

HADH 酶法快速区分新鲜肉与解冻肉方法的建立

孙浩^{1,2}, 倪辉^{1,2,3}, 陈峰^{1,3}, 张素芳¹, 蔡慧农^{1,2,4}

(1. 集美大学食品与生物工程学院, 福建厦门 361021) (2. 福建省食品微生物与酶工程重点实验室, 福建厦门 361021) (3. 美国克莱姆森大学食品科学、营养与包装科学系, 美国南卡罗琳州 29634) (4. 厦门市食品与生物工程技术研究中心, 福建厦门 361021)

摘要: 为快速区分新鲜猪肉与解冻猪肉, 以新鲜猪肉(冷鲜肉与鲜宰肉)和解冻猪肉为研究对象, 优化并建立根据 HADH 酶活值快速区分新鲜猪肉和解冻猪肉的方法。研究结果显示, HADH 酶活值的最佳测定时间为 150 s, 双乙酰辅酶 A (Acetoacetyl-CoA) 最适添加量为 10 μ L, 浸提液最佳反应体积为 22.5 μ L, 浸提液最佳反应时间为 15 min; 利用该方法测得的鲜宰三层肉、鲜宰排骨肉、鲜宰里脊肉和鲜宰前腿肉与对应部位的冷鲜肉 HADH 酶活值无显著性差异, 不同部位新鲜肉(鲜宰肉与冷鲜肉)的 HADH 酶活值与对应部位解冻肉的 HADH 酶活值具有极显著差异; 判别分析结果结合显著性分析结果显示, 当样品 HADH 酶活值小于 186 时为新鲜猪肉, 大于 250 时为解冻猪肉, 介于两者之间时需重新判断, 利用该阈值判断的加密样品准确率为 100%。该研究为快速判断新鲜猪肉和解冻猪肉提供参考, 为解冻肉鉴别的深入研究提供理论基础。

关键词: HADH 酶活; 解冻肉; 新鲜肉; 显著性分析; 判别分析

文章编号: 1673-9078(2015)10-196-20

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.10.033

Establishment of a Rapid Method for Differentiating Fresh and Thawed Meat Based on β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase Activity

SUN Hao^{1,2}, NI Hui^{1,2,3}, CHEN Feng^{1,3}, ZHANG Su-fang¹, CAI Hui-nong^{1,2,4}

(1.College of Food and Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China)

(2.Fujian Provincial Key Laboratory of Food Microbiology and Enzyme Engineering, Xiamen 361021, China)

(3.Department of Food, Nutrition and Packaging Sciences, Clemson University, Clemson, SC 29634, USA)

(4.Research Centre of Food Biotechnology of Xiamen City, Xiamen 361021, China)

Abstract: In order to differentiate fresh and thawed pork rapidly, fresh pork (fresh chilled pork and freshly slaughtered pork) and thawed pork were used as research objects, and a method based on the β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase (HADH) activity value for the rapid differentiation of fresh pork and thawed pork was established and optimized. The results showed that the optimum conditions were as follows: the optimum time for analyzing HADH activity, 150 s; the optimum amount of added acetoacetyl-CoA, 10 μ L; the optimum reaction volume of extracts, 22.5 μ L; and the optimum reaction time of extracts, 15 min. No significant differences were found on HADH activity value between fresh chilled pork belly, rib, tenderloin, and foreleg and their corresponding freshly slaughtered pork counterparts. Significant differences were found in HADH activity value between different cuts of fresh pork (fresh chilled pork and freshly slaughtered pork) and the corresponding thawed pork counterparts. The combination of discriminant analysis and significance analysis showed that the unknown sample was fresh pork if the HADH value was lower than 186; it was thawed pork if the HADH value was higher than 250; and the sample should be re-analyzed if the value was between 186 and 250. The accuracy of test samples using this threshold was 100%. This research provides a reference for rapidly distinguishing fresh pork from thawed pork, and builds a theoretical foundation for the in-depth study of the identification of thawed pork.

Key words: β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase (HADH) activity; thawed pork; fresh pork; significance analysis; discriminant analysis

新鲜猪肉是一类没有经过冷冻处理并且符合肉

收稿日期: 2014-11-20

基金项目: 集美大学省部级平台建设基金(集美大学科研[2013]17号), 集美大学科研创新团队基金(2010A006)

作者简介: 孙浩(1988-), 男, 硕士研究生

通讯作者: 蔡慧农, 男, 教授, 主要研究方向为食品生物技术和食品化学

品通用卫生标准的高品质猪肉, 一般包括鲜宰肉和冷鲜肉。新鲜猪肉是消费者最喜爱食用的肉品, 占据着猪肉零售消费市场的最大份额, 冷冻肉是指畜肉宰杀后, 经预冷排酸, 急冻, 继而在-18 $^{\circ}$ C 以下储存, 深层肉温达-6 $^{\circ}$ C 以下的肉品。冷冻猪肉食用前, 必然经过解冻处理, 然而解冻过程中常常伴随着肉品内部细

胞液流失和蛋白质降解等,在一定程度上会影响肉品质^[1]。因此,从肉品营养和风味的角度考察,冷冻肉品并非食用的最佳选择^[2-3]。

在肉类零售市场中,新鲜肉(鲜宰肉和冷鲜肉)和解冻肉同时被销售。由于这两种肉品间流通成本和消费习惯上的不同,销售价格差异较大,其中鲜宰肉或冷鲜肉的零售价格较高,而解冻肉的价格偏低,其价格差最高可达到50%。客观存在的肉品价格差异,导致一些不法商贩以解冻猪肉冒充新鲜猪肉出售, Gremaud 等人^[4]发现,瑞士43个肉类样本中15%的冷冻肉被错误标为鲜肉, Russell 等^[5]也发现英国534个肉样本中有8%的肉被错误标记。

目前消费市场中新鲜肉和解冻肉的鉴别主要依赖感官判断和仪器分析,感官判别较难实际掌握并难以标准化,而通过现代仪器检测来区分鉴别新鲜肉和解冻肉的方法目前多处于实验室阶段,如 Gerard 等^[6]通过观察肉品存贮过程中脱氧肌红蛋白、高铁肌红蛋白和氧合肌红蛋白发生不同的变化,提出利用“可见-近红外反射光谱因子分析法鉴别新鲜/冷冻-解冻牛肉”的方案, Carroll 等^[7]提出利用电镜观察肉品细胞的微观结构判断肉是否经过冷冻,孙浩等^[8]则提出利用可追溯体系从根本上解决由信息不对称引起的问题,还有些研究者利用肉的电导率、挥发性氮盐等^[9]鉴别肉是否经过冷冻,这些方法虽然可行,但效率低且操作困难。随着研究的进一步深入,酶法检测由 Russell 提出^[6],与其他方法相比,酶法检测具有前处理方便、检验周期短、仪器简单等优点,特别适合普通理化检验实验室的使用^[6],然而国内外没有利用酶法鉴别解冻猪肉与新鲜猪肉的研究报道,研究的其它样品中也未涉及简单有效的判断方法,因此本文建立一套利用 HADH 酶活快速区分解冻猪肉与新鲜猪肉的方法,为新鲜猪肉与解冻猪肉产品的鉴别提供支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鲜宰猪肉(10只大小各异的猪)由福建省银祥集团提供,用尖刀切取每只猪三层肉、前腿肉和里脊肉各10块,排骨肉30块并进行标记,每块大小为 3 ± 0.5 g肉块(长 \times 宽 \times 厚约为 $2\text{ cm}\times 2\text{ cm}\times 1\text{ cm}$),用滤纸吸干猪肉样本表面附着水,剔去皮、脂肪、骨、腱等组织后置于烧杯内。将所有的肉平均分为三大组进行实验,每组不同部位的肉共150块,其中将A组于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置48 h,室温水浴30 min解冻后测量,B组立即测量,C组于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置48 h后测量。烟酰胺腺嘌呤二核

昔酸(NADH)、EDTA和双乙酰辅酶A(Acetoacetyl-CoA)标准品均购于美国Sigma公司,其它试剂均为常规试剂。

BS223S电子分析天平购于赛多利斯科学仪器厂,紫外-可见分光光度计以及1 mL微量比色杯购于尤尼科仪器有限公司。

1.2 实验原理

β -羟基辅酶A脱氢酶(HADH酶)是一种广泛存在于细胞的线粒体酶。在冷冻过程中,组织里的自由水冻结形成小冰晶,而在解冻过程中,小冰晶聚集成大冰晶,使细胞遭到破坏,HADH酶随之释放出来,因此解冻肉的HADH酶活理论上高于新鲜肉,通过测定HADH酶活可以区分解冻肉与新鲜肉。本方法建立在酶促反应基础上,在室温($25\text{ }^{\circ}\text{C}$)、 $\text{pH}=6$ 的条件下,HADH酶在Acetoacetyl-CoA的协同作用下,使底物NADH脱氢。HADH酶作为催化剂作用于NADH脱氢过程,通过观察反应速度可判断HADH酶活。

其反应过程如下:



由于反应速率可通过NADH(反应物)的减少速率来判断,而NADH在340 nm处有最大吸光值,故HADH酶活高低可通过NADH在340 nm处吸光值的下降速率判断。

1.3 实验方法

参考相关文献^[2,10]得到实验方法为:样品中加入10 mL浓度为0.1 mol/L磷酸盐缓冲液($\text{pH}=6$),使猪肉样品充分浸润,静置一段时间后(浸提时间)用0.22 μm 水膜过滤,取22.5 μL 滤液加入600 μL 磷酸盐缓冲液中,立即加入47 μL 的EDTA混匀(34.4 mM),反应三分钟后加入27 μL 的NADH(1.5 mM)和一定体积的Acetoacetyl-CoA(5.9 mM),混合均匀后立即在340 nm处测定吸光度 A_0 值,每隔10 s读取一次吸光值,记录前几分钟的吸光值(测定时间)。然后以所测定的吸光值(ABS)为纵坐标,测定时间(min)为横坐标作图,得到斜率(slope),HADH酶活以HADH酶活值表示:

$$\text{HADH value} = -10^4 \times \text{slope}$$

根据NADH的减少速率判断,即340 nm处吸光值的变化速率(减小速率)判断HADH酶活高低。该实验在常温下进行。

1.4 实验内容

(1) 优化最佳反应条件。将排骨肉做为研究对

象,分析并优化浸提时间(10 min、15 min、20 min、25 min、30 min)、测量时间(2 min、3 min、4 min、5 min)、Acetoacetyl-CoA 体积(5 μ L、10 μ L、15 μ L、20 μ L)以及宰杀时间(4 h、8 h、12 h、16 h、24 h)对猪肉 HADH 酶活影响。前期研究中发现,鲜宰排骨肉与冷鲜排骨肉 HADH 酶活值无显著性差异,所以除浸提时间外只选取冷鲜排骨肉做进一步优化研究。优化浸提时间时,测量时间为 2 min,Acetoacetyl-CoA 体积为 10 μ L,每组 10 个平行。

(2)测定不同部位新鲜肉与解冻肉的 HADH 酶活值。将三层肉、排骨肉、前腿肉和里脊肉各分为三组,其中 A 组于 -18 $^{\circ}$ C 放置 48 h,室温水浴 30 min 解冻后测量, B 组立即测量, C 组于 4 $^{\circ}$ C 放置 48 h 后测量。由于研究中发现不同部位的鲜宰肉与冷鲜肉 HADH 酶活值无显著性差异,固用冷鲜肉代表新鲜肉做进一步研究。

(3)建立判别新鲜肉与解冻肉的分析方法。将任意部位的解冻肉与新鲜肉(冷鲜肉)各 36 份置入 SPSS,通过对比其酶活值,建立判别分析方法。然后根据判别结果结合显著性结果重新确定判断新鲜肉与解冻肉的 HADH 酶活阈值。

(4)新酶活阈值的检验。将 30 个经加密后的样本作为判断对象判断新酶活阈值的准确性。

1.5 统计学方法

显著性分析使用 SPSS 19.0 软件,假设齐方差,采用邓肯多重比较法。判别分析方法使用 SPSS 19.0,分析采用 Fisher 判别分析法对解冻肉和新鲜肉进行归类^[11]。假设数据分布为标准正态分布,采用判别分析结果加减 1 个标准偏差方法重新确定新的判断阈值,其中积分值查标准正态分布表所得。

2 结果与讨论

2.1 测定 HADH 酶活值实验方法的优化

样本提取液 HADH 浓度处于适宜的范围(相对于反应底物浓度),HADH 酶活反应才会平稳发生,因为浸提时间太短会使 HADH 酶较少的渗透到浸提液中,浸提时间太久则导致解冻猪肉的 HADH 酶过早停止渗透到溶液中,降低解冻肉与新鲜肉 HADH 酶活值的显著性。通过实验(表 1)发现,不同提取时间的鲜宰肉与冷鲜肉 HADH 酶活值无显著性差异,但它们与解冻肉均具有极显著性差异。因此,可选择 10-30 min 内的任意时间进行分析测定,为研究方便,选取 15 min 做为下一步研究基础。此外,由于鲜宰肉与冷鲜肉 HADH 酶活值无显著性差异,所以在后续优化中只选取冷鲜肉作为进一步研究。

表 1 不同提取时间对 HADH 酶活的影响

Table 1 Effect of different extraction times on HADH activity

样品	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
解冻肉酶活	398.21 \pm 9.14 ^a	405.31 \pm 7.12 ^a	430.81 \pm 16.13 ^a	449.41 \pm 21.33 ^a	417.41 \pm 48.97 ^a
鲜宰肉酶活	80.35 \pm 6.13 ^b	99.41 \pm 6.63 ^b	114.54 \pm 15.64 ^b	118.14 \pm 20.38 ^b	124.82 \pm 32.65 ^b
冷鲜肉酶活	79.56 \pm 11.61 ^b	88.43 \pm 27.51 ^b	101.31 \pm 6.76 ^b	118.12 \pm 12.15 ^b	124.53 \pm 41.11 ^b

注:同一列不同字母代表不同样品间具有显著性差异(P<0.001)。

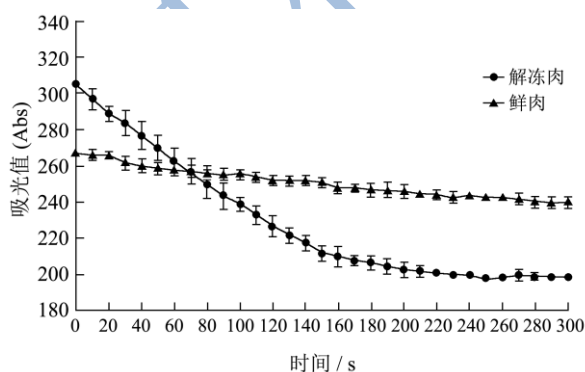


图 1 解冻肉与新鲜肉在 340 nm 处吸光值随时间的变化

Fig.1 Change in absorbance of thawed pork and fresh pork at 340 nm

Acetoacetyl-CoA(乙酰辅酶 A)是帮助 HADH 酶顺利催化 NADH 的一种辅酶,在市场上售价较高,添

加量过少会导致解冻肉 HADH 酶活值与新鲜肉 HADH 酶活值显著性降低,而添加量过多则造成不必要的浪费。Acetoacetyl-CoA 添加量优化结果显示,添加量 10 μ L 以上时解冻肉 HADH 酶活值与新鲜肉 HADH 酶活值显著性非常接近,所以选择添加 10 μ L 做为下一步研究基础。

根据图 1 得知,新鲜肉与解冻肉的吸光值在 150 s 反应时间内呈线性下降,150 s 后数据采集时间段内反应底物 NADH 过早消耗过度,该图说明在 150 s 之后解冻肉的 NADH 几乎被完全分解,已不符合酶反应动力学规律。因此,选择 HADH 酶活值最佳测定时间为 150 s 作为下一步研究基础。

动物活体经宰杀后,细胞内自溶酶和环境微生物便开始发生作用^[9]。鲜宰猪肉在生产 and 流通过程中

始终伴随着组织自溶和腐败现象，无论是微生物降解或细胞自溶的作用，都可能造成细胞膜破损、pH 值改变等后果^[9,12]，进而影响提取液液中 HADH 酶浓度和活力，并影响 HADH 酶活值测定，干扰新鲜猪肉/解冻猪肉的判断。

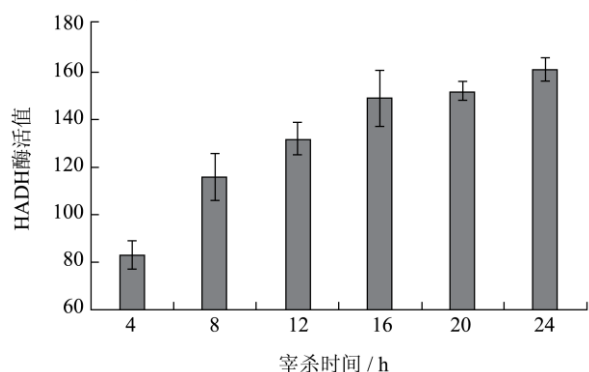


图2 宰杀时间对新鲜肉 HADH 酶活的影响

Fig.2 Effect of slaughter time on HADH activity

由图2的数据显示，鲜宰肉宰杀 24 h 内，其 HADH 酶活值有轻微的增大。其原因可能是由于宰杀后的猪肉细胞内自溶酶不断作用，肌肉细胞膜结构开始发生不同程度降解而产生破损，胞内的线粒体酶 HADH 有少量释出。为方便研究，本研究选用鲜宰的冷鲜猪肉为研究对象。

2.2 不同部位新鲜肉与解冻肉 HADH 酶活值

的分析结果

由于不同部位含有线粒体数量不一样，因此，HADH 酶活值可能有一定差异。为进一步综合对比新鲜肉与解冻肉 HADH 酶活值差异，将不同部位的肉进行对比如表 2 所示。

表 2 不同部位鲜肉与冷冻肉 HADH 酶活的对比

Table 2 Comparison of HADH activity values for different parts of

fresh and thawed pork

部位	HADH 酶活值			P 值
	解冻肉	鲜宰肉	冷鲜肉	
三层	371.01±60.72 ^a	64.41±8.72 ^b	68.43±7.51 ^b	<0.001
排骨	394.35±55.04 ^a	101.56±24.22 ^b	105.62±21.23 ^b	<0.001
前腿	480.89±64.91 ^a	164.36±22.83 ^b	145.44±22.85 ^b	<0.001
里脊	376.44±25.36 ^a	72.45±5.41 ^b	96.56±33.82 ^b	<0.001

注：同一行不同字母代表不同样品具有显著性差异，P<0.001。

从表 2 分析得知，解冻三层肉 HADH 酶活均值为 371，标准偏差为 60，鲜宰三层肉 HADH 酶活均值为 64，标准偏差为 9，冷鲜三层肉 HADH 酶活均值为 68，标准偏差为 18，解冻三层肉与新鲜三层肉（鲜宰肉和

冷鲜肉）HADH 酶活值具有极显著差异，鲜宰三层肉与冷鲜三层肉 HADH 酶活值无显著性差异；解冻排骨肉 HADH 酶活均值为 394，标准偏差为 55，鲜宰排骨肉 HADH 酶活均值为 102，标准偏差为 24，冷鲜排骨肉 HADH 酶活均值为 106，标准偏差为 21，鲜宰排骨肉与冷鲜排骨肉 HADH 酶活值无显著性差异，解冻排骨肉与新鲜排骨肉 HADH 酶活值具有极显著性差异；解冻前腿肉 HADH 酶活均值为 481，标准偏差为 65，鲜宰前腿肉 HADH 酶活均值为 164，标准偏差为 23，冷鲜前腿肉 HADH 酶活均值为 145，标准偏差为 23，解冻前腿肉与新鲜前腿肉 HADH 酶活值具有极显著性差异，鲜宰肉与冷鲜肉 HADH 酶活值无显著性差异；解冻里脊肉 HADH 酶活均值为 376，标准偏差为 25，鲜宰里脊肉 HADH 酶活均值为 72，标准偏差为 5，冷鲜里脊肉 HADH 酶活均值为 97，标准偏差为 34，解冻里脊肉与新鲜里脊肉 HADH 酶活值具有极显著性差异，鲜宰里脊肉与冷鲜里脊肉 HADH 酶活值无显著性差异。该研究结果与之前学者对海产品研究结果类似，Manuela 等^[13]研究发现，发现新鲜对虾 HADH 酶活值为 10.8，解冻对虾 HADH 酶活值为 75，两组结果具有极显著性差异。

2.3 判别分析方法的建立

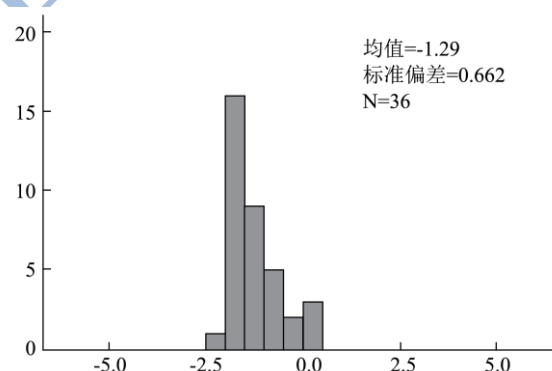


图3 新鲜肉 HADH 酶活值判别图

Fig.3 Discriminant analysis plot of HADH activity values for fresh pork

为快速判别猪肉样本是否经过冷冻，本小节建立区分新鲜肉与解冻肉的判别分析方法。将新鲜肉与解冻肉的 HADH 酶活值做判别分析，采用 Fisher 函数和组内相关矩阵绘制分组图，如图 3 和图 4。根据图 3 和图 4 得知，判别结果不能完全准确区分每一个解冻肉和新鲜肉（前面数据显示，依然有一些解冻肉的 HADH 酶活值小于新鲜肉的 HADH 酶活值）。

将所有数据绘制统计量结果如表 3，根据表 3 得知，解冻肉与新鲜肉 HADH 酶活判别阈值为 248，即当 HADH 酶活值小于 248 时，判别结果为新鲜肉，当

HADH 酶活值大于 248 时, 判别结果为解冻肉。根据此判别结果, 新鲜肉样品中有 3 个样品 HADH 酶活值高于解冻样品与新鲜样品的临界值, 解冻样品中有 6 个样品 HADH 酶活值低于解冻样品与新鲜样品的临界值。

为增加判别结果的精确性, 重新设置解冻肉与新鲜肉 HADH 酶活临界值。统计结果显示, 新鲜肉 HADH 酶活均值为 122, 标准偏差为 64, 解冻肉 HADH 酶活均值为 371, 标准偏差为 121。为方便新鲜肉与解冻肉的判断, 将新鲜猪肉 HADH 酶活临界值设定为 186(平均值 122 加一个标准偏差 64), 解冻猪肉 HADH 酶活临界值定位 250 (平均值 371 减一个标准偏差 121), 根据正态分布曲线 (1), 将新鲜肉从负无穷积分至 186, 得到的积分面积大于总面积的 80%, 解冻肉从 250 积分至正无穷, 得到的积分面积大于正态分布总面积的 80%, 说明新的临界值可以至少涵盖总数

据量的 80% 以上 (小于 20% 的样本需要重新判断)。

$$\varphi(x) = \int_{-\infty}^x \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{t^2}{2}} dt \quad (1)$$

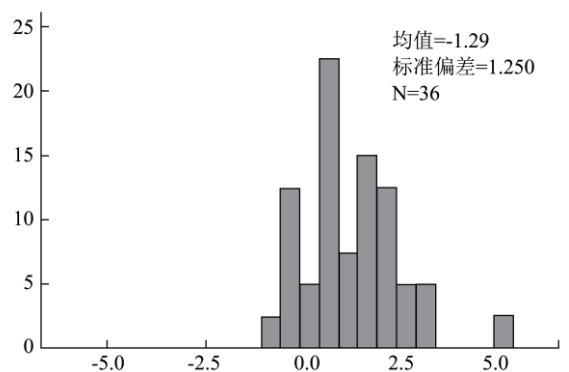


图 4 解冻肉 HADH 酶活值判别图

Fig.4 Discriminant analysis plot of HADH activity values for thawed pork

表 3 判别分析法统计量结果

Table 3 Statistical result of the discriminant analysis

NO.	实际组	最高组				第二最高组				判别式得分
		预测组	P(D>d G=g) p	df	P(G=g D=d)	到质心的平方 Mahalanobis 距离	组	P(G=g D=d)	到质心的平方 Mahalanobis 距离	
1	1	1	0.734	1	0.985	0.115	2	0.015	8.498	-1.627
2	1	1	0.481	1	0.994	0.497	2	0.006	10.763	-1.993
3	1	1	0.555	1	0.992	0.348	2	0.008	10.024	-1.878
4	1	1	0.551	1	0.992	0.356	2	0.008	10.063	-1.884
5	1	1	0.619	1	0.990	0.247	2	0.010	9.444	-1.785
6	1	1	0.485	1	0.994	0.488	2	0.006	10.722	-1.987
7	1	1	0.491	1	0.994	0.475	2	0.006	10.661	-1.977
8	1	1	0.693	1	0.987	0.156	2	0.013	8.826	-1.683
9	2	2	0.466	1	0.994	0.530	1	0.006	10.916	2.016
10	2	**1	0.317	1	0.677	1.000	2	0.323	2.483	-0.288
11	2	**1	0.737	1	0.921	0.113	2	0.079	5.016	-0.952
12	2	2	0.611	1	0.881	0.259	1	0.119	4.272	0.779
13	2	**1	0.413	1	0.770	0.671	2	0.230	3.085	-0.469
14	2	2	0.450	1	0.797	0.571	1	0.203	3.312	0.532
15	2	2	0.297	1	0.653	1.086	1	0.347	2.351	0.246
16	2	2	0.946	1	0.970	0.005	1	0.030	6.986	1.355
17	2	2	0.527	1	0.844	0.400	1	0.156	3.777	0.656
18	1	1	0.894	1	0.975	0.018	2	0.025	7.342	-1.422
19	1	1	0.745	1	0.985	0.106	2	0.015	8.420	-1.614
20	1	1	0.922	1	0.955	0.010	2	0.045	6.142	-1.190
21	1	1	0.559	1	0.992	0.341	2	0.008	9.984	-1.872
22	1	1	0.860	1	0.946	0.031	2	0.054	5.759	-1.112
23	1	1	0.722	1	0.917	0.127	2	0.083	4.929	-0.932

转下页

接上页

24	1	1	0.917	1	0.955	0.011	2	0.045	6.111	-1.184
25	1	1	0.851	1	0.944	0.035	2	0.056	5.700	-1.099
26	1	1	0.664	1	0.900	0.188	2	0.100	4.586	-0.854
27	2	2	0.000	1	1.000	14.459	1	0.000	40.683	5.090
28	2	2	0.605	1	0.991	0.267	1	0.009	9.562	1.804
29	2	2	0.563	1	0.861	0.335	1	0.139	3.986	0.709
30	2	2	0.760	1	0.984	0.094	1	0.016	8.304	1.594
31	2	2	0.031	1	1.000	4.664	1	0.000	22.423	3.447
32	2	2	0.107	1	0.999	2.598	1	0.001	17.535	2.900
33	2	2	0.681	1	0.988	0.169	1	0.012	8.922	1.699
34	2	2	0.429	1	0.995	0.624	1	0.005	11.330	2.078
35	2	2	0.338	1	0.997	0.919	1	0.003	12.493	2.247
36	1	**2	0.209	1	0.520	1.579	1	0.480	1.740	0.031
37	1	**2	0.397	1	0.757	0.718	1	0.243	2.986	0.440
38	1	1	0.736	1	0.920	0.114	2	0.080	5.012	-0.951
39	1	1	0.870	1	0.948	0.027	2	0.052	5.818	-1.124
40	1	1	0.581	1	0.869	0.305	2	0.131	4.096	-0.736
41	1	1	0.352	1	0.715	0.867	2	0.285	2.706	-0.357
42	1	**2	0.220	1	0.539	1.505	1	0.461	1.820	0.061
43	1	1	0.636	1	0.891	0.224	2	0.109	4.420	-0.814
44	1	1	0.299	1	0.655	1.080	2	0.345	2.361	-0.249
45	2	2	0.406	1	0.996	0.690	1	0.004	11.602	2.118
46	2	2	0.783	1	0.983	0.076	1	0.017	8.132	1.564
47	2	2	0.728	1	0.985	0.121	1	0.015	8.550	1.636
48	2	2	0.677	1	0.904	0.174	1	0.096	4.660	0.871
49	2	2	0.066	1	1.000	3.380	1	0.000	19.485	3.126
50	2	2	0.132	1	0.999	2.274	1	0.001	16.676	2.796
51	2	2	0.944	1	0.958	0.005	1	0.042	6.276	1.217
52	2	2	0.274	1	0.998	1.195	1	0.002	13.462	2.381
53	2	2	0.585	1	0.991	0.298	1	0.009	9.742	1.833
54	1	1	0.375	1	0.996	0.788	2	0.004	11.995	-2.176
55	1	1	0.522	1	0.993	0.409	2	0.007	10.340	-1.928
56	1	1	0.820	1	0.939	0.052	2	0.061	5.514	-1.060
57	1	1	0.868	1	0.947	0.027	2	0.053	5.809	-1.122
58	1	1	0.695	1	0.987	0.154	2	0.013	8.807	-1.680
59	1	1	0.741	1	0.985	0.109	2	0.015	8.444	-1.618
60	1	1	0.483	1	0.994	0.493	2	0.006	10.742	-1.990
61	1	1	0.944	1	0.971	0.005	2	0.029	6.999	-1.358
62	1	1	0.641	1	0.989	0.217	2	0.011	9.254	-1.754
63	2	2	0.540	1	0.850	0.376	1	0.150	3.852	0.675

转下页

接上页

64	2	2	0.500	1	0.829	0.456	1	0.171	3.612	0.613
65	2	2	0.242	1	0.575	1.371	1	0.425	1.974	0.117
66	2	**1	0.223	1	0.544	1.486	2	0.456	1.841	-0.069
67	2	**1	0.247	1	0.583	1.339	2	0.417	2.013	-0.131
68	2	2	0.858	1	0.946	0.032	1	0.054	5.742	1.108
69	2	2	0.461	1	0.805	0.543	1	0.195	3.381	0.551
70	2	**1	0.200	1	0.504	1.641	2	0.496	1.676	-0.007
71	2	2	0.442	1	0.792	0.590	1	0.208	3.268	0.520
72	1	1	0.549	1	0.992	0.358	2	0.008	10.076	-1.886

注: 1组为新鲜肉, 2组为解冻肉; 判别式得分中负值为新鲜猪肉, 正值为解冻猪肉。

2.4 判别分析验证实验

根据原始数据, 随机挑选 HADH 酶活值小于 186 (平均值 122 加一个标准偏差 64) 的新鲜猪肉样本 30 个, 挑选 HADH 酶活值大于 250 (平均值 371 减一个标准偏差 121) 的解冻猪肉样本 30 个, 将这两组数据分别定义为新鲜肉与解冻肉, 将介于 186 和 250 之间的样品定义为未分类。

取 30 个经加密后的样本作为判别对象, 将所有数据放入 SPSS 进行分析。根据盲样密码解密, 此次测验的准确率为 100%, 其中有 3 个样本需重新验证, 该解果说明此验证方法准确、有效。但为保证结果的准确性, 最好做 5 个以上平行试验。

3 结论

本研究以新鲜猪肉与解冻猪肉为研究对象, 将不同部位的新鲜肉与解冻肉分别进行 HADH 酶活值分析, 结果表明, 同一部位新鲜猪肉 (鲜宰肉与冷鲜肉) 与解冻猪肉 HADH 酶活值具有极显著性差异, 鲜宰肉与冷鲜肉 HADH 酶活值无显著性差异; 判别结果显示, 解冻肉与新鲜肉的临界酶活值为 248 判别结果结合显著性结果显示, 当样品 HADH 酶活值小于 186 时, 该样品为新鲜肉, 当样品 HADH 酶活值高于 250 时, 该样品为解冻肉, 当样品 HADH 酶活值介于两只之间时, 需重新判断; 利用该方法判断的准确率为 100%, 但约有 20% 的样品需重新判断。本研究确定的判断方法准确、有效, 为判别新鲜猪肉与解冻猪肉提供参考。

参考文献

- [1] Meisel S, Stöckel S, Rösch P, et al. Identification of meat-associated pathogens via Raman microspectroscopy [J]. Food Microbiology, 2014, 38 (11): 36-43
- [2] Ballin N Z, Lametsch R. Analytical methods for

authentication of fresh vs. thawed meat - A review [J]. Meat Science, 2008, 80 (2): 151-158

- [3] Carlos A Monteiro. The new role of industrial food processing in food systems and its impact on nutrition and health - a perspective from the South [C]. UN-SCN Meeting of the Minds on Nutrition Impact of Food Systems, 2013: 3
- [4] Gremaud G, Karlen S, Hulliger K. Analytical methods for the authentication of meat and meat products: recent developments [J]. Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 2002, 93 (5): 481-501
- [5] Russell I C. Assessment of the problem of fish-eating birds in inland fisheries in England and Wales: summary report: report to the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF Project VC0104) [M]. Directorate of Fisheries Research, Fisheries Laboratory, 1996: 87. 53-60
- [6] Downey G, Beauchêne D. Discrimination between fresh and frozen-then-thawed beef m-longissimus dorsi by combined visible-near infrared reflectance spectroscopy: A feasibility study [J]. Meat Science, 1997, 45 (3): 353-363
- [7] Carroll R, Cavanaugh J, Rorer F. Effects of frozen storage on the ultrastructure of bovine muscle [J]. Journal of food science, 1981, 46 (4): 1091-1094
- [8] 孙浩, 蔡慧农, 王力. 食品可追溯体系的发展现状 [J]. 食品工业, 2013, 8: 199-203
- [9] Sun H, Cai H N, Wang L. The status of food traceability system [J]. The Food Industry, 2013, 8: 199-203
- [10] Jayasena D D, Ahn D U, Nam K C, et al. Flavour Chemistry of Chicken Meat: A Review [J]. Asian Australasian Journal of Animal Sciences (AJAS), 2013, 26 (5): 732-742
- [10] Fernández M, Mano S, De Fernando G D G, et al. Use of β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase (HADH) activity to differentiate frozen from unfrozen fish and shellfish [J]. European Food Research and Technology, 1999, 209 (3-4): 205-208

- [11] 许春瑾,张睿,于修焯,等.基于近红外光谱的中宁枸杞子判别分析[J].食品科学,2014,35(2):164-167
Xu C J, Zhang R, Yu X Z, et al. Discrimination of chinese wolfberry from Zhongning based on near infrared spectroscopy [J]. Food Science, 2014, 35 (2): 164-167
- [12] Guo Y, Tang Q, Yuan J, et al. Effects of supplementation with vitamin E on the performance and the tissue peroxidation of broiler chicks and the stability of thigh meat against oxidative deterioration [J]. Animal Feed Science and Technology, 2001, 89 (3): 165-173
- [13] Hoz L, Yustes C, mara J M, et al. β - hydroxyacyl - CoA - dehydrogenase (HADH) differentiates unfrozen from frozen - thawed crawfish (*Procambarus clarkii*) and trout (*Salmo gairdneri*) meat [J]. International Journal of Food Science and Technology, 1992, 27 (2): 133-136

现代食品科技