doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2019.10.040

宰后牦牛肉水分分布变化与持水性能关系研究

郭兆斌[1]　余群力[1]　陈　骋[1]　韩　玲[1]　孔祥颖[2]　石红梅[3]

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 兰州 730070; 2. 海北州畜牧兽医科学研究所, 海北 810200;
3. 甘南藏族自治州畜牧兽医科学研究所, 甘南 747000)

摘要: 为探讨牦牛背最长肌宰后保水性机理,研究其宰后成熟过程中持水性变化规律、不同水分群的水分分布情况,以及相互之间的关系,选取了 10 头青海公牦牛,宰后在 4℃环境中成熟,选择成熟过程的不同时间点(0、0.5、1、3、5、7 d)进行加压损失率、滴水损失率、蒸煮损失率、表面疏水性指数的测定,利用低场核磁共振(LF-NMR)与核磁成像(MRI)定量定性分析了牦牛背最长肌宰后水分分布情况,并以肉牛为对照进行了相关性分析。结果表明:加压损失率、滴水损失率、蒸煮损失率、表面疏水性指数均在第 3 天达到最大值,显著高于其他时间点($p<0.05$),此时保水性最差;水分分布情况显示,宰后成熟初期不易流动水水分相对含量 P_{22} 降低,自由水水分相对含量 P_{23} 升高,成熟后期 P_{22} 升高而 P_{23} 降低,并且 P_{22} 与 P_{23} 呈显著负相关($p<0.05$),说明成熟期两种水分状态互相转变;核磁成像反映了水分空间分布,确定了当宰后成熟时间为 5 d 时,保水性最优。对比分析发现,整个成熟过程中牦牛背最长肌保水性低于肉牛。

关键词: 牦牛肉; 水分分布; 持水性能; 宰后成熟; 低场核磁共振

中图分类号: TS251　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-1298(2019)10-0343-09

Relationship between Water Distribution Change and Water Retention Properties of Yak Meat during Postmortem Aging

GUO Zhaobin[1]　YU Qunli[1]　CHEN Cheng[1]　HAN Ling[1]　KONG Xiangying[2]　SHI Hongmei[3]

(1. *College of Food Science and Engineering*, *Gansu Agricultural University*, *Lanzhou* 730070, *China*
2. *Haibei Institute of Animal Science and Veterinary*, *Haibei* 810200, *China*
3. *Institute of Animal Science and Veterinary Science of Gannan Tibetan Autonomous Prefecture*, *Gannan* 747000, *China*)

Abstract: In order to study the relationship between water distribution change and water retention properties of yak meat during postmortem aging, explore the mechanism of water holding capacity (WHC) after slaughter, 10 male yak in Qinghai Province were slaughtered and aging within 4℃, then the pressing loss, drip loss, cooking loss and surface hydrophobicity index were determined during different aging times, and the water distribution was analyzed by low-field nuclear magnetic resonance (LF-NMR) and nuclear magnetic resonance imaging (MRI), beef cattle were control group. The results showed that the pressing loss, drip loss, cooking loss and surface hydrophobicity index got the maximum value on the third day, which was significantly higher than other time points ($p<0.05$). It had the worst water holding capacity. Water distribution showed that at the early stage of postmortem aging, P_{22} was decreased and P_{23} was increased, at the later stage of postmortem aging, P_{22} was increased and P_{23} was decreased, in addition, P_{22} and P_{23} had a significant negative correlation ($p<0.05$), it indicated that the phase transitions existed between two kinds of moisture during postmortem aging. Nuclear magnetic resonance imaging reflected the spatial distribution of water, and the optimal maturity time was determined as 5 d, at this time, the image gray value was the highest and WHC was the best. Through comparative analysis, it was found that the WHC of the beef cattle was better than that of yak meat during the whole aging.

收稿日期: 2019-04-03　修回日期: 2019-05-11

基金项目: 甘肃农业大学盛彤笙科技创新基金项目(GSAU-STS-1739)、国家自然科学基金地区基金项目(31760482、31860426)、甘肃省高等学校科学研究项目(2016B-041)和国家肉牛牦牛产业技术体系项目(CARS-37)

作者简介: 郭兆斌(1984—),男,高级实验师,博士生,主要从事畜产品加工与贮藏研究,E-mail: guozhb007@163.com

通信作者: 余群力(1962—),男,教授,博士生导师,主要从事畜产品加工研究,E-mail: yuqunlihl@163.com

Key words: yak meat; water distribution; water retention properties; postmortem aging; low-field nuclear magnetic resonance

0 引言

我国牦牛(*Bos grunniens*)占世界牦牛总数的95%,其种属和起源不同于任何黄牛、肉牛,是世界三大源种动物之一[1]。牦牛具有很强的适应寒冷高山牧区的能力,其肉质具有高蛋白、低脂肪、矿物质含量高(尤其是铁)的特点。肉的保水性也称作持水力(Water-holding capacity,WHC),是肉用品质的重要指标之一。我国生产的冷鲜牛肉保水性较低,影响牛肉品质和货架期,据统计,零售冷鲜肉的汁液流失率为1% ~3%,每年仅因汁液流失造成企业直接经济损失高达30多亿元[2]。

目前用于测定肉品保水性的常用方法有加压损失法、近红外分析技术、滴水损失法、电导率法等[3]。这些方法表征保水性只能定性反映肉的持水力,而无法表征肉中不同水分群的存在状态及迁移过程。LF-NMR(低场核磁共振)作为一种新型、快速、无损检测技术,是目前研究肌肉中水分分布及迁移最有效的手段之一[4]。通过弛豫信息测定肌肉组织持水性,与常规方法相比具有较高的相关性,相关研究通过测定肉制品的LF-NMR弛豫信息来反映肉宰后保水性的变化,以及不同的冻结、解冻方式对持水性的影响[5]。

文献[6]论述了利用LF-NMR技术研究宰后肌肉中水分的迁移和分布规律,发现肌纤维结构显著影响肌肉中水分分布,肌纤维网络外部的水分与保水性有密切的关系,弛豫时间可反映肉的持水性。文献[7]利用LF-NMR研究了蛋白氧化及解冻方式对牛肉保水性的影响,结果显示,新型解冻方法能减缓解冻过程中肌肉水分状态的改变,从而降低解冻损失,提高解冻牛肉的保水性。文献[8]利用LF-NMR研究了不同处理对酱牛肉保水性的影响,结果表明,超高压处理、加热处理及未处理在贮藏期均会导致产品质量的损失,超高压处理组及加热处理组损失分别为4.36%和6.53%,同时检测到3个明显的水分群,代表肉中的结合水、不易流动水和自由水3种存在状态;核磁成像结果显示第0天时对照组、超高压处理组、加热处理组的图像依次变亮,表明酱牛肉中自由水的含量依次增多。文献[9]利用LF-NMR研究冷却方式对猪肉保水性的影响,结果表明,快速冷却方式可缩短成熟时间,并且提高肉的保水性。

本文以牦牛肉为研究对象,以肉牛为对照,研究牛肉宰后成熟过程中保水性能指标(加压损失、滴水损失、蒸煮损失、肌原纤维蛋白表面疏水性)的变化规律,同时利用LF-NMR技术分析牛肉宰后水分的分布与迁移,及其与保水性能的关系,以期为建立和完善肉品保水性理论及肉产品深加工提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试验材料:选取青海百德投资发展有限公司在相同条件下饲喂的发育正常、健康无病、体重相近、年龄在36~48月龄的公牦牛10头,宰前24 h禁食禁水。同时以甘肃康美现代农牧产业集团有限公司饲喂的年龄在36~48月龄的肉牛(西门塔尔牛)为对照。

试验试剂:氯化钾、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、氯化镁、五水合硫酸铜、四水合酒石酸钾钠、乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸(EGTA)、氢氧化钠、溴酚蓝等,分析纯,天津市致远化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

PQ-001型低场核磁共振分析仪,上海纽迈电子科技有限公司;MesoMR23-060H-I型核磁共振成像分析仪,上海纽迈电子科技有限公司;Eppendorf 5417R型低温台式冷冻离心机,德国Eppendorf生物公司;TU-1810型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;YYW-2型应变式控制式无侧限压力仪,南京土壤仪器厂有限公司;PHS-2C型pH计,上海雷磁仪器厂;XHF-DY型高速分散器,宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品采集和制备

将上述牛进行屠宰,屠宰后取背最长肌(*M. Longissimus dorsi*,LL),除去表面结缔组织,采用聚乙烯收缩薄膜单层包裹。每头牛取50 g肉样,用于0 d的样品,现场测定表观持水性(加压损失率、滴水损失率、蒸煮损失率),将其余背最长肌装入带有冰袋的保温盒带回实验室,分别取成熟到各个时间点(0.5、1、3、5、7 d)的肉样20 g,测定牛肉T_2弛豫时间和牛肉核磁共振成像;同时进行表观持水性的测定。

同时取0 d的肉样,以及成熟到0.5、1、3、5、7 d的样品20 g,放入液氮中迅速冷冻,然后置于实验室

－80℃条件下，用于肌原纤维蛋白（Myofibrillar protein，MP）表面疏水性的测定。

1.3.2 加压损失率

参照文献[10]的加压滤纸法测定。取 1 cm 厚的肉样，在其中央用直径为 2.523 cm 的取样器（圆面积为 5.0 cm^2）在不吸水的硬橡胶板上切取肉样、称质量 M_1，将肉样置于两层医用纱布之间，上、下各垫 18 层滤纸，置于压缩仪平台上，匀速加压至 343 N，保持 5 min，撤除压力后立即称肉块质量 M_2，试验重复进行 3 次，取其平均值。肉样的加压损失率计算公式为

$$A=(M_1-M_2)/M_1\times100\% \quad (1)$$

1.3.3 滴水损失率

参照文献[11]的方法测定。沿着肌纤维方向取 20 g 左右的牛背最长肌肉样，将肉样吊于聚氯乙烯袋中并系紧袋口，使肉样不与包装袋接触，并悬挂于 0～4℃条件下，成熟到相应的时间点后，取下肉样，用滤纸沥干其表面水分后称量，肉样的滴水损失率计算公式为

$$B=(W_1-W_2)/W_1\times100\% \quad (2)$$

式中　W_1——肉样初始质量，g

W_2——吊挂后沥干水分的肉样质量，g

1.3.4 蒸煮损失率

取 50 g 左右的肉样放入蒸煮袋密封，记录质量 X_1，置于 80℃的恒温水浴中，待肉样中心温度达到 70℃并保持 20 min，然后将样本冷却至室温（20℃），记录质量 X_2，蒸煮损失率计算公式为

$$C=(X_1-X_2)/X_1\times100\% \quad (3)$$

1.3.5 MP 表面疏水性

（1）MP 提取

参照文献[12]的方法并稍作修改。具体操作为：将 1 g 左右的样品搅碎后，加入 10 倍体积的标准盐溶液（20 mmol/L 磷酸钾缓冲液，0.1 mol/L KCl，2 mmol/L EGTA，2 mmol/L $MgCl_2$，pH 值 6.8），匀浆（12 000 r/min）15 s，离心（4℃、2 000 g）10 min 弃上清液，沉淀用 8 倍体积标准盐溶液溶解后，4℃离心（2 000 g）10 min 弃上清液，重复两次。沉淀用 8 倍体积含 1% Triton X－100 的上述标准盐溶液溶解后，4℃离心（2 000 g）10 min 弃上清液，重复两次。沉淀用 8 倍体积 100 mmol/L KCl 溶液溶解后，4℃离心（2 000 g）10 min 弃上清液，重复两次。沉淀中加 4 mL 浓度为 100 mmol/L 的 KCl 溶液溶解后，用双缩脲法测定蛋白含量，用牛血清白蛋白做标准曲线。

（2）MP 表面疏水性

参照文献[13]方法并稍作修改。具体如下：将上述提取的肌原纤维蛋白溶液用磷酸盐缓冲液调整质量浓度为 1 mg/mL，将 40 μL 1 mg/mL 溴酚蓝溶液（BPB）悬入 1 mL 的 1 mg/mL 蛋白溶液，充分混匀，室温涡旋振荡 10 min，并离心（4℃、4 000 g）15 min。空白对照为 1 mL 磷酸盐缓冲液加入 40 μL 的 1 mg/mL BPB，其余操作同上。取上清液稀释 10 倍后在 595 nm 下测定吸光度。用 BPB 结合疏水性残基的量作为表面疏水性指数。表面疏水性指数计算公式为

$$S=40(A_1-A_2)/A_1 \quad (4)$$

式中　S——表面疏水性指数，μg

A_1——对照组的吸光度

A_2——样品的吸光度

1.3.6 牛肉水分分布与迁移

参照文献[14]的方法，使用 LF－NMR 技术，通过检测肌肉中氢原子核在磁场中的弛豫特性来获得肌肉中水分分布的信息并研究水分流动的规律，具体方案如下：将约 2 g 样品放入直径 12 mm、容积 1.5 mL 的样品管中，为防止水分蒸发，用封口膜封口，再放入核磁管中进行分析。使用核磁共振分析软件及 CPMG 序列采集样品 T_2 信号，使用 SIRT 算法 100 000 次迭代拟合。T_2 分布曲线纵坐标信号强度除以相应样品质量得到归一化 T_2 分布曲线。同时进行 MRI 磁共振成像：使用纽迈核磁共振成像软件及 MSE 序列进行成像，并用 Image－J 软件测定样品灰度。核磁共振分析仪参数：频率 23 MHz，磁体强度 0.5 T，线圈直径为 40 mm，磁体温度为 32℃。

1.4 数据统计分析

试验结果均采用平均值 ± 标准差表示，数据均平行测定 3 次，用 SPSS 22.0 软件进行方差分析，用 Origin 2018 软件制图。

2 结果与分析

2.1 加压损失率

牦牛肉宰后成熟期加压损失率的变化如图 1 所示。图中不同小写字母表示同一种牛肉在成熟过程中指标差异显著（$p<0.05$），** 或 * 表示不同牛种牛肉在每个成熟时间点指标差异极显著（$p<0.01$）或差异显著（$p<0.05$），下同。由图 1 可知，在 1 d 之后，除了第 5 天牦牛肉加压损失率显著高于肉牛（$p<0.05$），其余时间点牦牛肉加压损失率极显著高于肉牛（$p<0.01$），说明宰后肉牛的保水性高于牦牛。随着时间的递增，加压损失率均呈现先上升后下降的变化趋势，宰后 0～3 d 加压损失率显著升高（$p<0.05$），第 3 天达到最大值，牦牛和肉牛分别为 42.10% 和 34.01%，比 0 d 分别增加了 28.48、

21.32 个百分点,3 d 后又缓慢下降,并于7 d 时降至 37.46% 和 30.37%。加压损失越大即肌肉的 WHC 持水性越差[15],肌肉内部大部分保水性蛋白都存在于细胞内部,这些蛋白质对水分有一定的结合能力,在宰后贮藏期细胞内的水分不易流出,但是在加压作用力下,这些水分会从细胞内流出,可以反映出肌肉细胞的保水情况[16]。在加压条件下,氢键通常是比较稳定的,而疏水相互作用会受损,同时对共价键有一定的影响[17]。在肉类组织中,水是包含在肌肉纤维内部和肌纤维之间的,因此,蛋白质基质内外的水分子在蛋白质与水的相互作用中起着重要的作用,直接影响肉样品的 WHC。

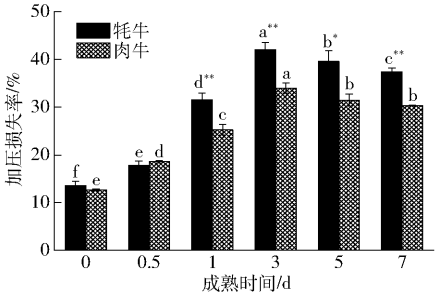


图 1 牦牛和肉牛肉宰后成熟过程中加压损失率

Fig. 1 Pressure loss of yak meat during postmortem aging

2.2 滴水损失率

牛肉滴水损失是指畜禽肉仅在重力作用条件下肌肉系统的液体损失,牛肉在贮运、加工过程中滴水损失现象严重,导致严重的质量损耗,品质劣变,使肉类加工企业经济损失巨大[18-19]。牦牛肉宰后成熟期滴水损失率变化如图 2a 所示,在第 0 天牦牛肉滴水损失率极显著($p<0.01$)高于肉牛,高出了 0.58 个百分点;第 3 天牦牛肉滴水损失率显著高于肉牛($p<0.05$),高出了 0.35 个百分点,其余时间点无显著性变化。宰后牦牛肉在 0.5 ~ 3 d 滴水损失显著上升,第 3 天达到最大值,为 3.19%,然后显著下降;肉牛在 0 ~ 3 d 滴水损失率显著上升,从 0 d 的 1.38% 到第 3 天达到最大值,为 2.84%,然后显著下降,第 5 天和第 7 天无显著性差异。滴水损失受很多因素影响,包括肌肉组织的不同处理方式和生化变化等,目前的研究多集中在肌肉组织结构改变、蛋白修饰和变性导致水分通道的变化,最终导致滴水损失的发生[20]。

从图 2b 可以看出,第 3 天时 pH 值达到极限 pH 值,同时此刻滴水损失率最大,这是因为牦牛宰后肌肉僵直开始,肌肉转变为肉的过程中产生乳酸导致 pH 值下降[21],pH 值降低至蛋白质等电点(5.3 ~ 5.5)后,蛋白质的正负电荷相等,蛋白质相互吸引,静电荷为零,降低了对水分的吸引,蛋白溶解度下降,滴水损失增加,此时水分损失最为严重,保水性最差[22]。同时过低的 pH 值也会导致储存水分的蛋白质变性、交联,另外肌原纤维之间距离减小,肌节变短,肌纤维空隙面积增大也会造成水分的流失[23]。

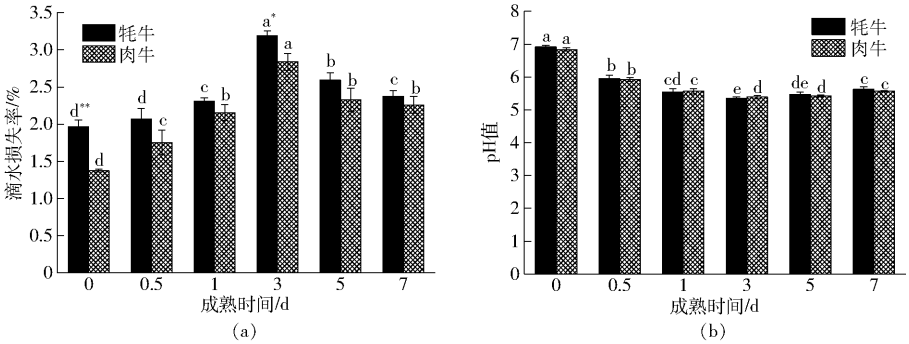


图 2 牦牛和肉牛肉宰后成熟过程中滴水损失率及 pH 值

Fig. 2 Drip loss and pH value of yak meat during postmortem aging

2.3 蒸煮损失率

牛肉蒸煮损失同样是衡量肌肉保水性的重要指标之一,如图 3 所示,随着宰后成熟时间的增加,牦牛和肉牛背最长肌的蒸煮损失率呈先增大后减小的趋势,并且在整个成熟过程中,两种牛肉的蒸煮损失率无显著性差异。宰后 0 ~ 3 d 两组牛肉蒸煮损失率随成熟时间的增加显著升高($p<0.05$),第 3 天达到最大值,牦牛和肉牛分别为 42.82% 和 42.01%,比0 d 分别增加了 12.36、12.91 个百分点,3 d 后又缓慢下降,并于 7 d 时降至 38.14% 和 38.99%。整个成熟过程中蒸煮损失率先上升,第 3 天达到峰值后又下降的现象可能是由于宰后肌肉蛋白质变性,肌肉骨架蛋白逐渐降解,结构被破坏,结合水能力降低,与文献[24]研究结果相似。同时在宰后成熟初期,蒸煮损失率增加也有可能是因为 pH 值下降诱导肌原纤维网格结构收缩,同时在蒸煮条件下,肌肉蛋白的热变性作用使肌原纤维紧缩,储存不易流动水的空间变小,部分不易流动水态变为自由水而流失[25]。在热加工过程中,保水能力主要与肌原纤维蛋白热变性的程度

有关，最初肌原纤维未完全变性，肌纤维产生的压力和张力较小，水分溢出较小，随着蒸煮温度的升高，肌纤维完全变性而产生较大的压力和张力，水分不断溢出，导致蒸煮损失显著增大。

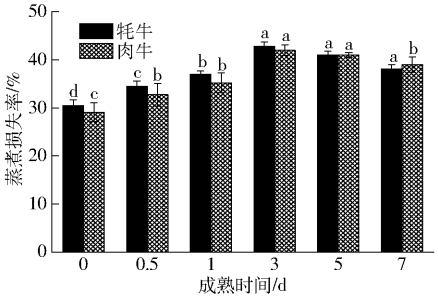


图 3　牦牛和肉牛肉宰后成熟过程中蒸煮损失率

Fig. 3　Cooking loss of yak meat during postmortem aging

2.4　MP 表面疏水性指数

蛋白表面疏水性指数反映了蛋白质的水合特性，可以用来评价 WHC 对 MP 构象稳定性的影响，蛋白表面疏水性指数越低，结合水能力就越强[26]。牦牛肉宰后成熟过程中 MP 表面疏水性指数变化如图 4 所示，在第 0.5 天和第 5 天牦牛肉 MP 表面疏水性指数显著高于肉牛（$p < 0.05$）；第 3 天牦牛肉 MP 表面疏水性指数极显著高于肉牛（$p < 0.01$），高出 3.53 μg，其余时间点两种牛无显著性变化。宰后牦牛肉在 0 ~ 3 d MP 表面疏水性指数显著性上升，第 3 天达到最大值，为 24.75 μg，然后显著下降；肉牛在 0.5 ~ 3 d 的 MP 表面疏水性指数显著性上升，从 0.5 d 的 14.46 μg 到第 3 天达到最大值，为 21.22 μg，然后显著下降，第 5 天和第 7 天无显著性差异。宰后初期 MP 表面疏水性指数的增加可能是由于牛肉宰后成熟过程中存在明显的蛋白氧化效应，羰基含量逐渐增大，蛋白氧化使蛋白质发生交联、降解及变性，肌原纤维结构遭到破坏（主要指肌球蛋白和肌动蛋白的降解），导致非极性氨基酸暴露在蛋白质表面，从而疏水性指数增加，肌肉保水性下降，形成汁液流失，降低肉的营养品质和加工品质，这与文献[27]的结果一致。疏水作用在水体系的分子结构中起着重要的作用，疏水作用的分子基础是大部分水分子的强内聚力，导致疏水基团从水中排出，然而当两个疏水表面从一个比较大的间距开始接触时，自由能将会大幅下降，因此疏水作用对保水性的影响是间接的[28]。

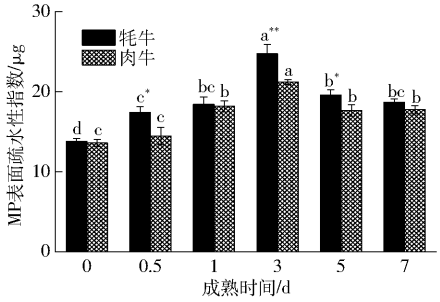
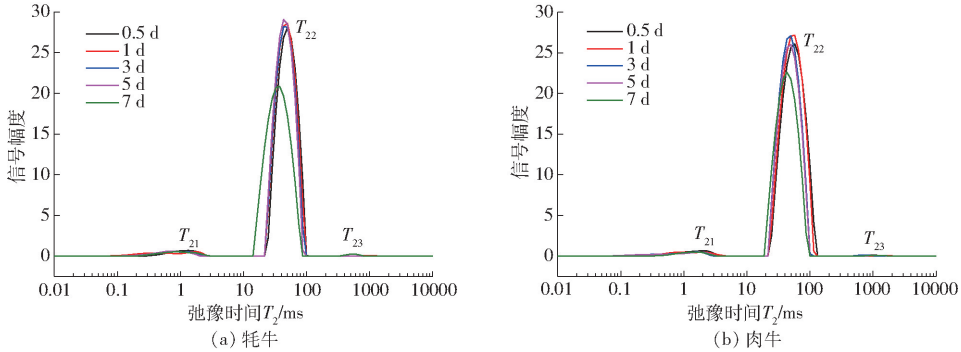


图 4　牦牛和肉牛肉宰后成熟过程中 MP 表面疏水性指数

Fig. 4　Surface hydrophobicity index of yak meat during postmortem aging

2.5　水分分布与组成

使用 SIRT 算法 100 000 次迭代拟合得到样品 T_2 分布曲线。将 T_2 分布曲线纵坐标按样品质量归一化处理得到牛肉样品的 T_2 弛豫图谱。牦牛和肉牛肌肉宰后成熟过程中 T_2 弛豫图谱如图 5 所示。



(a) 牦牛　　(b) 肉牛

图 5　牦牛和肉牛肌肉宰后成熟过程中 T_2 弛豫图谱

Fig. 5　T_2 relaxation spectrum of yak and beef cattle muscle during postmortem aging

由图 5 可知，牦牛和肉牛宰后成熟过程中肌肉的水分均为 3 种相态：结合水 T_{21}（0.01 ~ 10 ms）、不易流动水 T_{22}（10 ~ 100 ms）和自由水 T_{23}（> 100 ms）。图谱反演后得到牛肉成熟过程中不同水分群的水分含量信息如表 1 所示。

利用 LF - NMR 测定水分的 T_2 弛豫信息，可以定量分析肌肉中 3 种状态水的分布及组成。结合水是一种与蛋白质通过静电引力紧密结合的组分，占肉类样品总水分的 1% ~ 5%；不易流动水是存在于有序的肌纤维蛋白基质内部的水分，占总水分的 90% 以上；自由水是存在胞外能自由流动的水，是汁液流失的来源[29]。从表 1 可以看出，牛种之间，在成熟第 3、5、7 天时，牦牛肉 P_{21} 显著高于肉牛（$p < 0.05$），其他 2 个时间点无显著变化；牦牛肉在成熟

表 1 牦牛肉宰后成熟过程中水分分布及组成

Tab. 1 Water distribution and composition of yak meat during postmortem aging %

成熟时间/d	结合水相对含量 P_{21}		不易流动水相对含量 P_{22}		自由水相对含量 P_{23}	
	牦牛	肉牛	牦牛	肉牛	牦牛	肉牛
0.5	(3.34±0.13)^{b}	(3.19±0.11)^{b}	(96.47±0.37)^{a}	(96.68±0.40)^{a}	(0.19±0.08)^{b}	(0.13±0.03)^{b}
1	(3.40±0.17)^{b}	(3.09±0.06)^{b}	(96.35±0.44)^{a}	(96.73±0.24)^{a}	(0.25±0.06)^{b}	(0.18±0.04)^{ab}
3	(4.14±0.23)^{a*}	(3.64±0.15)^{a}	(95.54±0.21)^{b*}	(96.13±0.11)^{b}	(0.32±0.03)^{a}	(0.24±0.03)^{a}
5	(3.44±0.11)^{b*}	(3.01±0.10)^{b}	(96.33±0.24)^{a}	(96.82±0.28)^{a}	(0.23±0.04)^{b}	(0.17±0.06)^{ab}
7	(3.94±0.14)^{a*}	(3.25±0.16)^{b}	(95.82±0.37)^{ab}	(96.55±0.28)^{ab}	(0.24±0.03)^{b}	(0.21±0.01)^{ab}

注:同一列不同字母表示不同成熟时间差异显著($p<0.05$);同一行 ** 或 * 表示不同牛种在相同成熟时间差异极显著($p<0.01$)或差异显著($p<0.05$)。

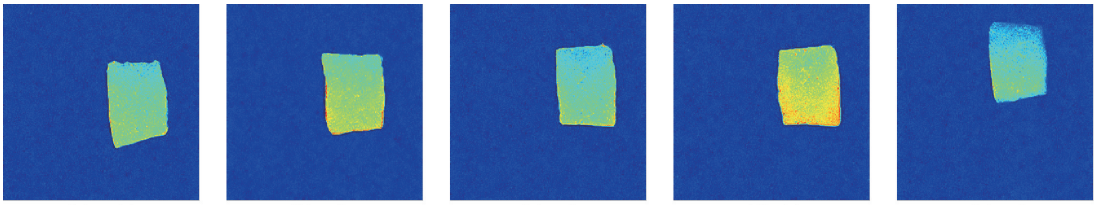
第 3 天和第 7 天时 P_{21} 显著高于其他 3 个时间点($p<0.05$),而肉牛 P_{21} 则是成熟第 3 天显著高于其他 4 个时间点($p<0.05$),每 1 g 蛋白质大约可以紧密吸附 0.5 g 的结合水[30],并且结合紧密,并不会发生水分的迁移,因此结合水不是衡量水分迁移的主要水分群。

整个贮藏期,牦牛肉和肉牛 P_{22} 的变化趋势几乎一致,均为在第 0.5、1、5、7 天没有显著的变化,而第 3 天的 P_{22} 显著低于第 0.5、1、5 天的($p<0.05$);牛种之间,牦牛在第 3 天 P_{22} 显著低于肉牛的,其他 4 个时间点无显著变化。第 3 天牦牛肉和肉牛 P_{22} 最小,说明此刻有较多的不易流动水转变成了自由水,保水性最差。牦牛肉和肉牛 P_{23} 在 0.5 ~ 3 d 时呈现升高趋势,第 3 天达到最大,牦牛为 0.32%,肉牛为 0.24%,3 ~ 5 d 时 P_{23} 下降,5 ~ 7 d 时 P_{23} 再次升高;不同牛种之间在 5 个时间点均无显著变化。因此牦牛肉和肉牛第 3 天时 P_{23} 最大,说明保水性在此时最差,持水能力最弱,与 P_{22} 的变化呈显著的负相关。

宰后早期 P_{22} 减小,一些研究认为是由低 pH 值诱导了肌原纤维网状结构收缩而引起胴体(主要指背最长肌)的物理变化所致,3 d 后增大可能是因为肌肉在宰后无氧条件下引发的一系列反应,使细胞内通透性增加引起了肌丝空间膨胀,使其吸水能力增强,从而胞内水增加[31-32]。不易流动水和自由水的弛豫时间延长,表明水与蛋白质的相互作用减弱,导致保水性下降,但是不同水分群之间的转化对牛肉 WHC 的影响大于弛豫时间增加对牛肉 WHC 的改善[33]。

2.6 水分空间分布

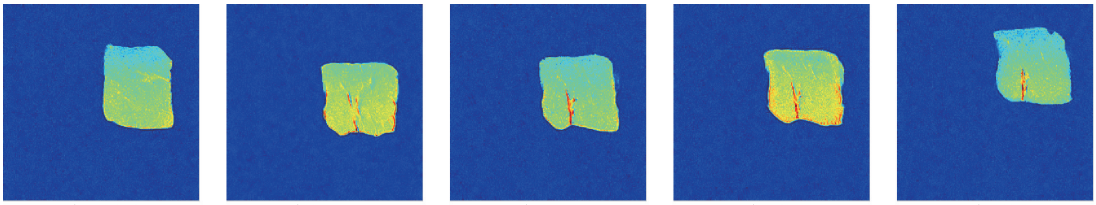
核磁共振成像是通过无损测定样品的氢质子密度图谱而反映样品中水分的空间分布情况。图 6、7 为牦牛和肉牛背最长肌的氢质子密度图谱,这些图谱中,信号较强(较亮)的区域代表样品中相对自由的水分(不易流动水和自由水),信号较弱(较暗)的区域代表样品中与蛋白质等大分子紧密结合的水分(结合水)。本研究中测定质子密度成像时,成像层面有 7 层,样品中间区域信号强度高于表层区域,由于样品并非规则的圆柱型,导致表层成像不规则,因此,核磁共振成像图谱中间区域更具代表性,本研究选择第 4 层进行分析。根据图 6、7 通过Image - J软件进行图像分析,计算出图像的灰度,可定量表征样品中的水分含量,如图 8 所示。



(a) 0.5 d (b) 1 d (c) 3 d (d) 5 d (e) 7 d

图 6 牦牛背最长肌成熟过程中水分空间分布

Fig. 6 Water spatial distribution during postmortem aging of yak meat



(a) 0.5 d (b) 1 d (c) 3 d (d) 5 d (e) 7 d

图 7 肉牛背最长肌成熟过程中水分空间分布

Fig. 7 Water spatial distribution during postmortem aging of beef cattle meat

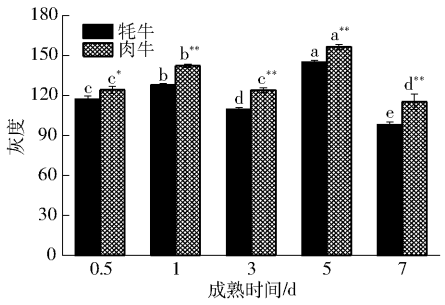


图 8　宰后成熟过程中图像灰度的变化

Fig. 8　Change of grey value during postmortem aging

灰度的高低能直接表征样品水分含量的高低，从图 8 可以看出，在 0.5 d 时，牦牛背最长肌核磁成像灰度显著低于肉牛（$p < 0.05$），其余成熟时间点牦牛灰度极显著低于肉牛（$p < 0.01$），说明宰后牦牛背最长肌保水性低于肉牛。随着成熟时间的延长，两组牛肉灰度在成熟第 5 天时达到了最大值，显著高于其他成熟时间点，分别为牦牛 145.03、肉牛 156.51；宰后初期灰度在第 3 天时最低，分别为牦牛 109.44、肉牛 124.02，说明两组牛肉宰后成熟到第 3 天时肉样中不易流动水的含量最低，保水性最差；第 5 天时肉样中不易流动水的含量最高，保水性最好，这与前面弛豫信息中 3 种水分群的水分含量相吻合。

2.7　水分分布与持水性能的相关性分析

通过对宰后 5 个成熟时间点（0.5 ~ 7 d）牦牛肉水分分布和持水性能进行相关性分析，结果如表 2 所示。宰后 P_{21} 与 P_{22} 呈极显著负相关（$R = -0.997$，$p < 0.01$）；P_{22} 与 P_{23} 呈显著负相关（$R = -0.933$，$p < 0.05$）；P_{23} 与滴水损失率（$R = 0.919$，$p < 0.05$）、表面疏水性指数（$R = 0.924$，$p < 0.05$）呈显著正相关；加压损失率与蒸煮损失率呈显著正相关（$R = 0.949$，$p < 0.05$）；滴水损失率与蒸煮损失率呈显著正相关（$R = 0.956$，$p < 0.05$）、与表面疏水性指数（$R = 0.984$，$p < 0.01$）呈极显著正相关。P_{21} 与 P_{22} 以及 P_{22} 与 P_{23} 都呈极显著负相关，表明肌肉中不同状态水之间存在相互转变，P_{23} 与滴水损失率及表面疏水性指数显著正相关说明自由水是滴水损失产生的主要原因，文献[34]研究认为，宰后成熟过程中，部分内源酶导致蛋白降解，疏水残基的暴露使得表面疏水性增加，蛋白溶解度降低，进而对宰后不同阶段肌肉中不同状态水的分布和迁移产生影响，致使肌肉 WHC 发生变化。基于 LF - NMR 的水分分布与持水性能的相关性分析表明，可以用 P_{23} 来表征牛肉的保水性，为建立宰后牦牛肉保水性理论体系奠定了一定基础。

表 2　水分分布与持水性能的相关性分析

Tab. 2　Correlation analysis of water distribution and water holding capacity

牦牛	P_{21}	P_{22}	P_{23}	加压损失率	滴水损失率	蒸煮损失率	表面疏水性指数
P_{21}	1	-0.997 **	0.791	0.669	0.749	0.696	0.768
P_{22}		1	-0.933 *	-0.694	-0.786	-0.713	-0.804
P_{23}			1	0.756	0.919 *	0.710	0.924 *
加压损失率				1	0.793	0.949 *	0.687
滴水损失率					1	0.956 *	0.984 **
蒸煮损失率						1	0.763
表面疏水性指数							1

注：* 表示两种指标显著相关（$p < 0.05$）；** 表示两种指标极显著相关（$p < 0.01$）。

3　结束语

在青海牦牛宰后成熟过程中，牦牛背最长肌加压损失率、滴水损失率、蒸煮损失率和表面疏水性指数均呈先升高、后降低的趋势，相互之间存在显著的正相关，第 3 天保水性能最差，牦牛背最长肌的保水性低于肉牛。利用 LF - NMR 技术分析牛肉水分分布规律，宰后初期蛋白疏水性增大，P_{22} 降低，P_{23} 升高，不易流动水状态转变为自由水，肌肉的保水性逐渐降低，后期恰好相反，因此两种水分群的状态转变成为影响保水性的关键因素，P_{23} 同时与滴水损失率及表面疏水性指数呈显著的正相关也反映出肉中的自由水是引起保水性变化的直接原因。核磁成像显示第 5 天氢质子密度最大，保水性最好。

参　考　文　献

[1] ZHANG L, SUN B, XIE P, et al. Using near infrared spectroscopy to predict the physical traits of *Bos grunniens* meat [J]. LWT—Food Science and Technology, 2015, 64(2):602 - 608.

[2] MELODY J L, LONERGAN S M, ROWE L J, et al. Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles [J]. Journal of Animal Science, 2004, 82(4):1195 - 1205.

[3] 余小领, 李学斌, 赵良, 等. 常规冷冻冻藏对猪肉保水性和组织结构的影响[J]. 农业工程学报, 2008, 24(12):264 - 268.
YU Xiaoling, LI Xuebin, ZHAO Liang, et al. Effects of conventional freezing processing and frozen storage on pork water-

holding capacity and structure [J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(12):264 - 268. (in Chinese)
[4] 许倩, 朱秋劲, 叶春, 等. 低场核磁共振分析冰温牛肉中不同状态水分变化[J]. 肉类研究, 2013, 27(5):17 - 21.
XU Qian, ZHU Qiujin, YE Chun, et al. LF - NMR studies of variations of different water states during controlled freezing point storage of beef [J]. Meat Research, 2013, 27(5):17 - 21. (in Chinese)
[5] PAREDI G, RABONI S, BENDIXEN E, et al. "Muscle to meat" molecular events and technological transformations: the proteomics insight [J]. Journal of Proteomics, 2012, 75(14):4275 - 4289.
[6] PEARCE K L, ROSENVOLD K, ANDERSEN H J, et al. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes—a review [J]. Meat Science, 2011, 89(2):111 - 124.
[7] 李银. 蛋白氧化对肌肉保水性的影响机制研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2014.
LI Yin. Effect-mechanism of protein oxidation on water-holding capacity of muscle [D]. Beijing: Chinese Academy of Agriculture Sciences, 2014. (in Chinese)
[8] 朱晓红, 李春, 胡海涛, 等. 结合 LF - NMR 研究不同处理对酱牛肉保水性的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(4):92 - 96.
ZHU Xiaohong, LI Chun, HU Haitao, et al. Effect of different treatments on water-holding capacity and water distribution of spiced beef using low-field nuclear magnetic resonance[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(4):92 - 96. (in Chinese)
[9] 李春, 张录达, 任发政, 等. 利用低场核磁共振研究冷却条件对猪肉保水性的影响[J]. 农业工程学报, 2012, 28(23): 243 - 249.
LI Chun, ZHANG Luda, REN Fazheng, et al. Study on different chilling factors influencing water-holding capacity of pork based on low-field nuclear magnetic resonance (LF - NMR) [J]. Transactions of the CSAE, 2012, 28(23): 243 - 249. (in Chinese)
[10] LI C, LIU D, ZHOU G, et al. Meat quality and cooking attributes of thawed pork with different low field NMR T_{21}[J]. Meat Science, 2012, 92(2):79 - 83.
[11] BOWKER B, HAWKINS S, ZHUANG H. Measurement of water-holding capacity in raw and freeze-dried broiler breast meat with visible and near-infrared spectroscopy [J]. Poultry Science, 2014, 93(7):1834 - 1841.
[12] XIONG Y L, LOU X, WANG C, et al. Protein extraction from chicken myofibrils irrigated with various polyphosphate and NaCl solutions [J]. Journal of Food Science, 2000, 65(1):96 - 100.
[13] CHELH I, GATELLIER P, SANTE-LHOUTELLIER V. Technical note: a simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination [J]. Meat Science, 2006, 74(4):681 - 683.
[14] IDAKRESTINE S, MARIANNE R, JETTEFEVEILE Y, et al. Any link between integrin degradation and water-holding capacity in pork [J]. Meat Science, 2008, 80(3):722 - 727.
[15] AHMAD M U, TASHIRO Y, MATSUKAWA S, et al. Comparison of gelation mechanism of surimi between heat and pressure treatment by using rheological and NMR relaxtion measurements [J]. Food Engineering and Physical Properties, 2004, 69(9):497 - 501.
[16] FUKUMA Y. Application of supercooling to long-term storage of fish meat [J]. Fisheries Science, 2012, 78(2):451 - 461.
[17] FUNTENBERGER S E, DUMAY A, CHEFTEL J C. High pressure promotes β-lactoglobulin aggregation through SH/S—S interchange reactions [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1997, 45(3):912 - 921.
[18] 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):239 - 247.
HE Fan, WANG Zhenyu, ZHANG Caixia, et al. Effect of drip loss of lamb from different varieties on the meat quality [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018,18(9):239 - 247. (in Chinese)
[19] PREVOLNIK M, ANDEK-POTOKAR M, KORJANC D . Predicting pork water-holding capacity with NIR spectroscopy in relation to different reference methods [J]. Journal of Food Engineering, 2010, 98(3):347 - 352.
[20] MARCOS B, AYMERICH T, GUARDIA M D, et al. Assessment of high hydrostatic pressure and starter culture on the quality properties of low-acid fermented sausages [J]. Meat Science, 2007, 76(1):46 - 53.
[21] 张爱萍, 师希雄, 韩玲,等. 宰后藏羊肉 Hsp70 表达量变化及其与肉品质相关性分析[J/OL]. 农业机械学报, 2018, 49(7):375 - 381.
ZHANG Aiping, SHI Xixiong, HAN Ling, et al. Correlation analysis between heat shock protein 70 expression and eating quality during postmortem aging of qula tibetan sheep meat[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018,49(7):375 - 381. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag=1&file_no=20180746&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2018.07.046. (in Chinese)
[22] DER A, KELEMEN L, FABIAN L, et al. Interfacial water structure controls protein conformation [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2007, 111(19):5344 - 5350.
[23] 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.
[24] 左惠心, 殷元虎, 韩玲, 等. 宰后牦牛肉保水性变化与差异蛋白的生物信息学分析[J/OL]. 农业机械学报, 2017, 48(7): 325 - 331,300.
ZUO Huixin, YIN Yuanhu, HAN Ling, et al. Changes of postmortem water-holding capacity in yak muscle and bioinformatic analysis of differentially abundant proteins [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2017, 48(7):325 - 331,300. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag=1&file_no=20170741&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2017.07.041. (in Chinese)

[25] 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.
[26] WANG L, ZHANG M, FANG Z, et al. Gelation properties of myofibrillar protein under malondialdehyde induced oxidative stress [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 97(1):50 – 57.
[27] LI C, XIONG Y L, CHEN J. Oxidation-induced unfolding facilitates myosin cross-linking in myofibrillar protein by microbial transglutaminase [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(32):8020 – 8027.
[28] HENDERSON M, WOOD D. Theoretical aspects of water-holding in meat [J]. Meat Science, 2010, 86(1):151 – 165.
[29] LI W, WANG P, XU X, et al. Use of low-field nuclear magnetic resonance to characterize water properties in frozen chicken breasts thawed under high pressure [J]. European Food Research and Technology, 2014, 239(2):183 – 188.
[30] 李儒仁, 韩玲, 余群力, 等. 冻藏对牦牛肉蛋白质、脂质氧化和保水性的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2015,46(6): 218 – 225.
LI Ruren, HAN Ling, YU Qunli, et al. Impact of frozen storage on protein, lipid oxidation and water holding capacity of yak meat [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015,46(6):218 – 225. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag = 1&file_no = 20150631 &journal_id = jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2015.06.031. (in Chinese)
[31] BERTRAM H C, SCHFER 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.
[32] BERTRAM H C, DONSTRUP S, KARLSSON A H, et al. Post mortem energy metabolism and pH development in porcine *M. longissimus dorsi* as affected by two different cooling regimes. A^{31} P – NMR spectroscopic study [J]. Magnetic Resonance Imaging, 2001, 19(7):993 – 1000.
[33] MARÍA G, SIGURJÓN A, RUSTAD T. The effects of pre-salting methods on water distribution and protein denaturation of dry salted and rehydrated cod—a low-field NMR study [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104(1):23 – 29.
[34] 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.
WEI Xiuli, XIE Xiaolei, ZHANG Chunhui, et al. The variations in μ-calpain and physico-chemical characteristics of myofibrillar proteins in postmortem porcine muscle [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(12):2428 – 2438. (in Chinese)

(上接第 342 页)

[23] YAO L, WU H, MENG Z, et al. Salt effect on hydrophobically modified polyacrylamide-containing crude oil emulsions: stability and rheology study[J]. Colloid & Polymer Science, 2018, 296(3):515 – 527.
[24] DICKINSON E. Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions [J]. Colloids & Surfaces B Biointerfaces, 2010, 81(1):130 – 140.
[25] ROPERS M H, NOVALES B, BOUÉ F, et al. Polysaccharide/surfactant complexes at the air-water interface-effect of the charge density on interfacial and foaming behaviors [J]. Langmuir, 2008, 24(22): 12849 – 12857.
[26] THANASUKARN P, PONGSAWATMANIT R, MCCLEMENTS J D. Influence of emulsifier type on freeze-thaw stability of hydrogenated palm oil-in-water emulsions [J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(6): 1033 – 1043.
[27] AHMED S, GULL A, ALAM M, et al. Ultrasonically tailored, chemically engineered and "QbD" enabled fabrication of agomelatine nanoemulsion; optimization, characterization, ex-vivo permeation and stability study [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 41:213 – 226.
[28] WANG Z J, HAN F F, SUI X N, et al. Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between mung bean [*Vigna radiate* (L.)] protein isolates and glucose and on structural and physico-chemical properties of conjugates[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(5): 1532 – 1540.
[29] STANCIUC N, APRODU I, IONITA E, et al. Exploring the process-structure-function relationship of horseradish peroxidase through investigation of pH and heat induced conformational changes[J]. Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy, 2015, 147: 43 – 50.
[30] SHAO Y, WU C, WU T, et al. Eugenol-chitosan nanoemulsions by ultrasound-mediated emulsification: formulation, characterization and antimicrobial activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 193:144 – 152.
[31] GIPSY T M, RICARDO V C, CAROLINA H L. Physicochemical properties of high-pressure treated lentil protein-based nanoemulsions[J]. LWT, 2019, 101: 590 – 598.
[32] VANAPALLI S A, PALANUWECH J, COUPLAND J N. Stability of emulsions to dispersed phase crystallization: effect of oil type, dispersed phase volume fraction, and cooling rate [J]. Colloids & Surfaces Physicochemical & Engineering Aspects, 2002, 204(1):227 – 237.