

不同中心温度对牛肉胶原蛋白特性及嫩度的影响

刘晶晶, 张松山, 谢鹏, 李海鹏, 万红兵, 丰永红, 孙宝忠

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100000)

摘要: 本研究通过水浴加热牛肉使其达到不同的中心温度来探究胶原蛋白特性对嫩度及质构特性的影响, 为煮制牛肉嫩度特性提供理论基础。将牛半腱肌肉在 100 °C 水浴下加热至中心温度 60 °C、70 °C、80 °C、90 °C、和 100 °C, 通过测定其剪切力、蒸煮损失、水分含量、质构特性、胶原蛋白含量及热溶解性、共价交联以及扫描电镜等指标来探究嫩度的变化机制, 最后通过相关性分析得出影响嫩度的关键因素。结果表明, 随着中心温度的升高, 牛半腱肌剪切力、胶原蛋白的含量及其热溶解性、羟赖氨酸吡啶啉、硬度、弹性、黏着性与咀嚼性增加; 赖氨酸吡啶啉、凝聚性、胶黏性和回弹性下降。胶原蛋白含量以及可溶性胶原蛋白的溶解变性很大程度上影响了牛肉的嫩度, 肉的弹性和咀嚼性与胶原蛋白含量以及共价交联有关, 牛肉硬度下降与肌束膜肌内膜的完整性遭到破坏有关。

关键词: 加热; 牛肉; 胶原蛋白; 嫩度; 共价交联

文章编号: 1673-9078(2018)03-68-76

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.03.010

Effects of Different Center Temperature on the Collagen Properties and Tenderness in Beef

LIU Jing-jing, ZHANG Song-shan, XIE Peng, LI Hai-peng, WAN Hong-bing, FENG Yong-hong, SUN Bao-zhong

(Institution of Animal Science of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100000, China)

Abstract: In this study, the effects of collagen characters on the tenderness and texture of the beef was explored by heating beef to different center temperatures. The bovine semitendinosus muscle was heated until the central temperature reached 60 °C, 70 °C, 80 °C, 90 °C, and 100 °C by using a 100 °C water bath. The results showed that with the increase of the center temperature, the shearing strength, collagen content, thermal dissolution, hydroxyl lysine pyridine, hardness, elasticity, adhesion and chewiness of bovine semitendinosus muscles were increased, while lysine pyridine, cohesion, adhesion and resilience were decreased. The collagen content and soluble degeneration of soluble collagen largely affected the tenderness of beef. The elasticity and chewiness of meat were associated with the content of collagen and the covalent crosslinking. The decrease in the hardness of beef was related to the destruction of the perimysium and endomysium.

Key words: heat; beef; collagen; tenderness; crosslinking

牛肉因其脂肪含量低, 蛋白含量高, 并且富含人体所需的各种维生素、氨基酸、矿物质和微量元素等多种营养成分而广受市场和消费者的青睐, 而牛肉的食用品质特别是嫩度一直以来备受消费者关注, 是影响消费者购买欲和市场价值的衡量指标。近几年来牛肉在我国倍受消费者青睐, 其市场需求量也与日俱增, 但牛肉的食用品质一直是影响消费者选择的关键因素。牛肉的食用品质包括风味、嫩度和多汁性, 其中嫩度是消费者在评价食用可接受性时最关注的指标^[1]

收稿日期: 2017-09-14

基金项目: 国家肉牛牦牛产业体系资助项目 (CARS-38); 中国农业科学院科技创新工程“中式食品工程化技术”协同创新任务 (CAAS-XTGX2016005)

作者简介: 刘晶晶 (1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程

通讯作者: 孙宝忠 (1964-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 牛肉分级与分割

是决定肉品质的最重要指标之一, 影响牛肉的消费和商业价值^[2]。影响嫩度的因素有很多, 动物品种、年龄、肌肉部位以及屠宰加工贮藏过程中肌肉蛋白质和脂肪的物理化学性质的变化等都会影响到嫩度, 其中肌纤维, 结缔组织, 肌内脂肪是影响牛肉嫩度的最主要的因素^[3]。

加热是将肉从不可食变到可食的过程, 肉在食用前通常要进行加热处理, 加热处理有利于改善肉的口感, 杀灭致病菌, 保证肉品安全^[4]。肉在加热过程中产生色泽褐变、体积变小、重量减轻、质构变硬和风味形成^[5]等一系列感官特性的变化, 通过人的感知可以被一些与风味、口感和质地有关的描述词描述出来, 那就是多汁性、嫩度、质构特性。以上特性的组合定义了我们所谓的“感官特性”。这种“感官特性”受到了内在因素和外在因素的影响, 外在因素受到一些技术参数的影响, 对于热处理来说, 主要技术参数便是加

热温度,即加热温度会影响到肉的最最终嫩度。很多学者研究了肉加热过程中的嫩度变化机制,李春保在研究加热过程中肉嫩度变化时得到如下结论:65℃以下肌原纤维起主要作用,75℃以上结缔组织起主要作用,65~75℃之间肌纤维和结缔组织共同起作用^[6],结缔组织特性的确起到了很大的作用,但关于结缔组织究竟如何影响嫩度却不得而知。并且在以往的众多研究中,大多只是加热温度单一,或者加热温度不够高,因此不能够动态反映结缔组织胶原蛋白特性影响质构特性的变化,不同中心温度到底如何通过胶原蛋白特性影响肉的最最终嫩度,本文将展开相应研究。通过研究胶原蛋白特性与牛肉质构特性的关系,探讨加热过程中牛肉嫩度变化的影响因素。

1 材料与方法

1.1 原料

选自同一育肥场、品种和饲养管理相同的河南夏南牛12头,24月龄。将屠宰后牛的半胴体在4℃冷库中排酸48h后进行取样,从左半胴体上取下整条半腱肌,所选胴体其大理石花纹、生理成熟度和背膘厚度等指标基本相似。真空包装,-20℃贮运。

浓硫酸,一水柠檬酸,氢氧化钠,无水乙酸钠,正丙醇,异丙醇,氯胺T,对二甲基氨基苯甲醛,4-羟基- α -吡咯甲酸,戊二醛、乙醇、丙烯酰胺、过硫酸铵、四甲基乙二胺。

1.2 主要仪器设备

TA-XT plus 物性测试仪,英国 Stable Micro System 公司;电热恒温鼓风干燥箱,上海森信实验仪器有限公司;FJ-200 高速分散均质机,上海标本模型厂制造;数显恒温水浴锅,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;电子天平,北京赛多利斯仪器系统有限公司;DHP-9052 型电热恒温培养箱,上海一恒科技有限公司,上海益恒实验仪器有限公司;6100 型紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;TGL16MB 高速冷冻离心机,湘智离心机仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验设计与加热处理

取冻存肉样,在4℃条件下解冻24h,去除肉块表面的皮下脂肪和肌外膜,切割成大小为2.5×5.0×5.0cm的肉块若干并称重,分组,用蒸煮袋包装,在水浴锅中沸水加热至终点温度,将数显温度计插至肉块中央,记录加热过程中温度的变化,当中心温度分别达

到60、70、80、90、100℃后,立即取出置于冷流水冷却至室温,用吸水纸吸干肉块表面汁液,称重,待分析。

1.3.2 测定指标与方法

1.3.2.1 蒸煮损失测定

参照 Li 等方法。

$$\text{蒸煮损失(\%)} = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100$$

式中: w_1 为煮前的肉重; w_2 为煮后的肉重。

1.3.2.2 剪切力值测定

用直径为1.27cm的空心取样器沿肌纤维方向取3个直径1.27cm的长条肉柱,使用TA.XY Plus 物性测试仪的HDP/BS 刀具进行检测,将肉柱沿与刀口运动垂直方向放置。单位为N。

1.3.2.3 水分含量测定

根据(GB 50093-2010)采用直接干燥法进行水分测定。

将干净的玻璃称量瓶置于105℃干燥箱中,瓶盖支于一边,加热1.5h盖好盖子取出置于干燥器中冷却0.5h,称量,以上反复,直至干燥前后两次重量之差不超过0.002g。恒重完毕。取2g样品肉沫,精确至0.0001g,均匀平铺于称量瓶内,加盖,称重。将称好的样品置于105℃干燥箱内,瓶盖斜支于一边,干燥3h,盖好取出置于干燥器中冷却0.5h后称量,然后再放入干燥箱中干燥1h,取出,放入干燥器中冷却后称量。重复以上操作直到前后两次质量差不超过0.002g。

结果计算:

$$X = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} \times 100$$

式中: X 为试样中水分的含量,单位为克每百克(g/100g); m_1 为称量瓶和试样的质量,单位为克(g); m_2 为称量瓶和试样干燥后的质量,单位为克(g); m_3 为称量瓶的质量,单位为克(g)。

1.3.2.4 质构分析

将1.5×1.5×1.5cm的肉丁按肌纤维垂直于托板的方向放置,以二次压缩模式进行质构分析。分别测定硬度、弹性、凝聚性、黏着性、胶黏性、咀嚼性和回复性等七个指标。

1.3.2.5 胶原蛋白热溶解性测定

先将可溶性胶原蛋白和不溶性胶原蛋白进行分离,可溶性胶原蛋白和不溶性胶原蛋白的分离采用Ringer's 试剂溶解法。配制Ringer's 试剂(1.8g NaCl、0.25g KCl、0.06g CaCl₂·6H₂O、0.05g NaHCO₃、0.186g 碘乙酸,溶于1L蒸馏水),精确称量样品5g(0.0001

g), 加入 8 mL Ringer's 试剂, 用高速分散器将肉样打碎, 混匀溶胀 60 min 后, 77 °C 水浴中加热 60 min。加热后冷却至室温, 3300 r/min 离心 20 min, 收集上清液 (此过程重复两次), 分离沉淀。之后按照 GB/T 9695.23-2008/ISO 3496:1994 测定可溶性胶原蛋白和不溶性胶原蛋白中羟脯氨酸的含量。将上清和沉淀分别放入烧瓶中, 称取 30 mL 硫酸, 加入烧瓶中, 用表面皿盖住, 于 105 °C 干燥箱内恒温 16 h。用圆形滤纸趁热将水解产物过滤至 250 mL 容量瓶中, 用 10 mL 硫酸分三次洗涤烧瓶和滤纸, 合并至上述容量瓶中, 用水定容, 摇匀。用移液管移取一定体积的水解产物至 250 mL 容量瓶中, 定容。移取 4.00 mL 上述溶液于比色管中, 加入 2 mL 氯胺 T (称取 1.41 g 三水·对甲苯磺酰胺钠盐, 用 100 mL 缓冲液溶解; 缓冲液包括以下组分: 26.0 g 一水柠檬酸, 14.0 g 氢氧化钠, 78 g 无水乙酸钠, 用 500 mL 水溶解上述试剂并转入 1 L 的容量瓶中, 加入 250 mL 正丙醇, 用水定容), 混合后于室温下放置 20 min。加入 2.00 mL 显色剂 (称取 10.0 g 对二甲氨基苯甲醛, 用 35 mL 高氯酸溶液溶解, 缓慢加入 65 mL 异丙醇) 于比色管中, 充分混合, 封口。将比色管迅速放入 60 °C 水浴中, 加热 20 min, 取出比色管, 用流动水冷却比色管至少 3 min, 在室温下放置 30 min。用水做参比, 于 558±2 nm 处用分光光度计测定吸收值。

标准曲线: 用 4 mL 羟脯氨酸标准工作液依次代替稀释后的水解产物, 进行以上操作, 以扣除了空白的标准工作液的吸光度做纵坐标, 以相应的浓度为横坐标, 绘制标准曲线。

将测得的羟脯氨酸含量乘以系数 7.25 换算为胶原蛋白含量, 沉淀中羟脯氨酸换算为不溶性胶原蛋白, 上清中羟脯氨酸换算为可溶性胶原蛋白, 两者相加是总胶原蛋白。

1.3.2.6 羟赖氨酸吡啶啉和赖氨酸吡啶林的测定

用预冷的 PBS (0.01 mol/L, pH=7.4) 冲洗组织, 称重后将组织剪碎, 将剪碎的组织与对应体积的 PBS 加入玻璃匀浆器中, 于冰上充分研磨, 最后将匀浆液于 5000 r/min 离心 5~10 min, 取上清检测。从室温平衡 20 min 后的铝箔袋中取出板条, 设置标准品孔和样品孔, 标准品孔各加不同浓度的标准品 50 μL, 样品孔中加入待测样本 50 μL, 空白孔不加, 除空白孔外, 标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物 (HPR) 标记的检测抗体 100 μL, 用封板膜封住反应孔, 37 °C 恒温箱温育 60 min, 弃去液体, 吸水纸上拍干, 每孔加满洗涤液, 静置 1 min, 甩去洗涤液, 吸水纸上拍干, 如此重复洗板 5 次。每孔加入底物 A、B 各 50 μL,

37 °C 避光孵育 15 min, 每孔加入终止液 50 μL, 15 min 内, 在 450 nm 波长处测定各孔的 OD 值。

羟赖氨酸吡啶啉 Hydroxylysine-lysine, 以下简称 HP, 赖氨酸吡啶林 Lysine pyridine, 以下简称 LP。

1.4 数据处理和统计分析

实验数据采用 SPSS 22 统计软件进行统计分析, 处理组之间差异显著性分析采用邓肯氏多重比较法, 数据采用“平均值±标准差”的表示方法, 相关性分析采用 Spearman 相关系数分析法。

2 结果与讨论

2.1 实验结果分析

2.1.1 不同中心温度对蒸煮损失及水分含量的影响

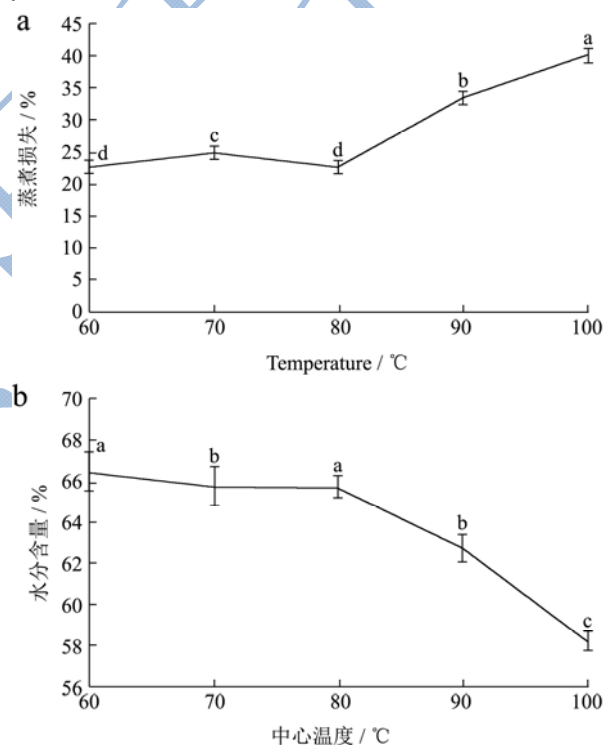


图 1 不同中心温度对牛肉蒸煮损失和水分含量的影响

Fig.1 Effects of different central temperatures on the cooking loss and water content of beef

注: 图中不同字母表示不同温度之间具有差异性显著 $p < 0.05$ 。

如图 1 所示, 随着中心温度的升高, 牛肉蒸煮损失呈递增趋势, 水分含量呈递减趋势。B I Zielbauer^[7]也报道了猪里脊肉在加热过程中随着中心温度的升高, 其蒸煮损失增加。由图可以看出, 80 °C 后蒸煮损失和水分含量的变化幅度加大, 分别由 22.5% 增加到 40.1%, 由 66.4% 降低到 58.2%。由图 1 所示, 相邻两

温度点间蒸煮损失和水分含量差异均显著 ($p<0.05$), 由此说明不同中心温度对蒸煮损失和水分含量有显著影响。

当中心温度达到 60 °C 时, 大部分肌浆蛋白和肌球蛋白已经变性, 随着温度的升高, 肌动蛋白也开始变性。由于肌原纤维蛋白的变性凝固收缩, 肌肉结构破坏, 致使纤维间的水分储存空间减少, 变性导致的蛋白疏水基团的暴露使得蛋白自身的亲水能力下降, 肉内水分流失, 当中心温度达到 80 °C 时, 蒸煮损失幅度加大, 虽然由于水分的流失导致胶原蛋白含量增加, 而且胶原明胶化也会吸收一些水分, 但是高温下纤维收缩的剧烈程度导致了更严重的水分流失, 所以肉的蒸煮损失幅度有所上升。Alicia M^[8] 研究得出中心温度高于 65 °C 时肌束膜的收缩程度相当大, 并且肌束膜的剧烈收缩是导致水分流失的最主要原因。而另有一些研究指出, 肌束膜破裂的粉末状牛肉的蒸煮损失并没有比相同条件下完整肌肉的蒸煮损失低很多。

2.1.2 不同中心温度对牛肉剪切力的影响

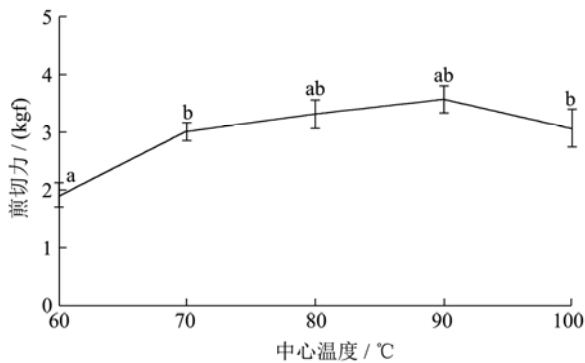


图2 不同中心温度对牛肉剪切力的影响

Fig.2 Effects of different central temperatures on the shearing force of beef

注: 图中不同字母表示不同温度之间具有差异性显著 $p<0.05$ 。

由图2可见, 剪切力在中心温度 60 °C~90 °C 范围内呈上升趋势, 这与 C Li^[9] 对鸭胸肉的研究结果相一致。在中心温度 100 °C 时, 剪切力降低, 该变化与相同温度处理下的羊肉一致^[10]。

嫩度是评价牛肉品质的重要指标, 剪切力是衡量肉嫩度的常用指标之一, 加热导致的肉嫩度的变化主要源于肌原纤维和结缔组织的变性, 越来越多的学者研究表明, 胶原蛋白对嫩度的影响要高于肌原纤维蛋白。在本研究的加热过程中, 剪切力的变化分为三个阶段, 中心温度为 60~70 °C 的第一阶段, 剪切力增加比较大, 由 1.90 kgf 增加到 2.99 kgf; 中心温度为 70~90 °C 的第二阶段, 剪切力增长相对第一阶段较为缓慢, 由 2.99 kgf 增加到 3.55 kgf; 第三阶段是中心温

度为 90~100 °C, 剪切力降低, 由 3.55 kgf 降低到 3.07 kgf。由图2可见, 60 °C 与 70 °C 时的剪切力差异显著 ($p<0.05$), 根据前人研究结果^[6] 分析, 第一阶段剪切力的大幅增长是由于肌原纤维和结缔组织共同起作用导致的, 第二阶段剪切力缓增是由于在该阶段主要是结缔组织在起作用, 结缔组织结构遭到破坏, 逐渐溶解、颗粒化, 收缩能力减弱, 有研究显示, 将加热温度从 80 °C 升高到 90 °C, 胶原蛋白的热溶解性有所增加, 牛肉的嫩度、味道、香气和整体喜好性均没有不利影响^[11]。第三阶段剪切力下降, 可能是由于结缔组织收缩能力进一步减弱, 大量变性溶解, 胶原蛋白明胶化致使肉质变嫩。

2.1.3 不同中心温度下牛肉质构的变化

TPA 分析法是反映肉在加热过程中质构特性变化的重要方法。如图 3a、3b 和 3c 所示, 随着中心温度的升高, 牛肉硬度、黏着性和弹性呈递增趋势, 且 60 °C 与 80 °C、90 °C、100 °C 时的黏着性和弹性差异显著 ($p<0.05$), 70 °C 与 90 °C、100 °C 时的黏着性和弹性差异显著 ($p<0.05$), 说明 60 °C 和 70 °C 是影响黏着性和弹性的关键温度点; 由图 3d 和 3g 可见, 牛肉回弹性和凝聚性随着中心温度的升高呈递减趋势, 100 °C 与 80 °C 时的凝聚性和回弹性差异显著 ($p<0.05$), 说明 80 °C 和 100 °C 是影响凝聚性和回弹性的关键温度点; 由图 3e 和 3f 可见, 牛肉胶黏性和咀嚼性在 60~80 °C 间呈递增趋势, 在 80~100 °C 之间呈递减趋势, 60 °C 与 80 °C 时的胶黏性和咀嚼性差异显著 ($p<0.05$), 胶黏性是指将半固体食品咀嚼到可以吞咽时所需要的功, 所以二者变化相一致是有道理的。由此可见, 中心温度对黏着性、弹性、凝聚性和回弹性等质构特性存在显著影响, 且各质构参数互相之间也存在影响, 黏着性和弹性、凝聚性和回弹性以及胶黏性和咀嚼性变化相互一致。

2.1.4 不同中心温度牛肉胶原蛋白含量及热溶解性变化

胶原蛋白与嫩度的关系非常复杂, 早期也有相关学者论断嫩度主要由胶原蛋白决定^[12]。然而, 大部分报道认为胶原蛋白的作用力远不及肌纤维^[13]。

由表1可以看出, 随着中心温度的升高, 肉中总胶原蛋白、可溶性胶原蛋白、不溶性胶原蛋白的含量以及胶原蛋白的热溶解性均呈增加趋势。这种现象与加热过程中蒸煮损失的增加、肌浆蛋白的流失等造成的肌肉干物质含量下降有关。胶原蛋白的热溶解加剧, 部分随着汁液一同流失, 但由于汁液流失严重, 水分含量显著降低, 导致肉中残留的可溶性胶原蛋白的相对含量增加。从 SPSS 的方差分析模型中可以得出,

结缔组织中总胶原蛋白和可溶性胶原蛋白的含量在中心温度为 60 °C、70 °C 时差异不显著 ($p>0.05$), 当中心温度提升到 80 °C、90 °C、100 °C 时, 这三组间的总胶原蛋白和可溶性胶原蛋白的含量差异均显著 ($p<0.05$), 分别从 14% 提升到 19%、0.3% 提升到 0.9%, 说明在中心温度的升高后期, 由于汁液的大量流失, 胶原蛋白的相对含量显著增加。不溶性胶原蛋白在温度提升到 100 °C 时, 其含量与其他各组间相比显著增加 ($p<0.05$); 胶原蛋白的热溶解性在 100 °C 与其他四组间差异相比显著增加 ($p<0.05$), 由 2% 提升到 5% 左右。说明中心温度对胶原蛋白溶解性和含量有很大的影响, 尤其当温度提升到 100 °C, 而 100 °C 时的蒸煮损失和水分含量与其余各中心温度间差异均显著 ($p<0.05$), 说明胶原蛋白热溶解性与加热过程中的汁液流失有关。

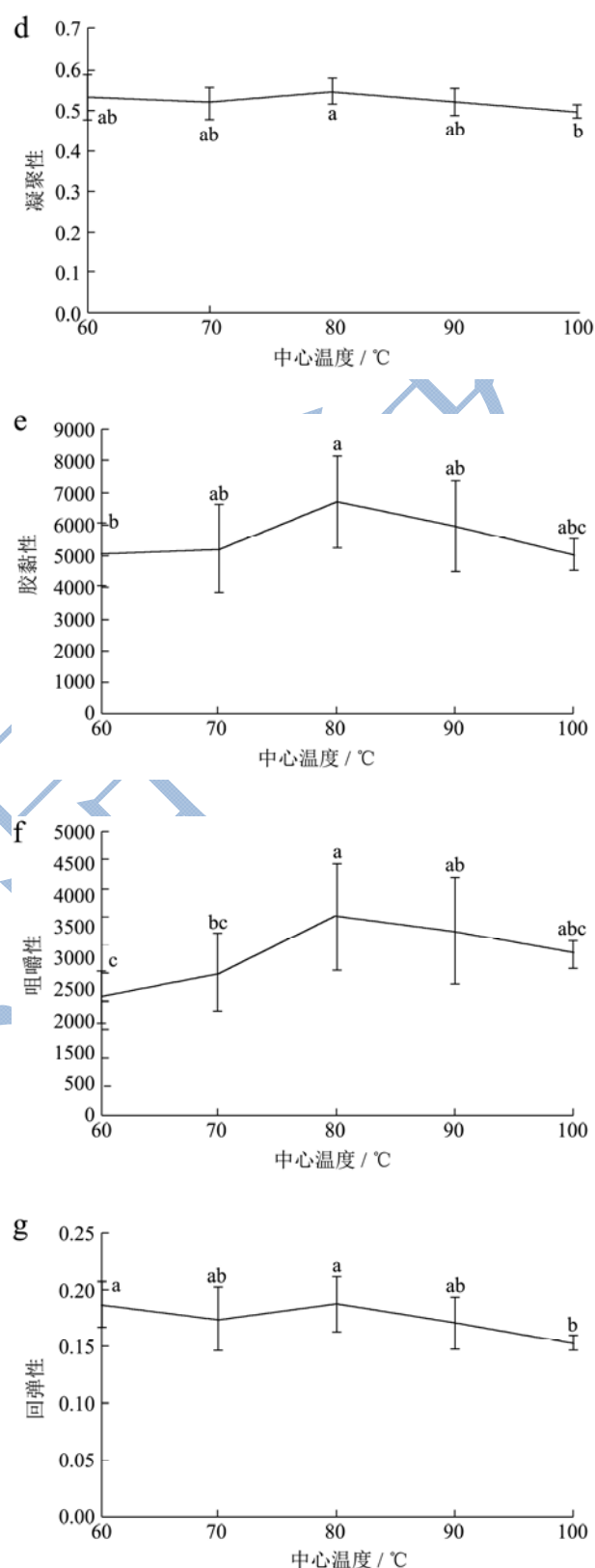
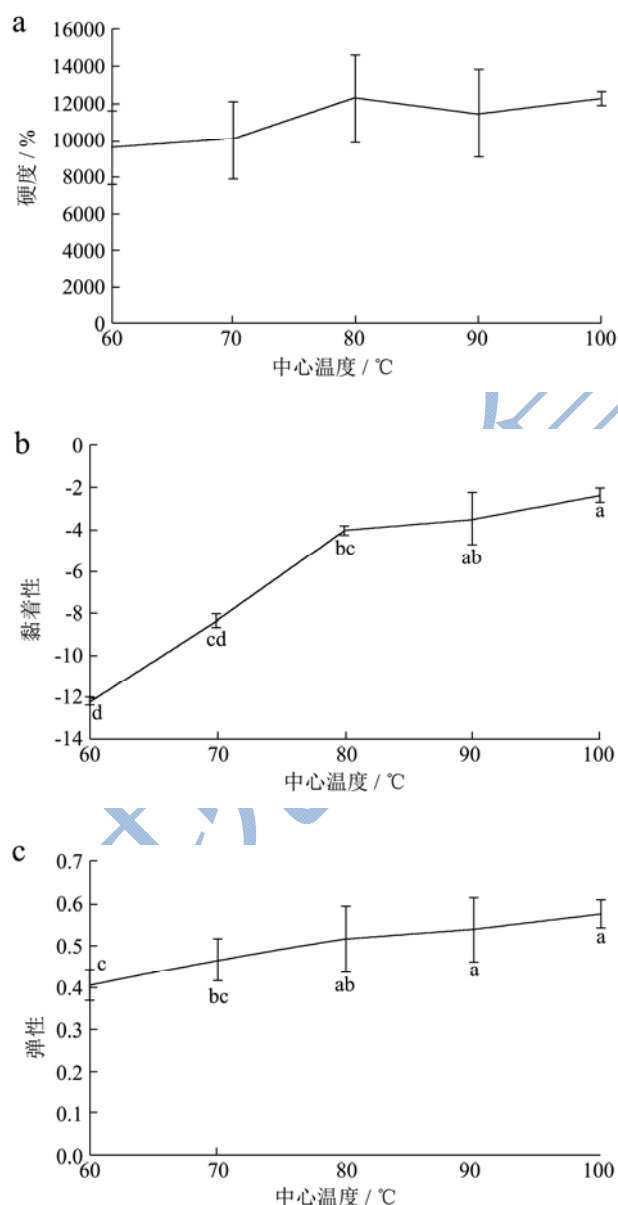


图3 不同中心温度对牛肉质构的影响
Fig.3 Effects of different central temperatures on the texture of beef

注: 图中不同字母表示不同温度之间具有差异性显著 $p<0.05$ 。

表1 总胶原蛋白、可溶性胶原蛋白、不溶性胶原蛋白含量以及胶原蛋白热溶解性的变化

Table 1 The changes in total collagen, soluble collagen, insoluble collagen content and collagen thermal solubility

项目/%	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C	100 °C
总胶原蛋白	13.75 ^a ±2.46	14.09 ^a ±1.26	16.16 ^b ±1.74	17.33 ^c ±1.12	19.14 ^d ±0.55
可溶性胶原蛋白	0.3 ^a ±0.06	0.33 ^a ±0.04	0.4 ^b ±0.07	0.70 ^d ±0.31	0.91 ^c ±0.17
不溶性胶原蛋白	13.42 ^a ±2.29	13.77 ^a ±1.25	15.73 ^b ±1.70	16.63 ^b ±1.03	18.23 ^c ±0.46
热溶解性	2.34 ^a ±0.67	2.31 ^a ±0.38	2.70 ^a ±0.38	4.07 ^a ±1.67	4.78 ^b ±0.83

注：表中数据为 $\bar{x} \pm S$ ；同行肩标字母不同者表示差异显著 $p < 0.05$ 。

2.1.5 不同中心温度 HP、LP 含量变化

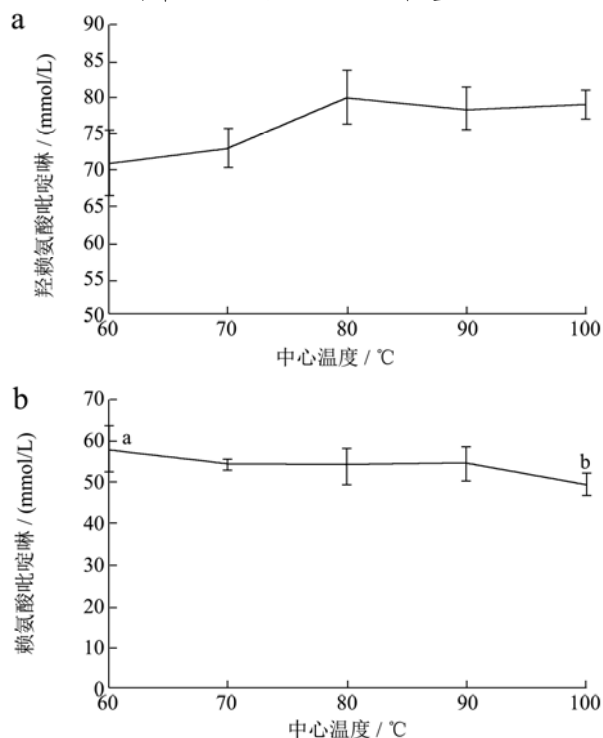


图4 不同中心温度下羟赖氨酸吡啶啉和赖氨酸吡啶啉含量的变化

Fig.4 Changes in the content of hydroxylysine pyridine and lysine pyridine at different central temperatures

注：图中不同字母表示不同温度之间具有差异性显著 $p < 0.05$ 。

胶原分子由三条左旋的蛋白质 α -链组成， α -链进一步缠绕形成右旋的三重超螺旋结构。对于可溶性胶原，是由于加热导致分子的三重螺旋解旋成单股，胶原分子的棒状结构就会变为线圈状结构，而相邻胶原分子间的共价交联就会限制这种转变^[14]，这些共价交联是由赖氨酸或羟赖氨酸的残基及它们的醛类物质缩合形成的，胶原蛋白的共价交联与动物年龄和花纹等级有关^[15]。肌腱中胶原蛋白受热变性，主要是因为吡啶啉含量低，吡啶啉是共价交联的主要存在形式。

由图4可见，羟赖氨酸吡啶啉 HP 的含量随着中心温度的升高而升高，而赖氨酸吡啶啉 LP 的含量却呈下降趋势，除了 60 °C 和 100 °C 的赖氨酸吡啶啉的含

量差异显著 ($p < 0.05$) 之外，其他各温度点间差异不显著 ($p > 0.05$)。原因可能是由于胺基酮途径形成的 HP 的热稳定性比醛亚胺途径形成的 LP 热稳定性高。

2.1.6 扫描电镜观察

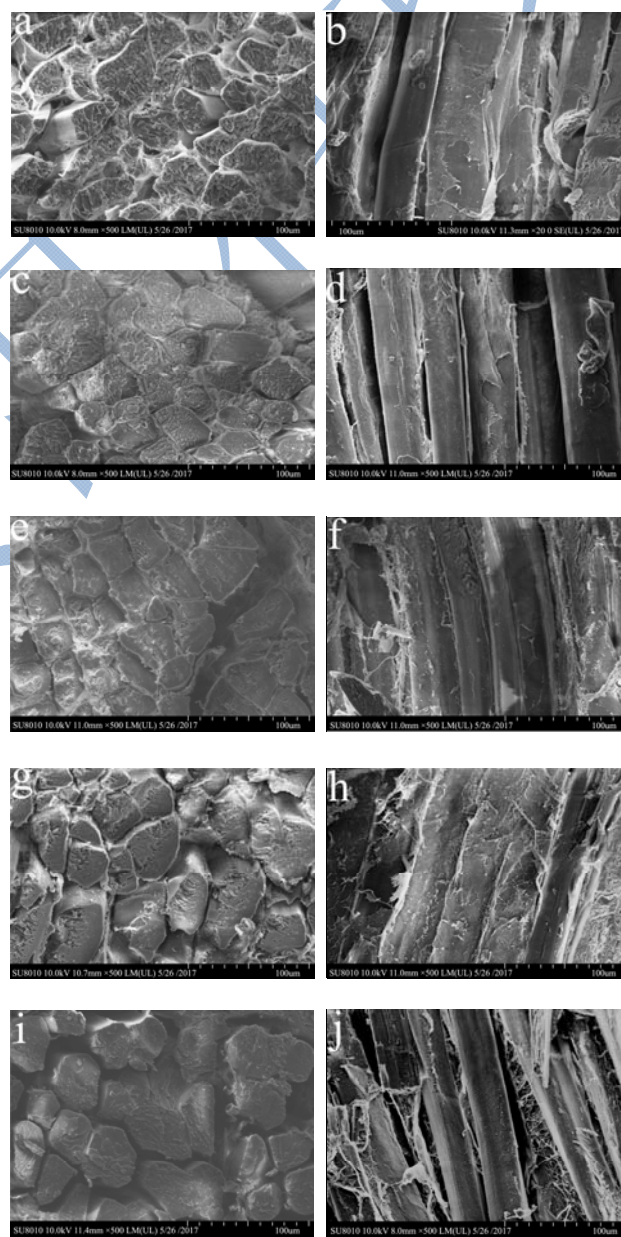


图5 不同中心温度下牛肉微观结构变化(放大倍数 500)

Fig.5 Changes in microstructure of beef at different central temperatures (magnifications were $\times 500$)

肉的嫩度也被认为是肉的硬度，结缔组织构成肉的硬度主要是通过胶原蛋白组成的肌束膜、肌内膜将肌原纤维连接形成有序的肌肉来实现的^[16]。完整肌肉外围包裹着一层肌外膜，肌外膜向内延伸，把肌肉分成许多肌束，形成肌束膜，肌束膜进一步向内延伸包裹单根肌纤维，形成肌内膜。肌束的大小决定肉的质地，不同部位肉间肌纤维和结缔组织的含量差别很大，是造成硬度差异的重要原因。

图5分别是不同中心温度下肌肉横纵截面的扫描照片，从图中可以看到不同中心温度下结缔组织的变化情况，60℃、70℃两组中可以看到肌束膜和肌内膜结构相对规则清晰，肌束膜将肌纤维紧密束在一起，肌纤维和肌内膜贴合较紧密，从纵截面图中可以看到此时肌束膜和肌内膜发生了较为轻微的破裂。中心温度为80℃时，肌束膜收缩，肌纤维束间出现空隙，从

纵截面来看，肌内膜破损严重，肌纤维与肌内膜剥离。中心温度为90℃时，各肌纤维之间空隙增大，肌内膜的完整性完全破坏。中心温度达到100℃时，肌束膜肌内膜破损严重，肌纤维束之间、肌纤维之间空隙很大，各肌纤维连接松散，从纵截面也可以看到肌内膜破碎呈丝状，各肌纤维间空隙很大。I Girard^[17]等认为肌原纤维和肌束膜、肌内膜的结构完整性是影响熟肉嫩度的主要原因。说明本研究中随着温度升高牛肉硬度的下降与肌束膜肌内膜的完整性遭到破坏有关。

2.2 不同中心温度下胶原蛋白特性与牛肉品质相关性分析

2.2.1 剪切力与胶原蛋白特性及质构特性的相关性分析

表2 剪切力与胶原蛋白特性及质构特性的相关性分析

Table 2 Correlation analysis among shear force, collagen properties and texture characteristics

	蒸煮损失	水分含量	总胶原蛋白	可溶性胶原	不溶性胶原	胶原蛋白热溶解性	HP	LP
剪切力	0.842	-0.777	0.879*	0.877	0.875	0.892*	0.749	-0.701
	硬度	黏着性	弹性	凝聚性	胶黏性	咀嚼性	回弹性	
剪切力	-0.338	0.758	0.902*	-0.515	0.173	0.630	-0.738	

注：*表示相关性显著 $p < 0.05$ ；**表示相关性极显著 $p < 0.01$ 。

由表2可以看到，总胶原蛋白含量、胶原蛋白热溶解性以及弹性均与剪切力呈显著正相关 ($p < 0.05$)，说明剪切力的大小与总胶原蛋白的含量、胶原蛋白热溶解性以及弹性有关。Torrescano^[18]在研究过程中发现，胶原蛋白总量和牛肉嫩度在生肉中呈现很强的正相关，在熟肉中，相关性却很低 ($p > 0.05$)。然而也有学者研究瑞士布朗公牛得出：在熟肉中，剪切力与总的胶原蛋白含量有很高的相关性^[19]，与本研究结果相一致。

越来越多的研究证实，嫩度不仅仅与胶原蛋白有关，与胶原蛋白的空间结构也有一定的关系。随着动物年龄的增长肉质韧性增加的原因认为是胶原蛋白三价成熟交联的形成^[20]，所以可以通过提前屠宰时间来减少成熟交联的形成从而改善肉质。有学者研究得出胶原蛋白间的共价交联与熟肉的嫩度并没有很强的相关性^[21]，与本研究结果相符合。

2.2.2 胶原蛋白特性与牛肉质构特性相关性分析

表3 胶原蛋白特性与牛肉质构特性相关性分析

Table 3 Correlation analysis of collagen properties and texture characteristics of beef

	剪切力	蒸煮损失	水分含量	总胶原	可溶性胶原	不溶性胶原	热溶解性	HP
总胶原	.879*	.885*	-.912*	1	.970**	.999**	.955*	.824
可溶性胶原	.877	.966**	-.968**	.970**	1	.961**	.997**	.668
不溶性胶原	.875	.870	-.901*	.999**	.961**	1	.946*	.840
热溶解性	.892*	.970**	-.957*	.955*	.997**	.946*	1	.642
	LP	硬度	黏着性	弹性	凝聚性	胶黏性	咀嚼性	回弹性
总胶原	-.858	-.651	.618	.952*	-.555	.115	.594	-.770
可溶性胶原	-.816	-.723	.641	.881*	-.699	-.101	.408	-.860
不溶性胶原	-.859	-.639	.612	.958*	-.533	.143	.616	-.755
热溶解性	-.778	-.691	.638	.862	-.700	-.114	.393	-.855

注：*表示相关性显著 $p < 0.05$ ；**表示相关性极显著 $p < 0.01$ 。

从表3可以看出，可溶性胶原蛋白含量和胶原蛋

白热溶解性与蒸煮损失呈极显著正相关 ($p < 0.01$)，与

水分含量呈极显著负相关 ($p<0.01$), 这与 Modzelewska^[22]研究结果相一致, 报道称在水分含量和胶原蛋白热溶解性之间存在显著负相关。常海军^[23]采用水浴和微波加热牛肉, 两种方法下蒸煮损失有显著性差异, 对应的胶原蛋白的含量也呈显著性差异 ($p<0.05$), 说明胶原蛋白含量的变化主要原因就是蒸煮损失。胶原蛋白的热溶解性与共价交联的密度之间

并没有相关性, 与一些学者研究得出二者之间没有相关性^[20]的结论相一致。从表中还可以看出, 肉的弹性与总胶原蛋白、可溶性胶原蛋白以及不溶性胶原蛋白的含量均呈显著正相关 ($p<0.05$), 由此可以说明肉的弹性与胶原蛋白的含量有关。

2.2.3 胶原蛋白共价交联与牛肉质构特性相关性分析

表4 胶原蛋白共价交联与牛肉质构特性相关性分析

Table 4 Correlation analysis of collagen crosslinking and texture characteristics of beef

	剪切力	蒸煮损失	水分含量	总胶原	可溶性胶原	不溶性胶原	热溶解性
HP	.749	.489	-.535	.824	.668	.840	.642
LP	-.701	-.796	.867	-.858	-.816	-.859	-.778
	硬度	黏着性	弹性	凝聚性	胶黏性	咀嚼性	回弹性
HP	-.216	.449	.897*	-.056	.642	.935*	-.365
LP	.746	-.796	-.899*	.689	.043	-.436	.848

注: *表示相关性显著 $p<0.05$; **表示相关性极显著 $p<0.01$ 。

从表4可以看出, 胶原蛋白羟赖氨酸吡啶啉与肉的弹性、咀嚼性呈显著正相关 ($p<0.05$), 赖氨酸吡啶啉与弹性呈显著负相关 ($p<0.05$), 由此可得出胶原蛋白的共价交联对肉的质构特性有一定的影响。

3 结论

3.1 在水浴加热的过程中, 牛肉半腱肌肉蒸煮损失随着中心温度的升高而增加, 肌内水分含量随着中心温度的升高而降低; 随着中心温度的升高, 牛肉剪切力持续增加, 达到 100 °C 时下降; 肉的质构也发生了一系列的变化, 其中硬度、弹性、黏着性与咀嚼性增加, 凝聚性、胶黏性和回弹性降低。可溶性胶原蛋白、不溶性胶原蛋白、总胶原蛋白的含量以及胶原蛋白的热溶解性均随着中心温度的升高而增加; 羟赖氨酸吡啶啉的含量增加, 赖氨酸吡啶啉的含量下降。

3.2 剪切力以及胶原蛋白的含量与共价交联无关; 肉的弹性、咀嚼性与胶原蛋白的含量以及分子内共价交联有关, 胶原蛋白的含量越大, 肉的弹性也越大。而肌肉的弹性和咀嚼性与 HP 呈显著正相关, 咀嚼性与 LP 呈显著负相关, 说明肉的质构特性在一定程度上与胶原蛋白的分子间共价交联有关。结缔组织本身质地富有弹性, 所以肉的弹性和咀嚼性与结缔组织的含量以及结构有关不无道理, 咀嚼性是指将固体食物咀嚼到可以吞咽时所做的功, 肌束膜肌内膜等结缔组织在结构上是弹性十足黏连在一起的网状结构, 通过其网状结构将肌纤维连接起来, 当胶原蛋白共价交联程度比较大的时候, 肉更不容易嚼烂。所以随着温度升高, 牛肉硬度下降与肌束膜肌内膜的完整性遭到破坏有关, 肉质改善与胶原蛋白溶解、胶原蛋白含量以及共

价交联相对含量增加有关。

参考文献

- [1] 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
- [2] 陈士进, 丁冬, 李泊, 等. 基于机器视觉的牛肉结缔组织特征和嫩度关系研究[J]. *南京农业大学学报*, 2016, 39(5): 865-71
CHEN Shi-jin, DING Dong, LI Bo, et al. Research on relationship between beef connective tissue features and tenderness by computer vision technology [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2016, 39(5): 865-71
- [3] J M Gonzalez DDJ, M A Elzo. Effect of brahman genetic influence on collagen enzymatic crosslinking gene expression and meat tenderness [J]. *Animal Biotechnology*, 2014, 25(3): 165-78
- [4] Boback S M, Cox C L, Ott B D, et al. Cooking and grinding reduces the cost of meat digestion [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-A Molecular and Integrative Physiology*, 2007, 148(3): 651-656
- [5] 李升升, 靳义超, 闫忠心. 不同热处理对牦牛肉嫩度的影响 [J]. *青海畜牧兽医杂志*, 2015, 45(6): 19-21
LI Sheng-sheng, JIN Yi-chao, YAN Zhong-xin. Effect of different heating treatment on tenderness of yak meat [J]. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2015, 45(6): 19-21
- [6] 李春保. 牛肉肌内结缔组织变化对其嫩度的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2006
LI Chun-bao. Effects of intramuscular connective tissue on

- beef tenderness [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2006
- [7] Zielbauer B I, Franz J, Viezens B, et al. Physical aspects of meat cooking: time dependent thermal protein denaturation and water loss [J]. *Food Biophysics*, 2016, 11(1): 34-42
- [8] Cartaginosa A M, Purslow P P, editors. Hydrothermal isometric tension properties of perimysial connective tissue in bovine semitendinosus muscle [J]. *International Congress of Meat Science and Technology*, 2014
- [9] Li C, Wang D, Xu W, et al. Effect of final cooked temperature on tenderness, protein solubility and microstructure of duck breast muscle [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2013, 51(1): 266-74
- [10] 达迪拉·买买提.不同加热处理对羊肉嫩度的影响研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2016
Dadila-Maimaiti. Effect of different heat treatments on lamb tenderness [D]. Urumchi: Xinjing Agricultural University, 2016
- [11] Modzelewska-Kapitula M. The effect of high temperature on collagen solubility and tenderness of roasted beef [J]. *Journal of Food Safety and Food Quality*, 2016, 67(3): 87-91
- [12] McCormick R J. The flexibility of the collagen compartment of muscle [J]. *Meat Science*, 1994, 36(1): 79-91
- [13] Wheeler T L, Shackelford S D, Koohmaraie M. Technical note: Sampling methodology for relating sarcomere length, collagen concentration, and the extent of postmortem proteolysis to beef and pork longissimus tenderness [J]. *Journal of Animal Science*, 2002, 80(4): 982-7
- [14] Schroepfer M, Meyer M. DSC investigation of bovine hide collagen at varying degrees of crosslinking and humidities [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017
- [15] 卢桂松.年龄和肌肉脂肪沉积对牛肉嫩度的影响[D].南京:南京农业大学,2013
LU Gui-song, Effects of age and fat deposition on beef tenderness [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013
- [16] 南庆贤.肉类工业手册[M].北京:中国建筑工业出版社,2003
NAN Qing-xian. Handbook of meat industry [M]. Beijing: China Architecture & Building Press, 2003
- [17] Girard I, Bruce H L, Basarab J A, et al. Contribution of myofibrillar and connective tissue components to the Warner-Bratzler shear force of cooked beef [J]. *Meat Science*, 2012, 92(4): 775-82
- [18] Dransfield E, Martin J F, Bauchart D, et al. Meat quality and composition of three muscles from French cull cows and young bulls [J]. *Animal Science*, 2003, 76(3): 387-99
- [19] Torrescano G, Sánchez-Escalante A, Giménez B, et al. Shear values of raw samples of 14 bovine muscles and their relation to muscle collagen characteristics [J]. *Meat Science*, 2003, 64(1): 85-91
- [20] Roy B C, Sedgewick G, Aalhus J L, et al. Modification of mature non-reducible collagen cross-link concentrations in bovine m. gluteus medius and semitendinosus with steer age at slaughter, breed cross and growth promotants [J]. *Meat Science*, 2015, 110: 109-17
- [21] Dubost A, Micol D, Meunier B, et al. Relationships between structural characteristics of bovine intramuscular connective tissue assessed by image analysis and collagen and proteoglycan content [J]. *Meat Science*, 2013, 93(3): 378-386
- [22] Modzelewska-Kapitula M, Kwiatkowska A, Jankowska B, et al. Water holding capacity and collagen profile of bovine m. infraspinatus during postmortem ageing [J]. *Meat Science*, 2015, 100: 209-16
- [23] 常海军.不同加工条件下牛肉肌内胶原蛋白特性变化及其对品质影响研究[D].南京:南京农业大学,2010
CHANG Hai-jun. Studies on effects of different processing conditions on characteristics changes of collagen and meat quality of beef muscle [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2010