

新疆褐牛不同部位肉宰后成熟过程中蛋白降解变化研究

丰永红 王勇峰 李海鹏 张松山 万红兵 孙宝忠

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193)

摘要:为研究肌纤维类型对新疆褐牛肉宰后成熟过程中蛋白质降解变化的影响,选取背最长肌、腰大肌和股二头肌3个不同肌纤维类型组成的部位肉,分别在宰后4℃成熟1 h、6 h、12 h、1 d、3 d、7 d、14 d研究其蛋白质溶解度、肌原纤维小片化指数、肌纤维超微结构变化及进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析。结果表明:不同肌纤维类型的新疆褐牛肉蛋白质降解模式差异较大,I型肌纤维含量高的腰大肌比II型肌纤维含量高的背最长肌和股二头肌具有更高的初始肌原纤维小片化指数(MFI),但肌原纤维降解的速度比背最长肌和股二头肌要慢。II A型肌纤维含量与初始蛋白质溶解度呈显著正相关,与蛋白质溶解度的变化率显著负相关。不同肌纤维类型组成的新疆褐牛肉在宰后成熟过程中蛋白质降解变化存在差异,研究结果可为宰后成熟过程合理控制、新疆褐牛肉产品开发提供理论依据。

关键词:新疆褐牛;蛋白降解;肌纤维类型;肌钙蛋白-T;肌间线蛋白

中图分类号: S823.8⁺1; Q591.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2018)05-0382-08

Protein Degradation of Different Cuts in Xinjiang Brown Cattle Beef during Postmortem Aging

FENG Yonghong WANG Yongfeng LI Haipeng ZHANG Songshan WAN Hongbing SUN Baozhong
(Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: The effect of muscle fiber type on protein degradation of Xinjiang brown cattle beef during postmortem aging was observed. Different cuts of *longissimusdorsi* (LD), *psaos major* (PM), *biceps femoris* (BF) with different muscle fiber type composition were chosen to measure protein solubility, myofibril fragmentation index, muscle fiber ultrastructure and SDS-PAGE respectively at 1 h, 6 h, 12 h, 1 d, 3 d, 7 d and 14 d after slaughter. The samples were kept at 4℃ during postmortem aging. The results indicated that protein degradation patterns of Xinjiang brown cattle beef cuts with different muscle fiber type composition were definitely different. The initial MFI of *psaos major* with higher muscle fiber type I content, was higher than the initial MFI of *longissimusdorsi* and *biceps femoris* with higher muscle fiber type II content, but the muscle fiber degradation rate of *psaos major* was lower than the rate of *longissimusdorsi* and *biceps femoris*. The significant positive correlation existed between the content of muscle fiber type II A and the initial protein solubility, and significant negative correlation existed between muscle fiber type II A content and protein solubility change rate. The results of muscle fiber ultrastructure and SDS-PAGE research were consistent with those provided by MFI and protein solubility. Ultrastructural investigation indicated that proteins of *longissimusdorsi* and *biceps femoris* degraded faster than proteins of *psaos major*. The degradation patterns of troponin-T and desmin were also different between the three beef cuts. The troponin-T and desmin degradation rate of the beef cuts with high muscle fiber type II content was faster than that of the beef cuts with high muscle fiber type I content. Protein degradation patterns of Xinjiang brown cattle beef with different muscle fiber type composition were definitely different during postmortem aging. The results would provide a theoretical basis for the regulation of postmortem aging process according to the different muscle fiber types and thus the development of high-grade Xinjiang brown cattle beef.

Key words: Xinjiang brown cattle; degradation of proteins; muscle fiber type; troponin-T; desmin

收稿日期: 2017-11-15 修回日期: 2017-12-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(31571910)

作者简介: 丰永红(1977—),女,博士生,主要从事牛肉质量与安全研究,E-mail: yike556@163.com

通信作者: 孙宝忠(1964—),男,研究员,博士生导师,主要从事优质畜产品质量与安全研究,E-mail: baozhongsun@163.com

0 引言

新疆褐牛是新疆农牧区黄牛改良的主推品种,主要分布在伊犁、塔城、阿勒泰、石河子、昌吉、乌鲁木齐、阿克苏等地区,西北地区部分省市也有少量引进与繁育^[1]。新疆褐牛肉胆固醇含量低、肌纤维细嫩、肥瘦适度、鲜美细嫩,不仅具有较好的食用品质^[2-4],而且富含不饱和脂肪酸、磷脂、钙、铁、锌、钾等,营养价值较高^[5]。目前对新疆褐牛的研究以品种改良居多,食用品质方面也有少量研究,而关于新疆褐牛肉品质的形成机理研究未见报道。

在牛肉的品质特性中,最重要的是嫩度,宰后肌肉嫩度的形成过程与宰后早期代谢和肌原纤维蛋白的降解有关。肌原纤维蛋白支撑着肌纤维的形状,也被称为结构蛋白,主要包括肌球蛋白、肌动蛋白、肌动球蛋白、原肌球蛋白和肌钙蛋白等^[6]。肌球蛋白、肌动蛋白和肌钙蛋白等都与肌肉收缩有关,结构蛋白直接影响宰后肉的嫩度、保水性和肉色等品质^[7]。有研究表明,不同部位肉肌纤维类型组成导致的肌内能量和代谢水平差异,会通过调控肌内蛋白酶系的活力释放,从而对宰后嫩度形成产生影响^[8],但目前关于肌纤维类型如何影响嫩度仍然存在争议。因此深入研究新疆褐牛不同部位肉宰后成熟过程中蛋白降解变化,探讨肉质形成机理,有助于新疆褐牛牛肉的开发进而实现新疆农牧区经济增值。

课题组前期对新疆褐牛的7个部位肉进行了肌纤维类型的研究,本文在此基础上,从7个部位肉中分别选取I型肌纤维数量较多的腰大肌、II A型肌纤维数量较多的背最长肌和II B型肌纤维数量较多的股二头肌为试验对象,研究肌纤维类型对成熟过程中蛋白溶解度、肌原纤维超微结构、肌原纤维小片化指数(Myofibril fragmentation index, MFI)及肌原纤维蛋白降解变化的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

牛肉样品取自新疆伊宁县伊新牛羊养殖专业合作社。选取6头30月龄新疆褐牛公牛(活体质量为 (566 ± 32) kg),屠宰后立即分割取左半胴体的腰大肌、背最长肌和股二头肌,各指标取样检测时间点分别在宰后的1 h、6 h、12 h、1 d、3 d、7 d和14 d,取样前样品真空包装后置于4℃冰箱中成熟,取样后先用液氮迅速冷却,然后转移到-80℃超低温冰箱内待检。

试验试剂:甲醇、乙醇、丙酮、高氯酸、戊二醛、醋

酸钠、硝酸铅、钼酸、胰蛋白酶、牛血清白蛋白BSA标准品;SDS-PAGE电泳缓冲液($\times 10$)含三羟甲基氨基甲烷(Tris)30.3 g、甘氨酸144 g、十二烷基硫酸钠(SDS)10 g,加蒸馏水定容至1 L,4℃保存;12%分离胶(蒸馏水3.35 mL,1.5 mol/L Tris-HCl(pH值8.8)2.5 mL,10% SDS 100 μ L,30% Acr-Bis(丙烯酰胺-甲叉丙烯酰胺)4 mL,TEMED(四甲基乙二胺)5 μ L,10%过硫酸铵50 μ L);4%浓缩胶(蒸馏水6.1 mL,0.5 mol/L Tris-HCl(pH值6.8)2.5 mL,10% SDS 100 μ L,30% Acr-Bis 1.3 mL,TEMED 10 μ L,10%过硫酸铵50 μ L)。以上试剂除胰蛋白酶和牛血清白蛋白标准品为BR级外其他均为AR级。

1.2 试验仪器

FJ200-S型高速均质机(北京维欣仪奥科技有限公司);LG10-24A型高速离心机(北京京立离心机有限公司);XS105型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);H-7500型透射电子显微镜(日本日立公司);DYCZ-24EN型双垂直电泳仪(北京六一仪器厂);H721型可见分光光度计(天津普瑞斯仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 蛋白溶解度

参照文献[9]的方法测定。肌浆蛋白溶解度:准确称取1.0 g切碎的肉样,加入10 mL浓度为0.025 mol/L预冷的磷酸钾缓冲液(pH值7.2),在冰浴下匀浆3次,每次20 s。4℃摇动抽提12 h,然后离心(1 500 g,20 min),上清液用双缩脲法测定蛋白浓度,即为肌浆蛋白溶解度,单位用mg/g表示。

总可溶性蛋白溶解度:准确称取1.0 g切碎的肉样,加20 mL含1.1 mol/L碘化钾0.1 mol/L预冷的磷酸钾缓冲液(pH值7.2),冰浴下匀浆3次,每次20 s。4℃摇动抽提12 h,然后离心(1 500 g,20 min),上清液用双缩脲法测定蛋白浓度,即为总可溶性蛋白溶解度,单位mg/g。

肌原纤维蛋白溶解度为总蛋白溶解度与肌浆蛋白溶解度的差值。

1.3.2 肌原纤维小片化指数

参照文献[10]的测定方法:取腰大肌、背最长肌和股二头肌宰后1 h、6 h、12 h、1 d、3 d、7 d和14 d的肉样各适量,去除可见脂肪后精确称取2 g,加入20 mL预冷到2℃的MFI缓冲液(含100 mmol/L KCl、11.2 mmol/L $K_2 HPO_4$ 、8.8 mmol/L $KH_2 PO_4$ 、1 mmol/L乙二醇二乙醚二胺四乙酸(EGTA)、1 mmol/L $MgCl_2$ 和1 mmol/L NaN_3),于匀浆器中高速匀浆3次,每次20 s,中间间隔1 min。匀浆液在

4℃条件下 10 000 r/min 离心 15 min, 弃去上清液。沉淀中加入 20 mL 缓冲液重新匀浆, 再离心弃去上清液。沉淀中加入 5 mL 缓冲液进行匀浆, 用 200 目尼龙筛网过滤该悬浊液, 去除结缔组织, 再用 5 倍体积的缓冲液洗离心管并过滤, 合并滤液, 即为肌原纤维蛋白溶液。所得的肌原纤维蛋白悬浊液用双缩脲法测定其蛋白含量, 然后用 MFI 缓冲液将其质量浓度调整至 0.5 mg/mL, 在 540 nm 下测定其吸光度, 所得数值乘以 200, 即为肌原纤维小片化指数 (MFI)。

1.3.3 透射电镜观察肌肉微观结构

参照文献[11]的方法并稍作修改。取宰后 1 h、1 d、3 d、7 d 和 14 d 的样品, 用手术刀片切成 3 mm × 1 mm × 1 mm 小条, 用戊二醛固定液将肌肉组织固定 4 h 以上。然后经过以下程序处理:

(1) 样品的冲洗、固定、脱水、置换和浸透: 戊二醛固定后, 用 0.1 mol/L 磷酸缓冲溶液 (pH 值 7.4) 冲洗 2 h。倒净清洗液, 在通风处中, 快速将 1% 锇酸倒至离心管至没过样品, 并立刻盖好盖。轻轻振动样品, 使样品固定充分, 固定 2 h。然后用一系列浓度的乙醇溶液梯度脱水, 每一梯度间隔 6 min。无水乙醇脱水后, 用无水丙酮置换 6 次, 每次 3 min, 室温 (20℃) 进行。然后用丙酮与树脂质量比 2:1 配制的混合浸透液在 35℃ 恒温箱中浸透 2 h。用包埋液在 35℃ 恒温箱中浸透 12 h。

(2) 包埋: 在 2 mm × 4 mm 的硫酸纸上写标签 (需标明简单的样品名称及组织块号数)。把标签摆在包埋孔中, 置于 60℃ 干燥箱加热 15 min 后, 取出后放置于 40℃ 的恒温箱待用。然后在 40℃ 恒温箱中包埋。

(3) 聚合: 样品包埋完后, 放入干燥箱进行聚合, 聚合温度和时间分别为: 37℃、12 h; 45℃、12 h; 60℃、48 h。

(4) 修整组织块: 将包埋块夹在样品夹头上, 用单面刀片把包埋块的样品处修成四面锥体。然后在解剖镜下, 用双面刀片把包埋块顶部修成光滑的平面。

(5) 切片与染色: 用 Leica UC6 型超薄切片机进行切片, 再用醋酸铀染液和柠檬酸铅染液进行染色。最后, 使用日立 H-7500 型透射电子显微镜观察和拍照。

(6) 肌节长度采用 Image pro plus 软件测定, 每个样本至少选取 7 个视野下 60 根肌纤维。

1.3.4 SDS-PAGE 凝胶电泳

参照文献[12]的方法并进行部分修改。取宰后 1 h、6 h、12 h、1 d、3 d、7 d 和 14 d 时间点的肉样

0.4 g (去除筋腱和结缔组织), 加入 4 mL SDS-PBS 提取缓冲液 (2% SDS, 10 mmol/mL Na₃PO₄, pH 值 7.0), 高速匀浆, 8 000 r/min 离心 5 min, 沉淀用 2 mL SDS-PBS 溶解, 用双缩脲法测定蛋白浓度, 用提取液稀释, 使蛋白终质量浓度约为 3 mg/mL, 待用。将蛋白提取液和 5 倍样品缓冲液以体积比 4:1 比例混合, 沸水中煮沸 5 min, 上样量为 20 μL。起始电压为 70 V, 开始电泳, 染料进入分离胶后, 电压变为 120 V。

1.4 数据处理与统计分析

采用 SPSS 20.0 及 Microsoft Excel 2010 软件对试验数据进行统计分析, 结果以平均值 ± 标准差表示; 对各项指标进行 Duncan's 分析, 采用 SPSS 皮尔逊 (Pearson) 法进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 宰后成熟过程中蛋白溶解度变化

宰后肌肉蛋白质的溶解性, 尤其是肌浆蛋白的溶解性关系到肉的持水性和肉的质地, 较高的肌浆蛋白溶解性对肉的成熟和品质有积极作用, 因为肌浆蛋白中的肌红蛋白、磷酸化酶、肌酸激酶及其他代谢活性物质, 在宰后肉品成熟、食用品质形成中发挥重要功能^[13]。

2.1.1 总蛋白溶解度

宰后成熟过程中 3 个部位肉总蛋白溶解度变化见表 1, 在宰后 1 h 到 6 h, 3 种肌肉的总蛋白溶解度均呈升高趋势; 6 h 到 14 d 内, 3 种部位肉的总蛋白溶解度在整体上均呈先下降后上升的趋势; 腰大肌和股二头肌在 12 h 溶解度最小, 背最长肌在 1 d 溶解度最小; 除了宰后 1 d, 其他时间点 3 个部位之间均存在显著性差异 ($p < 0.05$)。宰后成熟过程中各部位肉 pH 值的变化对蛋白质溶解度有一定影响, 同时 3 个部位肉之间总蛋白质溶解度的差异与各部

表 1 成熟过程中腰大肌、背最长肌和股二头肌总蛋白溶解度

成熟时间	during postmortem aging			mg/g
	腰大肌	背最长肌	股二头肌	
1 h	(145.08 ± 4.29) ^{Bc}	(163.97 ± 4.22) ^{Abc}	(140.32 ± 6.50) ^{Bc}	
6 h	(164.02 ± 3.41) ^{ABab}	(168.72 ± 5.08) ^{Aab}	(161.26 ± 6.39) ^{Bab}	
12 h	(138.64 ± 5.54) ^{Bc}	(150.91 ± 4.33) ^{Ade}	(136.76 ± 6.01) ^{Bc}	
1 d	(150.07 ± 0.97) ^{Abc}	(146.04 ± 7.87) ^{Ae}	(149.53 ± 10.19) ^{Aabc}	
3 d	(157.77 ± 0.63) ^{Aab}	(156.75 ± 3.02) ^{Acd}	(138.82 ± 3.56) ^{Bc}	
7 d	(167.99 ± 1.38) ^{Bab}	(174.26 ± 1.55) ^{Aa}	(164.80 ± 8.67) ^{Ba}	
14 d	(172.57 ± 9.60) ^{ABa}	(176.19 ± 3.88) ^{Aa}	(168.14 ± 3.70) ^{Ba}	

注: 大写字母代表各时间点不同部位肉之间的差异, 小写字母代表各部位肉不同时间之间的差异, 下同。

位肉蛋白质组成特点差异有关。在 14 d 的成熟期内,背最长肌(II A 型肌纤维含量较高)的总蛋白溶解度高于腰大肌(I 型肌纤维含量较高)和股二头肌(II B 型肌纤维含量较高),腰大肌又高于股二头肌。有学者研究发现,猪肌肉中氧化型纤维比酵解型纤维具有相对较高的蛋白质溶解度^[14],与本文结果一致。

2.1.2 肌浆蛋白溶解度

宰后成熟过程中 3 个部位肉肌浆蛋白溶解度变化见表 2。肌浆蛋白溶解度随着成熟时间的延长呈下降的趋势,背最长肌在 1 h 到 7 d 内的肌浆蛋白溶解度无显著性差异,14 d 时显著降低;腰大肌除 1 d 时肌浆蛋白溶解度显著低于其他时间点,其他时间点之间无显著差异;股二头肌的肌浆蛋白溶解度在整个成熟过程中整体呈下降趋势但波动较大。这说明影响肌浆蛋白溶解度的因素可能比较复杂。宰后 12 h、7 d、14 d,3 个部位的肌浆蛋白溶解度不存在显著性差异($p > 0.05$);在 14 d 的成熟期内,背最长肌的肌浆蛋白溶解度高于腰大肌和股二头肌,可能预示着背最长肌在宰后成熟及品质形成方面,比腰大肌和股二头肌更有优势。

表 2 成熟过程中腰大肌、股二头肌和背最长肌肌浆蛋白溶解度

Tab.2 Sacoplasma protein solubility of PM, LD and BF during postmortem aging mg/g

成熟时间	腰大肌	背最长肌	股二头肌
1 h	(47.60 ± 2.26) ^{Bab}	(54.04 ± 2.35) ^{Aa}	(43.48 ± 2.82) ^{Bab}
6 h	(46.19 ± 0.32) ^{ABab}	(51.21 ± 3.16) ^{Aa}	(40.74 ± 4.96) ^{Bb}
12 h	(46.13 ± 6.09) ^{Aab}	(51.12 ± 0.50) ^{Aa}	(45.28 ± 4.62) ^{Aab}
1 d	(39.90 ± 2.89) ^{Bab}	(54.52 ± 0.28) ^{Aa}	(51.33 ± 3.16) ^{Aa}
3 d	(41.60 ± 1.30) ^{Bb}	(50.76 ± 6.06) ^{Aa}	(39.63 ± 4.96) ^{Bb}
7 d	(46.65 ± 4.33) ^{Aab}	(51.66 ± 2.13) ^{Aa}	(46.03 ± 6.41) ^{Aab}
14 d	(42.20 ± 8.90) ^{Aab}	(42.65 ± 4.04) ^{Ab}	(39.33 ± 1.81) ^{Ab}

2.1.3 肌原纤维蛋白溶解度

宰后成熟过程中 3 个部位肉肌原纤维蛋白溶解度变化见表 3,肌原纤维蛋白溶解度的变化和总可溶蛋白溶解度相似,6 h 内各部位肉肌原纤维蛋白溶解度有所升高,6 h 后腰大肌和背最长肌肌原纤维蛋白溶解度随着成熟时间呈先下降后上升的趋势,而股二头肌肌原纤维蛋白溶解度随着成熟时间呈波动上升趋势。腰大肌和股二头肌在 12 h 肌原纤维蛋白溶解度最小,背最长肌在 1 d 肌原纤维蛋白溶解度最小,宰后 6 h、12 h、7 d 和 14 d,3 个部位的肌原纤维蛋白溶解度没有显著性差异($p > 0.05$)。说明 3 个部位肉肌原纤维蛋白的降解速度在 7 d 之内存在差异,7 d 之后差异不大。

表 3 成熟过程中腰大肌、股二头肌和背最长肌肌原纤维蛋白溶解度

Tab.3 Myofibril protein solubility of PM, LD and BF during postmortem aging mg/g

成熟时间	腰大肌	背最长肌	股二头肌
1 h	(97.48 ± 10.82) ^{Bc}	(109.63 ± 6.20) ^{Acd}	(96.84 ± 7.90) ^{Bc}
6 h	(117.83 ± 3.71) ^{Aab}	(117.52 ± 2.01) ^{Abc}	(120.52 ± 1.65) ^{Aab}
12 h	(92.52 ± 7.02) ^{Ac}	(99.79 ± 4.32) ^{Ade}	(91.48 ± 10.63) ^{Abc}
1 d	(110.17 ± 2.17) ^{Ab}	(91.52 ± 7.60) ^{Be}	(98.20 ± 7.94) ^{Bc}
3 d	(116.17 ± 1.67) ^{Aab}	(105.99 ± 8.84) ^{Bd}	(99.19 ± 2.18) ^{Bbc}
7 d	(121.34 ± 5.45) ^{Aab}	(122.60 ± 0.86) ^{Ab}	(118.77 ± 7.81) ^{Aab}
14 d	(130.37 ± 3.92) ^{Aa}	(133.54 ± 7.91) ^{Aa}	(128.81 ± 5.47) ^{Aa}

2.2 宰后成熟过程中 MFI 变化

肌原纤维断裂成小片段的现像是导致肌肉自溶和肉质变嫩的直接原因,所以 MFI 被认为是衡量肉嫩度的重要指标^[15]。MFI 可以反映肌细胞内部肌原纤维及骨架蛋白完整的程度,MFI 越大,肌原纤维内部结构完整性受到破坏的程度越大,肌肉成熟度越高。

宰后成熟过程中 3 个部位肉的 MFI 变化见表 4;随着成熟时间的延长,MFI 值逐渐增加,说明肌原纤维裂解程度逐渐变大。宰后 14 d 时,MFI 增加率从大到小依次为股二头肌(82.04%)、背最长肌(70.37%)、腰大肌(65.84%),表明宰后快收缩型肌纤维(II 型)比慢收缩型肌纤维(I 型)蛋白降解速率更快,这与文献^[16]的研究结论一致。宰后 14 d 成熟期内各时间点 3 个部位的 MFI 值均存在显著性差异($p < 0.05$),并且腰大肌的 MFI 值显著高于背最长肌和股二头肌($p < 0.05$)。这可能也是腰大肌的初始嫩度比背最长肌和股二头肌高的原因之一。

表 4 成熟过程中腰大肌、背最长肌和股二头肌肌原纤维小片化指数变化

Tab.4 Myofibril fragmentation index of PM, LD and BF during postmortem aging

成熟时间	腰大肌	背最长肌	股二头肌
1 h	(38.82 ± 1.50) ^{Af}	(27.06 ± 1.37) ^{Bf}	(18.97 ± 1.59) ^{Cg}
6 h	(43.66 ± 1.73) ^{Ae}	(31.34 ± 1.63) ^{Be}	(25.24 ± 0.83) ^{Cf}
12 h	(57.74 ± 1.21) ^{Ad}	(33.9 ± 1.28) ^{Bc}	(28.39 ± 1.42) ^{Ce}
1 d	(59.24 ± 1.73) ^{Ad}	(39.02 ± 1.62) ^{Cd}	(45.36 ± 1.55) ^{Bd}
3 d	(77.62 ± 1.80) ^{Ac}	(52.76 ± 1.38) ^{Be}	(68.26 ± 1.74) ^{Bc}
7 d	(83.4 ± 2.05) ^{Ab}	(62.42 ± 1.77) ^{Ch}	(76.94 ± 2.73) ^{Bb}
14 d	(113.64 ± 1.84) ^{Aa}	(91.34 ± 1.67) ^{Ba}	(105.63 ± 1.40) ^{Ca}

2.3 宰后成熟过程中肌纤维超微结构变化

超微结构能够直接观察到宰后成熟过程中肌原纤维的形态变化,宰后成熟过程中新疆褐牛肉 3 个部位的肌纤维超微结构变化见图 1。宰后 1 h

时,3个部位的肌原纤维结构清晰可见,肌原纤维紧密相连,亮带、暗带、M线、Z线和H区完整,未发现断裂现象。腰大肌的肌节长度($2.47\ \mu\text{m}$)最长,并且显著高于背最长肌($1.55\ \mu\text{m}$)和股二头肌($1.52\ \mu\text{m}$),股二头肌的肌节长度最短。宰后成熟1 d,肌纤维的排列被破坏,腰大肌、背最长肌和股

二头肌的肌原纤维均出现少量降解现象,其中腰大肌主要是亮带的降解,Z线也发生轻微断裂;股二头肌的Z线、M线以及亮带区域均出现少量断裂;而背最长肌主要是M线的断裂;宰后1 d,腰大肌的肌节长度增加;股二头肌和背最长肌的肌节长度明显收缩。

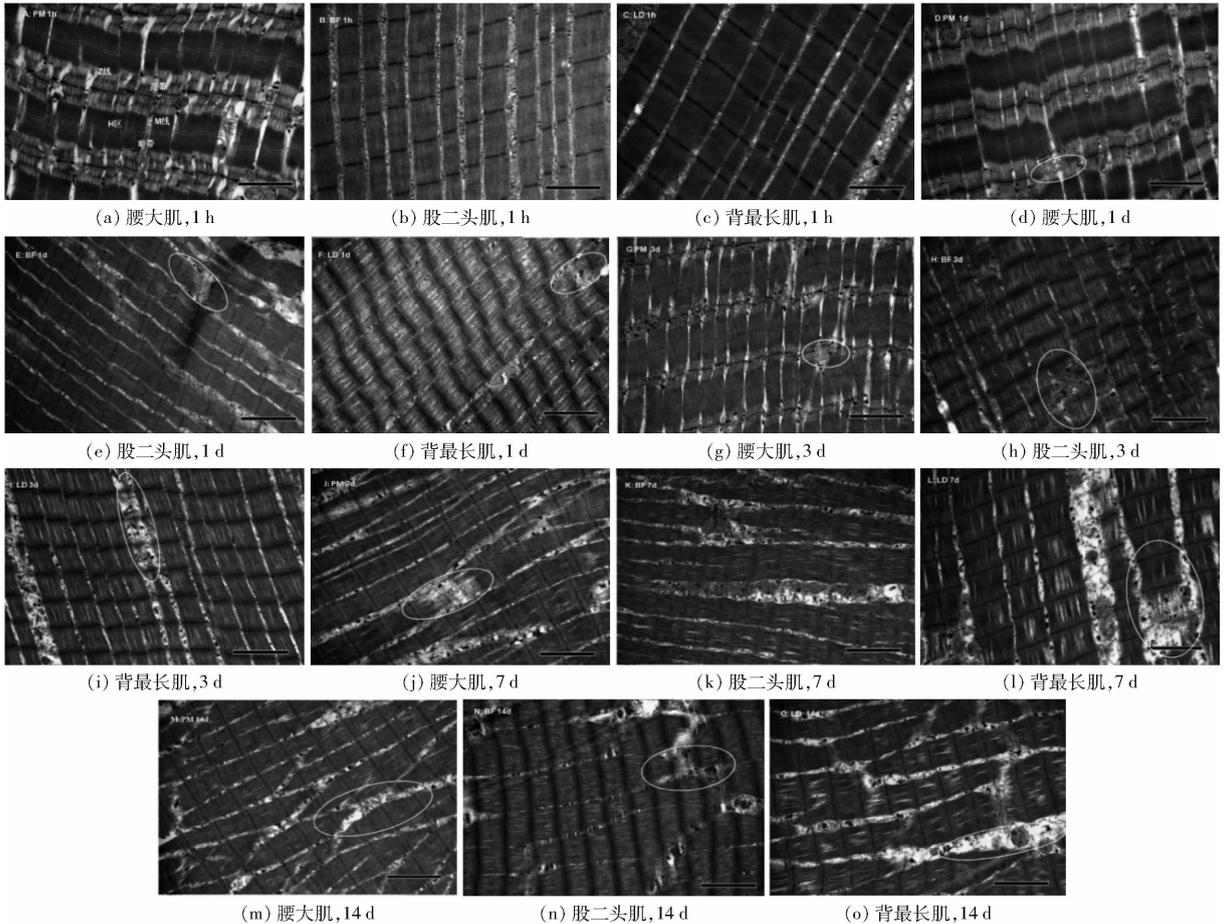


图1 成熟过程中腰大肌、背最长肌和股二头肌纤维超微结构变化

Fig. 1 Variation of myofibrous ultrastructure of PM, LD and BF during postmortem aging

宰后3 d,腰大肌、背最长肌和股二头肌的肌原纤维进一步发生降解,背最长肌降解最显著,开始出现几个相连肌节被降解的现象,Z线降解较为严重,有些肌原纤维被溶解。宰后7 d,肌原纤维降解更加明显,腰大肌和股二头肌也出现几个相连肌节被降解的现象,背最长肌的肌原纤维开始出现更大面积的溶解,Z线几乎完全降解。宰后14 d时,3个部位的肌原纤维继续降解,发生大面积的破坏、溶解,出现了大量肌原纤维小片。综上,3个部位的肌原纤维降解速率为背最长肌大于股二头肌,股二头肌大于腰大肌。这主要是因为快收缩型纤维(II型肌纤维)的Z线比慢收缩型纤维(I型肌纤维)要窄,并且组成快收缩型纤维Z线的蛋白降解速率更快^[8,17]。

2.4 宰后成熟过程中肌原纤维蛋白降解变化

宰后牛肉在延迟冷却成熟过程中,加速糖酵解,

加快肌原纤维蛋白和结缔组织蛋白的水解,从而改善牛肉的嫩度^[18]。新疆褐牛3个部位肉宰后成熟过程中肌原纤维蛋白降解变化见图2,腰大肌、背最长肌和股二头肌的蛋白条带均发生了降解,但降解程度存在差异。随着成熟时间的延长,3个部位肉肌球蛋白重链(MyHC)条带均逐渐变浅。

肌钙蛋白-T的分子量为35 kDa,成熟过程中会降解为30 kDa和28 kDa的降解产物,一些专家认为肌钙蛋白-T的降解是宰后蛋白水解的指示剂,并与牛肉嫩度形成相关^[19-20]。宰后1 h时,背最长肌的肌钙蛋白-T浓度明显高于腰大肌和股二头肌,背最长肌和股二头肌的肌钙蛋白-T在宰后1 h就发生了降解,有30 kDa和28 kDa的降解片段出现,并且30 kDa和28 kDa条带的浓度随着宰后成熟时间的延长逐渐增大。腰大肌的肌钙蛋白-T在宰后1 h

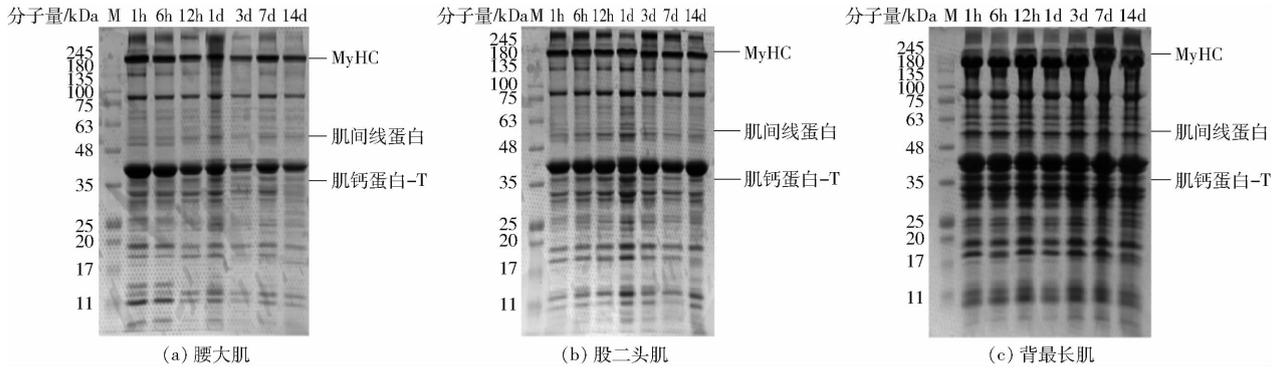


图 2 腰大肌、股二头肌和背最长肌 SDS - PAGE 电泳图

Fig.2 SDS - PAGE photographs of PM, LD and BF during postmortem aging

略微发生降解,随着宰后成熟时间的延长,腰大肌的 30 kDa 降解片段在 7 d 达到最大浓度并在宰后 14 d 浓度略微下降。结果表明,肌钙蛋白-T 含量和降解程度受肌肉部位的影响,II B 型肌纤维含量较高的股二头肌和 II A 型肌纤维含量较高的背最长肌的肌钙蛋白-T 降解速率要快于 I 型肌纤维含量较高的腰大肌。这与文献[21]对中国西门塔尔牛背最长肌和腰大肌的研究一致。

肌间线蛋白对保持肌肉细胞结构完整性有重要作用,其降解对宰后成熟嫩度的形成非常重要^[22],新疆褐牛肉腰大肌、股二头肌和背最长肌的肌间线蛋白(54 kDa 蛋白条带)含量差异较大,降解方式也不同,背最长肌在宰后 1 h 即出现 50 kDa 和 47 kDa 的降解条带;腰大肌和股二头肌在宰后 1 h 也出现 50 kDa 降解条带,但成熟过程中未检测到 47 kDa 的降解条带。由此,II A 型肌纤维含量较高的背最长肌的肌间线蛋白降解速率快于 I 型肌纤维含量较高的腰大肌。

从 SDS - PAGE 电泳结果可以看出,肌钙蛋白-T 和肌间线蛋白的含量和降解方式均受部位的影响,而降解速度上,II 型肌纤维含量高的比 I 型肌纤维含量高的降解快,这与本研究中对超微结构的观察结果相一致。文献[21]对中国西门塔尔牛背最长肌和腰大肌的肌间线蛋白研究结果为腰大肌的肌间线蛋白降解速率要快于背最长肌,与本研究得出的结论不同,这可能与品种、宰后 pH 值变化及肌肉特性等有关。

2.5 各指标与肌纤维数量相关性分析

新疆褐牛腰大肌、背最长肌和股二头肌的 MFI、肌原纤维蛋白溶解度和总蛋白溶解度与 I、II A 和 II B 型肌纤维数量相关性分析见表 5,由表可知,MFI 初始值与 I 型肌纤维极显著正相关($p < 0.01$),与 II B 型肌纤维极显著负相关($p < 0.01$);而 MFI 变化率与 I 型肌纤维极显著负相关($p < 0.01$),与 II B 型肌纤维极显著正相关($p < 0.01$)。即 I 型肌纤维含

量越高,MFI 初始值越大,但小片化速度越慢,II B 型肌纤维与此相反。因此对新疆褐牛来说,II B 型肌纤维含量越高,宰后成熟过程中牛肉嫩化速度越快。文献[23]研究牦牛时发现,MFI 初始值、变化率均与 I 型肌纤维正相关,与 II B 型肌纤维极显著负相关,与本研究得出的规律不一致,这说明影响肌纤维类型与肌原纤维小片化关系的因素较复杂,可能与牛的品种、所取肌肉部位、宰前处理、宰后成熟等多种因素有关。

表 5 各指标与肌纤维类型相关性分析

Tab.5 Correlation analysis among muscle fiber type and other index in PM, LD and BF

肌纤维类型	初始 MFI	初始肌原纤维蛋白溶解度	初始总蛋白溶解度	MFI 变化率	肌原纤维蛋白溶解度变化率	总蛋白溶解度变化率
I	0.90**	-0.24	0.34	-0.82**	-0.19	-0.2
II A	0.55	0.76*	0.86**	-0.73*	-0.6	-0.83**
II B	-0.87**	-0.31	-0.18	0.88**	0.29	0.35

注: **表示相关性极显著($p < 0.01$), * 表示相关性显著($p < 0.05$)。

肌原纤维蛋白溶解度初始值与 II A 型肌纤维显著正相关($p < 0.05$);总蛋白溶解度初始值与 II A 型肌纤维极显著正相关($p < 0.01$);总蛋白溶解度变化率与 II A 型肌纤维极显著负相关($p < 0.01$)。有理论认为红肌纤维(氧化型)比白肌纤维(酵解型)含有更宽的 Z 带,有利于其克服结构上的障碍和阻力表现出溶解状态^[23];而在本研究中,I 型肌纤维含量高的腰大肌比 II A 型肌纤维含量高的背最长肌的初始蛋白溶解度低,并不符合该理论,这说明影响蛋白溶解度的因素可能比较复杂。文献[13]研究得出,肌肉氧化型及中间型纤维比例与蛋白质溶解度存在正相关,其中的机理可能与肌球蛋白组成、抗氧化变性能力有关。

3 结论

(1)较高 II A 型肌纤维含量的新疆褐牛肉在宰

后初期蛋白质溶解度较高,但宰后成熟过程中蛋白质溶解度的升高速度相对较慢。

(2) I型肌纤维比例越高、II B型肌纤维比例越低,则初始 MFI 越大,肌原纤维蛋白降解的速度越慢;肌纤维类型对 MFI 的影响极其显著,腰大肌的 MFI 在成熟过程中始终高于背最长肌和股二头肌。

(3) 超微结构研究结果显示,腰大肌的肌节长度最长,肌纤维结构降解速度最慢,这与 MFI 变化规律相吻合。

(4) 肌钙蛋白-T 含量和降解受肌纤维类型的影响,II B型肌纤维含量较高的股二头肌和 II A型肌纤维含量较高的背最长肌的肌钙蛋白-T 降解速率要快于 I型肌纤维含量较高的腰大肌;肌间线蛋白(54 kDa 蛋白条带)含量差异较大,降解方式也不同,II A型肌纤维含量较高的背最长肌的肌间线蛋白降解速率快于 I型肌纤维含量较高的腰大肌。这一结论验证了宰后成熟过程中 MFI 和超微结构的变化规律。

参 考 文 献

- 张杨,李红波,张金山,等. 新疆褐牛种群资源调查研究[J]. 中国牛业科学, 2012, 38(1): 24-28.
ZHANG Yang, LI Hongbo, ZHANG Jinshan, et al. Investigation on population resources of Xinjiang brown cattle[J]. China Cattle Science, 2012, 38(1): 24-28. (in Chinese)
- 闫向民,张金山,李红波,等. 不同月龄新疆褐牛阉牛胴体性状及肉品质比较研究[J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42(11): 2954-2960.
YAN Xiangmin, ZHANG Jinshan, LI Hongbo, et al. Comparative study on carcass traits and meat quality of different month old of Xinjiang brown cattle steers[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2015, 42(11): 2954-2960. (in Chinese)
- 程婷婷,张文洁,王欢,等. 新疆褐牛不同部位分割肉块品质差异研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(21): 354-357.
CHENG Tingting, ZHANG Wenjie, WANG Huan, et al. Distinction of beef quality in different cutting beef of Xinjiang brown cattle[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(21): 354-357. (in Chinese)
- 李娜,张杨,周振勇,等. 新疆褐牛高档牛肉感官评定比较[J]. 肉类工业, 2013(3): 13-18.
LI Na, ZHANG Yang, ZHOU Zhenyong, et al. Compare of Xinjiang high-grade beef of brown calf by sensory evaluation[J]. Meat Industry, 2013(3): 13-18. (in Chinese)
- 刘英玉,刘莉莉,郭庆勇,等. 新疆褐牛背最长肌常规化学成分和不同组织中微量元素的测定与分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016(9): 133-135.
- 周光宏. 畜产品加工学[M]. 北京:中国农业出版社, 2002:40.
- 左惠心,韩玲,余群力,等. 牦牛与黄牛肌肉差异蛋白质组及生物信息学分析[J/OL]. 农业机械学报, 2017, 48(4): 313-320. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20170441&flag=1&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2017.04.041.
ZUO Huixin, HAN Ling, YU Qunli, et al. Proteomics and bioinformatics analyses of differentially expressed proteins in yak and beef cattle muscle [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2017, 48(4): 313-320. (in Chinese)
- MUROYA S, ERTBJERG P, POMPONIO L, et al. Desmin and troponin T are degraded faster in type IIb muscle fibers than in type I fibers during postmortem aging of porcine muscle[J]. Meat Science, 2010, 86(3): 764-769.
- CHOI Y M, RYU Y C, KIM B C. Influence of myosin heavy and light chain isoforms on early postmortem glycolytic rate and pork quality [J]. Meat Science, 2007, 76(2): 281-288.
- 黄明. 牛肉成熟机制及食用品质研究 [D]. 南京:南京农业大学, 2003.
- LI X, BABOL J, WALLBY A, et al. Meat quality, microbiological status and consumer preference of beef gluteus medius aged in adrying bag or vacuum [J]. Meat Science, 2013, 95(2): 229-234.
- LAEMMLI U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. Nature, 1970, 227(5259): 680-685.
- 门小明,邓波,徐子伟,等. 两种杂交商品猪冷却肉常规养分含量、蛋白质溶解性及脂肪酸组成的比较[J]. 食品工业科技, 2012, 33(17): 361-364.
MEN Xiaoming, DENG Bo, XU Ziwei, et al. Comparison of conventional nutrient contents, protein solubility and fatty acid composition in chilled pork between Chinese native crossbred pigs and foreign crossbred pigs[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(17): 361-364. (in Chinese)
- CHOI Y M, LEE S H, CHOE J H, et al. Protein solubility is related to myosin isoforms, muscle fiber types, meat quality traits, and postmortem protein changes in porcine longissimusdorsi muscle [J]. Livestock Science, 2010, 127: 183-191.
- 徐舶,周光宏,徐幸莲,等. 不同部位鹿肉在宰后成熟过程中超微结构的变化[J]. 南京农业大学学报, 2008, 31(1): 107-111.
XU Bo, ZHOU Guanghong, XU Xinglian, et al. Changes of ultrastructure in different part of venison during postmortem aging [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2008, 31(1): 107-111. (in Chinese)

- 16 XIONG Y L. Protein functionality [J]. *Encyclopedia of Meat Sciences*, 2004, 28: 218 – 242.
- 17 CHOI Y M, KIM B C. Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms and meat quality [J]. *Livestock Science*, 2009, 122: 105 – 118.
- 18 孙志昶, 冯晓琴, 韩玲, 等. 牦牛肉宰后成熟嫩化与细胞凋亡酶活力变化研究[J/OL]. *农业机械学报*, 2014, 45(1): 191 – 196. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20140130&flag=1&journal_id=jcsam. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2014.01.030.
SUN Zhichang, FENG Xiaoqin, HAN Ling, et al. Tenderness and apoptotic activity of yak meat during postmortem aging [J/OL]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2014, 45(1): 191 – 196. (in Chinese)
- 19 黄峰. 细胞凋亡效应酶在牛肉成熟过程中的作用机制研究[D]. 南京:南京农业大学, 2012.
- 20 LONERGAN E H, ZHANG W, LONERGAN S M. Biochemistry of postmortem muscle—lessons on mechanisms of meat tenderization[J]. *Meat Science*, 2010, 86(1): 184 – 195.
- 21 郎玉苗. 肌纤维类型对牛肉嫩度的影响机制研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2016.
- 22 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.
- 23 王莉. 牦牛肉肌纤维类型组成及其代谢酶活力差异对宰后肉嫩度的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2016.
- 24 孔保华. 畜产品加工储藏新技术[M]. 北京:科学出版社, 2007:40.