

生鲜猪肉持水性的核磁共振研究

姜晓文, 韩剑众*

(浙江工商大学食品学院, 浙江省食品安全重点实验室, 浙江杭州 310035)

摘要: 用低场核磁共振仪检测了宰后猪肉样品水分分布的变化情况。研究发现: 肉中有三个明显的水分群, 分别对应的横向弛豫时间是 T_{21} 、 T_{22} 、 T_{23} , 其中 T_{23} 积分面积与滴水损失之间的相关系数为 -0.860 。实验数据表明, LF-NMR 的横向弛豫时间是研究持水性和水分分布的一种非常有效的方法。

关键词: 核磁共振, 弛豫时间, 持水性, 水分分布

Study on water-holding capacity in fresh meat by LF-NMR

JIANG Xiao-wen, HAN Jian-zhong*

(Key Laboratory of Food Safety of Zhejiang Province, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

Abstract: In order to study whether the LF-NMR can be used in water holding capacity and distribution of the post mortem pork, the changes in water mobility and distribution were measured in porcine muscle (*M. longissimus dorsi*) samples stored at 4°C using low-field NMR relaxation measurements, simultaneous measure the drop-loss and pH of the sample. Distributed exponential analysis of the NMR transverse relaxation data revealed the existence of three distinct water populations: T_{21} , T_{22} , and T_{23} . A high correlation was found between the T_{23} population and drop-loss ($r = -0.860$), which suggested that transverse relaxation measurement was an efficient method for determination of water holding capacity in pork.

Key words: NMR; transverse relaxation; water-holding capacity; water distribution

中图分类号: TS251.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)07-0128-04

水是肉品中最主要的成分, 占肉品质量的 75% 左右。宰后肉品持水力的改变, 不仅影响肉品的感官和食用品质, 而且严重地影响其经济价值。目前我国生猪肉饲养中的快速增肥导致宰后猪肉的大量滴水, 造成了巨大的经济损失, 因此研究猪肉的持水性, 降低猪肉汁液损失具有十分重要的意义^[1]。传统方法如压力(重量、面积)法、离心法、滴水损失、贮藏损失和蒸煮损失等都不能表征肉中水分存在的状态以及变化过程。核磁共振利用氢原子核在磁场中的自旋弛豫特性, 通过弛豫时间的变化分析研究物质的含水量、水分分布、水分迁移以及与之相关的其他性质, 为我们研究如何控制和避免宰后猪肉大量滴水提供了一种行之有效的方法^[2]。国外的相关研究也表明, 低场核磁共振可以成为研究肉品持水性能、水分分布及变化的一种理想工具。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

实验样品 按常规工艺屠宰分割 90kg 左右的杜长大猪, 取背最长肌样品装入二层聚乙烯薄膜袋, 4°C 冰箱储藏。

核磁共振分析仪 23MHz, 0.56T, 上海纽迈电子

科技有限公司; 电子天平 AR2140, 美国 OHAUS; 数显恒温水浴锅 HH-6, 国华电器有限公司; 酸度计 HANNA pH211, 意大利; 移液枪 GILSON; MB35 卤素水分测定仪。

1.2 实验方法

1.2.1 猪肉中水分的 NMR 横向弛豫时间分布的研究

1.2.1.1 样品 0.8g 体积约为 $1\text{cm} \times 1\text{cm} \times 1\text{cm}$ 的肉丁、猪肉渗出水、纯净水。

1.2.1.2 处理 将肉丁、猪肉渗出水 0.8mL、纯净水 0.8mL、猪肉渗出水与纯净水各 0.4mL 分别放入检测管中, 32°C (仪器工作温度) 水浴 5min 进行核磁共振检测。

1.2.1.3 核磁共振检测步骤 在硬脉冲界面调准中心频率(肉中氢质子的共振频率); 进入硬脉冲 CPMG 序列设置参数 (90° 与 180° 脉冲间隔时间 $D1 = 1000\mu\text{s}$, 90° 脉冲宽度 $P1 = 20\mu\text{s}$, 180° 脉冲宽度 $P2 = 40\mu\text{s}$, 回波个数 $C1 = 1000$, 重复次数 $NS = 32$) 开始检测; 检测结束保存数据, 进入 T_2 反演程序, 得出弛豫时间的分布情况^[3]。

1.2.2 样品质量与 NMR 信号的关系研究 称取 0.7792、1.1352、1.4312、1.7312、2.0112、2.3612、2.6262g 肉样, 放入检测管中, 32°C 水浴 5min 进行核磁共振检测, 检测步骤同上。

1.2.3 样品不同烘干程度下的 NMR 研究 将 7 份 0.8g 体积约为 $1\text{cm} \times 1\text{cm} \times 1\text{cm}$ 的肉丁(含水量为 72%) 放入卤素水分测定仪, 120°C 烘干至含水量分

收稿日期: 2008-10-06 * 通讯联系人

作者简介: 姜晓文(1982-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品质量与安全。

基金项目: 浙江省高校“重中之重学科”建设项目(ZZ05-07)。

别为 70.5%、68.9%、65%、60%、53.3%、30%，放入检测管中 32℃ 水浴 5min 进行核磁共振检测。检测结束后用 T2 反演软件分别算出各个样品横向弛豫时间的总积分面积。

1.2.4 鲜肉烘干至恒重后加不同量水的 NMR 研究

将一份 5g 肉样放入卤素水分测定仪中, 120℃ 烘干至恒重, 测得其水分含量为 72.4%。将肉干切磨至粉末状后, 取 0.5g 肉干粉进行核磁共振检测。然后向 0.5g 肉干粉中加入不同量的蒸馏水, 使肉干粉中的水分含量分别为 12.3%、21.9%、35.9%、45.7%、52.8%、55.8%, 然后 32℃ 水浴 5min, 分别进行核磁共振检测。

1.2.5 宰后猪肉不同时间水分分布变化的 NMR 研究

每隔 6h 取 0.8g 体积约为 1cm × 1cm × 1cm 的肉丁(3 个平行)放入检测管中, 32℃ 水浴 5min 进行核磁共振检测, 直至 72h。

1.2.6 汁液流失率与 pH 的测定

汁液流失率的测定采用 Honikel^[4] 等的方法; pH 的测定采用探针式自动酸度仪, 每次测 3 个位点, 取平均值作为肌肉某一时点的 pH, 每份样品每个时间点做三个平行。

2 结果与讨论

宰后生鲜猪肉中 H 质子的弛豫时间(T_2)分布可以表明在肌肉组织中存在的多个水分群, 弛豫时间越短说明水分与底物结合越紧密, 弛豫时间越长说明水分越自由。一般地, T_2 可分为 T_{21} (0~10ms)、 T_{22} (10~100ms)、 T_{23} (100ms 以上), 分别对应肌肉中的结合水、不易流动水、自由水^[5]。所以弛豫时间可以间接地表明水分的自由度, 从而可以用核磁共振研究猪肉中水分的分布和流动。应用 T_2 反演软件可以得出不同 T_2 区间的积分面积, 表示各个 T_2 区间的氢质子的相对含量。

2.1 猪肉、猪肉渗出水、纯净水的弛豫时间分布

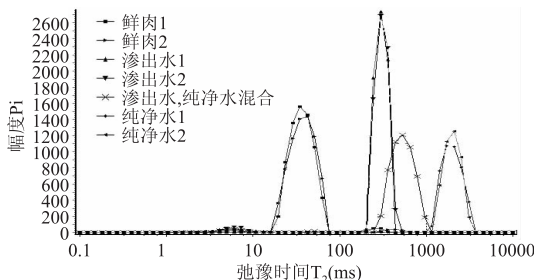


图1 猪肉、渗出水、纯净水的弛豫时间分布

猪肉中有三个 T_2 区间 T_{21} (0~10ms)、 T_{22} (10~100ms)、 T_{23} (100~1000ms), 其中 T_{21} 可能表示蛋白质分子表面的极性基团与水分子紧密结合的水分子层, T_{22} 可能表示存在于肌纤维、肌原纤维及膜之间的水分, 占总积分面积的 90% 左右, T_{23} 可能表示存在于细胞外的间隙中能自由流动的水^[6]。猪肉渗出水有两个 T_2 区间 0~10ms 和 100~1000ms, 100~1000ms 的积分面积占总积分面积的 99%。纯净水的 T_2 区间为 1000~10000ms, 纯净水与渗出水混合的 T_2 区间介于渗出水与纯净水的主峰之间。猪肉渗出水的主峰与猪肉中的 T_{23} 几乎完全重合, 证明了猪肉的渗出水可能就是猪肉内自由水滴出后的外在形式。纯水

与渗出水混合的 T_2 区间介于渗出水与纯净水的主峰之间, 说明 LF-NMR 的 T_2 可以用于区分不同自由度的水分, 各种水分自由度的排序结果为: 纯净水 > 猪肉渗出水与纯净水的混合 > 猪肉渗出水 > 猪肉内的水分。因此, LF-NMR 的横向弛豫时间可以用于表征猪肉中水分的存在状态和自由度。

2.2 质量与 NMR 横向弛豫积分面积的关系

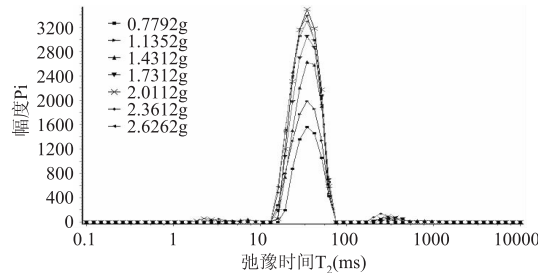


图2 质量对弛豫时间积分面积的影响

样品质量增加到 2.0112g 之前, T_{22} 积分面积随质量的增大而增大, T_{21} 与 T_{23} 无明显变化; 2.0112g 之后, 质量的增加并没有使积分面积增加, 而是保持不变或略有减小。因此, 仪器的检测限为 2g 左右的肉样(高度 2cm 左右)。用 SPSS11.0 分析得出, 质量与总积分面积的线性相关系数为 0.994, 因此, LF-NMR 的 T_2 积分面积能相对准确的表示猪肉中氢质子的含量。

2.3 样品不同烘干程度下的 NMR 实验结果

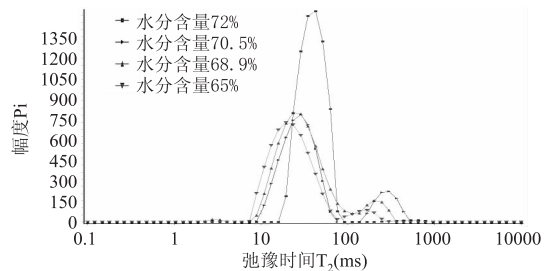


图3 不同烘干程度对 T_2 的影响(1)

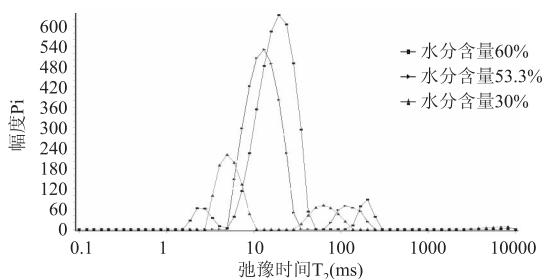


图4 不同烘干程度对 T_2 的影响(2)

随着烘干程度的增大, 样品中水分含量、水分质量的减小, 样品的核磁共振总积分面积也相应地减小。弛豫时间方面, 随烘干程度的增大, T_{22} 逐渐向前推移, T_{23} 也有向前推移的趋势。水分含量为 30% 时, T_{22} 完全进入 1~10ms 的弛豫时间区间, T_{23} 几乎完全进入 10~100ms 的弛豫时间区间。可以理解为烘干的过程是一个逐层烘干的过程, 弛豫时间较长、自由度较高的水分先被蒸发掉, 然后是自由度稍低的水分被蒸发掉。水分含量为 70.5% 时自由水含量明显增加, 可能是由于加热导致肌丝网的收缩, 将肌原纤维内的不易流动水挤出转化为自由水, 之后自由水的量也逐渐变小^[7]。

表1 宰后猪肉背最长肌横向弛豫时间与 pH 和滴水损失的变化情况

时间(h)	0	6	12	24	30	36	48	54	60	72
pH	6.56	5.93	5.71	5.42	5.59	5.53	5.47	5.50	5.42	5.34
滴水损失(%)	0.0	2.4	3.6	5.2	5.6	6.1	7.1	7.6	8.2	9.4
$T_{总}$	672.7	644.0	635.1	621.2	634.7	623.8	578.9	625.0	595.3	593.4
T_{22}	552.6	535.7	517.8	516.1	539.7	523.1	488.7	521.1	519.6	523.5
T_{23}	120.1	108.2	117.3	105.1	95.0	100.8	90.2	103.9	75.7	69.9

将样品内的水分质量与所对应的 NMR 横向弛豫时间的总积分面积 T_2 做图,见图 5。

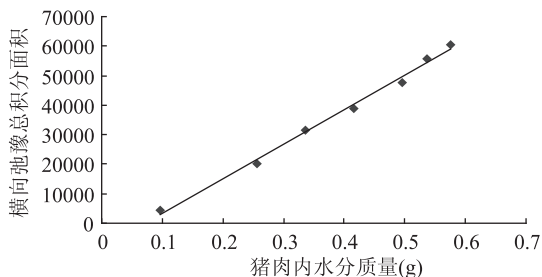


图5 NMR 横向弛豫时间总积分面积与猪肉中水分质量的关系

横向弛豫总积分面积与猪肉中水分质量的关系式为 $y = 116744x - 8300.1$, 线性相关系数 $R^2 = 0.9936$ 。水分质量与 NMR 横向弛豫时间的积分面积之间得出了较高的相关系数,表明 NMR 检测的猪肉中的氢质子绝大部分是猪肉水分中的氢质子。

随着猪肉水分含量的减小,猪肉内不同结合程度的水分分布情况如图 6 所示。

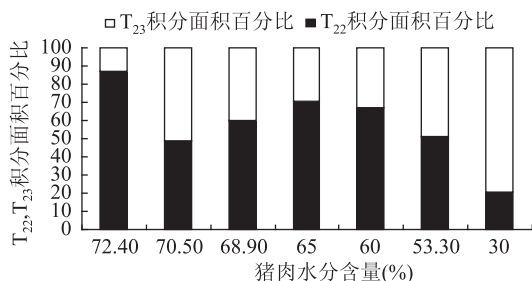


图6 不同水分含量猪肉内的水分分布

2.4 鲜肉烘干至恒重后加不同量水的 NMR 实验结果

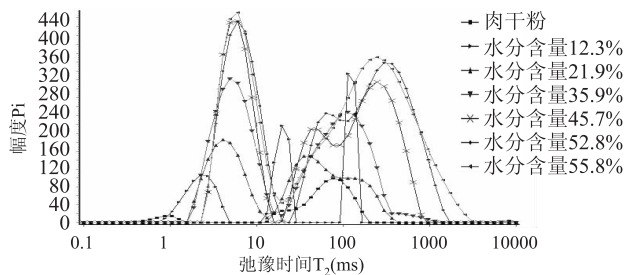


图7 肉干粉中添加不同量的水的核磁共振检测

通过计算添加不同量的纯净水样品的积分面积发现: T_{21} (0~10ms) 峰的积分面积随加水质量的增加而增加,但增大至水分含量为 45.7% 之后就保持不变了; T_{22} 与 T_{23} 的面积之和持续增加,但 T_{22} 与 T_{23} 无明显峰型,而是连接在一起构成一个不规则的峰。可以理解为猪肉的组织结构被破坏,蛋白质完全变性,它与水分的结合主要靠范德华力,因此结合水

(0~10ms 积分面积) 的量增加到一定程度就停止增加。其余的水分只能以自由水的形式存在,所以图中无明显的不易流动水的峰 (10~100ms), 而是形成 10~1000ms 的偏重自由水的峰。因此我们认为 LF-NMR 中 T_2 的变化能反应出肉品微观结构及蛋白质的变化。

2.5 宰后不同时间猪肉背最长肌横向弛豫时间与 pH 和滴水损失的变化情况

利用 SPSS11.0 进行 Pearson 相关系数分析,得出宰后 T_{23} 与滴水损失的相关系数为 -0.860 , $T_{总}$ (T_{22} 与 T_{23} 积分面积之和) 与滴水损失的相关系数为 -0.872 , pH 与滴水损失的相关系数为 -0.904 。宰后猪肉样品 pH 迅速下降,当 pH 接近等电点时 (pH5.0~5.4), 静电荷数达到最低,这时蛋白质相互吸引,降低了对水分的吸引,同时肌原纤维之间距离减小,水分由细胞内转到细胞外使自由水的含量提高,然后水分就从肉中滴出。实验表明, T_{23} 与 T_2 均与滴水损失得出了较高的相关系数,证明上述观点是正确的。H.C.Bertram 利用低场核磁共振研究肌肉结构与水分活度、水分分布的关系的研究结果为, T_{22} (对应本文中的 T_{23}) 与肉品的持水性的相关系数为 $0.76^{[8]}$, T_2 与持水性的相关系数为 0.84 , 与我们的结果基本一致。因此 LF-NMR 的 T_2 能够用于宰后猪肉滴水的研究。

3 结论

宰后肉品持水性变化的影响因素很多,如 pH 的变化、肌原纤维结构的变化、蛋白质的变性、抗氧化性的变化、细胞膜的完整性等。核磁共振可以得出宰后肉品水分分布的变化,本文结合了宰后 pH 的变化与水分分布的变化,研究了宰后肉品持水性的变化。我们认为低场核磁共振的 CPMG 脉冲序列是研究宰后肉品水分分布的一种比较理想的方法,宰后肉品的滴水是一个动态的过程,水分活度最大的自由水最先滴出,部分不易流动水转化为自由水,滴出和转化两个过程交替进行^[9]。 T_{23} 与宰后猪肉的持水性有较强的相关性,所以低场核磁共振会成为宰后猪肉持水性检测的一种快速而有效的方法。影响宰后肉品持水性变化的其他因素与水分分布的变化将在本实验室继续开展,其中不易流动水转化为自由水的影响因素和方式将成为研究的重点。

参考文献

- [1] 张伟力,王霞.改进猪肉系水力的原理和途径概述[J].肉质与猪产品加工,2007(3):29~32.
- [2] 葛长荣,马美湖,韩剑众.肉与肉制品工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,2002.17~19.

(下转第 133 页)

表3 各回归系数的偏相关、t 检验值及显著水平

	偏相关	t 检验值	显著水平 p
$r(y, X_1)$	0.69076	3.54211	0.00325
$r(y, X_2)$	0.67883	3.42776	0.00408
$r(y, X_3)$	0.29145	1.12971	0.27758
$r(y, X_1 X_1)$	-0.73003	3.96077	0.00142
$r(y, X_2 X_2)$	-0.39795	1.60836	0.13007
$r(y, X_3 X_3)$	0.19675	0.74405	0.46915
$r(y, X_1 X_2)$	-0.10414	0.38823	0.70368
$r(y, X_1 X_3)$	-0.37448	1.49748	0.15647
$r(y, X_2 X_3)$	-0.48423	2.0521	0.05935

由于偏回归系数的 t 检验显示,只有 $r(y, X_1)$ 、 $r(y, X_2)$ 、 $r(y, X_1 X_1)$ 、 $r(y, X_2 X_3)$ 达到显著水平 ($p < 0.1$)。采用逐步回归法,剔除不显著的项 ($p > 0.1$),对方程进行优化,可得到优化后的方程式为: $Y = 0.759527508 + 3.410167410X_1 + 1.4647540984X_2 - 35.70003476X_1 X_1$,其偏相关系数及其检验结果见表 4。

表4 各回归系数的偏相关、t 检验值及显著水平(调整后)

	偏相关	t 检验值	显著水平 p
$r(y, X_1)$	0.59388	3.21753	0.00432
$r(y, X_2)$	0.72073	4.53191	0.00020
$r(y, X_1 X_1)$	-0.63008	3.53681	0.00207

相关系数 $R = 0.79791$, F 值 = 11.0973, 显著水平 $p = 0.0002$, 剩余标准差 $S = 0.03570$, 调整后的相关系数 $R_a = 0.76111$, Durbin-Watson 统计量 $d = 1.90708072$ 。

最高指标时各个因素组合为:丙二酸浓度为 0.04779%, 顺丁烯二酸浓度为 0.10000%, 草酸浓度为 0.00001%, Y_{\max} 为 0.98744。

2.4 验证实验

按照优化后的条件,配制含丙二酸浓度为 0.048%, 顺丁烯二酸浓度为 0.100% 的 pH3 的邻苯二甲酸氢钾-盐酸缓冲液。加入前面实验相同量的黑花生衣色素浓缩液。定容后静置 2h,进行了吸光度检测,实测吸光度达到 0.928,与预测值 0.98744 较接近,预测精度达 93.98%,表明了方程的准确性和可靠性。

3 讨论

辅色作用能使花色苷颜色更稳定,并且颜色加深。辅色剂本身在可见光区几乎没有吸收,将其加入花色苷溶液中,溶液颜色加深。有很多种物质被发现具有辅色的功能。辅色作用能够提高花色苷稳定性,拓宽其应用范围。辅色剂对于不稳定花色

苷的稳定化作用开辟了应用天然花色苷作为着色剂的可能性,这对食品工业使用这类天然食用色素来讲是很有意义的。

近年来,一些研究者已经开始了这方面的研究。朱蓓薇等^[4]研究表明,食品添加剂中苹果酸、丁二酸、阿魏酸、芦丁、柚皮苷、对羟基苯甲酸对提高越桔色素稳定性有一定的作用。其中丁二酸、阿魏酸、对羟基苯甲酸、柚皮苷等 4 种物质作用效果较强,它们的组合使用效果更明显。朱红梅等^[5]将单宁加到紫甘薯花色苷溶液后,发现溶液吸光值增加,因此认为单宁对花色苷有辅色作用。

本实验研究了浓度为 0.1% 的 9 种有机酸(丁二酸、丙二酸、顺丁烯二酸、酒石酸、柠檬酸、草酸、水杨酸、单宁酸、没食子酸)对黑花生衣色素的辅色作用,发现其中只有丙二酸、顺丁烯二酸和草酸能显著增加黑花生衣色素的吸光度 (λ_{320nm}),可能是与黑花生衣色素发生了辅色作用,其具体的作用机制还有待于进一步研究。三种有机酸复合使用,对吸光度增加的影响更大。通过三元二次正交旋转组合设计和多项式回归分析,得到三种有机酸对黑花生衣色素吸光度影响的回归方程式为: $Y = 0.759527508 + 3.410167410X_1 + 1.4647540984X_2 - 35.70003476X_1 X_1$

回归方程显著性检验结果表明,回归方程有统计学意义,该模型可以应用。最高指标时各个因素组合为丙二酸浓度为 0.04779%, 顺丁烯二酸浓度为 0.10000%, 草酸浓度为 0.00001%, 吸光度为 0.98744。通过对方程的验证发现,预测精度达 93.98%,表明了方程的准确性和可靠性。

参考文献

- [1] 王锋,谭兴和,邓洁红,等.黑花生衣色素的稳定性研究[J].食品与机械,2007,23(3):53~56.
- [2] Davies AJ, Mazza G. Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1993, 41: 716~720.
- [3] Mazza G, Brouillard R. The mechanism of copigmentation of anthocyanins in aqueous solutions [J]. Phytochemistry, 1990, 29: 1097~1102.
- [4] 朱蓓薇,金英实,张或.提高越桔天然色素稳定性方法的研究[J].食品科学,2004,24(5):81~88.
- [5] 朱洪梅,韩永斌,顾振新,等.大孔树脂对紫甘薯色素的吸附与解吸特性研究[J].农业工程学报,2006,22(5):153~156.

(上接第 130 页)

- [3] Bertram H C, Annette S, Katja R, et al. Physical changes of significance for early post mortem water distribution in porcine M. longissimus [J]. Meat Science, 2004, 66: 915~924.
- [4] Honikel K O. Reference methods for the assessment of physical characteristic of meat [J]. Meat Science, 1998, 49: 447~457.
- [5] Bertram H C, Sune D, Anders H K, et al. Continuous distribution analysis of T2 relaxation in meat—an approach in the determination of water-holding capacity [J]. Meat Science, 2002, 60: 279~285.
- [6] 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: 125~132.

[7] 陈韬.宰后肌肉蛋白质和组织结构变化与冷却猪肉持水性的关系研究[D].南京农业大学,2005,11.

[8] 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]. Meat Science, 2002, 50: 824~829.

[9] J P Renou, L Foucat, J M Bonny. Magnetic resonance imaging studies of water interactions in meat [J]. Food Chemistry, 2003, 82: 35~39.