

生鲜猪肉肌细胞内外间隙和水分状态与持水性的关系

李华健, 陈韬*, 杨波若, 李燕清, 卞健科, 舒国涛

(云南农业大学食品科学技术学院, 云南 昆明 650201)

摘要: 为探究生鲜猪肉汁液流失通道形成的位置, 补充完善汁液流失形成机理, 本研究选择 20 条猪背最长肌测定了宰后 12 h 和 24 h 肌肉中结合水 (P_{2b})、不易流动水 (P_{21}) 和自由水 (P_{22}) 的相对含量, 宰后 45 min、3 h、9 h、12 h 和 24 h 肌原纤维与肌细胞膜之间的距离 (肌细胞内间隙) 和肌细胞之间的距离 (肌细胞外间隙)。结果显示: 在宰后 24 h, 高汁液流失率组的 P_{21} 显著低于低汁液流失率组 ($P < 0.01$), P_{22} 显著高于低汁液流失率组 ($P < 0.01$); 高汁液流失率组宰后 45 min 的肌细胞内间隙和宰后 9 h 的肌细胞外间隙显著大于低汁液流失率组 ($P < 0.05$); 宰后 45 min 的肌细胞内间隙与汁液流失率呈极显著正相关 ($P < 0.01$), 解释了 24 h 的 P_{22} 变异的 24.8% 和汁液流失率变异的 45.3%; 宰后 24 h 的 P_{22} 与汁液流失率呈极显著正相关 ($P < 0.01$), 解释了汁液流失率变异的 39.5%。上述结果表明: 生鲜猪肉在僵直过程中, 肌原纤维的收缩会导致肌细胞内和肌细胞外都形成汁液流失通道。宰后 45 min 的肌细胞内间隙可以较好地解释自由水含量和汁液流失率的变异, 宰后 45 min 的肌细胞内间隙越大, 后期肌肉中自由水含量越多, 汁液流失率越高, 持水性越差。

关键词: 持水性; 低场核磁共振; 细胞间隙; 汁液流失率

Relationships among Water-holding Capacity, Intra- and Extracellular Gaps of Myocytes and Water Status in Fresh Pork

LI Huajian, CHEN Tao*, YANG Boruo, LI Yanqing, BIAN Jianke, SHU Guotao

(College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: In order to investigate the location of fresh pork drip channels and to complement the mechanism of drip loss, the study chose 20 pork *longissimus dorsi* muscles to measure the relative contents of bound water (P_{2b}), immobilized water (P_{21}) and free water (P_{22}) in the muscles at 12 h and 24 h post-mortem, and the distance between the myofibrillar and the myocyte membrane (the intracellular gaps) and the distance between the myocytes (the extracellular gaps) at 45 min, 3 h, 9 h, 12 h, and 24 h post-mortem. The results showed that P_{21} in the high drip loss group was significantly lower than the low drip loss group ($P < 0.01$) and P_{22} in the high drip loss group was significantly higher than the low drip loss group ($P < 0.01$) at 24 h post-mortem. The intracellular gap at 45 min post-mortem and the extracellular gap at 9 h post-mortem in the high drip loss group were significantly larger than those in the low drip loss group ($P < 0.05$). The intramuscular gap at 45 min post-mortem was positively correlated with drip loss ($P < 0.01$), which explained 24.8% of P_{22} variation at 24 h post-mortem and 45.3% variation of drip loss. P_{22} at 24 h post-mortem was positively correlated with drip loss ($P < 0.01$), explaining 39.5% of the variation of drip loss. The above results suggest that during the rigor of fresh pork, the contraction of myofibrils will cause intra- and extracellular drip channels to be formed. The intracellular gap of myocyte at 45 min post-mortem could explain the variation of free water content and drip loss better. The larger the intracellular gap at 45 min post-mortem, the more free water in muscle, the higher the drip loss, and the worse the water-holding capacity.

Keywords: water-holding capacity; low field nuclear magnetic resonance; myocyte gap; drip loss

中图分类号: TS251.1

文献标志码: A

DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20191029-323

中国是猪肉生产和消费大国, 2018 年猪肉产量达 5404 万吨, 约占世界猪肉总产量 (1.13 亿吨) 的 48%^[1], 猪肉品质的好坏直接影响着我国肉类工业的经济效益。肉的持水性 (water-holding capacity, WHC), 即肉类保持自身水分和人为加入水分的能力^[2,3], 是影响肉品质量和企业经济效益

的主要指标之一,业内常用汁液流失率(drip loss)来反映肉的持水性高低^[4,5]。据估计,肉的汁液流失率增加1%就可能给一个大型肉类加工厂每天造成数千元的经济损失^[6]。所以,汁液流失形成的机制和控制技术一直是肉类科学研究的热点。其中,肌肉微结构变化与持水性的关系是主要研究方向之一。Huff-Lonergan等^[7,8]提出肌细胞结构的改变可以控制肌细胞和肌肉中水分的保留或损失,认为宰后僵直过程中肌细胞间和肌束间空隙(又称为汁液流失通道,drip channels)的形成,会导致较多的汁液流失;李侠等^[9]观察到猪肉贮藏过程中纤维束间隙增大,不易流动水逐渐变态为自由水,肉的持水性降低;Schäfer等^[10]的研究表明肌细胞外间隙面积的变化解释了汁液流失率变异的39%。由于大多数研究采用光学显微镜观测肌肉微观结构,不能分清汁液流失通道形成于肌细胞内还是肌细胞外,所以,汁液流失通道形成位置依然还存在争议。如Kristensen^[11]和Bertram^[12]等人认为汁液流失通道形成于肌细胞外,而Lawson等^[13]的汁液流失通道形成假说认为汁液流失通道形成于肌细胞内。近年来,低场核磁共振技术被广泛应用于肉与肉制品的水分状态和含量的测定及相关研究中^[14]。Han等^[15]通过研究发现低场核磁共振的横向弛豫(T_2)参数和猪肉肌原纤维蛋白凝胶微观结构变化具有良好的相关性。因此,本研究结合透射电镜和低场核磁共振技术测定肌原纤维与肌细胞膜之间的距离(肌细胞内间隙),肌细胞之间的距离(肌细胞外间隙)和不同状态水分的相对含量,分析它们与汁液流失率的关系,以便更好地了解汁液流失形成的原因。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

选择品种相同、饲养条件相同、体重($105\text{ kg}\pm 5\text{ kg}$)的商品肉猪在曲靖市某商业屠宰厂进行屠宰。按照Warner等^[16]的方法,根据宰后45 min的pH和肉色选择出10条正常背最长肌和10条疑似PSE(pale, soft, exudative)背最长肌。于宰后不同时间点用背最长肌测定相关指标,根据汁液流失率大小经聚类分析,将样品分为高汁液流失率组和低汁液流失率组。

3.5%戊二醛,乙醇(分析纯) 广东汕头西陇化工厂;丙酮(分析纯) 湖北齐飞医药化工有限公司;环氧树脂(Epon-618) 天门恒昌化工有限公司;柠檬酸铅 湖北津乐达化工有限公司;醋酸铀 北京中科光析化工技术研究所;四氧化钨 山东西亚化学工业有限公司;二甲苯(分析纯) 上海试剂厂;甲醛(分析纯) 汕头市达濠区精细化学品有限公司。

1.2 仪器与设备

HI9025C 便携式pH计 意大利哈纳;CR-400/410 色差仪 日本美能达;JEM-1011 透射电子显微镜 日本电子株式会社;Leica-R 型超薄切片机切片 德国徕卡公司;NMI20-Analyst 核磁共振成像分析仪 上海纽迈电子科技有限公司;1, 2 cm 双片刀 自制。

1.3 检测指标及其测定方法

1.3.1 pH值和肉色的测定

采用王娟等^[17]的方法,在宰后45 min和24 h测定背最长肌的pH值、亮度值(L^*)、红度值(a^*)和黄度值(b^*)。每个样品测量三次取平均值。

1.3.2 低场核磁共振测肉中水分分布

在宰后12 h和24 h取背最长肌,参照黄子信等^[18]的方法测定,具体操作修改如下:重复扫描次数(NS)为8、重复采样等待时间(TR)为3500 ms、模拟增益(RG1)为20、数字增益(DRG1)为3、回波个数(NECH)为2000、谱宽(SW)为100 kHz。油样预热仪器30 min后,沿肌纤维方向将肉样分割成2 cm(长)×1 cm(宽)×1 cm(高)大小的肉样(约2.0 g),放入核磁小管中并在管口用塑封膜包住,在32 °C、19 MHz共振频率下,使用弛豫时间编辑CPMG(Carr-Purcell-Meiboom-Gill)脉冲序列(90°脉冲和180°脉冲之间的时间 $\tau = 200\text{ }\mu\text{s}$)进行测样,反演得到不同状态水的相对峰面积比例(相对含量),每个样品测量三次取平均值。

1.3.3 透射电镜观测肌肉微结构变化

宰后 45 min, 3 h, 9 h, 12 h 和 24 h 在背最长肌上切取 4 mm (长) × 2 mm (宽) × 2 mm (高) 的肉样放入 3.5% 戊二醛溶液中固定, 保藏在 4 °C 环境中, 用于电镜观测。样品的处理参照 Luo 等^[19]的方法, 即在 4 °C 环境中, 将固定好的各时间点样品, 用 0.1 M 磷酸缓冲液 (pH 7.2) 冲洗 3 次, 每次 10 min。之后用体积分数为 1% 的锇酸后固定 1.5 h, 分别用体积分数为 50%、70%、80%、90% 和 100% 的乙醇进行逐级脱水, 每次 15 min。用 Epon-618 渗透包埋, 超薄切片机切片, 醋酸铀、柠檬酸铅双染色后用透射电镜放大 4000 倍对每个样品拍摄 5 张图片, 使用 Image-Pro Plus 5.1 软件测定肌细胞内外间隙的平均距离。

1.3.4 汁液流失率的测定

参照 Honikel 等^[20]的方法测定汁液流失率。方法修改如下: 宰后 24 h, 在 13 肋处切取 2.5 cm 厚背最长肌一片, 称重 W_1 , 悬于塑料袋中, 冲气, 肉样不能和塑料袋接触, 在 4 °C 下悬挂 24 h, 取出称重 W_2 , 汁液流失率 (%) = $[(W_1 - W_2) / W_1] \times 100$ 。

1.4 数据分析

采用 SPSS 19.0 软件计算数据的平均值和标准误, 并进行 Duncan 多重比较、独立性 T 检验、Pearson 相关性分析和逐步回归分析。 $P < 0.05$ 认为具有统计学意义。在进行统计分析之前先对原始数据进行正态性检验, 根据国标 GB/T4882-2001 《数据的统计处理和解释正态性检验》^[21], 只有宰后 45 min 的肌细胞内间隙不服从正态分布, 经 $\lg_{10}(x)$ 转换后服从正态分布, 使用转换后的值进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 聚类分析

根据样品汁液流失率的大小进行聚类分析。如图 1 所示, 当欧氏距离增至 10.5 时, 将 20 个样品分成高汁液流失率组 ($n = 10$) 和低汁液流失率组 ($n = 10$), 两组汁液流失率的变异范围分别为 5.01% ~ 6.36% 和 0.57% ~ 3.98%。

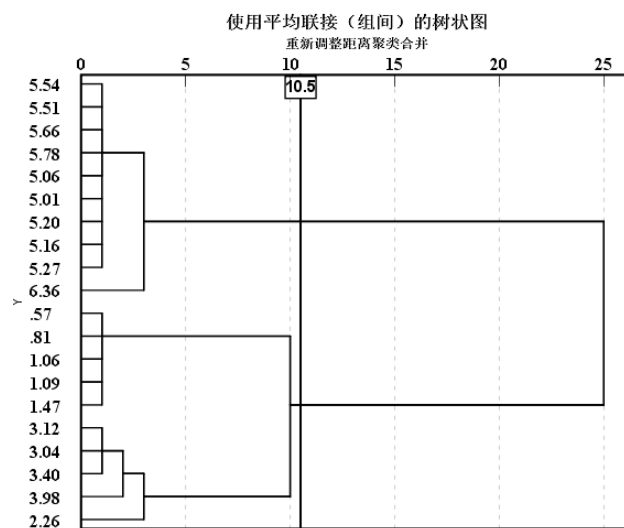


图 1 样品汁液流失率的聚类分析树状图

Fig. 1 Dendrogram of cluster analysis for drip loss of samples

2.2 两组肉样的 pH 和肉色比较

如表 1 所示, 宰后 45 min, 低汁液流失率组的 pH 显著高于高汁液流失率组 ($P < 0.01$), L^* 值显著低于高汁液流失率组 ($P < 0.01$), 此结果与何凡等^[22]将不同品种羊肉分为不同滴水损失组所测的结果一致。Chmiel^[23]的研究也发现: 与正常肉相比, 宰后 24 h, 汁液流失严重的 PSE 肉具有较低的 pH 和较高的 L^* 、 a^* 和 b^* 值 ($P \leq 0.05$)。说明高低汁液流失率组之间的 pH 和肉色存在一定的差异。

表 1 高低汁液流失率组肉样的肉质指标

Table 1 Meat quality indexes of high drip loss group and low drip loss group

	低汁液流失率组 (n = 10)	高汁液流失率组 (n = 10)
pH _{45 min}	5.98 ± 0.10	5.63 ± 0.02**
pH _{24 h}	5.76 ± 0.06	5.65 ± 0.02
L* _{45 min}	41.27 ± 2.66	52.42 ± 1.71**
a* _{45 min}	7.27 ± 0.85	8.03 ± 0.41
b* _{45 min}	6.43 ± 0.56	7.17 ± 0.34
L* _{24 h}	40.07 ± 2.62	45.97 ± 2.57
a* _{24 h}	6.81 ± 0.87	8.02 ± 0.77
b* _{24 h}	4.18 ± 0.36	5.25 ± 0.57

注：**表示同一行组间差异极显著 ($P < 0.01$)；值表示为平均值 ± 标准误。

2.3 低场核磁共振横向弛豫 (T_2) 分析

利用低场核磁共振反演计算的各个峰面积比例可以反映样品中不同状态水分的含量比例，峰面积比例变化情况可以表征样品中不同状态水分的分布状态和流动迁移情况^[24]。图 2 为低场核磁共振测定的 T_2 反演图谱，出峰位置位于 T_{2b} (0.1 ~ 10 ms)、 T_{21} (10 ~ 100 ms) 和 T_{22} (100 ~ 1 000 ms)，分别对应结合水、不易流动水和自由水，将 3 种状态水的相对含量记为 P_{2b} 、 P_{21} 及 P_{22} 。由于结合水与非水组分结合的牢固程度不同会导致结合水出现 2 个信号峰^[25]。对于该组分，根据陈琳莉等^[25]的方法将两个峰面积比例叠加后得到结合水相对含量 P_{2b} 。

不同状态水的相对含量如表 2 所示，在宰后 12 h 和 24 h，结合水相对含量 (P_{2b}) 在高、低汁液流失率组之间都没有明显差异 ($P > 0.05$)；宰后 24 h，高汁液流失率组的不易流动水相对含量 (P_{21}) 显著低于低汁液流失率组 ($P < 0.01$)，而自由水相对含量 (P_{22}) 显著高于低汁液流失率组 ($P < 0.01$)。这与甄少波等^[24]的研究结果一致。表明 P_{21} 和 P_{22} 与汁液流失率的关系较为密切，汁液流失率越高的肉，其 P_{22} 越大， P_{21} 越小。

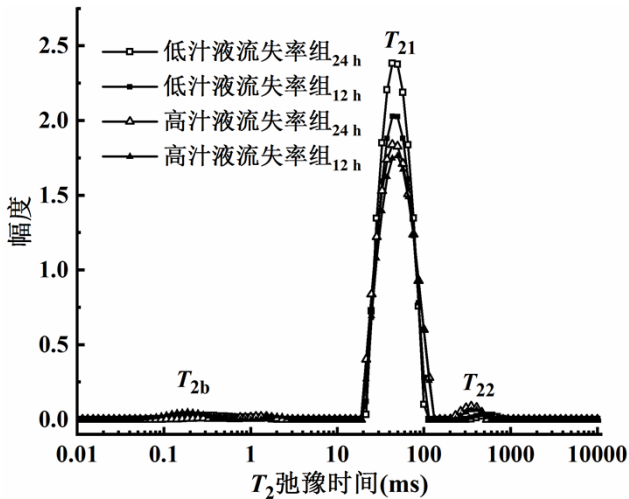


图 2 宰后 12 h 和 24 h 肉样的 T_2 弛豫时间分布

Fig.2 Distributions of T_2 relaxation times of muscles at 12 h and 24 h post-mortem

表 2 肌肉中 3 种状态水分相对含量的变化

Table 2 Changes of three relative water contents in muscles

时间	P_{2b} (%)		P_{21} (%)		P_{22} (%)	
	低汁液流失率组	高汁液流失率组	低汁液流失率组	高汁液流失率组	低汁液流失率组	高汁液流失率组

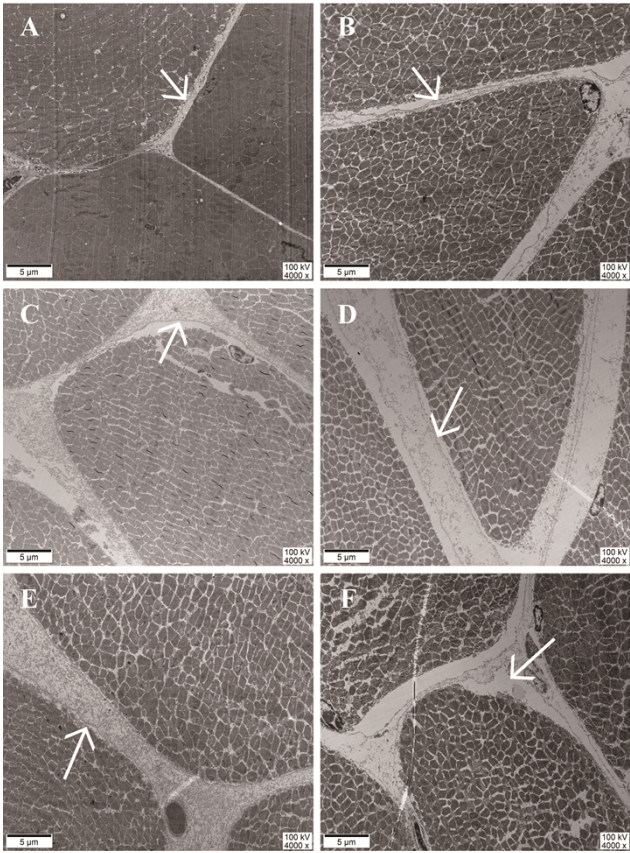
12 h	2.94 ± 0.32 ^a	3.05 ± 0.12 ^a	95.89 ± 0.37 ^a	94.96 ± 0.36 ^a	1.29 ± 0.34 ^a	1.99 ± 0.33 ^a
24 h	2.41 ± 0.19 ^a	2.40 ± 0.24 ^b	96.49 ± 0.22 ^a	95.44 ± 0.13 ^{a**}	1.09 ± 0.18 ^a	2.17 ± 0.25 ^{a**}

注：同一列同一指标上标不同字母表示不同时间差异显著（ $P < 0.05$ ）；**表示同一行的同一指标组间差异极显著（ $P < 0.01$ ）；值表示为平均值±标准误。

2.4 肌细胞内外间隙的变化

从结构上讲，肌肉中的汁液流失与排水力（肌原纤维和细胞的收缩）、膜通透性、细胞骨架蛋白降解、汁液流失通道的形成以及蛋白质之间的网络结构变化有关^[4]。Mohan 等^[26]认为宰后肌肉的僵直会对肌肉的超微结构和品质性状（特别是质构、嫩度和持水性）产生显著影响。由于僵直过程中肌原纤维横向和纵向收缩，水从肌原纤维内转移到肌浆中，并由细胞膜维持在肌细胞内，使得肌细胞内肌浆空间增大^[4,27]。所以在本研究中观察到肌细胞内外间隙的增加。

如图 3 所示，在宰后 45 min，低汁液流失率组肉样肌原纤维结构排列紧密整齐，细胞膜附着在外肌原纤维上，只有轻微的分离（图 3，A），与此相反，高汁液流失率组肌细胞外间隙比低汁液流失率组大，肌原纤维之间相互分离，膜也呈现大面积分离（图 3，B）；宰后 12 h，低汁液流失率组肌细胞外间隙有所增加，肌细胞膜从外肌原纤维上分离（图 3，C），相对于低汁液流失率组，高汁液流失率组肌细胞膜与外肌原纤维呈现更大程度的分离，肌细胞外间隙也更大（图 3，D）；宰后 24 h，低汁液流失率组肌细胞膜呈现更大程度的分离，肌细胞外间隙也变得更大（图 3，E），高汁液流失率组肌细外间隙相对宰后 12 h 稍微变小，肌细胞膜依然呈现大面积的分离（图 3，F）。Veiseth-Kent 等^[28]对宰后 13 d 的牛肉微观结构观察也发现肌束膜从肌纤维上脱离，肌纤维间产生空隙。Chmiel 等^[23]的研究结果表明：宰后 24 h，正常肉的肌肉组织还保持着相对完整，而 PSE 肉的肌肉组织遭到破坏。说明宰后早期高汁液流失率肉样比低汁液流失率肉样的微观结构变化更明显。



A、C 和 E 为低汁液流失率组； B、D 和 F 为高汁液流失率组； A~F 图中的箭头所指为肌细胞膜分离的位置。

图 3 宰后 45 min (A 和 B)，12 h (C 和 D) 和 24 h (E 和 F) 不同汁液流失率肉样的透射电镜图

Fig. 3 The TEM micrographs of muscles with different drip loss at 45 min (A and B) , 12 h (C and D) and 24 h (E and

F) post-mortem

为量化宰后猪肉肌细胞超微结构变化,使用图像分析软件 Image-Pro Plus 5.1 对肌细胞内间隙和肌细胞外间隙进行测量。测量结果如表 3 所示,低汁液流失率组的肌细胞内外间隙在宰后逐渐增大,宰后 12 h 和 24 h 没有差异,但都显著大于 ($P < 0.05$) 宰后 45 min 的肌细胞内外间隙。高汁液流失率组的肌细胞内外间隙在宰后的变化不同于低汁液流失率组,高汁液流失率组的肌细胞内间隙在宰后 12 h 达到最大,而后呈减小趋势,肌细胞外间隙在宰后 12 h 达到最大,在宰后 24 h 显著减小 ($P < 0.05$)。Schäfer 等^[10]的研究也发现肌纤维束之间的空隙面积在 3 ~ 9 h 逐渐增大,在 9 ~ 24 h 减小。可能是由于骨架蛋白降解较快使得肌原纤维间连接遭到破坏产生横向膨胀^[4,11],导致汁液流失率高的肉肌细胞内外间隙减小。

高汁液流失率组的肌细胞内间隙在宰后 45 min 显著大于低汁液流失率组 ($P < 0.05$)。高汁液流失率组的肌细胞外间隙在宰后 9 h 显著大于低汁液流失率组 ($P < 0.05$)。表明宰后高汁液流失率组的肌原纤维收缩更快,空隙形成更大。这与 Hughes^[27]等认为汁液流失率高的肉肌原纤维结构收缩更快,细胞外空隙面积更大的观点一致。较大的空隙会导致肌细胞外毛细管力减弱,使得肌细胞外自由水容易形成汁液流失^[29]。采用低场核磁共振观察到高汁液流失率组的 P_{22} 高于低汁液流失率组 (表 2) 也证实了这一现象。

表 3 两组肉样肌细胞内外间隙的差异

Table 3 Differences of intra- and extracellular gaps in low drip loss group and high drip loss group

	低汁液流失率组 (n = 10)	高汁液流失率组 (n = 10)
肌细胞内间隙 (μm)		
45 min	0.23 ± 0.08^b	$0.54 \pm 0.12^{ab*}$
3 h	0.26 ± 0.10^b	0.46 ± 0.08^b
9 h	0.43 ± 0.09^{ab}	0.48 ± 0.07^{ab}
12 h	0.57 ± 0.11^a	0.80 ± 0.13^a
24 h	0.57 ± 0.08^a	0.78 ± 0.11^{ab}
肌细胞外间隙 (μm)		
45 min	2.58 ± 0.40^b	3.35 ± 0.29^b
3 h	2.75 ± 0.28^b	3.67 ± 0.38^b
9 h	2.89 ± 0.31^b	$4.38 \pm 0.43^{ab*}$
12 h	4.34 ± 0.52^a	5.00 ± 0.44^a
24 h	4.45 ± 0.64^a	3.82 ± 0.35^b

注:同一列同一指标上标不同字母表示不同时间差异显著 ($P < 0.05$);

*表示同一行的同一指标组间差异显著 ($P < 0.05$); 值表示为平均值 \pm 标准误。

2.5 肌细胞内外间隙、不同状态水分相对含量和汁液流失率间的相关性和回归分析

魏秀丽^[30]的研究结果表明结合水与不易流动水呈极显著负相关 ($P < 0.01$),不易流动水与自由水呈极显著负相关 ($P < 0.01$),不同状态水之间存在相互“态变”。本研究结果与之相似 (见表 4),在宰后 12 h, P_{2b} 与 P_{21} 呈显著负相关 ($P < 0.05$), P_{21} 与 P_{22} 呈极显著负相关 ($P < 0.01$)。在宰后 24 h, P_{2b} 与 P_{22} 呈显著负相关 ($P < 0.05$), P_{21} 与 P_{22} 呈极显著负相关 ($P < 0.01$)。表明 3 种状态水确实如魏秀丽^[30]所述:结合水会“态变”为不易流动水,不易流动水与自由水可以发生相互“态变”。

表 4 肌细胞内外间隙、不同状态水分相对含量和汁液流失率间的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of intra- and extracellular gaps, relative water contents in different status and drip loss

P_{2b}		P_{21}		P_{22}		drip
12 h	24 h	12 h	24 h	12 h	24 h	loss

肌细胞内间隙

45 min	0.081	- 0.171	- 0.618**	- 0.446*	0.660**	0.537**	0.694**
3 h	- 0.251	- 0.033	- 0.259	- 0.423	0.452	0.410	0.482*
9 h	- 0.123	- 0.325	- 0.142	0.032	0.185	0.223	0.108
12 h	- 0.054	0.073	0.205	- 0.082	- 0.157	0.018	0.185
24 h	- 0.415	0.192	0.311	- 0.335	- 0.141	0.155	0.188
肌细胞外间隙							
45 min	0.357	- 0.379	- 0.535*	- 0.027	0.390	0.318	0.407
3 h	0.299	- 0.203	- 0.229	- 0.275	0.106	0.406	0.409
9 h	- 0.083	0.209	- 0.058	- 0.449*	0.065	0.245	0.518*
12 h	0.127	0.083	- 0.002	- 0.196	- 0.036	0.113	0.101
24 h	- 0.637**	0.276	0.299	- 0.329	0.017	0.084	- 0.316
$P_{2b\ 12\ h}$		- 0.293	- 0.465*	0.358	- 0.051	- 0.097	0.198
$P_{2b\ 24\ h}$			0.568**	- 0.301	- 0.446	- 0.503*	- 0.126
$P_{21\ 12\ h}$				0.257	- 0.818**	- 0.673**	- 0.601**
$P_{21\ 24\ h}$					- 0.473*	- 0.673**	- 0.605**
$P_{22\ 12\ h}$						0.793**	0.537*
$P_{22\ 24\ h}$							0.646**

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

肌细胞内间隙在宰后 45 min 与宰后 12 h 和 24 h 的 P_{21} 呈显著负相关（ $P < 0.05$ ）（表 4）。肌细胞外间隙在宰后 45 min 与宰后 12 h 的 P_{21} 呈显著负相关（ $P < 0.05$ ），在宰后 9 h 与宰后 24 h 的 P_{21} 呈显著负相关（ $P < 0.05$ ）（表 4）。宰后 9 h 的肌细胞外间隙解释了宰后 24 h P_{21} 变异的 15.7%（表 5），相关系数 = 标准化回归系数 = - 0.449。说明宰后 9 h 的肌细胞外间隙对宰后 24 h 的不易流动水影响最大，肌细胞外间隙越大，不易流动水含量越少。

宰后 45 min 的肌细胞内间隙与宰后 12 h 和 24 h 的 P_{22} 呈极显著正相关（ $P < 0.01$ ）（表 4），解释了宰后 24 h P_{22} 变异的 24.8%（表 5）。说明在肌细胞内外间隙中，宰后 45 min 的肌细胞内间隙对 P_{22} 的直接影响较大，宰后 45 min 的肌细胞内间隙越大自由水含量越多。

表 5 肌细胞内外间隙解释宰后 24 h 的 P_{21} 和 P_{22} 变异的逐步回归模型

Table 5 Stepwise regression models for the variation of P_{21} and P_{22} with intra- and extracellular gaps

因变量	进入模型变量	调整 R^2	F	标准化回归系数	偏回归系数	P
$P_{21\ 24\ h}$	肌细胞外间隙 9 h	0.157	4.551	- 0.449	- 0.251	0.047
$P_{22\ 24\ h}$	肌细胞内间隙 45 min	0.248	7.275	0.537	0.947	0.015

肌细胞内间隙在宰后 45 min 和 3 h 与汁液流失率呈显著正相关（ $P < 0.05$ ），肌细胞外间隙在宰后 9 h 与汁液流失率呈显著正相关（ $P < 0.05$ ）（表 4）。宰后 45 min 的肌细胞内间隙解释了汁液流失率变异的 45.3%（表 6）。说明宰后 45 min 的肌细胞内间隙对汁液流失率的贡献较大，且标准化回归系数和相关系数都为正，表明宰后 45 min 的肌细胞内间隙越大，汁液流失率越高。

在宰后 12 h 和 24 h， P_{2b} 与汁液流失率都没有显著相关性（ $P > 0.05$ ）， P_{21} 与汁液流失率呈极显著负相关（ $P < 0.01$ ）， P_{22} 与汁液流失率呈显著正相关（ $P < 0.05$ ）（表 4）。表明结合水与汁液流失率关系不大，不易流动水和自由水会对汁液流失率产生显著影响，这与魏心如^[31]、王娟^[17]和 Bertram^[32,33]等人的研究结果一致。继续将宰后 12 h 和 24 h 的 3 种状态水的相对含量与汁液流失率建立逐步回归模型（表 6），结果只有宰后 24 h 的 P_{22} 进入模型，解释了汁液流失率变异的 39.5%，标准化回归系数达 0.655，相关系数为 0.646。表明 3 种状态水中自由水对汁液流失率的影响最大，自由水越多，汁液流失率越高。

表 6 肌细胞内外间隙和不同状态水分相对含量解释汁液流失率变异的逐步回归模型

Table 6 Stepwise regression models for the variation of drip loss in myocytes with intra- and extracellular gaps and relative

water contents in different status

自变量	进入模型变量	调整 R^2	F	标准化回归系数	偏回归系数	P
肌细胞内外间隙	肌细胞内间隙 45 min	0.453	16.755	0.694	2.774	0.001
不同状态水分相对含量	$P_{22-24\text{ h}}$	0.395	12.762	0.655	1.559	0.002

3 结论

生鲜猪肉在僵直过程中,肌原纤维的收缩会导致肌细胞内和肌细胞外都形成汁液流失通道。高汁液流失率样品的肌细胞内间隙形成较早,高、低汁液流失率组的肌细胞内间隙在宰后 45 min 已有明显差异,而肌细胞外间隙在宰后 9 h 才有差异。宰后 45 min 的肌细胞内间隙可以较好的解释自由水含量和汁液流失率的变异,宰后 45 min 的肌细胞内间隙越大,后期肌肉中自由水含量越多,汁液流失率越高,持水性越差。

参考文献:

- [1] Livestock and Poultry: World Market and Trade[EB/OL]. (2019-10-10) [2019-10-28]. https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf
- [2] BARBERA, S. WHCtrend, an up-to-date method to measure water holding capacity in meat[J]. Meat Science, 2019,152(6):134-140. DOI:10.1016/j.meatsci.2019.02.022
- [3] HUFF-LONERGAN E.Improving the Sensory & Nutritional Quality of Fresh Meat[M]. Cambridge: Woodhead Publishing, 2009:147-160. DOI:10.1533/9781845695439.1.147
- [4] WARNER, R D. Lawrie's Meat Science[M]. 8th ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2017: 419-459. DOI:10.1016/b978-0-08-100694-8.00014-5
- [5] PUOLANNE E. New Aspects of Meat Quality[M]. Cambridge: Woodhead Publishing, 2017:167-190. DOI:10.1016/B978-0-08-100593-4.00009-6
- [6] ALEX M, BADR A, MAGOMED M, et al. Theoretical Basis and Application for Measuring Pork Loin Drip Loss Using Microwave Spectroscopy[J]. Sensors, 2016, 16(2):182-195. DOI:10.3390/s16020182
- [7] HUFF-LONERGAN E, LONERGAN S M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes[J]. Meat Science, 2005, 71(1):194-204. DOI:10.1016/j.meatsci.2005.04.022
- [8] HUFF-LONERGAN E, LONERGAN S M. New frontiers in understanding drip loss in pork: recent insights on the role of postmortem muscle biochemistry[J]. Journal of Animal Breeding & Genetics, 2007, 124(s1):19-26. DOI:10.1111/j.1439-0388.2007.00683.x
- [9] 李侠, 李银, 张春晖, 等. 高氧气调包装对不同品种冷却猪肉贮藏品质及持水性的影响[J]. 农业工程学报, 2016, 32(2):236-243. DOI:10.11975/j.issn.1002-6819.2016.02.034
- [10] SCHÄFER A, ROSENVOLD K, PURSLOW P P, et al. Physiological and structural events post mortem of importance for drip loss in pork[J]. Meat Science, 2002, 61(4):355-366. DOI:10.1016/S0309-1740(01)00205-4
- [11] KRISTENSEN L, PURSLOW P P. The effect of ageing on the water-holding capacity of pork: role of cytoskeletal proteins[J]. Meat Science, 2001, 58(1):17-23. DOI:10.1016/S0309-1740(00)00125-x
- [12] BERTRAM H C, SCHÄFER A, ROSENVOLD K, et al. Physical changes of significance for early post mortem water distribution in porcine M. longissimus[J]. Meat Science, 2004, 66(4):915-924. DOI:10.1016/S0309-1740(03)00188-8
- [13] LAWSON MA. The role of integrin degradation in post-mortem drip loss in pork[J]. Meat Science, 2004, 68(4):559-566. DOI:10.1016/j.meatsci.2004.05.019
- [14] 孙文彬, 罗欣, 张一敏, et al. 低场核磁共振在肉与肉制品水分测定与分析中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2019,40(15):346-351. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180903-024
- [15] HAN M, WANG P, XU X, et al. Low-field NMR study of heat-induced gelation of pork myofibrillar proteins and its relationship with microstructural characteristics[J]. Food Research International, 2014, 62(8):1175-1182. DOI:10.1016/j.foodres.2014.05.062
- [16] WARNER R D, KAUFFMAN R G, GREASER M L. Muscle Protein Changes Post Mortem in Relation to Pork Quality Traits[J]. Meat Science, 1997, 45(3):339-352. DOI:10.1016/S0309-1740(96)00116-7
- [17] 王娟, 张万刚, 刘念, 等. 梅山猪与三元杂交猪肉宰后成熟过程品质变化比较[J]. 食品科学, 2015, 36(8):254-259. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201508048
- [18] 黄子信, 吴美丹, 周光宏, 等. 低场核磁共振测定鲜猪肉中水分分布的制样方法[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(6):70-75. DOI:CNKI:SUN:SPAJ.0.2017-06-013
- [19] LUO X, ZHU Y, ZHOU G. Electron microscopy of contractile bands in low voltage electrical stimulation beef[J]. Meat Science, 2008, 80(3):948-951. DOI:10.1016/j.meatsci.2008.03.017
- [20] HONIKEL K. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat[J]. Meat Science, 1998, 49(4):447-457. DOI:10.1016/S0309-1740(98)00034-5
- [21] 全国信息与文献标准化技术委员会. 数据的统计处理和解释正态性检验: GB/T4882-2001[S]. 北京:中国标准出版社, 2001. <http://www.gb688.cn/bzgk/gb/newGbInfo?hcno=55264A621099714C39AE824C295F3FB8>
- [22] 何凡, 王振宇, 张彩霞, 等. 不同品种羊肉滴水损失与肌肉品质的关系[J]. 中国食品学报, 2018, 18(9):245-253. DOI:CNKI:SUN:ZGSP.0.2018-09-031
- [23] CHMIEL M, SŁOWIŃSKI M, JANAKOWSKI S. The Quality Evaluation of RFN and PSE Pork Longissimus Lumborum Muscle Considering Its Microstructure[J]. Annals of Animal Science, 2014, 14(3):737-747. DOI:10.2478/aoas-2014-0035
- [24] 甄少波, 刘奕忍, 郭慧媛, 等. 低场核磁共振分析猪肉宰后成熟过程中的水分变化[J]. 食品工业科技, 2017, 38(21):73-77. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2017.22.014
- [25] 陈琳莉, 李侠, 张春晖, 等. 低场核磁共振法测定五种肉类中不同状态水分含量[J]. 分析科学学报, 2015, 31(1):90-94. DOI:10.13526/j.issn.1006-6144.2015.01.020
- [26] MOHAN K, BANERJEE R, MAHESWARAPPA N B. Meat Quality Analysis[M]. London: Academic Press, 2020:81-99. DOI:10.1016/b978-0-12-819233-7.00006-9

- [27] HUGHES J M, OISETH S K, PURSLOW P P, et al. A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness[J]. *Meat Science*, 2014, 98(3):520-532. DOI:10.1016/j.meatsci.2014.05.022
- [28] VEISETH-KENT E, PEDERSEN M E, RØDBOTTEN S B, et al. Can postmortem proteolysis explain tenderness differences in various bovine muscles?[J]. *Meat Science*, 2018, 137(3):114-122. DOI:10.1016/j.meatsci.2017.11.011
- [29] SMAN R G M V D. Modeling cooking of chicken meat in industrial tunnel ovens with the Flory-Rehner theory[J]. *Meat Science*, 2013, 95(4):940-957. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.03.027
- [30] 魏秀丽, 谢小雷, 张春晖, 等. 猪宰后肌肉体系中 μ -calpain 及肌原纤维蛋白理化特性的变化规律[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(12): 2428-2438. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2015.12.016
- [31] 魏心如, 赵颖, 韩敏义, 等. 冷却鸡肉保水性评定指标标准化及其与肉色、嫩度和 $\text{pH}_{24\text{h}}$ 相关性研究[J]. *食品科学*, 2014, 35(21): 50-56. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201421011
- [32] BERTRAM H C, ANDERSEN H J, KARLSSON A H. Comparative study of low-field NMR relaxation measurements and two traditional methods in the determination of water holding capacity of pork.[J]. *Meat Science*, 2001, 57(2):125-132. DOI:10.1016/S0309-1740(00)00080-2.
- [33] BERTRAM H C, PURSLOW P P, ANDERSEN H J. Relationship between Meat Structure, Water Mobility, and Distribution: A Low-Field Nuclear Magnetic Resonance Study[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(4):824-829. DOI:10.1021/jf010738f