

# 宰后猪 PSE 肉特征形成与初期温度的关系

朱学伸, 陆亚宇, 黄雪方

(江苏第二师范学院生命科学与化学化工学院, 江苏南京 210013)

**摘要:** 研究了“发白、质地柔软和出水”(PSE)猪肉特征的形成与宰后初期温度关系, 取宰后 20 min 猪背最长肌分别经过 0, 20, 40 °C 孵育处理至宰后 2 h, 然后放置于 4 °C 进行成熟。其中分别取宰后 20 min、1 h、2 h、24 h 肉样并立即于液氮冷冻然后放置 -40 °C 冰箱保存以待测定生化指标, 另外测定宰后 24 h 新鲜肉样的肌肉品质和蛋白质特征聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分析。结果显示: 宰后初期 40 °C 处理组肉样 R 值升高速度, 乳酸的积累速度和 pH 下降速度均较快, 表明了高温导致了快速的糖酵解, 另外不同温度间肌浆蛋白 SDS-PAGE 图谱存在差异, 高温组 100 ku 和 35 ku 的条带表达量较少, 表明部分肌浆蛋白可能发生变性, 最终导致高温处理组肌肉颜色亮度值显著较高以及较高的蒸煮损失。以上结果表明高温处理可以导致发白、质地柔软和出水等特征肉的产生, 而快速的糖酵解可能是主要的原因。

**关键词:** PSE 肉; 宰后温度; 蛋白质特征

**文章编号:** 1673-9078(2014)7-69-73

## Relationship between Development of Porcine PSE Characteristics and Initial Postmortem Temperature

ZHU Xue-shen, LU Ya-yu, HUANG Xue-fang

(Department of Life Science and Chemistry, Jiangsu Second Normal University, Nanjing 210013, China)

**Abstract:** Pork longissimus muscle were taken at 20 min postmortem, kept at 0, 20 and 40 °C until 2 h postmortem and then stored at 4 °C, respectively. 20 min, 1 h, 2 h and 24 h postmortem pork samples were selected and rapidly frozen in liquid nitrogen, and stored at -40 °C before analyzed. During incubation, rapid increase of R value, accumulation of lactic acid and decrease of pH value were found in the high temperature group (40 °C). These data indicated that glycolysis could be activated much more in the high temperature group (40 °C). When analyzing the extracted proteins with SDS-PAGE, it revealed that both 100 ku and 35 ku polypeptides from sarcoplasmas fraction was associated with the myofibrillar fraction. Moreover, the 40 °C group had higher L\* values and cooking loss compared with the other two groups. These result indicated that high initial postmortem temperature could resulted in pale and exudative characteristics in pork, partly because the glycolysis was activated at high temperature.

**Key words:** pale soft exudative meat; post-mortem temperature; protein characteristics

长期以来, 肉用畜禽按照提高生长率和出肉率的方向选育发展, 而忽略了其肌肉品质的提升, 导致了劣质肉的大量产生, 最典型的就是畜禽苍白、柔软、出汁性高 (PSE) 的一类肉的发生率提高<sup>[1]</sup>。此种肉无论作为鲜肉食用还是用于进一步加工, 其品质均显著下降。在此现状下, 如何有效的降低 PSE 肉的发生率是摆在肉品科学研究者面前的一道艰巨的课题。一般认为, PSE 肉的形成过程是: 动物宰后初期, 肌肉中

迅速下降的 pH 值结合相对较高的肌肉温度导致了肌肉中部分蛋白质发生变性, 进而致使肌肉产生颜色发白、保水性差等特征。

动物宰后初期的诸多因素中, pH 和温度 (pH/T) 的变化过程对肌肉品质形成的影响作用尤其重要。一般来说, 迅速的 pH 下降结合一定的温度会导致部分水溶性肌浆蛋白发生变性, 而导致 PSE 肉的形成。前期的研究结果也表明, 宰后 45 min 的 pH 可以很好的预测肉质, 从而用于猪肉 PSE 肉的判定<sup>[2]</sup>。因此, 生猪屠宰工业上经常使用设备测定胴体宰后 45 min 时的肌肉 pH 和温度来监控肉质变化。近期研究进展表明, 宰后糖酵解速度加快会造成肌浆蛋白发生变性, 而变性的肌浆蛋白的溶解性会下降, 并将会与大分子的肌原纤维蛋白结合, 从而导致整个肌肉蛋白系统的

收稿日期: 2014-02-21

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31301507); 江苏省高校自然科学基金面上项目 (13KJB550006); 江苏省第二师范学院“十二五”科研规划第二期课题 (Js jy2012yb06)

作者简介: 朱学伸 (1984-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 肉品加工与质量控制

保水性下降以及光散射度增加<sup>[3]</sup>；以上的变化过程被认为是典型的PSE肉形成过程。最近，本课题组研究发现宰后初期较长时间（4 h）使肉鸡或火鸡的肌肉保持40℃同样可以造成类似以上的PSE肉形成过程。在这个过程中，宰后初期糖酵解速度会被加快<sup>[4]</sup>。

本文主要研究目的是宰后初期温度对猪肉品质的影响，通过分析宰后温度调控肌肉中糖酵解速度的过程，及肌肉蛋白质特性的变化，了解宰后猪PSE肉特征形成与初期温度的明确关系。随着我国生猪总体产量的提升，及其在世界肉类消费中的比重的增加，因此猪PSE特征产生与宰后温度关系研究具有广泛的应用前景。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

猪肉采自国内某商业屠宰场，实验随机选取4头生猪（三元猪，8月龄）经麻电后放血屠宰，并于屠宰后20 min取背最长肌600 g，并分成三份分别进行3种温度（0、20、40℃）的温度水浴处理，孵育时间保持2 h，之后取出放置0~4℃保存至宰后24 h。在整个处理过程中，分别于宰后20 min，1 h、2 h、24 h取肉样并立即于液氮中冷冻并带回实验室放置-40℃冰箱保存以待测定生化指标。另外测定宰后24 h肉样的肌肉品质。

### 1.2 仪器和设备

高速离心机（5804R），德国Eppendorf；高速匀浆器（FSH-2），中国荣华；紫外分光光度计（TU1901），中国普析；小型垂直电泳槽（X-CELL），美国Invitrogen；电泳仪（POWER pac），美国Bio-Rad；凝胶成像系统（GBOX-F3-E），英国Syngene；pH计（PB10），德国Sartorius；蛋白质分子量标准（SEE blue），美国Invitrogen；其他化学试剂最低为分析纯。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 pH值测定

本实验中pH值得测定方法是参考Bendall的方法<sup>[5]</sup>，并略微修改。提取物的处理方法是1 g肉样在10 mL的0.005 mol/L碘乙酸钠溶液中匀浆，然后使用pH计进行测定，所有pH计校正及测定均在室温下（20℃）进行。

#### 1.3.2 乳酸含量和R值的测定

乳酸的测定采用乳酸试剂盒进行测定（南京建成生物试剂公司）。R值的测定方法主要是参考Honikel

（1976）方法<sup>[6]</sup>。冷冻肉样（0.5~1 g）在5 mL的1 mol/L高氯酸中匀浆，匀浆液通过定量滤纸过滤。0.1 mL过滤液用4.9 mL的0.1 mol/L磷酸缓冲液（pH 7.0）中稀释。测定稀释液在250 nm处的吸收值（ $A_{250}$ ）和260 nm处的吸收值（ $A_{260}$ ）。R值计算公式为 $A_{260} : A_{250}$

#### 1.3.3 SDS-PAGE 分析

肌原纤维与肌浆蛋白的提取方法依据Joo等人的方法<sup>[7]</sup>。取1 g肌肉在20 mL僵直缓冲液（0.075 mol/L KCl，0.005 mol/L  $K_3PO_4$ ，0.002 mol/L  $MgCl_2$ ，pH 7.2）中匀浆，匀浆液在10000×g，4℃，10 min的条件下离心，上清倒出并保留为肌浆蛋白溶液。沉淀再次加入20 mL僵直缓冲液匀浆，之后按照以上条件再次离心，取沉淀重复以上匀浆离心等步骤。最后沉淀所得加入20 mL僵直缓冲液匀浆得到悬浊液为肌原纤维蛋白溶液。利用双缩脲方法测定肌浆蛋白和肌原纤维溶液，并将所有样品的蛋白浓度调至2 mg/mL。SDS-PAGE样品制备使用样品缓冲与肌浆蛋白和肌原纤维蛋白混合沸水浴煮3~4 min。SDS-PAGE系统使用Invitrogen凝胶配套系统，12%梯度胶采用的是Invitrogen预制配胶溶液配制，150 V恒压电泳30 min，进样量10  $\mu$ L。

#### 1.3.4 肌肉品质分析

极限pH的测定以宰后24 h的pH值为计。肌肉亮度值（ $L^*$ 值）采用色差计进行测定。测定条件：光源D65、测定直径8 mm。测定时，肌肉新鲜切面先放置空气中保持15 min。

蒸煮损失计量参照蒸煮后样品质量损失占初始质量的比率。肉样密闭包装并放置于80℃水浴中蒸煮25 min达到中心温度为71~75℃，之后流水冷却，之后样品按照20×15×5 mm的体积取3块样品，并称重。修整后的样品纤维的方向与剪切方向保持垂直，通过剪切力仪下进行测定。

## 1.4 统计分析

数据采用Excel 2003和SPSS 19.0软件进行统计处理。

## 2 结果与讨论

### 2.1 宰后糖酵解有关生化指标变化

宰后pH变化曲线如图1所示，宰后1 h至2 h期间40℃处理组较其他两组的pH下降速度较快（ $P<0.05$ ），然而在0℃和20℃处理组中间没有差别（ $P>0.05$ ）。作为糖原酵解的最终产物乳酸，其含量变化在本次实验进行了测定，结果如图2所示。宰后初

期 20 min 至 2 h 期间, 40 °C 处理组的乳酸积累速度较其他两组较快 (P<0.05), 因此可以导致 pH 的迅速下降, 其结果与之上发现的 20 °C 处理组 pH 的变化结果吻合。作为反映 ATP 代谢的重要指标 R 值也在本次实验进行了测定, 结果见图 3。宰后初期 20 min~2 h 期间, 40 °C 处理组的 R 值均高于其它两个处理组 (P>0.05), 然而在 0 °C 和 20 °C 处理组中间不存在较大差别 (P>0.05), 以上结果说明了高温处理组 (40 °C) ATP 代谢速度要快于其它两组, 从侧面表明宰后初期高温下猪肉的 ATP 的代谢速度显著加快。综合以上结果表明宰后初期高温组下肌肉的糖酵解速度被显著加快。

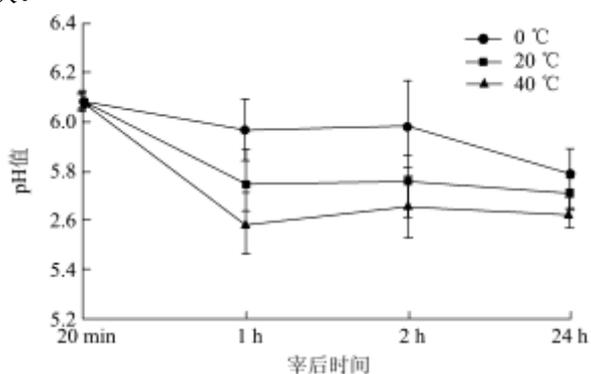


图 1 不同温度 (0, 20, 40 °C) 处理组的猪肉的 pH 值变化曲线 (n=4)

Fig.1 The pH changes of porcine pectoralis major muscle processed by different temperatures.

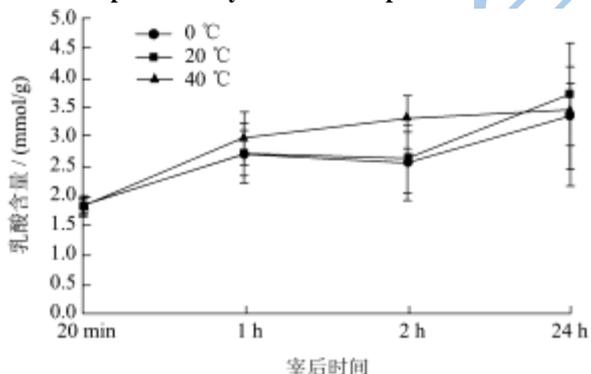


图 2 不同温度 (0, 20, 40 °C) 处理组的猪肉的乳酸含量变化曲线 (n=4)

Fig.2 The lactose acid changes of porcine pectoralis major muscle processed by different temperatures

宰后肌肉中能量代谢与无氧糖酵解过程显著相关, 宰后初期肌肉中糖酵解酶的活性仍然存在。根据我们最近的报道显示宰后 ATP 降低的情况下, AMP 激活蛋白激酶作为能量开关, 仍可以调控宰后肌肉系统中 ATP 的总量<sup>[8]</sup>。本文中结果显示, 40 °C 的处理组有着较快的 R 值升高, 反应了 ATP 代谢成 IMP 的速度较快, 相应的会加快糖原酵解速度, 同样本文的

乳酸测定结果和 pH 下降速度也可以很好的印证较快的糖酵解速度。因此以上所有结果显示宰后初期高温条件下由于 ATP 的迅速代谢, 导致了较快的糖原酵解速度, 从而积累较多的乳酸, 引起了 pH 值迅速下降。关于宰后温度对于 pH 值下降速度的影响, 有学者研究家禽胸肉受宰后温度的影响关系, 并报道了与本文类似研究的结果, 即孵育在 40 °C 条件下家禽胸肉样较 0 °C 与 20 °C 的条件下的肉样的 pH 值下降速度要快<sup>[9]</sup>。需要指出的是, 一般来说家禽的 pH 值下降速度要显著快于猪等大型哺乳动物, 尤其是火鸡的 pH 值宰后下降速度可高达 0.03 pH/min<sup>[10]</sup>。我们的结果发现宰后温度 0 °C 与 20 °C 处理组之间却没有显著变化。其原因可能是由于宰后初期 0 °C 条件下肌肉发生了收缩, 由于钙离子浓度的变化而加速了无氧酵解速度, 最终使两个低温组之间的 pH 下降速度没有显著差异。以上猪肉中总体的结果与我们近期已发表的宰后初期高温提高家禽胸肉的糖酵解速度的结果类似, 说明了同一个变化情况<sup>[8]</sup>。需要指出的是, 高温条件下调控猪肉糖酵解的具体的信号传递通道有待于进一步研究。

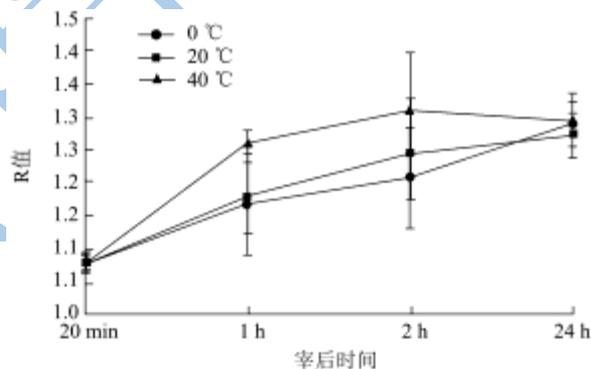


图 3 不同温度 (0, 20, 40 °C) 处理组的猪肉的 R 值变化曲线 (n=4)

Fig.3 The R value changes of porcine pectoralis major muscle processed by different temperatures

## 2.2 肌肉蛋白 SDS-PAGE 图谱变化

提取猪肌肉中的肌浆蛋白部分以及对应的肌原纤维蛋白部分, 通过 SDS-PAGE 分析可以发现 (图 4) 不同温度间肌原纤维蛋白部分差异较小, 而肌浆蛋白部分图谱存在了显著差异: 高温处理的猪肉的肌浆蛋白 100 ku 的条带表达量少; 而该条带在对应的肌原纤维部分发现有较多表达。另外在 35 ku 的条带出现了类似的结果, 推测部分高温组的小分子肌浆蛋白发生了变性, 可能与肌原纤维部分发生联系。

蛋白质特性是对肌肉维持水分的能力起到较大的影响作用, 尤其肌肉中小分子肌浆蛋白的状态均对肌

肉保水性影响很大,若肌浆蛋白的变性会造成肌肉保水性减弱。部分原因可能是变性的小分子肌浆蛋白覆盖在大分子的肌肉蛋白上,客观上形成了一定的屏障其一定程度上阻隔了水分子与肌原纤维蛋白分子的作用力,尤其是阻挡肌球蛋白与水的接触而造成的<sup>[11]</sup>。有报道发现肌酸激酶和磷酸化酶变性后会附着在肌纤维A带周围<sup>[12]</sup>。另外,最近的一篇有关文章也报道了宰后高温处理后猪肉蛋白中的肌酸激酶和糖原磷酸化酶蛋白特性发生改变,溶解度下降而与肌原纤维蛋白部分发生紧密联系<sup>[13]</sup>。本文结果也显示高温条件下肌浆蛋白中的分子量100 ku, 35 ku的蛋白成分表达量显著减少。

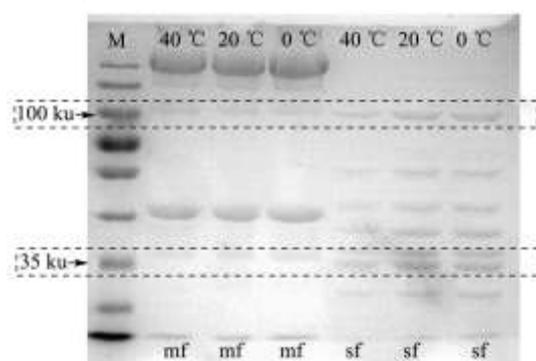


图4 不同温度(0, 20, 40 °C)处理组的猪肉提取的肌浆蛋白和肌原纤维 SDS-PAGE 图谱

Fig.4 SDS-PAGE patterns of porcine *pectoralis major muscle* samples at 24 h postmortem

注: M 是标准蛋白, mf 是肌原纤维蛋白, sf 是肌浆蛋白。

## 2.3 肌肉品质分析

表1 不同温度处理组的猪肉品质分析

Table 1 Meat quality of porcine *pectoralis major muscles* of different temperature groups

肉品特征	0 °C	20 °C	40 °C
pH 值	5.79±0.09	5.71±0.05	5.63±0.05
亮度值 (L*)	43.22 <sup>a</sup> ±0.12	46.60 <sup>a</sup> ±0.03	53.01 <sup>b</sup> ±0.07
红度值 (a*)	8.82±0.07	6.53±0.03	6.77±0.04
黄度值 (b*)	-1.06±0.02	-5.78±0.02	1.89±0.08
剪切力 (kgf)	5.69±1.85	4.58±1.06	5.73±0.55
蒸煮损失/%	16.58±3.72	18.82±5.39	19.23±5.22

注: 同行中, 数据 (mean±SD, n=4) 带有不同上标 (a, b) 的差异显著。

宰后不同温度孵育对猪肌肉品质的影响见表1。结果显示宰后不同温度孵育对猪极限pH没有影响 ( $P>0.05$ )。高温组的肌肉较其他两组的有较高的L\* ( $P<0.05$ ), 然而a\*值与b\*值在各处理组之间没有区别 ( $P>0.05$ )。高温处理的猪肌肉蒸煮损失高于其它两组,

其剪切力同样高于其它两组,但统计上不显著。值得一提的是,与禽类相比,猪肉的剪切力要高。以上品质分析结果说明宰后初期高温组导致了猪肉的肌肉品质与加工特性显著下降,但其引起以上差异的原因并不是因为极限pH值的显著降低,宰后初期的pH值迅速下降伴随高温的条件可是造成以上品质变化的主要原因。

针对于宰后高温对于 pH 下降速度及蛋白质状态的影响,我们随后跟进分析了其对肌肉品质的影响。研究结果显示宰后初期不同温度处理下猪肉颜色亮度值存在显著差异,联系之上的肌浆蛋白部分变性的研究结果,再次例证了 L\*值与小分子肌肉蛋白溶解性的反比关系。许多学者报道肌浆蛋白的变性显著提高肌肉对光的散射率,从而使亮度增加,该过程中由于肌浆蛋白的变性,其维持水分的能力减弱,水分发生迁移最终导致细胞外聚集<sup>[14]</sup>。另外我们研究结果显示,宰后初期温度对于蒸煮损失与剪切力等指标影响不显著。这与之之前报道的家禽在宰后初期高温下显著提高其剪切力的结果存在差异,其原因可能是高温处理的时间不同,本次试验高温孵育为2 h,与以上作者的处理时间相比较短。综合分析本文高温对肌肉蛋白质以及肉色和保水性等品质的影响可以得出宰后高温导致了PSE特征肉的产生。但同时值得一提的是,高温处理产生的PSE特征肉与PSE肉之间还存在着差异,差异则主要集中在极限 pH 的方面。另有报道发现宰后初期高温处理的家禽肌肉保水性较差,其滴水损失显著高于正常肉鸡肌肉。

## 3 结论

猪肉中 ATP 的降解速度受到宰后早期不同温度的影响显著,主要是高温下导致了能量的快速代谢,肌肉乳酸的快速积累,迅速解离出更多的 H<sup>+</sup>,造成了肌肉部分小分子肌浆蛋白的性质发生改变,影响了肌肉表面的颜色,使其呈现较高的亮度值以及较差的维持水分能力。推测其机理可能是小分子蛋白的溶解度下降,最终阻隔了水分子与肌原纤维蛋白分子的作用力,导致细胞外液水分聚集,最终使肌肉品质下降。在实际生猪屠宰加工中,生猪胴体必须经过 40 °C 以上的高温工序(如烫毛等)处理,因此如何缩短处理时间及采取有效的冷却方式至关重要。

## 参考文献

- [1] Barbut S, Sosnicki A A, Lonergan S M, et al. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat [J]. Meat Science, 2008, 79(1): 46-63

- [2] Warris P D, Brown S N. The relationship between initial pH, reflectance and exudation in pig muscle [J]. *Meat Science*, 1987, 20: 65-72
- [3] Pietzak M, Greaser M L, Sosnicki A A. Effect of rapid rigor mortis processes on protein functionality in pectoralis major muscle of domestic turkeys [J]. *Journal of Animal Science*, 1997, 75(8): 2106-2116
- [4] Xueshen Z, Ruusunen M, Gusella M, et al. High post-mortem temperature combined with rapid glycolysis induces phosphorylase denaturation and produces pale and exudative characteristics in broiler [J]. *Meat Science*, 2011, 89(2): 181-188
- [5] Bendall J R. Relations between muscle pH and important biochemical parameters during the postmortem changes in mammalian muscles [J]. *Meat Science*, 1979, 3: 143-157
- [6] Honikel K O, Roncalés P, Hamm R. The influence of temperature on shortening and rigor onset in beef muscle [J]. *Meat Science*, 1983, 8: 221-241
- [7] Joo S T, Kauffman R G, Kim B C, et al. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle [J]. *Meat Science*, 1999, 52: 291-297
- [8] Xueshen Z, Ruusunen M, Gusella M, et al. High early post-mortem temperature induces activation of AMP-activated protein kinase and development of pale, soft and exudative characteristics in turkey muscles [J]. *Meat science*, 2012, 93 (3), 600-606
- [9] Molette C, Réminon H, Babilé R. Maintaining muscles at a high post-mortem temperature induces PSE-like meat in turkey [J]. *Meat Science*, 2003, 63: 525-532
- [10] Young J F, Karlsson A H, Henckel P. Creatine and glycose in drinking water reducing pH (3-4 h) and water-holding capacity in chicken [C]. In *Proceedings 48th International Congress on Meat Science and Technology*. 25-30 August, Rome, Italy, 2002: 602-603
- [11] Puolanne E, Halonen M. Theoretical aspects of water-holding in meat [J]. *Meat Science*, 2010, 86: 151-161
- [12] Pietzak M, Greaser M L, Sosnicki A A. Effect of rapid rigor mortis processes on protein functionality in pectoralis major muscle of domestic turkeys [J]. *Journal of Animal Science*, 1997, 75: 2106-2116
- [13] Jiao L, Ruusunen M, Puolanne E, et al. Effect of pre-rigor temperature incubation on sarcoplasmic protein solubility, calpain activity and meat properties in porcine muscle [J]. *Meat Science*. 2014, 55(2): 483-489
- [14] Swatland H J. How pH causes paleness or darkness in chicken breast meat [J]. *Meat Science*, 2008, 80: 396-400