

猪肌肉肌内脂肪测定方法的比较

陈亚静¹ 付雪林¹ 倪德斌^{1,2} 胡军勇^{1,2} 雷明刚² 刘望宏^{1,2}

1.农业部种猪质量监督检验测试中心(武汉), 武汉 430070; 2.华中农业大学动物科技学院, 武汉 430070

摘要 采用4种方法对多种类型猪肉肌内脂肪含量进行测定,其中,鲜样浸提法与近红外光谱法(鲜样)的相关系数为0.989,与索氏抽提法(干样)的相关系数为0.978;而索氏抽提法与近红外光谱法的相关系数为0.981,且大理石纹评分法(观察法)与其他的相关系数均小于0.9。通过4种方法的比较分析表明,索氏抽提法测定结果显著低于鲜样浸提法与近红外光谱法,而鲜样浸提法与近红外光谱法所测结果之间无显著差异,大理石纹评分法与其他方法均存在显著差异,只可作为辅助方法。鲜样浸提法和近红外光谱法在不同品种间进行测试分析显示两者之间无显著差异。因此,认为鲜样浸提法仍然是最为准确有效的测定猪肉肌内脂肪的经典方法,而近红外光谱法具有简便快捷准确的优点,可以作为快速检测方法。

关键词 猪肌肉; 肌内脂肪; 测定方法

中图分类号 S 828 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2015)04-0084-05

猪肉脂肪总体上可分为皮下脂肪和肌肉脂肪,皮下脂肪主要是指皮肤与肌肉组织之间的脂肪组织,俗称膘,皮下脂肪常因其部位不同而名称各异,如背部的称为背膘等。肌肉脂肪包括肌间脂肪和肌内脂肪,其中,肌间脂肪(inter-muscular fat)是指存在于横纹肌(肌块)之间的脂肪,而肌内脂肪(intra-muscular fat, IMF)则是指存在于横纹肌的肌束间和肌细胞内的脂肪,如肌外膜、肌束膜和肌内膜上的脂肪等。研究认为,肌内脂肪含量与猪的品种类型、日龄、饲料营养和性别有关^[1],且与肌肉的大理石纹、嫩度、系水力、风味和多汁性密切相关^[2]。IMF与瘦肉率呈负相关($-0.35 \sim -0.25$),而与嫩度和风味呈正相关^[3]。猪肌肉肌内脂肪的测定是猪肉品质评价的核心指标,其准确性在种猪选育和商品生产中具有重要意义。

肌内脂肪的测定方法虽然较多,但概括起来,可分为利用溶剂萃取和仪器估测两种。如美国官方农业化学家协会(Association of Official Agricultural Chemists, AOAC)规定的方法就是利用石油醚萃取鲜肉中的粗脂肪^[4],与我国现行标准 NY/T 821—2004 中规定的是甲醇-氯仿鲜样浸提法相似,而索氏抽提法与 AOAC 的提取过程相似,但不适用于鲜

样,而大理石纹评分法是肉眼观察法,有研究认为,其评分值与肌内脂肪含量呈正相关,分值为1分相当于肌内脂肪含量2%,而5分相当于肌内脂肪含量8%^[5]。近红外光谱法则是近年来发展起来的一种新的方法,是应用光谱学原理进行估测的方法。本文旨在对以上几种肌内脂肪测定方法进行比较研究,探讨最为准确有效的测定方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1)肉样采集。用于方法比较的材料是随机抽取屠宰活体质量80~100 kg的育肥猪30头,品种比较材料为选取9个不同品种一定数量的育肥猪,均按照《NY/T 821—2004 猪肌肉品质测定技术规范》的规定于宰后1~2 h内剥取左半胴体胸腰段背最长肌,送实验室待测。

2)肉样制备。按照 NY/T 821—2004 的规定,同一份样品分割为大理石纹评分和肌内脂肪测定2段样品,几种测定方法的样品制备要求见表1。

3)主要仪器和试剂。粗脂肪测定仪(Soxtec 2050),丹麦 FOSS 公司;近红外分析仪(Food ScanTM Lab),丹麦 FOSS 公司;烘箱(U40, 0~220±1℃),德

收稿日期: 2014-09-01

基金项目: 国家生猪产业技术体系项目(CARS-36)

陈亚静,工程师,研究方向:肌肉品质, E-mail: chenayjing613@163.com

通信作者: 刘望宏,高级畜牧师,研究方向:动物遗传育种与繁殖, E-mail: whliu@mail.hzau.edu.cn

国 Memmert;分析天平(XS204,± 0.1 mg),常州梅特勒公司。试剂级别均为分析纯,主要有三氯甲烷(CHCl₃),纯度≥99%;甲醇(CH₃OH),纯度≥99.5%;石油醚,沸点为30~60℃。

1.2 检验方法

- 1)鲜样浸提法。按照 NY/T 821—2004 中 6.4.1.2的规定执行。
- 2)大理石纹评分法。按照 NY/T 821—2004 中 6.4.1.1 的规定执行。

3)近红外光谱法。将肉样均匀地平铺在仪器专用样品盘中,按仪器规定流程进行操作,软件显示测定值并自动记录结果。分析软件具有猪肉肌内脂肪测定的数据库。

4)索氏抽提法。按照《GB/T 14772—2008 食品中粗脂肪的测定》中 6.2~6.4 的规定进行检测。

1.3 检验方法比较

测定猪肉肌内脂肪所需肉样的取样时间、部位、制样要求和检测时间见表 2。

表 1 4 种测定方法的样品制备要求
Table 1 The sample preparing requirement for four test methods

测定方法 Methods	鲜样浸提法 Fresh sample extraction	大理石纹评分法 Marbling score	近红外光谱法 Near-infrared spectroscopy	索氏抽提法 Soxhlet extraction
制备要求 Preparation required	剔除外周筋膜,切成小块 搅成肉糜备用	置 0~4℃冰箱保存 24 h 后 取出,一分为二置白色瓷盘 中备用	剔除外周筋膜,切成小块搅 成肉糜备用	GB/T 14772—2008 规 定方法

表 2 4 种测定方法的基本要求
Table 2 The basic requirements of four methods

测定方法 Methods	取样时间 Sampling time	肉样部位 Sample parts	样品状态 Sample status	检测耗时/h Consuming time
鲜样浸提法 Fresh sample extraction	宰后 1~2 h 内,可延后	腰椎处眼肌	肉糜	≥45
大理石纹评分法 Marbling score	宰后 24 h 内	胸腰结合处眼肌	2 cm 厚肉块	≥25
近红外光谱法 Near-infrared spectroscopy	宰后 1~2 h 内,可延后	腰椎处眼肌	肉糜	≈0.5
索氏抽提法 Soxhlet extraction	宰后 1~2 h 内,可延后	腰椎处眼肌	干肉粉末	≥35

1.4 统计方法

针对本试验设计特点,利用 SAS V8 软件进行结果统计分析。不同检测方法和品种之间采用简单相关分析、多因素方差分析、多重比较的统计方法,鲜样浸提法和近红外法之间采用回归分析,以探索近红外光谱法获取数据对鲜样浸提法测定值的估测。

2 结果与分析

2.1 不同方法检测结果

30 个猪肉样品,4 种方法测定的猪肉肌内脂肪含量结果见表 3,其结果的排列均按照样品的先后顺序进行。由表 3 数据计算得出,不同方法测定的平均值与标准差分别为:鲜样浸提法 3.79±1.19%、

表 3 4 种测定方法肌内脂肪含量测定结果
Table 3 The result of four methods for intramuscular fat of pigs

方法 Methods	测定结果 Results
鲜样浸提法/% Fresh sample extraction	3.05 3.46 2.26 4.21 2.79 4.35 4.98 2.43 3.41 3.38 2.66 2.75 2.36 2.62 6.11 4.76 4.22 5.63 6.03 4.66 2.52 4.10 2.96 4.87 3.46 6.13 2.45 3.09 4.22 3.82
大理石纹评分法(分) Marbling score	3.0 3.0 3.0 4.0 3.5 4.0 4.0 3.0 3.5 3.5 3.0 3.0 3.0 2.5 4.0 4.0 4.0 4.5 4.0 4.0 3.0 3.5 3.0 4.0 3.0 4.0 2.5 3.5 3.5 3.5
近红外光谱法/% Near-infrared spectroscopy	2.98 3.25 2.31 4.53 2.79 4.63 5.06 2.24 3.53 3.52 2.91 2.86 2.95 2.39 5.89 4.90 4.29 5.60 6.02 4.64 2.69 3.88 3.02 4.99 3.54 6.28 2.65 3.16 4.22 4.04
索氏抽提法/% Soxhlet extraction	2.40 2.48 1.72 3.72 2.09 4.24 4.10 2.00 3.18 2.98 2.32 2.32 2.16 2.14 5.20 3.86 3.38 4.83 5.33 4.05 2.24 3.27 2.69 3.93 2.68 5.62 1.80 2.41 3.23 2.93

近红外光谱法 3.86 ± 1.17%、索氏抽提法 3.18 ± 1.10%、大理石纹评分法 3.47 ± 0.52 分。

2.2 不同品种检测结果

根据不同检测方法得出的结果,认为鲜样浸提法是按照标准中的做法且测定值是最可靠的,与 AOAC 鲜样测定方法相似,且显著高于索氏抽提法。因此,选择鲜样浸提法和近红外光谱法进行不

同品种的测试研究,其肌肉脂肪测定结果见表 4,每个品种样品数量因来源差异而不均等。

2.3 简单相关分析

对测定数据进行简单相关分析,结果表明,几种方法之间相关系数较高,存在着显著相关关系(表 5)。因大理石纹评分法仅为目测评分值,其结果分析仅作参考。

表 4 不同品种间鲜样浸提法与近红外光谱法肌肉脂肪含量测定结果

Table 4 The results of intramuscular fat by two methods of the fresh sample extraction and near-infrared spectroscopy between different pork varieties		%															
品种 Varieties	鲜样浸提法 Fresh sample extraction																近红外光谱法 Near-infrared spectroscopy
杜洛克猪(DD) Duroc	2.90	2.58	2.36	2.31													2.98 2.62 2.40 2.27
长白猪(LL) Landrace	2.04	2.20	2.27	1.71	2.13	1.28	2.20	1.47	2.15	2.22							2.13 2.27 2.31 1.75 2.16 1.31 2.22 1.45 2.12 2.18 1.85 1.72 2.27 1.85
大约克夏猪(YY) Yorkshire	1.27	1.61	1.77	1.18	1.91	1.50	2.20	1.46	1.11	2.07	1.30	1.07	1.19	1.74	1.25	2.12	1.62 1.40 1.41 2.23 2.08 2.02 1.23 2.96 2.99 2.27 2.33 2.42 2.90 2.66 1.50 1.38 1.72 1.85 1.21 1.94 1.53 2.23 1.48 1.12 2.08 1.31 1.07 1.18 1.72 1.24 2.10 1.59 1.35 1.35 2.14 1.97 1.90 1.10 2.81 2.83 2.11 2.13 2.20 2.68 2.42 1.56
某配套系猪(PT) Specialized strain	2.50	3.09	1.98	1.43	3.76	4.82	2.36	3.21	3.58	2.93	2.78	2.86	2.91	1.63	2.58	2.37	2.85 2.51 2.84 2.12 1.65 2.63 2.32 2.76 2.08 1.78 2.80 2.70 2.45 3.12 1.96 1.26 3.74 4.93 2.41 3.19 3.52 2.91 2.79 2.94 2.93 1.67 2.64 2.36 2.79 2.45 2.73 2.11 1.52 2.59 2.25 2.87 2.00 1.89 2.82 2.60
某地方黑猪(DP) Native black pig	2.95	8.18	2.46	2.03	2.44	3.91											3.07 8.25 2.52 2.09 2.46 4.00
长大猪(LY) Crossbred pigs of Landrace and Yorkshire	1.91	1.90	1.60	1.61	1.72												1.92 1.90 1.60 1.60 1.67
白杜猪(WD) White Duroc	2.52	1.88	1.94	2.74													2.52 1.88 1.94 2.67
巴克夏猪(BB) Berkshire	2.75	1.69	3.49	3.13													2.86 1.74 3.53 3.12
杜长大猪(DLY) Crossbred pigs of Duroc Landrace and Yorkshire	3.06	3.08	3.80	3.71	3.01	3.41											3.16 3.16 3.88 3.78 3.05 3.42

表 5 4 种方法测定数据的相关性分析¹⁾

Table 5 The correlation analysis for result by four test methods					
测定方法 Methods	样本数 Numbers of samples	鲜样浸提法 Fresh sample extraction	近红外光谱法 Near-infrared spectroscopy	索氏抽提法 Soxhlet extraction	大理石纹评分法 Marbling score
鲜样浸提法 Fresh sample extraction	30	1	0.989 **	0.978 **	0.859 **
近红外光谱法 Near-infrared spectroscopy	30		1	0.981 **	0.877 **
索氏抽提法 Soxhlet extraction	30			1	0.857 **
大理石纹评分法 Marbling score	30				1

1) ** 表示在 0.01 水平(双侧)上显著相关。The data with * * means that they are significant correlation at 0.01 level on both sides.

2.4 4 种方法间多重比较

对 4 种方法进行多重比较(最小极差法, LSD), 结果(表 6)表明,索氏抽提法、大理石纹评分法测定结果与其他方法测定结果差异显著,且前两者之间也存在显著差异;索氏抽提法测定结果显著低于鲜样浸提法和近红外光谱法;而鲜样浸提法和近红外

光谱法所测结果之间无显著差异。

2.5 不同品种间方差分析

为进一步验证近红外光谱法快速测定结果的可靠性,在本次试验的基础上,对 9 个不同品种采用鲜样浸提法和近红外光谱法 2 种方法进行测定,对测定结果按照 2 × 9 双因素不均衡数据的方差分析

(SAS 程序中的 GLM 程式),考虑方法与品种的交互效应而进行分析,结果表明其交互作用为零。进而而不考虑其交互作用进行方差分析,其结果见表 7。结果表明,2 种检测方法之间差异不显著($P>0.05$),而不同品种之间存在极显著差异。

2.6 回归分析

鲜样浸提法和近红外光谱法在测定肌肉脂肪含量时无显著差异($P>0.05$)。以鲜样浸提法为因变

表 6 4 种方法测定结果的多重比较¹⁾

Table 6 The results of multiple comparisons with four methods					
方法因素 Method factors	均值 Mean value	样本数 Numbers of samples	t 检验分组 t-test groups		
鲜样浸提法/% Fresh sample extraction	3.791 3	30	A		
近红外光谱法/% Near-infrared spectroscopy	3.858 7	30	A		
索氏抽提法/% Soxhlet extraction	3.176 7	30	B		
大理石纹评分法(分) Marbling score	3.450 0	30	C		

1) $\alpha=0.05$,具有相同字母的组之间差异不显著。 $\alpha=0.05$,there are not significant difference with the same letter.

表 7 不同品种间方差分析

Table 7 The analysis of NOVA with different pork varieties					
方差来源 Source	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum of square	均方 Mean square	F 值 F value	Pr > F ($\alpha=0.05$)
方法 Method	1	0.006 370 59	0.00637059	0.01	0.914 8
品种 Variety	8	66.467 662 67	8.30845783	14.96	<0.000 1
误差 Error	194	107.748 029 5	0.5554022		
总体 Total	203	174.222 062 7			

量(Y),以近红外光谱法为自变量(X)进行线性回归分析,所得回归方程为 $Y=0.0395+0.988X$,其决定系数 R^2 为0.992,经检验回归方程达到极显著水平($P<0.001$),可以作为近红外光谱法获得检测数据对鲜样浸提法测定值的估测模型。

3 讨 论

3.1 相关性与差异性

鲜样浸提法、索氏抽提法、近红外光谱法 3 种方法之间存在很高的相关性。进一步分析表明,鲜样浸提法和近红外光谱法 2 种检测方法获得的数据结果差异不显著,而鲜样浸提法和索氏抽提法 2 种检测方法获得的数据差异显著;近红外光谱法与索氏抽提法有显著差异。究其原因,可能与样品的前处理方式(鲜样与干样)以及浸提所采用的试剂不同有关。

3.2 方法的比较

比较几种测定方法,鲜样浸提法相对直接且最为准确,但操作步骤相对繁琐且耗时较长,与 AOAC 鲜样法近似;而 AOAC 给出的干样浸提法,即索氏抽提法,也是国外常用的方法,不仅所需的仪器较多,而且样品的制备与保存方法极易影响测定结果。有研究表明,在加热过程中,肌肉中的磷脂和脂肪组织可能与水溶性酯类和含氨基酸化合物发生

一系列复杂反应,而产生挥发性香味,即美拉德反应^[6],此反应在索氏抽提法样品前处理中可能会发生,是抽提造成测定值偏低的原因,与本研究结果一致,并与鲜样浸提法存在显著差异,不建议作为猪肌肉肌肉内脂肪鲜样测定的可靠方法。大理石纹评分仅作为辅助方法。而近红外光谱法具有快速、准确、简便的特点,可以作为猪肌肉肌肉内脂肪检测的新方法,其缺点是仪器价格较贵。回归分析结果表明,近红外光谱法的测定数据还能按照回归方程的估测而得出与鲜样浸提法基本一致的结果。

笔者认为,近红外光谱法测定猪的肌肉肌肉内脂肪是一种可靠的快速检测方法,为实现肌肉内脂肪快速检测提供了新途径,并为我国肌肉内脂肪测定方法的改进及标准修订奠定了一定基础。

参 考 文 献

[1] LAWRIE R A, LEDWARD D A, 周光宏. Lawrie's 肉品科学 [M]. 7 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2009: 53.

[2] ZHU W Z, LIN Y Q, LIAO H H, et al. Selection of reference genes for gene expression studies related to intramuscular fat deposition in capra hircus skeletal muscle [J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0121280.

[3] 呼红梅, 王继英, 郭建凤, 等. 莱芜猪和杜洛克猪肌肉 H-FABP 基因表达量与肌肉脂肪和脂肪酸含量关联分析 [J]. 华北农学

报,2010,25(4):64-68.

[4] AOAC.Method 991.36[S].1996.Fat (Crude) in Meat and Meat Products. America: The Association of Official Analytical Chemists International AOAC International,2006.

[5] 张伟力,曾勇庆.猪肉肌内脂肪测定方法及其误差分析[J].猪业科学,2008(7):102-103.

[6] 于彭伟,刘登勇,周光宏,木糖-甘氨酸美拉德反应产物对猪肉的保鲜效果[J].食品科学,2012,33(20):334-338.

Comparison of test method of intramuscular fat in porcine muscle

CHEN Ya-jing¹ FU Xue-lin¹ NI De-bin^{1,2} HU Jun-yong^{1,2} LEI Ming-gang² LIU Wang-hong^{1,2}

1.Breeding Swine Quality Supervision,Inspecting and Testing Center,Wuhan,
Ministry of Agriculture,Wuhan 430070,China;
2.College of Animal Science and Technology,Huazhong Agricultueral University,
Wuhan 430070,China

Abstract This experiment employed four methods to test content of intramuscular fat in various types of pork.The coefficients of correlation between fresh sample extraction and near infrared spectroscopy method,fresh sample extraction and Soxhlet extraction method,Soxhlet extraction method and near-infrared spectroscopy method,were 0.989,0.978,and 0.981,respectively.However,the coefficient of correlation is lower than 0.9 between the marbling score method and the other methods.Through comparison of the four methods,it showed that the test results by Soxhlet extraction method was significantly lower than fresh sample extraction and near-infrared spectrum method ($P<0.05$),and there was no significant difference between fresh sample extraction and Near-infrared spectrometry method ($P>0.05$).It had significant differences between marbling score method and other methods,suggesting that it can only be used as an assistant method.Several different varieties were tested by the fresh sample extraction and the near-infrared spectroscopy method,but the result showed that there was no significant difference between the two methods ($P>0.05$).Therefore,fresh sample extraction is still the most accurate and effective classical method for determination of intramuscular fat pork,while the near infrared spectroscopy can be used as a rapid detection method,which is simply,quickly and accurately.

Key words longissimus dorsi; intramuscular fat; method

(责任编辑:边书京)