

# 猪肉宰后冷却成熟过程中嫩度指标的相关性研究

李 诚, 谢 婷, 付 刚, 陈代文  
(四川农业大学食品学院, 四川 雅安 625000)

**摘 要:** 测定杜长大三元杂交猪的背最长肌(LDM)、腰大肌(PM)两种不同部位猪肉在宰后 0~4℃冷却成熟过程中的钙蛋白酶粗酶液活性、肌原纤维小片化指数和剪切力, 对 3 个指标的变化进行相关性分析。结果表明: 3 个指标均与猪肉宰后成熟时间呈现较高的相关性, 而且在猪肉宰后成熟过程中三者之间均呈现较高的相关性, 说明钙蛋白酶粗酶液活性和肌原纤维小片化指数与剪切力一样, 均可作为评价猪肉嫩度的指标。

**关键词:** 猪肉; 冷却成熟; 嫩度指标; 相关性

## Correlation Analysis among Tenderness Indexes during Postmortem Chilling Aging of Pork

LI Cheng, XIE Ting, FU Gang, CHEN Dai-wen  
(College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625000, China)

**Abstract:** The changes in  $\text{Ca}^{2+}$ -activate-factor (CAF) activity, myofibril fragmentation index (MFI) and shearing force value (SFV) of *longissimus dorsi* muscle (LDM) and *psaos* muscle (PM) from Duroc  $\times$  Landrace  $\times$  Yorkshire cross breed pigs were studied during storage at 0~4℃ for postmortem aging and correlation analysis among the three indexes was conducted. The results showed that all the three indexes had significant correlations with postmortem aging time, and there were significant correlations among the three indexes during postmortem aging, which indicate that both CAF and MFI are two significant indexes of pork tenderness as SFV.

**Key words:** pork; chilling aging; tenderness indexes; correlation

中图分类号: TS251.51

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)17-0163-04

嫩度是衡量肌肉食用品质和商业价值的一个重要指标。目前, 我国测量猪肉嫩度的客观指标是测量其剪切力值, 即测量切断单位体积肉品所需要的机械力。此法简单易行, 但需要嫩度计等专用设备, 测量时影响因素较多, 数据波动范围较大, 而且取样量大, 对猪胴体造成较大的损害, 影响商品价值。

国内外学者做了许多关于指示牛肉嫩度特征指标的研究。研究得比较多的主要有钙蛋白酶活性、肌原纤维小片化指数等<sup>[1-2]</sup>。结果表明, 钙蛋白酶活性、肌原纤维小片化指数可用于衡量牛肉的嫩度<sup>[3-4]</sup>。

本实验通过对杜长大三元杂交猪的背最长肌、腰大肌两种不同部位猪肉在宰后成熟过程中的钙蛋白酶粗酶液活性、肌原纤维小片化指数、剪切力等指标的测定, 研究这 3 个指标在猪肉宰后成熟过程中的变化规律及其相关性, 旨在为建立衡量猪肉嫩度的新指标体系和猪肉嫩度预测模型提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

样品材料为杜长大三元杂交猪背最长肌(LDM)和腰大肌(PM)。猪屠宰后, 分割背最长肌和腰大肌, 置于-20℃冰柜中急冻降温, 待肉表面温度降至 0℃时, 除去可见脂肪和结缔组织, 按照不同部位, 将其分为两组, 均切割为 100g 左右的小块, 分别放入经紫外灯灭菌的托盘中, 用聚乙烯保鲜膜密封包装, 置于 0~4℃冰箱中贮藏、成熟。

Scientz-II D 型超声波细胞粉碎机 宁波新芝生物科技股份有限公司; BR4i 型多功能冷冻离心机 法国 Thermo Jouan 公司; UV-2102 PCS 型紫外可见分光光度计 美国 Unico 公司; PHS-3C 精密 pH 计 北京赛多利斯仪器系统有限公司; C-LM 3B 型数显式肌肉嫩度仪 东北农业大学工程学院; 透析袋(截留分子量 10000~12000D, 直径 20mm) 北京华美生物工程公司; YKKY-FM-40 雪花制冰机 北京长流科学仪器有限公司; Milli-Q Element 超纯水机 美国 Millipore 公司。

收稿日期: 2009-05-23

作者简介: 李诚(1964—), 男, 副教授, 博士研究生, 主要从事动物性食品加工与卫生安全研究。

E-mail: lichenglcp@163.com

## 1.2 方法

### 1.2.1 测定指标

分别测定猪肉宰后 0~4℃ 冷藏 2、24、72、168h 时的钙蛋白酶粗酶液活性和猪肉宰后 0~4℃ 冷藏 2、24、48、72、96、120、144、168h 时的肌原纤维小片化指数和剪切力值。每组每次随机取 3 块肌肉进行各指标测定。

### 1.2.2 钙蛋白酶粗酶液的提取及其活性测定

钙蛋白酶粗酶液的提取及活性的测定参照 Koochmaria 等<sup>[5-6]</sup>及靳焯<sup>[7]</sup>报道的牛肉中钙蛋白酶粗酶液的提取及活性测定方法予以调整确定。

#### 1.2.2.1 钙蛋白酶粗酶液的提取

将肉样去除脂肪及结缔组织后剪碎,准确称取 5g,加入 2.5 倍体积的抽提液(0.17mol/L Tris-HCl, 4mmol/L EDTA, pH7.9),在超声波细胞粉碎机中于 4℃ 匀浆,维持均浆液 pH6.5 以上。悬浮液于 7000 × g 条件下冷冻离心 30min,上清液用 1mol/L 醋酸调至 pH 6.1~6.2。在 0℃ 放置 20min 后,于 6000 × g 条件下冷冻离心 30min。上清液用 1mol/L 醋酸调至 pH4.9~5.0(等电沉淀),0℃ 放置 20min,于 6000 × g 条件下冷冻离心 20min,弃去上清液。将等电沉淀获得的蛋白质加入 10ml 缓冲液(0.17mol/L Tris-HCl-4mmol/L EDTA-10mmol/L β-巯基乙醇, pH8.3),并用 1mol/L 醋酸,调节溶液 pH7.0,使其在低温下溶解,用蒸馏水将溶液稀释至 20ml,于 12000 × g 条件下冷冻离心 60min,将上清液转入透析袋中,在 4℃ 透析 24h,溶液在 12000 × g 条件下冷冻离心 60min,所得上清液即为钙蛋白酶粗酶液。

#### 1.2.2.2 钙蛋白酶粗酶液活性的测定

通过测定钙蛋白酶水解蛋白质所释放的肽链数量多少来测定钙蛋白酶粗酶液的活性。以酪蛋白为底物,反应后测其吸光度。一个单位的钙蛋白酶活性定义为 25℃ 反应 60min,在波长 278nm 增加 1.0 吸光度单位催化反应所需酶的量。

取反应溶液(100mmol/L KCl-10mmol/L Tris-HCl-100mmol/L β-巯基乙醇-0.1mmol/L EDTA-5mmol/L CaCl<sub>2</sub>-5mg/ml Casein, pH7.5)1.5ml,加入 0.5ml 稀释后的钙蛋白酶粗酶液(稀释比例按钙蛋白酶粗酶液与酪蛋白 1:20 稀释);空白为 1.5ml 反应溶液,加入 0.5ml 缓冲液(50mmol/L Tris-HCl-4mmol/L EDTA, 1mol/L 乙酸调节 pH7.0);对照组为 1.5ml 反应溶液,加入 0.5ml 变性酶液(将提取的粗酶液在 100℃ 水浴中煮沸 5min,冷却至室温)。反应总体积均为 2ml。在 25℃ 反应 1h,加入 2ml、10% 的 TCA 终止反应。然后将反应液离心(1000r/min, 30min),上清液在 278nm 波长处测吸光度,计算每克肌肉中钙蛋白酶粗酶液的总活性。

$A_{总} = (\text{反应溶液在 } 278\text{nm 波长处吸光度} - \text{对照在 } 278\text{nm 波长处吸光度}) \times \text{稀释倍数}$

$$\text{钙蛋白酶的活性单位} = \frac{A_{总}}{\text{样品肌肉质量(5g)}}$$

### 1.2.3 肌原纤维小片化指数的测定

肌原纤维小片化指数的测定根据 Culler 等<sup>[8]</sup>和 Hopkins 等<sup>[9]</sup>的方法予以修改确定。将肉样除去可视脂肪和结缔组织后剪碎,称取 4g,加入 40ml、2℃ MFI 浸提液(100mmol/L KCl-7mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-18mmol/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-1mmol/L EDTA-1mmol/L MgCl<sub>2</sub>, pH7.0),在超声波细胞粉碎机中于 4℃ 匀浆,匀浆后于 10000r/min 条件下冷冻离心 15min,弃去上清液。沉淀中再加入 40ml、2℃ 肌原纤维小片化指数浸提液,再于 10000r/min 条件下冷冻离心 15min。最终沉淀用 15ml、2℃ 浸提液溶解,用单层纱布过滤,弃去结缔组织和细胞碎片,滤液即为肌原纤维提取液。

对肌原纤维提取液用双缩脲法测定蛋白浓度,然后用肌原纤维小片化指数浸提液调整肌原纤维提取液蛋白浓度为 0.5mg/ml,在 540nm 波长处测吸光度。每个样品重复测量 3 次,将平均值代入公式计算出肌原纤维小片化指数值。

$$\text{肌原纤维小片化指数(MFI)} = A_{540\text{nm}} \times 200$$

### 1.2.4 剪切力的测定

将样品肉块切成 2.5cm 厚的肉块,于恒温水浴锅中用 80℃ 水温加热至肉的中心温度达 70℃,保持 30min。取出冷却至室温,用吸水纸吸干肉样表面水分,用直径为 1cm 的圆柱形空心取样器沿肌纤维方向在肉样上钻取圆柱形肉柱,在嫩度计上以垂直于肌纤维方向测定剪切力,3 次以上测定的平均值为该样品的剪切力值。

### 1.2.5 数据分析处理

采用 SPSS12.0 软件对钙蛋白酶粗酶液活性、肌原纤维小片化指数和剪切力进行方差分析和 Pearson 相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 猪肉在冷却成熟过程中嫩度指标的变化

背最长肌和腰大肌两个部位猪肉在宰后冷却成熟过程中钙蛋白酶粗酶液活性、肌原纤维小片化指数和剪切力等各嫩度指标变化情况如表 1 所示。

#### 2.1.1 钙蛋白酶粗酶液活性的变化

从表 1 可见,各部位猪肉钙蛋白酶粗酶液活性均随成熟时间的延长而极显著降低( $P < 0.01$ ),并且下降速度先快后慢。在宰后 24h 内,钙蛋白酶粗酶液活性下降速

表1 两个部位猪肉宰后冷却成熟过程中各嫩度指标变化

Table 1 Changes in CAF activity, MFI and SFV of LDM and PM during postmortem chilling aging

嫩度指标		冷却成熟时间(h)							
		2	24	48	72	96	120	144	168
钙蛋白酶粗	背最长肌	0.582 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.324 ± 0.04 <sup>b</sup>	ND	0.159 ± 0.04 <sup>c</sup>	ND	ND	ND	0.115 ± 0.02 <sup>d</sup>
酶液活性(U/g)	腰大肌	0.615 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.295 ± 0.04 <sup>b</sup>	ND	0.129 ± 0.05 <sup>c</sup>	ND	ND	ND	0.089 ± 0.04 <sup>d</sup>
肌原纤维小片	背最长肌	42.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	43.7 ± 3.0 <sup>ab</sup>	48.9 ± 0.4 <sup>bc</sup>	54.8 ± 3.1 <sup>cd</sup>	60.6 ± 3.7 <sup>de</sup>	61.7 ± 4.1 <sup>e</sup>	62.8 ± 0.6 <sup>e</sup>	64.8 ± 3.1 <sup>e</sup>
化指数(MFI)	腰大肌	50.0 ± 1.1 <sup>a</sup>	52.8 ± 1.7 <sup>a</sup>	60.4 ± 3.4 <sup>b</sup>	70.3 ± 3.3 <sup>c</sup>	72.8 ± 1.1 <sup>cd</sup>	74.7 ± 2.4 <sup>de</sup>	77.0 ± 1.1 <sup>de</sup>	79.1 ± 1.6 <sup>e</sup>
剪切力(N)	背最长肌	49.420 ± 2.068 <sup>b</sup>	51.989 ± 0.343 <sup>a</sup>	48.383 ± 0.706 <sup>b</sup>	40.337 ± 2.568 <sup>c</sup>	31.282 ± 0.510 <sup>d</sup>	27.607 ± 0.520 <sup>e</sup>	25.745 ± 0.735 <sup>f</sup>	23.657 ± 0.314 <sup>g</sup>
	腰大肌	25.470 ± 0.519 <sup>a</sup>	24.049 ± 0.410 <sup>a</sup>	20.208 ± 2.617 <sup>b</sup>	16.180 ± 1.019 <sup>c</sup>	14.151 ± 0.451 <sup>d</sup>	12.711 ± 0.402 <sup>de</sup>	11.544 ± 0.166 <sup>de</sup>	1.643 ± 0.490 <sup>f</sup>

注：肩注字母顺序相邻表示差异显著( $P < 0.05$ )，肩注字母顺序相隔表示差异极显著( $P < 0.01$ )；ND.未进行测定；数据以平均值±标准差表示。

度最快，各部位猪肉的钙蛋白酶粗酶液活性均下降了40%以上，成熟72h后，背最长、腰大肌的钙蛋白酶粗酶液活性比分别只剩宰后2h的27.3%和21%。

钙蛋白酶分为 $\mu$ -Calpain和m-Calpain两类，在自溶后才表现活性，其活性下降是其发挥水解作用的标志，其中 $\mu$ -Calpain被认为是降解肌原纤维引起肌肉嫩化的主要作用酶<sup>[10]</sup>。Boehm等<sup>[11]</sup>研究发现，在牛肉贮藏期间， $\mu$ -Calpain活性在宰后1d内迅速降至屠宰时活性的40%，7d后降低至屠宰时活性的4%。Veiseth等<sup>[12]</sup>对羊肉研究后，也发现在宰后3h，即检测到 $\mu$ -Calpain的自溶产物，24、72h后羊肌肉中 $\mu$ -Calpain的活性比最初分别下降了42%和95%，360h后则无活性。

### 2.1.2 肌原纤维小片化指数的变化

已有实验证明肌原纤维小片化指数的变化是由于肌节中I带蛋白Titin(肌联蛋白)和Nebulin(伴肌动蛋白)的降解造成的。肌原纤维小片化指数是评价I带破坏程度和肌纤维间断裂程度的很有用的指标。

从表1可以看出，肌原纤维小片化指数值总体上增加( $P < 0.05$ )。具体而言，宰后成熟初期，肌原纤维小片化指数增加不明显( $P > 0.05$ )。随着宰后成熟时间的延长，猪肉的肌原纤维小片化指数值显著增加( $P < 0.05$ )，成熟72~96h后，肌原纤维小片化指数值增加的幅度逐渐减小，在成熟后期，肌原纤维小片化指数值变化不显著( $P > 0.05$ )。肌原纤维小片化指数这种变化的原因可能是宰后24h内猪胴体处于尸僵阶段，肌原纤维还没有开始降解，之后逐渐进入解僵阶段，肌原纤维开始被降解，肌原纤维小片化指数值显著增加，成熟96h后，随着钙蛋白酶粗酶液活性降低，肌原纤维降解速度逐渐减慢，因此在成熟后期肌原纤维小片化指数值增加幅度变小。宰后168h与宰后2h间的肌原纤维小片化指数值差异极显著( $P < 0.01$ )，说明宰后成熟时间对猪肉肌原纤维小片化程度的影响很大，猪肉经过一定时间的成熟其嫩度得到较大程度的改善。

### 2.1.3 剪切力的变化

从表1可以看出，随着成熟时间的延长，猪背最

长肌和腰大肌的剪切力值总体变化趋势是极显著降低( $P < 0.01$ )。其中，在2~24h阶段，背最长肌剪切力值显著升高( $P < 0.05$ )，腰大肌剪切力值略微降低，可能是因为背最长肌仍处在尸僵阶段，而腰大肌已进入解僵阶段。

从不同部位猪肉看，在宰后成熟全过程中，背最长肌的剪切力值明显大于腰大肌；背最长肌经过1周左右的成熟，其剪切力值与腰大肌宰后2h的剪切力接近。说明腰大肌比背最长肌嫩；背最长肌需经过1周左右的成熟，其嫩度水平才相当于宰后腰大肌的嫩度。一般来说，肉的剪切力值小于31.4N较为理想<sup>[13]</sup>。宰后腰大肌的初始嫩度小于31.4N，而背最长肌的初始硬度大于49.0N，但经过96h成熟后，其剪切力值达到31.4N以下，嫩度得到较大程度的改善。

## 2.2 三个指标间的相关性分析

表2 腰大肌各嫩度指标间的皮尔森相关系数

Table 2 Pearson's correlation coefficients among CAF activity, MFI and SFV of PM

	成熟时间	粗酶液活性	肌原纤维小片化指数	剪切力
成熟时间	—	—	—	—
粗酶液活性	-0.803	—	—	—
肌原纤维小片化指数	0.959**	-0.866	—	—
剪切力	-0.972**	0.854	-0.998**	—

注：\*\*.在0.01水平显著相关(双尾检验)。下同。

表3 背最长肌各嫩度指标间的皮尔森相关系数

Table 3 Pearson's correlation coefficients among CAF activity, MFI and SFV of LDM

	成熟时间	粗酶液活性	肌原纤维小片化指数	剪切力
成熟时间	—	—	—	—
粗酶液活性	-0.829	—	—	—
肌原纤维小片化指数	0.969**	-0.854	—	—
剪切力	-0.963**	0.731	-0.978**	—

背最长肌和腰大肌两个部位猪肉在宰后成熟过程中其钙蛋白酶粗酶液的活性、肌原纤维小片化指数和剪切力三个指标变化情况以及宰后成熟时间之间相关性分析

如表 2、3 所示。

由表 2、3 可以看出,两种部位猪肉的钙蛋白酶粗酶液的活性、肌原纤维小片化指数和剪切力三大嫩度指标均与猪肉宰后成熟时间呈现较高的相关性。其中两种部位猪肉的肌原纤维小片化指数与猪肉宰后成熟时间均呈极显著正相关( $P < 0.01$ ),而两种部位猪肉的剪切力与猪肉宰后成熟时间均呈极显著负相关( $P < 0.01$ )。这说明肌原纤维小片化指数、剪切力和钙蛋白酶粗酶液活性均可作为评价猪肉宰后成熟过程和成熟程度的重要指标。两个部位猪肉的钙蛋白酶粗酶液的活性、肌原纤维小片化指数和剪切力三者之间在猪肉宰后成熟过程中均呈现较高的相关性。其中,肌原纤维小片化指数与剪切力之间呈现极显著负相关( $P < 0.01$ )。Culler 等<sup>[8]</sup>研究肌原纤维小片化指数与牛背最长肌的一些化学、物理和感官特性的关系,发现肌原纤维小片化指数与感官评价的相关系数为 0.76,与剪切力的相关系数为 -0.72,显著相关,本实验与其研究结果基本一致。剪切力已经是普遍采用的畜禽肉类嫩度指标,本实验肌原纤维小片化指数、钙蛋白酶粗酶液活性与剪切力之间呈现较高的相关性,说明肌原纤维小片化指数、钙蛋白酶粗酶液活性均可作为评价猪肉嫩度的重要指标。

### 3 结 论

3.1 在宰后成熟过程中,随成熟时间的延长,猪背最长肌和腰大肌两个不同部位猪肉的钙蛋白酶粗酶液活性均呈现先快速下降后逐渐缓慢下降的变化规律( $P < 0.01$ ),肌原纤维小片化指数值总体上均显著增加( $P < 0.05$ ),剪切力总体均极显著降低( $P < 0.01$ ),背最长肌的剪切力值明显大于腰大肌。

3.2 猪背最长肌和腰大肌两种部位猪肉的肌原纤维小片化指数、剪切力、钙蛋白酶粗酶液活性三项指标均与猪肉宰后成熟时间呈现较高的相关性,而且三者之间在猪肉宰后成熟过程中均呈现较高的相关性。肌原纤维小

片化指数、剪切力和钙蛋白酶粗酶液活性均可作为重要指标反映猪肉宰后成熟情况,均可作为评价猪肉嫩度的重要指标。

### 参考文献:

- [1] NEGISHI H, NATSUNO M, YOSHIKAWA S. Shear force values, ATP-related compounds, myofibrillar fragmentation index and 30000-dalton components in imported frozen beef loins as indices of aging[J]. *Animal Science and Technology*, 1992, 63: 1267-1275.
- [2] 王玉宁, 罗欣, 张先锋. 刺激和延迟冷却对宰后牛肉肌原纤维蛋白降解变化的影响[J]. *肉类研究*, 2006(6): 25-28.
- [3] NEGISHI H, YOSHIKAWA S. The effects of beef muscle variety on beef aging indices [J]. *Animal Science and Technology*, 1993, 64: 1168-1177.
- [4] 马美湖, 唐晓峰, 林亲录. 可溶性胶原蛋白含量、肌原纤维小片化指数和粗钙激活因子活性的测定及其与牛肉嫩化效果之间的关系研究[J]. *食品科学*, 2002, 23(7): 36-41.
- [5] KOOHARAIE M, KENNICK W H, ELGASIM E A. Effect of post-mortem storage on muscle protein degradation: analysis by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis [J]. *Food Sci*, 1984, 49: 292-298.
- [6] KOOHARAIE M, KENNICK W H, ELGASIM E A, et al. Effect of prerigor pressurization on the activity of calcium-activated factor[J]. *Food Sci*, 1984, 49: 680-684.
- [7] 靳焯. 高压处理对牛肉理化特性、超微结构的影响的嫩化机理的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 1999.
- [8] CULLER R D, Jr PARRISH F C, SMITH G C, et al. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscles[J]. *Food Sci*, 1978, 43: 1177-1182.
- [9] HOPKIN D L, THOMPSON J M. Inhibition of protease effect on tenderness and indicators of proteolysis in ovine muscle[J]. *Meat Sci*, 2001, 59: 175-185.
- [10] 谢婷, 李诚. 内源性蛋白酶在宰后猪肉成熟过程中的作用[J]. *肉类研究*, 2008(6): 11-14.
- [11] BOEHM M L, KENDALL T L, THOMPSON V F. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle[J]. *Anim Sci*, 1998, 76: 2415-2434.
- [12] VEISETH E, SHACKELFORD S D, WHEELER T L, et al. Indicators of tender-ization are detectable by 12 h postmortem in ovine longissimus [J]. *Anim Sci*, 2004, 82: 1428-1436.
- [13] 周光宏. 肉品加工学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 121.