

超快速冷却对冷鲜猪肉肌原纤维蛋白特性的影响

王素^{1,2}, 张德权¹, 王卫², 张锐², 李欣¹, 侯成立^{1*}

(¹中国农业科学院农产品加工研究所 农业农村部农产品质量安全收贮运管控重点实验室 北京 100193

²成都大学 肉类加工四川省重点实验室 成都 610106)

摘要 为探究宰后超快速冷却对冷鲜猪肉肌原纤维蛋白功能特性的影响,以常规冷却处理(冷却速度 3.72 °C/h)为对照,分析不同超快速冷却处理(超快速冷却-I组:冷却速度 9.31 °C/h;超快速冷却-II组:冷却速度 14.43 °C/h)的猪背最长肌在宰后 1,2~5,6,12,24,72 h 的肌原纤维蛋白水合特性(表面疏水性和溶解度)、凝胶特性(凝胶保水性)、氧化特性(巯基含量和羰基含量)、肌原纤维小片化指数及肌原纤维蛋白降解的情况。结果表明:随着宰后时间延长,不同冷却处理冷鲜猪肉的肌原纤维蛋白表面疏水性呈上升趋势,溶解度、凝胶保水性、巯基含量、羰基含量和肌原纤维小片化指数等均呈下降趋势。超快速冷却-I组和超快速冷却-II组肌原纤维蛋白与溴酚蓝结合量、凝胶保水性和羰基含量显著低于对照组($P < 0.05$),而超快速冷却-II组显著低于超快速冷却-I组($P < 0.05$)。超快速冷却-II组肌原纤维蛋白溶解度和巯基含量显著高于对照组和超快速冷却-I组($P < 0.05$)。结论:超快速冷却处理组可显著改善冷鲜肉肌原纤维蛋白的功能特性并有效抑制蛋白质氧化,其中以冷却速度为 14.43 °C/h 的超快速冷却处理组效果最佳。研究结果可为超快速冷却技术在产业中应用提供理论与数据支持。

关键词 超快速冷却;冷鲜猪肉;肌原纤维蛋白;功能特性

文章编号 1009-7848(2024)09-0277-10 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.09.026

我国是肉类生产和消费大国,生鲜肉是我国居民肉品消费的主体,约占肉品消费总量 80%^[1]。冷却作为冷鲜肉加工的必然工序,主要包括常规冷却、延迟冷却、喷雾冷却、多段式冷却和超快速冷却(Very fast chilling, VFC)等多种冷却方式,快速节能的冷却技术一直是肉品科学研究的热点和难点^[2-3]。VFC 作为一项新型冷却技术,具有缩短冷却时间,减少冷却损耗,改善肉品嫩度和有效减少微生物滋生等优点^[4-8],这为保持生鲜肉高品质提供了可能。

肌原纤维蛋白(Myofibrillar proteins, MP)作为肌细胞的骨架蛋白,是具有典型生物学功能特性结构的蛋白质群,在宰后肌肉向肉转化过程中发挥着至关重要的作用^[9]。MP 具有出色的水结合能力、凝胶形成能力及乳化特性,这些功能特性对肉品色泽、嫩度、保水性及风味等品质起关键作用^[10]。然而,MP 的分子质量大,结构复杂,肽链展开不足,与水接触面积小,溶解度低,在一定程度上

上制约了其功能特性,限制了其应用^[11]。

研究表明,宰后不同冷却处理可促进冷鲜肉蛋白质的降解。Chen 等^[12]研究发现,超快速微冻冷却处理会引起牛肉的肌间线蛋白和肌钙蛋白-T 在宰后成熟期间发生降解。惠小洋^[14]研究发现,宰后快速冷却处理后,牛肉的肌间线蛋白降解产物在僵直最大期附近更早出现降解片段,表明快速冷却能加速蛋白降解。本团队前期研究发现,VFC 处理会促使冷鲜羊肉中的钙离子在宰后早期释放,促进钙蛋白酶抑制蛋白与骨架蛋白的降解,进而提高了肉品嫩度^[8,15]。此外,VFC 处理可以延缓冷鲜羊肉中游离氨基酸的形成,从而延缓冷鲜羊肉风味品质的变化,而肉中游离氨基酸含量变化可能与蛋白质降解有关^[16]。目前已知 VFC 可影响冷鲜肉品质及加速蛋白质降解,而 VFC 处理是否会影响宰后冷鲜肉 MP 的功能特性尚不清楚。

本研究以宰后热分割的猪背最长肌为研究对象,选择常规冷却方式(冷却速度为 3.72 °C/h,冷却终点 2 °C,冷却时间 9 h 24 min)为对照,研究不同 VFC 处理(VFC-I 组:冷却速度 9.31 °C/h,冷却终点-1 °C,冷却时间 4 h 5 min;VFC-II 组:冷却速度 14.43 °C/h,冷却终点-1 °C,冷却时间 2 h 38

收稿日期:2023-09-26

基金项目:国家自然科学基金面上项目(32272397)

第一作者:王素,女,硕士生

通信作者:侯成立 E-mail: houchengli@caas.cn

min)冷鲜猪肉 MP 水合特性(表面疏水性和溶解度)、凝胶特性(凝胶保水性)、氧化特性(巯基含量和羰基含量)和肌原纤维小片化指数(Myofibril fragmentation index, MFI)等变化,明确 VFC 对冷鲜猪肉 MP 功能特性的影响,为 VFC 技术产业化应用提供数据支撑。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

选取 6 头饲养条件、生长环境相近的 6 月龄杜长大去势公猪为试验材料,平均胴体质量(76.31±2.32)kg,按北京顺鑫农业股份有限公司鹏程食品分公司规定的程序进行屠宰,宰后选取猪背最长肌。

BCA 蛋白定量试剂盒,美国 Thermo 公司;缓冲液 A(氯化钾 0.1 mol/L、氯化镁 0.002 mol/L、EGTA 0.002 mol/L、磷酸氢二钾 0.02 mol/L,pH 6.8)、缓冲液 B(氯化钾 0.1 mol/L、氯化镁 0.002 mol/L、EGTA 0.002 mol/L、磷酸氢二钾 0.02 mol/L、Triton X-100 体积分数 10%,pH 6.8)、缓冲液 C(氯化钠 0.6 mol/L、磷酸氢二钠 0.05 mol/L,pH 6.25)、缓冲液 D(氯化钾 0.1 mol/L、磷酸氢二钠 0.02 mol/L、EDTA 0.001 mol/L、氯化镁 0.001 mol/L,pH 7.1),北京启研生物科技有限公司;氯化钾、溴酚蓝、SDS,上海国药有限公司。

1.2 仪器与设备

Spark 20 M 酶标仪,瑞士 TECAN 公司;ChemiDoc™ MP 自动凝胶成像系统,美国 BIO-RAD 公司;SD-516 BP 商用冰柜,浙江星星家电股份有限公司;JYH-103 恒温恒湿培养箱,上海跃进医疗器械有限公司;T 10 高速分散器,德国 I-KA 公司;HH-4S 数显恒温水浴锅,江苏荣华仪器公司;5430 R 低温高速离心机,德国 Eppendorf 公司;Mini-PROTEAN Tetra System 蛋白电泳系统。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制备 本研究从猪屠宰放血开始计时,在宰后 45 min 内取下左侧猪背最长肌(约 2 kg),剔除多余可见脂肪后分成 3 等份,每份样品随机分入对照组(冷却速度 3.72 °C/h)、VFC-I 组(冷却速度 9.31 °C/h)与 VFC-II 组(冷却速度 14.43 °C/h)后分别进行不同冷却处理。在对照组

中,样品在 0~4 °C 的冷却间中冷却至宰后 24 h,随后转至 0~4 °C 的恒温恒湿培养箱中贮藏。在 VFC-I 组和 VFC-II 组中,样品分别在-18 °C 冷冻库(风速 3 m/s)和-35 °C 速冻库(风速 3 m/s)中冷却至样品中心温度降至-1 °C 时,随后转至-1~0 °C 的恒温恒湿培养箱中贮藏。在宰后 1,2~5,6,12,24,72 h 取样(约 60 g/样品),肉样置于液氮中速冻后运回实验室进行 MP 水合特性(表面疏水性和溶解度)、凝胶特性(凝胶保水性)、氧化特性(巯基含量和羰基含量)和 MFI 等指标测定。

1.3.2 指标测定

1.3.2.1 MP 的提取 参考 Sun 等^[17]的方法,准确称取 3.00 g 液氮冻存的肉样,加入 30 mL 的缓冲液 A,冰浴匀浆后于 2 000×g、4 °C 下离心 15 min 后取沉淀,加入 24 mL 的缓冲液 B,冰浴匀浆后于 2 000×g、4 °C 下离心 15 min 后取沉淀,重复上述操作 2 次,再加入 24 mL 的 0.1 mol/L 氯化钾溶液,进行两次离心,得到的沉淀即为 MP,并用 BCA (Bicinchoninic acid)法测定蛋白质量浓度。

1.3.2.2 水合特性

1) 表面疏水性 将上述提取的 MP 用缓冲液 C 调至蛋白质量浓度 1 mg/mL,取 1.5 mL 置于 2 mL EP 管中,加入 60 μL 溴酚蓝溶液,涡旋振荡 10 min 后于 4 000×g、4 °C 下离心 15 min,取上清液稀释 10 倍,于 595 nm 波长处测定 OD 值,其中空白为缓冲液 C,疏水性以溴酚蓝结合量表示,按式(1)计算疏水性。每组样品测定 3 次,结果取平均值。

$$\text{溴酚蓝结合量}(\mu\text{g}) = 40 \times \frac{\text{OD}_{\text{空白}} - \text{OD}_{\text{样品}}}{\text{OD}_{\text{样品}}} \quad (1)$$

2) 溶解度 将上述提取的 MP 用缓冲液 C 调至蛋白质质量浓度 5 mg/mL,取 1 mL 置于 1.5 mL EP 管中,于 5 500 r/min、4 °C 下离心 15 min,取其上清液测定蛋白质量浓度,按式(2)计算溶解度。每组样品测定 3 次,结果取平均值。

$$\text{溶解度}(\%) = \frac{\text{离心后蛋白质量浓度}}{\text{离心前蛋白质量浓度}} \times 100 \quad (2)$$

1.3.2.3 凝胶特性

1) 凝胶的制备 将上述提取的 MP 用缓冲液 C 调至蛋白质质量浓度 40 mg/mL,置于 10 mL 离心管中,于恒温水浴锅中进行升温处理,初始温

度为 25 ℃再以 1 ℃/min 的速度升温至 70 ℃,保持 20 min,取出冷却至室温,并设置恒温恒湿培养箱温度为 4 ℃,培养 12 h,制得 MP 凝胶。

2) 凝胶保水性 取出制好的 MP 凝胶于室温下稳定 30 min,称取 MP 凝胶初始质量记作 m_1 ,于 5 000×g、4 ℃下离心 15 min,称取 MP 凝胶质量记作 m_2 ,按式(3)计算 MP 凝胶保水性。每组样品测定 3 次,结果取平均值。

$$\text{凝胶保水性}(\%) = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \quad (3)$$

1.3.2.4 巯基含量 参考 Chen 等^[13]的方法,将 1 mL 2 mg/mL MP 与 1 mL 含有 1 mmol/L EGTA 的 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.3)、6 mol/L 盐酸胍以及 10 μL 10 mmol/L DTNB 的 100 mmol/L Tris-HCl 溶液 (pH 7.6) 混合,25 ℃下静置 25 min,于 412 nm 波长处测定样品 OD 值,其中比色皿光程为 10 mm,按式(4)计算巯基含量。每组样品测定 3 次,结果取平均值。

$$\text{巯基含量}(\text{nmol/mg}) = \frac{(A_{412} - A_{\text{blank}}) \times 106 \times 6}{\varepsilon \times b \times c} \quad (4)$$

式中:6 为稀释倍数; ε 为摩尔吸光系数(溶液浓度为 1 mol/L,光程 1 cm 时的吸光度),13 600 L/mol/cm; b 为光程 M,1 cm; c 为蛋白质质量浓度,μg/mL。

1.3.2.5 羰基含量 参考 Oliver 等^[18]的方法。每组样品设置 3 个平行测量后取平均值,按式(5)计算羰基含量。每组样品测定 3 次,取其平均值。

$$\text{羰基含量}(\text{nmol/mg}) = \frac{(A-B) \times n}{\varepsilon \times \rho} \times 10^6 \quad (5)$$

式中:A 为处理组 370 nm 波长处吸光度;B 为空白组 370 nm 波长处吸光度; n 为样品稀释倍数; ε 为摩尔吸光系数; ρ 为蛋白质质量浓度,μg/mL。

1.3.2.6 MFI 参考 Yan 等^[8]的方法,取 0.5 g 绞碎的肉样,加入 5 mL 的缓冲液 D,在冰浴条件下低速匀浆 1 min,于 3 000×g、4 ℃下离心 15 min,取沉淀,并将上述操作重复 1 次后,用缓冲液 D 将最终沉淀重悬,测定 MP 质量浓度,调至 0.5 mg/mL,在 540 nm 波长处测 OD 值,按式(6)计算 MFI。每组样品测定 3 次,取其平均值。

$$\text{MFI} = \text{OD}_{540\text{nm}} \times 200 \quad (6)$$

1.3.2.7 SDS-PAGE 参考 Yan 等^[8]的方法,将上

述 MP 质量浓度用缓冲液 C 调至 1 mg/mL,并与蛋白上样缓冲液进行 1:1 混合,99 ℃煮沸变性 10 min,制得变性蛋白样品。蛋白上样量为 10 μg,设置 SDS-PAGE 条件为:浓缩胶质量分数为 4%,分离胶质量分数为 12%,首先以 80 V 电压电泳直至指示条带迁移至 4%浓缩胶与 12%分离胶的界限处,再以 130 V 电压电泳直至指示条带迁移至距底端 1 cm 处,结束后用考马斯亮蓝法进行染色。经染色与脱色处理后,使用成像系统进行拍照分析 MP 降解情况。

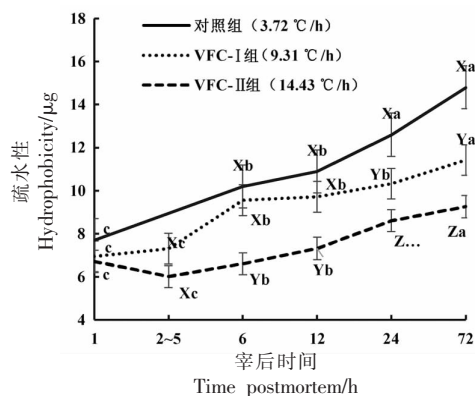
1.4 数据分析

本试验进行了 6 个生物学重复,试验结果通过 Microsoft Excel 2013 软件进行数据处理及作图,SIMCA 软件进行主成分分析,Origin 2023 软件进行 Pearson 相关性分析,SPSS 22 软件进行双因素方差分析。采用 Duncan 多重比较分析同一处理组不同时间点和同一时间点 3 个及以上处理组的样品各品质指标的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同冷却处理对冷鲜猪肉 MP 表面疏水性的影响

MP 的水合特性包括表面疏水性和溶解度,表面疏水性能较好反映蛋白质表面特性及蛋白质的变性程度。如图 1 所示,随着宰后时间的延长,不



注:不同小写字母表示同一处理在宰后不同时间差异显著 ($P < 0.05$);不同大写字母表示在宰后同一时间不同处理差异显著 ($P < 0.05$),下同。

图 1 不同冷却处理冷鲜猪肉 MP 表面疏水性变化
Fig.1 Changes in MP hydrophobicity of fresh pork with different chilling groups

同冷却处理组冷鲜猪肉 MP 表面疏水性整体呈上升趋势。分析其产生的原因,可能是由于 MP 的分子链在处理过程中由于多种因素影响而展开,使其非极性氨基酸残基暴露出来,因此导致了蛋白质疏水性的增加^[9]。宰后 6~72 h,VFC-Ⅱ组 MP 与溴酚蓝结合量显著低于对照组和 VFC-Ⅰ组 ($P<0.05$),而宰后 24~72 h,VFC-Ⅰ组和 VFC-Ⅱ组 MP 与溴酚蓝结合量显著低于对照组 ($P<0.05$),说明对照组蛋白质变性程度高于 VFC-Ⅰ组和 VFC-Ⅱ组,而 VFC-Ⅱ组能有效延缓蛋白变性。

2.2 不同冷却处理对冷鲜猪肉 MP 溶解度的影响

蛋白质溶解度可从侧面反映其表面疏水情况,通常情况下蛋白质表面疏水性越大,溶解度便越小。如图 2 所示,随着宰后时间的延长,MP 溶解度与表面疏水性呈现相反的变化趋势,不同冷却处理组冷鲜猪肉 MP 溶解度整体呈下降趋势。分析其产生原因,可能是肌肉已经进入僵直状态,蛋白质的天然构象被改变,更多的疏水基团被暴露出来,从而导致 MP 溶解度下降^[20]。宰后 6~72 h,VFC-Ⅱ组 MP 溶解度显著高于对照组和 VFC-Ⅰ组 ($P<0.05$),在宰后 12 h 和 72 h,VFC-Ⅰ组 MP 溶解度显著高于对照组。此外,Choe 等^[21]研究表明,溶解度高的肉类,其保水性较高、嫩度较好且加工性能优异。

2.3 不同冷却处理对冷鲜猪肉 MP 凝胶保水性的影响

如图 3 所示,随着宰后时间的延长,不同冷却处理组冷鲜猪肉 MP 凝胶保水性整体呈下降趋势。宰后 2~6 h,VFC-Ⅱ组 MP 凝胶保水性显著低于对照组和 VFC-Ⅰ组 ($P<0.05$)。宰后 12~72 h,VFC-Ⅰ组和 VFC-Ⅱ组 MP 凝胶保水性显著低于对照组 ($P<0.05$),而 VFC-Ⅰ组和 VFC-Ⅱ组无显著性差异 ($P>0.05$)。其中,VFC-Ⅱ组的凝胶持水力最强,该结果与 MP 的溶解度的变化趋势相似。MP 的溶解度与肌肉的持水力呈正相关,增加 MP 的溶解度对提高 MP 凝胶保水性起到积极作用。同时验证了 VFC(冷却速度 14.43 °C/h)处理后的 MP 溶解度高,其凝胶保水性也高。

2.4 不同冷却处理对冷鲜猪肉 MP 总巯基含量的影响

巯基含量能指示蛋白质氧化程度和变性情

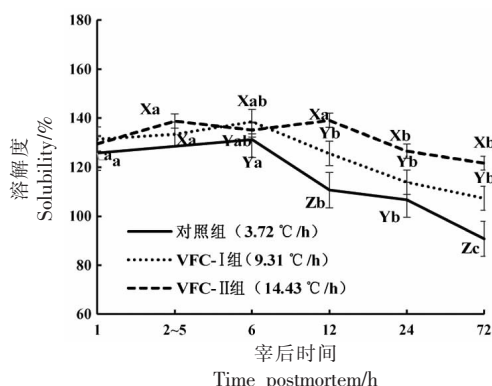


图 2 不同冷却处理冷鲜猪肉 MP 溶解度变化
Fig.2 Changes in MP solubility of fresh pork with different chilling groups

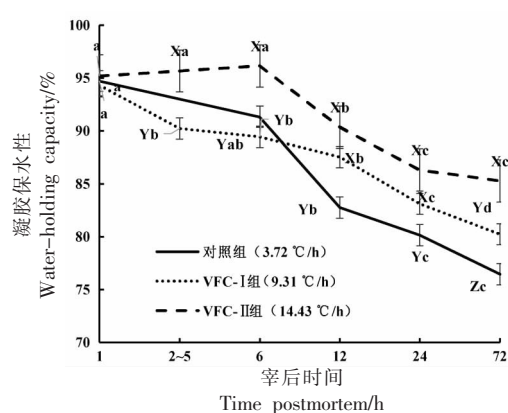


图 3 不同冷却处理冷鲜猪肉 MP 凝胶保水性变化
Fig.3 Changes in water-holding capacity of fresh pork MP gels with different chilling groups

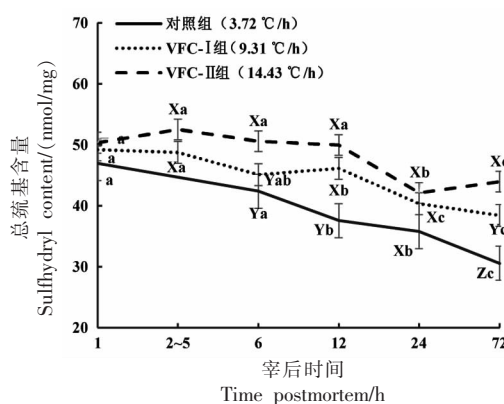


图 4 不同冷却处理冷鲜猪肉 MP 总巯基含量变化
Fig.4 Changes in MP sulfhydryl content of fresh pork with different chilling groups

况。如图 4 所示,随着宰后时间的延长,不同冷却处理组冷鲜猪肉 MP 总巯基含量整体呈下降趋

势。这可能是因为 MP 中有一部分位于分子外侧的活性巯基被氧化后转化为二硫键,导致总巯基含量降低^[22]。宰后 6~12 h 和宰后 72 h, VFC-I 组和 VFC-II 组 MP 巯基含量显著高于对照组 ($P < 0.05$)。这表明 VFC(冷却速度 14.43 °C/h)处理可以有效的抑制蛋白质的氧化。此外,樊金山^[23]对兔背最长肌进行不同冷却处理,发现快速冷却可降低蛋白质的氧化程度,这与本研究结果一致。

2.5 不同冷却处理对冷鲜猪肉 MP 羰基含量的影响

羰基含量能反映蛋白质氧化损伤程度。如图 5 所示,随着宰后时间的延长,不同冷却处理组冷鲜猪肉 MP 羰基含量整体呈上升趋势。在宰后 1 h, 各组猪肉 MP 羰基含量约为 3.45 nmol/mg, VFC-I 组和 VFC-II 组宰后 72 h 分别为 5.42 nmol/mg 和 4.97 nmol/mg, 而对照组达到了 6.59 nmol/mg。宰后 12 h 和 72 h, 对照组冷鲜猪肉 MP 羰基含量显著高于 VFC-I 组和 VFC-II 组 ($P < 0.05$), 而宰后 24 h, VFC-II 组猪肉 MP 羰基含量显著低于对照组和 VFC-I 组 ($P < 0.05$)。其中, VFC-I 组和 VFC-II 组羰基生成速率明显低于对照组, 这表明不同 VFC 处理下蛋白质氧化速度较慢, 其中以冷却速度为 14.43 °C/h 的 VFC 处理能够明显延缓蛋白质的氧化。推测是因为 VFC 处理可减少微生物的污染, 进而延缓了微生物对蛋白质的分解。此外, Liang 等^[7]研究宰后不同冷却处理对羊胴体脂肪氧化情况, 结果表明 VFC 处理的羊胴体脂肪氧化程度显著低于对照组 ($P < 0.05$), 验证了以上结果。

2.6 不同冷却处理对冷鲜猪肉 MFI 的影响

肉宰后成熟过程中, MP 的降解会使蛋白小分子化, 从而影响蛋白功能特性并改变肉品质^[28]。Li 等^[29]研究表明 MP 的降解程度升高, 可改善肉品的嫩度和保水性, 而 MP 降解程度可通过 MFI 进行反映^[30]。如图 6 所示, 随着宰后时间的延长, 不同冷却处理组冷鲜猪肉 MFI 整体呈上升趋势。其中, 对照组冷鲜猪肉的 MFI 在宰后 72 h 显著升高 ($P < 0.05$), Li 等^[31]也报道了同样的发现。这可能是在宰后贮藏过程中, MP 的降解促进了肌原纤维的碎裂导致的。在宰后 6~24 h, VFC-I 组和 VFC-II 组冷鲜猪肉的 MFI 显著高于对照组 ($P < 0.05$), 可

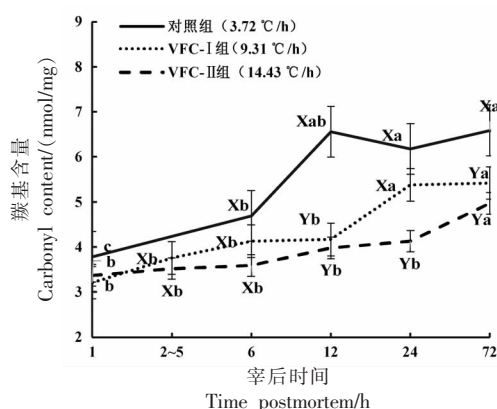


图 5 不同冷却处理冷鲜猪肉 MP 羰基含量变化
Fig.5 Changes in MP carbonyl content of fresh pork with different chilling groups

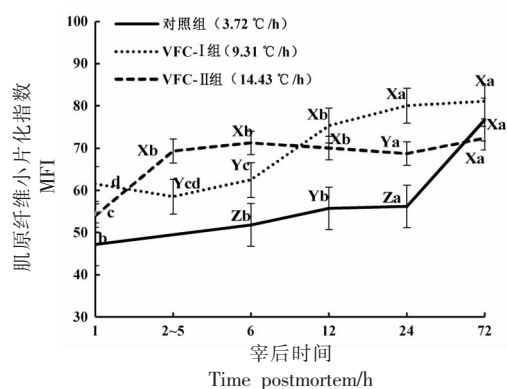


图 6 不同冷却处理冷鲜猪肉 MFI 变化
Fig.6 Changes in MFI of fresh pork with different chilling groups

能由于 VFC 后 MP 发生降解, 从而促进了肌原纤维小片化程度升高^[32]。在宰后 72 h, 不同冷却处理组冷鲜猪肉的 MFI 差异不显著 ($P > 0.05$)。这与 Yan 等^[8]研究结果一致。

Hopkins 等^[30]研究发现绵羊在宰后的前 2 d MFI 显著升高 ($P < 0.05$), 但贮藏后期未发生明显的变化, 这表明随着宰后肌肉的成熟, 其肌原纤维小片化程度降低。而在本研究中, 不同冷却处理组 MFI 随着宰后时间的延长逐渐处于上升的趋势, 但在宰后 24~72 h 无显著性差异 ($P > 0.05$), 分析原因可能是由于 MP 处于持续小分子化的过程, 逐渐破坏其肌原纤维结构, 直至其基本成熟后该现象才得以缓解。

2.7 不同冷却处理对冷鲜猪肉 MP 降解的影响

通过 SDS-PAGE 凝胶电泳分析宰后不同冷

却处理冷鲜猪肉 MP 变化情况,由图 7 可知,宰后不同冷却处理冷鲜猪肉的蛋白泳道上存在许多共同的条带,其主要包括肌球蛋白重链(250 ku)、肌球蛋白重链亚型 S2(130 ku)、肌球蛋白结合蛋白(70 ku)、肌间线蛋白(55 ku)、肌动蛋白(43 ku)、肌钙蛋白 T(35 ku)和肌钙蛋白 I(20 ku)等。

在宰后肌肉成熟过程中,细胞内源酶会引起 MP 降解,从而促使蛋白小分子化,进而使其原有肽片段消失或产生新的多肽片段^[33]。如图 7 所示,图中有 4 个区域的蛋白条带发生了明显的变化。其中,区域 1 可能是 μ -钙蛋白酶及其自溶产物,目前大量研究结果表明, μ -钙蛋白酶对宰后 MP 降解发挥着至关重要的作用。区域 2 是肌间线蛋白,VFC-I 组和 VFC-II 组冷鲜猪肉中肌间线蛋白的降解早于对照组。VFC-I 组和 VFC-II 组冷鲜

猪肉中肌间线蛋白在宰后 6 h 开始降解,而对照组的肌间线蛋白在宰后 24 h 开始降解。区域 3 为肌钙蛋白 T,对照组冷鲜猪肉宰后 24 h 开始出现肌钙蛋白 T 条带显著降解的现象,Marino 等^[34]在研究不同品种牛背最长肌也得出了相似的结果。而 VFC-I 组和 VFC-II 组冷鲜猪肉在宰后 6 h 开始出现肌钙蛋白 T 条带显著降解的现象。区域 4 在冷鲜猪肉宰后 72 h 时出现条带由深变浅的现象,分析原因是由于肌球蛋白分解所致,而 Turgut 等^[35]研究证实了肌球蛋白轻链具有不稳定性,且容易在宰后成熟过程中发生降解,这与本研究结果一致。综上,MP 的降解大多发生在宰后 72 h 时,说明冷鲜猪肉在宰后 72 h 时蛋白降解已基本完成,与 MFI 呈现一致的规律。

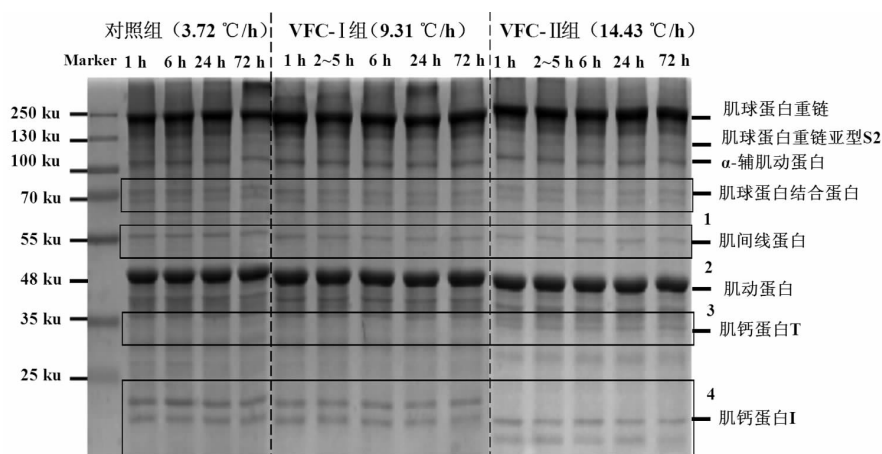


图 7 不同冷却处理冷鲜猪肉 MP 降解情况

Fig.7 Degradation of MP of fresh pork in different chilling groups

2.8 主成分分析

主成分分析可以用于解释和分析多维样品之间的差异。对不同冷却处理冷鲜猪肉 MP 宰后不同时间点进行主成分分析结果如图 8 所示,分析得到 2 个主成分,累计贡献率达到 94.6%,说明此模型能较好地评价各组别及时间点间的相关性。其中,第一主成分贡献率 68.5%,对照组(1 h 和 6 h)、VFC-I 组(1,6 h 和 12 h)和 VFC-II 组(1,6,12 h 和 24 h)都聚集在 PC1 正半轴上,而对照组(12,24 h 和 72 h)、VFC-I 组(24 h 和 72 h)和 VFC-II 组(72 h)都聚集在 PC1 负半轴上。VFC-II 组不同时间点基本分布于 PC1 的正半轴,聚集较

好,说明不同时间点冷鲜猪肉 MP 相近,而对照组不同时间点分别分布在不同象限,说明其差异较大。综上,结合以上分析结果进一步说明宰后早期 VFC 处理能够更好维持 MP 的功能特性。

2.9 相关性分析

MP 降解是宰后成熟过程中重要的生理阶段,对蛋白质功能特性有着较大影响。因此对宰后不同冷却处理冷鲜猪肉 MP 功能特性相关指标及 MFI 进行相关性分析。由图 9 可知,MFI 与 MP 凝胶保水性呈极显著负相关,而 MP 凝胶保水性与 MP 溶解度和巯基含量呈极显著正相关,与 MP 疏水性和羰基含量呈极显著负相关,相关性分析结

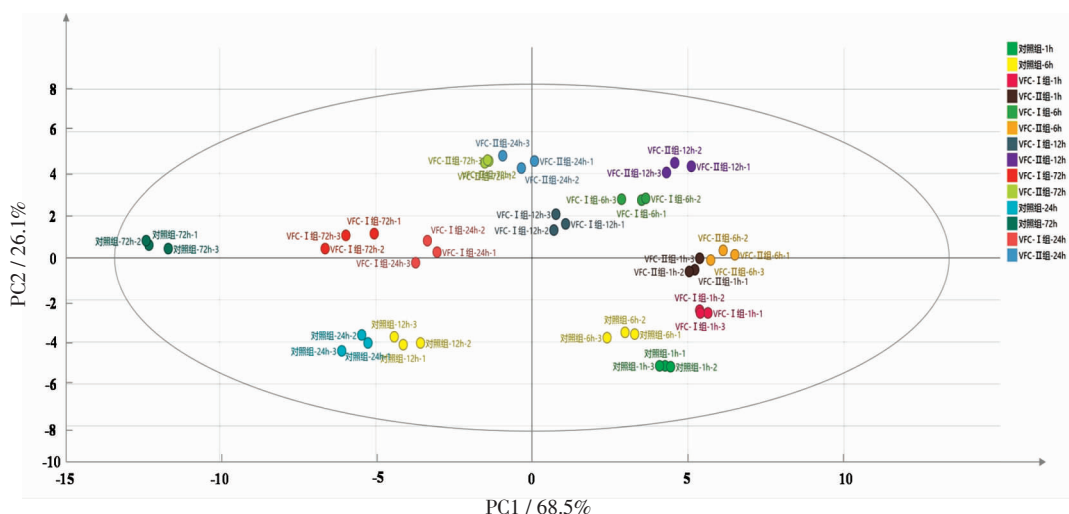
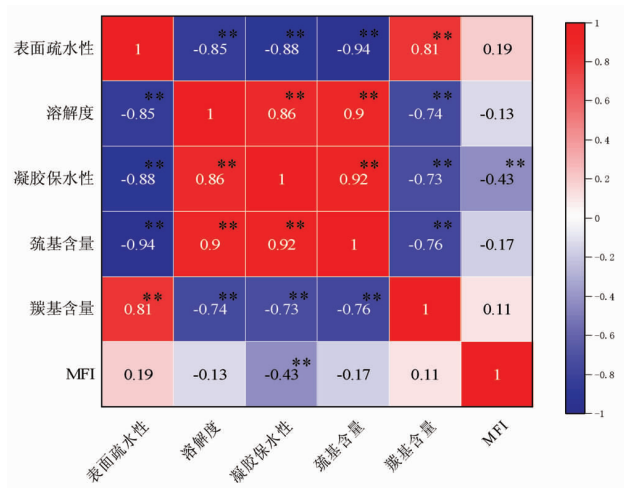


图 8 主成分分析 PC1、PC2 得分图

Fig.8 PC1 versus PC2 score plot of principal component analysis



注:颜色越深表示相关系数越高(正相关以红色显示,负相关以蓝色显示);*表示显著相关 ($P<0.05$);**表示极显著相关 ($P<0.01$)。

图 9 MP 功能特性和 MFI 相关性分析

Fig.9 Correlation analysis among MP functional properties and MFI

果进一步说明宰后 MP 的降解影响着其功能特性的变化。可能原因是随着宰后时间的延长蛋白发生水解,从而导致其溶解度上升,表面疏水性下降,使肌肉组织中的蛋白和水分相对稳定。总而言之,宰后 MP 的降解会引发其功能特性变化,进而对肉品品质造成影响,因此,MP 的降解是造成宰后肉品品质差异的重要原因。

3 结论

与常规冷却处理相比,VFC 可显著改善冷鲜肉 MP 的功能特性并可有效抑制肌肉蛋白质氧化,其中以冷却速度为 $14.43\text{ }^{\circ}\text{C/h}$ 的 VFC 处理组效果最佳。宰后 MP 降解对其功能特性的影响较大,一定程度上影响了肉品品质。随着贮藏时间延长,冷鲜肉表面疏水性呈上升趋势,溶解度、凝胶保水性、巯基含量、羰基含量和 MFI 等指标均呈下降趋势。MFI 与表面疏水性、凝胶保水性、巯基含量和羰基含量指标间存在显著相关关系。因此,本研究可为 VFC 技术在产业中的应用提供数据支撑,同时为深化不同冷却方式对冷鲜肉品质调控的机理研究奠定基础。

参 考 文 献

[1] 张德权, 侯成立. 热鲜肉与冷却肉品质差异之管见[J]. 肉类研究, 2020, 34(5): 83-90.
ZHANG D Q, HOU C L. Humble opinion on the quality difference between hot meat and chilled meat [J]. Meat Research, 2020, 34(5): 83-90.

[2] LI X, ZHANG D Q, REN C, et al. Effects of protein posttranslational modifications on meat quality: A review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2021, 20(1): 289-331.

[3] WARNER R, WHEELER T, HA M, et al. Meat tenderness: advances in biology, biochemistry,

- molecular mechanisms and new technologies[J]. *Meat Science*, 2022, 185(3): 108657.
- [4] WATT D B, HERRING H K. Rapid chilling of beef carcasses utilizing ammonia and cryogenic systems: Effects on shrink and tenderness[J]. *Journal of Animal Science*, 1974, 38(5): 928-934.
- [5] JACOB R, ROSENVOLD K, NORTH M, et al. Rapid tenderisation of lamb *M. longissimus* with very fast chilling depends on rapidly achieving sub-zero temperatures[J]. *Meat Science*, 2012, 92(1): 16-23.
- [6] FERNÁNDEZ A M, VIEIRA C. Effect of chilling applied to suckling lamb carcasses on hygienic, physicochemical and sensory meat quality[J]. *Meat Science*, 2012, 92(4): 569-574.
- [7] LIANG C, ZHANG D Q, WEN X Y, et al. Effects of chilling rate on the freshness and microbial community composition of lamb carcasses[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 153(1): 112559.
- [8] YAN T J, HOU C L, WANG Z Y, et al. Effects of chilling rate on progression of rigor mortis in postmortem lamb meat[J]. *Food Chemistry*, 2021, 373(Part B): 131463.
- [9] CHIN K B, GO M Y, XIONG Y L. Konjac flour improved textural and water retention properties of transglutaminase-mediated, heat-induced porcine myofibrillar protein gel: effect of salt level and transglutaminase incubation[J]. *Meat Science*, 2009, 81(3): 565-572.
- [10] OZEK N S, BAL I B, YILDIRIM S, et al. Structural and functional characterization of simvastatin-induced myotoxicity in different skeletal muscles[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2014, 1840(1): 406-415.
- [11] AMIRI A, MOUSAKHANI-GANJEH A, SHAFIE-KHANI S, et al. Effect of high voltage electrostatic field thawing on the functional and physicochemical properties of myofibrillar proteins[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2019, 56(8): 102191.
- [12] WARNER R D, JACOB R H, ROSENVOLD K, et al. Altered post-mortem metabolism identified in very fast chilled lamb *M. longissimus thoracis et lumborum* using metabolomic analysis[J]. *Meat Science*, 2015, 108(10): 155-164.
- [13] CHEN X, LUO X, ZHU L X, et al. The underlying mechanisms of the effect of superchilling on the tenderness of beef *Longissimus lumborum* [J]. *Meat Science*, 2022, 194: 108976.
- [14] 惠小洋. 快速冷却对牛肉保水性及蛋白特性的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2018.
- HUI X Y. The Effect of water-holding capacity and protein properties of rapid chilling beef[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2018.
- [15] HUANG C Y, MUAWUZ I, CHEN L, et al. Effect of chilling rate on heat shock proteins abundance, myofibrils degradation and caspase-3 activity in postmortem muscles[J]. *International Journal of Food Science Technology*, 2022, 57: 6492-6502.
- [16] 颜统晶, 张德权, 李欣, 等. 超快速冷却对冷鲜羊肉风味品质的影响[J]. *中国农业科学*, 2022, 55(15): 3029-3041.
- YAN T J, ZHANG D Q, LI X, et al. Effects of very fast chilling on flavor quality in chilled lamb[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(15): 3029-3041.
- [17] SUN X X, YU Y M, AHMED S M, et al. Understanding interactions among flavor compounds from spices and myofibrillar proteins by multi-spectroscopy and molecular docking simulation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 229(28): 188-198.
- [18] OLIVER C N, AHN B W, MOERMAN E J, et al. Age-related changes in oxidized proteins[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262(12): 5488-5491.
- [19] CARECHE M, COFRADES S, CARBALLO J, et al. Emulsifying and gelation properties during freezing and frozen storage of hake, pork, and chicken actomyosins as affected by addition of formaldehyde[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1998, 46(3): 813-819.
- [20] VAN LAACK R L, LIU C H, SMITH M O, et al. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat[J]. *Poultry Science*, 2000, 79(7): 1057-1061.
- [21] CHOE J, KIM H, FAROUK M M, et al. Impacts of post-mortem ageing prior to freezing on technological and oxidative properties of coarse ground lamb sausage in a model system[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2017, 30(7): 1021-1028.
- [22] MARIANNE N LUND, MARINA HEINONEN, CAROLINE P BARON, et al. Protein oxidation in muscle foods: A review[J]. *Molecular Nutrition &*

- Food Research, 2011, 55(1): 83–95.
- [23] 樊金山. 不同冷却处理对兔肉品质和肌原纤维超微结构的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- FAN J S. Effects of different chilling treatment on meat quality and myofibrillar ultrastructure of rabbit [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.
- [24] CARBONARO M, NUCARA A. Secondary structure of food proteins by Fourier transform spectroscopy in the mid-infrared region[J]. Amino Acids, 2010, 38(3): 679–690.
- [25] BEATTIE J R, BELL S E, BORGGAARD C, et al. Preliminary investigations on the effects of ageing and cooking on the Raman spectra of porcine *longissimus dorsi* [J]. Meat Science, 2008, 80(4): 1205–1211.
- [26] BEATTIE R J, BELL S J, FARMER L J, et al. Preliminary investigation of the application of Raman spectroscopy to the prediction of the sensory quality of beef silverside[J]. Meat Science, 2004, 66(4): 903–913.
- [27] SALWANI M S, ADEYEMI K D, SARAH S A, et al. Skeletal muscle proteome and meat quality of broiler chickens subjected to gas stunning prior slaughter or slaughtered without stunning[J]. CyTA – Journal of Food, 2016, 14(3): 1–7.
- [28] LI J L, ZHANG L, FU Y N, et al. Creatine monohydrate and guanidinoacetic acid supplementation affects the growth performance, meat quality, and creatine metabolism of finishing pigs[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(38): 9952–9959.
- [29] LI G X, LI Z, LI X, et al. Postmortem ageing influences the thawed meat quality of frozen lamb loins[J]. Food Chemistry, 2019, 275(3): 105–112.
- [30] HOPKINS D L, LITTLEFIELD P J, THOMPSON J M. A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation[J]. Meat Science, 2000, 56(1): 19–22.
- [31] LI X, CHEN L J, HE F, et al. A comparative analysis of phosphoproteome in ovine muscle at early postmortem in relationship to tenderness[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(13): 4571–4579.
- [32] LI Z, LI M, DU M T, et al. Dephosphorylation enhances postmortem degradation of myofibrillar proteins[J]. Food Chemistry, 2018, 245(4): 233–239.
- [33] KIM Y H, KEMP R, SAMUELSSON L M. Effects of dry-aging on meat quality attributes and metabolite profiles of beef loins[J]. Meat Science, 2016, 111(1): 168–176.
- [34] MARINO R, ALBENZIO M, MALVA A, et al. Changes in meat quality traits and sarcoplasmic proteins during aging in three different cattle breeds[J]. Meat Science, 2014, 98(2): 178–186.
- [35] TURGUT S S, ISIKCI F, SOYER A. Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage[J]. Meat Science, 2017, 129(7): 111–119.

Effects of Very Fast Chilling on the Myofibrillar Proteins Properties of Chilled Pork

Wang Su^{1,2}, Zhang Dequan¹, Wang Wei², Zhang Rui², Li Xin¹, Hou Chengli^{*}

¹Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Agro-products Quality and Safety Control in Storage and Transport Process, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100193

²Meat Processing Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu University, Chengdu 610106)

Abstract In order to study the effects of very fast chilling on the myofibrillar proteins properties of chilled pork after slaughter, this study analyzed the effects of different very fast chilling treatments (very fast chilling –I group: chilling rate of 9.31 °C/h; very fast chilling –II group: chilling rate of 14.43 °C/h) on the myofibrillar proteins of the pork *M. longissimus thoracis et lumborum* muscles at 1, 2–5, 6, 12, 24 and 72 h after slaughter. The changes of myofibrillar proteins hydration (solubility and hydrophobicity), gel properties (water-holding capacity gel), oxidation properties (sulfhydryl content and carbonyl content), myofibrillar miniaturization index and myofibrillar proteins degradation. The results showed that the hydrophobicity of myofibrillar proteins surface tended to increase, and the solubility, water-holding capacity gel, sulfhydryl content, carbonyl content and myofibrillar fragmentation index tended to decrease in the pork *M.*

longissimus thoracis et lumborum muscles under different chilling treatments after slaughter. The amount of myogenic fibrin bound to bromophenol blue, gel water retention and carbonyl content were significantly lower in the very fast chilling - I and very fast chilling - II groups than in the control group ($P<0.05$), while the very fast chilling - II group was significantly lower than the very fast chilling - I group ($P<0.05$), and myogenic fibrin solubility and sulfhydryl content were significantly higher in the very fast chilling - II group than in the control and very fast chilling - I groups ($P<0.05$). In conclusion, the very fast chilling treatment group could improve the functional properties of chilled pork myofibrillar proteins and effectively inhibit protein oxidation, in which very fast chilling with a chilling rate of 14.43 °C/h was the best chilling method. The results of the study aimed to provide a theoretical basis and data support for the application of very fast chilling technology in the industry.

Keywords very fast chilling; fresh pork; myofibrillar protein; functional properties