of regression coefficients

模型		非标准化系数		标准系数试用版	t	P(Sig.)
		B	标准误差			
水分质量分数	常量	103.474	13.469	–	7.683	0.001
	酶量	0.048	0.035	0.295	1.383	0.225
	温度	–0.663	0.174	–0.813	–3.811	0.012
	时间	–0.043	0.058	–0.158	–0.743	0.491
持水率	常量	80.401	94.67	–	8.493	0.000
	酶量	0.029	0.024	0.354	1.172	0.294
	温度	–0.259	0.122	–0.638	–2.114	0.088
	时间	–0.014	0.041	–0.104	–0.345	0.744
剪切力	常量	3 525.704	1 245.409	–	2.831	0.037
	酶量	6.182	3.218	0.381	1.921	0.113
	温度	–65.339	16.089	–0.806	–4.061	0.010
	时间	2.383	5.363	0.088	0.444	0.675

表 5　各因素相关性矩阵

Table 5　Correlation matrix

	水分质量分数	用量	温度	时间
水分质量分数	1.000	0.295	−0.813	−0.158
用量	0.295	1.000	0.000	0.000
温度	−0.813	0.000	1.000	0.000
时间	−0.158	0.000	0.000	1.000
	持水率	用量	温度	时间
持水率	1.000	0.354	−0.638	−0.104
用量	0.354	1.000	0.000	0.000
温度	−0.638	0.000	1.000	0.000
时间	−0.104	0.000	0.000	1.000
	剪切力	用量	温度	时间
剪切力	1.000	0.381	−0.806	0.088
用量	0.381	1.000	0.000	0.000
温度	−0.806	0.000	1.000	0.000
时间	0.088	0.000	0.000	1.000

由方差分析、回归分析得到：以水分质量分数为测定指标时，酶量、温度的 P 值均小于 0.05，在此水平下差异显著，具有统计学意义。三个因素对水分质量分数的影响大小依次是：温度>酶量>时间。F=5.664，P 值小于 0.05，说明拟合的线性回归方程有统计学意义，建立水分质量分数(Y_1)与酶量(X_1)、温度(X_2)、时间(X_3)三个因素的回归模型方程为：

$$Y_1=103.474+0.048X_1-0.663X_2-0.043X_3$$

以持水率为测定指标时，酶量、温度、时间的 P 值均大于 0.05，且 F=1.986，P 值大于 0.05，没有统计学意义，不考虑各因素与持水率之间的线性关系。以剪切力为测定指标时，酶量、时间的 P 值均大于 0.05，而温度 P 值小于 0.05，所以温度在此水平下差异显著，具有统计学意义。三个因素对剪切力的影响大小依次是：温度>酶量>时间。F=6.793，P 值小于 0.05，说明拟合的线性回归方程有统计学意义，建立剪切力(Y_2)与酶量(X_1)、温度(X_2)、时间(X_3)三个因素的回归模型方程为：

$$Y_2=3\ 525.704+6.182Y_2-65.339Y_2+2.383Y_3$$

从表 5 中可以看出，除用量与剪切力、温度与剪切力、温度与水分质量分数、用量与持水率、温度与持水率的相关系数大于 0.3 以外，其他相关系数均小于 0.3，所以各影响因素之间不存在相关性，可以排除各因素之间的交互作用。

通过正交化，获得的最佳酶解条件是：木瓜蛋白酶和胰蛋白酶用量复配比为 300:150，作用温度为 45 ℃，作用时间为 60 min。并通过验证实验，此条件下得到的水分质量分数为 90.03%，持水率为 78.13%，剪切力为 2 897 g·s。

2.4　酶解对相对分子质量大小的影响

图 13 中 1、2、3、4 分别为未处理、木瓜蛋白酶处理、胰蛋白酶处理、复合蛋白酶处理的样品，经蛋白酶处理后，2、3、4 样品均发生了降解，相对分子质量大小明显发生了变化。样品 2 的蛋白质相对分子质量主要集中在 35 000~75 000 之间，而样品 3 的蛋白质相对分子质量比较分散，相对分子质量大小不一，这与木瓜蛋白酶、胰蛋白酶对肌纤维结构的不同降解作用有关。样品 4 为复合蛋白酶作用效果图，蛋白质主要为小相对分子质量蛋白质，与预测结果相符。

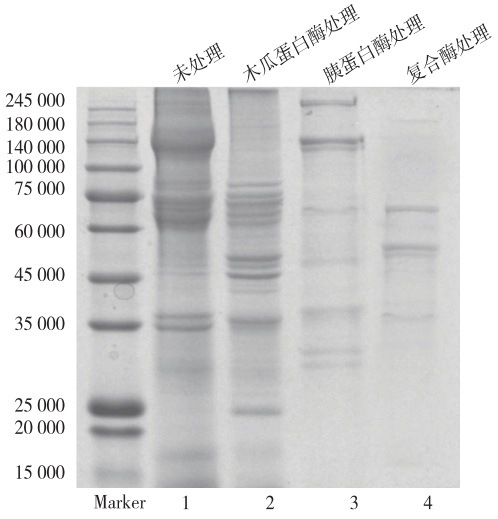


图 13　SDS-PAGE 电泳图

Fig. 13　SDS-PAGE electrophoresis

2.5　肌肉组织结构观察

采用组织学 HE 染色法对兔肉进行冰冻切片染色，在高倍显微镜下对染色结果进行观察，结果见图 14-17。

图 14 肌肉纤维完整，结构紧密有致，肌原纤维间隙均一，排列有序。图 15 和图 16 肌肉纤维结构之间有明显缝隙和空洞，肌间隙变大，排列疏松、交错，这与测得的兔肉剪切力下降、嫩度增大结果相吻合。图 17 肌肉纤维断裂，结构遭到破坏，排列杂乱无序。

2.6　品质改良剂优化实验结果

从方差分析中：大豆蛋白添加量的 P 值小于 0.05，在此水平下差异显著，具有统计学意义。3 个

因素对口感的影响大小依次是:大豆蛋白>变性淀粉>小苏打。F=2.813,P>0.05,说明三个因素与口感之间的线性关系并不显著。通过正交优化,由 k_{1j}、k_{2j}、k_{3j} 可确定各因素的最优水平为 $A_2B_2C_2$,即小苏打添加质量分数为 0.6%,变性淀粉添加质量分数为 10%,大豆蛋白添加质量分数为 4%。经过验证实验,结果与实验吻合,见表 6–8。

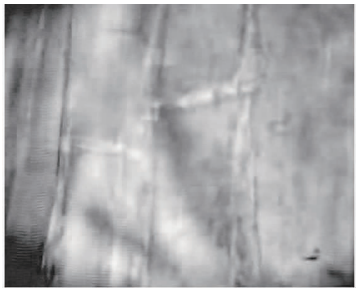


图 14　未处理样品

Fig. 14　Untreated samples



图 15　木瓜蛋白酶处理样品

Fig. 15　Papain treatment samples

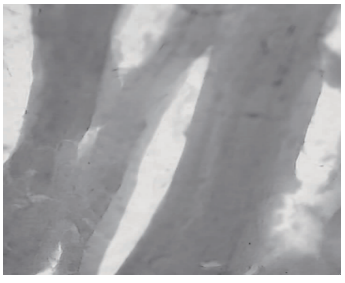


图 16　胰蛋白酶处理样品

Fig. 16　Trypsin treatment of samples

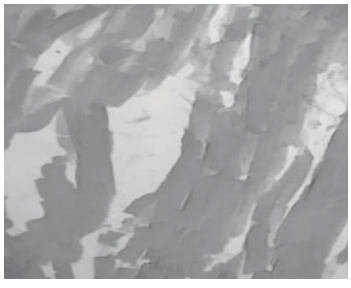


图 17　木瓜蛋白酶和胰蛋白酶处理样品

Fig. 17　Papain and trypsin treated samples

表 6　正交试验设计及结果

Table 6　Orthogonal experiment design and results

试验号	A 大豆蛋白质量分数	B 变性淀粉质量分数	C 小苏打质量分数	空列	感官评分
1	1(3%)	1(5%)	1(0.4%)	1	72.9
2	1	2(10%)	2(0.6%)	2	72.3
3	1	3(15%)	3(0.8%)	3	65.4
4	2(4%)	1	2	3	78.2
5	2	2	3	1	77.8
6	2	3	1	2	73.4
7	3(5%)	1	3	2	75.2
8	3	2	1	3	77.4
9	3	3	2	1	73.8
k_{1j}	70.20	75.43	74.57		
k_{2j}	76.46	75.83	74.77		
k_{3j}	75.47	70.87	72.80		
R	6.26	4.96	1.97		

表 7　正交设计各因素方差分析表

Table 7　Variance analysis of orthogonal factors

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著水平	显著性
A 因素	68.009	2	34.004	24.270	0.04	*
B 因素	45.682	2	22.841	16.302	0.58	–
C 因素	7.029	2	3.514	2.508	0.285	–
模型误差	2.802	2	1.401			
总并误差	49 466.740					

注:** 表示在 0.01 水平下差异极显著,* 表示在 0.05 水平下差异显著,–表示差异不显著。

表 8　各因素回归系数分析表

Table 8　Variance analysis of regression coefficients

模型	非标准化系数		标准系数试用版	t	P(Sig.)
	B	标准误差			
常量	70.728	6.741	–	10.492	0.000
大豆蛋白添加量	2.633	1.238	0.580	2.128	0.087
变性淀粉添加量	–0.457	0.248	–0.503	–1.845	0.124
小苏打添加量	–4.417	6.188	–0.195	–0.714	0.507

3 结 语

利用木瓜蛋白酶、胰蛋白酶对兔肉进行了预处理,得出最佳酶处理条件:木瓜蛋白酶和胰蛋白酶用量复配比为300:150,作用温度为45 ℃,作用时间为60 min。从SDS-PAGE电泳图中可知,经蛋白酶处理过的样品,蛋白质发生了降解,相对分子质量大小发生了变化。另外,通过对酶处理后的肌肉纤维结构进行观察,发现未处理样品肌肉纤维结构紧密,排列有序;经木瓜蛋白酶、胰蛋白酶处理过的样品肌间隙变大,排列疏松、交错;经复合酶处理过的样品肌纤维断裂,排列杂乱、无序。然后再以大豆蛋白、变性淀粉、小苏打作为改良剂对产品品质进行改善,确定最佳的改良剂配方为小苏打质量分数0.6%,变性淀粉质量分数10%,大豆蛋白质量分数4%。各因素的显著性次序为:大豆蛋白>变性淀粉>小苏打。

参考文献:

[1] ZHENG Shichao,TU Dawei,HUANG Yechuan,et al. Processing technology of crisp fried diced rabbit[J]. **Meat industry**,2003,(3):14.(in Chinese)

[2] KANG Huaibin. Development trend of rabbit meat processing in China[J]. **Scientific Breeding**,2007(2):56-57.(in Chinese)

[3] NIE Yuanyang,LI Lu,WEN Wenting,et al. Advances in the technology of exogenous protease tenderness in beef[J]. **Meat Research**,2013(6):44-48.(in Chinese)

[4] HA M,BEKHIT A E A,CARNE A,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.

[5] GERELT B,IKEUCHI Y,SUZUKI A. Meat tenderization by proteolytic enzymes after osmotic dehydration[J]. **Meat Sci**,2000,56(3):311-318.

[6] ROLAN T L,DAVIS G W,SEIDEMAN S C,et al. Effects of blade tenderization and proteolytic enzymes on restructured steaks from beef bullock chucks[J]. **Journal of Food Science**,1988,53(4):1062-1064.

[7] LEE. Functional characteristics of egg white solids obtained from papain treated albumen[J]. **Journal of Food Engineering**,2002,51(4):263-266.

[8] MING Jian,ZENG Kaifang,LI Hongjun. Study on the effect of trypsin on beef[J]. **Food Science**,2009(5):222-226.(in Chinese)

[9] BAI Qingyun,CHEN Xiaoming. Optimization of meat finishing technology of fresh pork by response surface methodology[J]. **Trypsin Meat Research**,2011,25(2):9-12.(in Chinese)

[10] SANGEETHA K,ABRAHAM T E. Chemical modification of papain for use in alkaline medium[J]. **Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic**,2006,38(3-6):171-177.

[11] QIHE C,GUOQING H,YINGCHUN J,et al. Effects of elastase from a Bacillus strain on the tenderization of beef meat[J]. **Food Chemistry**,2006,98(4):624-629.

[12] ZHANG Xiaogong,LU Hinfeng,WANG Yajing,et al. Application of soy protein in processed meat products[J]. **Meat Research**,2010(12):34-36.(in Chinese)

[13] YANG Mingze,DU Ningning,ZHANG Lingwen,et al. Effects of 4 kinds of food additives on pork tenderness[J]. **Food Science**,2011(24):50-54.(in Chinese)

[14] YANG Baojin,HAO Xiuzhen. Beef and pork water holding capacity and determination of[J]. **Journal of Zhengzhou College of Animal Husbandry Engineering**,1999(1):25-27.(in Chinese)

[15] 余德敏. 鹅肉的嫩化及鹅肉肠的开发研究[D]. 重庆:西南大学,2008.

[16] 王水清. 乌珠穆沁羊生长过程中肌纤维结构特性变化研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2012.

[17] WANG Limin. The research status of[J]. **Agricultural Products Processing**,2008(6):34-35.(in Chinese)

[18] LI Peihong,WANG Huaixin,HUAN Yanjun. Study on the effect of papain on pork meat[J]. **Meat Research**,2011(1):40-45.(in Chinese)

[19] ZHANG Hongwei,ZHENG Dongmei,KONG Baohua. Research on the teaching reform of meat science and technology experiment[J]. **Laboratory Research and Exploration**,2010(7):267-269.(in Chinese)