

冻融对牦牛肉色、微观结构和蛋白质降解的影响*

陈 骋¹ 韩 玲¹ 余群力¹ 张巨会²

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 兰州 730070; 2. 甘肃天玛生态食品科技股份有限公司, 玛曲 747300)

摘要: 牦牛肉经过冻融处理后(T0:新鲜牦牛肉;T1:冻融1次;T2:冻融2次),分别在4℃冷藏7 d,并在1、3、5、7 d测定其表面色泽(L^* 、 a^* 、 b^*)、肌红蛋白氧化状态、高铁肌红蛋白还原能力、硫代巴比妥酸值、解冻损失率、蛋白质降解程度和肌纤维微观结构的变化。结果表明:T0组牦牛肉在冷藏过程中 a^* 值和 b^* 值显著降低,氧合肌红蛋白逐渐氧化为高铁肌红蛋白,高铁肌红蛋白还原能力显著降低,硫代巴比妥酸值和解冻损失率明显升高($P < 0.05$)。同时,肌球蛋白重链(200 kDa)、副肌球蛋白(97 kDa)、肌动蛋白(45 kDa)发生降解。随着冻融次数的增加,T1组和T2组牦牛肉在冷藏7 d后 a^* 值分别比T0组显著降低了13.42%和20.02%, b^* 值则降低了9.94%和16.22%,氧合肌红蛋白相对含量降低了26.30%和53.53%,高铁肌红蛋白相对含量升高了18.03%和45.46%,硫代巴比妥酸值升高了20.55%和30.30%,解冻损失率升高了43.71%和121.14%($P < 0.05$)。T2组肌肉中蛋白质降解更明显,而肌纤维结构破坏程度也随冷冻-解冻次数增加而加重。综上可知,冻融循环会促进牦牛肉色劣变和脂质氧化、加速蛋白质降解、破坏肌肉结构、加剧汁液流失从而降低牦牛肉的品质。因此,减少运输和贮藏过程中的温度波动对保护牛肉品质具有重要意义。

关键词: 牦牛肉 冻融循环 肉色 蛋白质降解 微观结构

中图分类号: TS251.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2015)10-0290-08

Impact of Freeze-thaw Cycles on Color, Microstructure and Protein Degradation of Yak Meat

Chen Cheng¹ Han Ling¹ Yu Qunli¹ Zhang Juhui²

(1. College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

2. Gansu Tianma Shengtai Food Technology Co., Ltd., Maqu 747300, China)

Abstract: To investigate the effect of freeze-thaw cycles (T0: fresh meat, T1: one time freeze-thaw, T2: two times freeze-thaw) on the quality of yak meat, the yak meat samples were tested for color (L^* , a^* , b^*), myoglobin oxidation state, metmyoglobin reducing ability (MRA), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), thawing loss (TL), degree of protein degradation and muscle microstructure during refrigerated storage (4℃). The T0 group showed significantly decreasing trends in a^* value, b^* value, oxymyoglobin (OMb) content and MRA, while significantly increasing trends were observed in metmyoglobin (MetMb) content, TBARS value and TL ($P < 0.05$). Moreover, the degradation of myosin heavy chain (200 kDa), paramyosin (97 kDa) and actin (45 kDa) were obvious during storage. With the increase of times of freeze-thaw cycles, the a^* values of T1 group and T2 group were decreased by 13.42% and 20.02% than that of T0 group after 7 d of storage, and the b^* values of T1 and T2 groups were decreased by 9.94% and 16.22% ($P < 0.05$) than that of T0 group, respectively. Meanwhile, compared with that of T0 group, the OMb contents of T1 and T2 groups were decreased by 26.30% and 53.53%, the MetMb contents of T1 and T2 groups were increased by 18.03% and

收稿日期: 2014-12-21 修回日期: 2015-01-29

* 国家自然科学基金资助项目(31260380)、国家现代农业产业(肉牛牦牛)技术体系资助项目(CARS-38)和甘肃省科技重大专项资助项目(143NKDP020)

作者简介: 陈骋, 博士生, 主要从事畜产品加工研究, E-mail: 329211040@qq.com

通讯作者: 韩玲, 教授, 博士生导师, 主要从事畜产品加工研究, E-mail: yuqunlihl@163.com

45.46% ($P < 0.05$), respectively. The TABRS and TL of T1 and T2 groups were increased by 20.55%, 30.30% and 43.71%, 121.14% ($P < 0.05$) than those of T0 group, respectively. The degree of protein degradation of T2 group was more serious than that of T0 group and T1 group, while the muscle microstructure damage was also increased with the increase of times of freeze-thaw cycles. In conclusion, freeze-thaw process could reduce the quality of yak meat by accelerating the deterioration of meat color, lipid oxidation and protein degradation, and damaging the muscle structure. Therefore, it is meaningful to reduce temperature fluctuation in the process of transportation and storage for protecting beef quality.

Key words: Yak meat Freeze-thaw cycle Meat color Protein degradation Microstructure

引言

冷冻是肉类食品长期保藏的重要方法,然而在运输、贮藏、消费等环节温度的变化会使新鲜肉类在被食用之前一直处于冻结和解冻(冻融循环)的过程^[1-2]。冻融循环会导致肌肉变色、组织机械损伤、蛋白质变性、解冻后水分损失增加、脂质氧化等品质劣变现象^[3-4]。

色泽是牛肉重要的感官品质,肌红蛋白(myoglobin)是决定牛肉色泽的因素,鲜红色的氧合肌红蛋白(Oxymyoglobin, OMb)氧化为褐色的高铁肌红蛋白(Metmyoglobin, MetMb)是导致肉色劣变的主要原因^[5]。有研究指出冻融过程加快了肉中肌红蛋白氧化和脂质氧化的速率,使肉逐渐失去原有的鲜红色、产生不良的气味,导致其货架期缩短、可接受程度降低^[6-7]。同时,在反复冷冻-解冻的过程中形成的冰晶体会破坏细胞膜的结构、损坏肌肉的组织结构,而肌肉组织结构的完整性和肌肉持水力密切相关,当肉的结构受到破坏时,肌肉持水力便随之降低,引起肉解冻后大量的汁液流失,从而严重影响肌肉的品质特性^[8-9]。此外,肌原纤维蛋白质变性程度也与肌肉持水力相关,有研究发现肌原纤维蛋白降解程度的增加显著加快了肌肉汁液的流失^[10],但是冻融循环对于肌肉蛋白降解程度的影响还有待进一步研究。

对于牦牛肉而言,由于其产地处于平均海拔高度 3 000 m 以上的偏远地区,运输路程远、时间长,因此冷冻技术应用最为广泛,而在该过程中温度的波动很可能导致牦牛肉发生反复的冷冻和解冻,从而对其品质造成影响,但是目前关于这方面的研究还较少。因此,本文通过分析不同冻融循环处理后牦牛肉在冷藏过程中色泽稳定性、脂质氧化、解冻损失、肌肉蛋白降解情况以及冷冻-解冻前后肌纤维微观结构的变化,探究冻融循环对牦牛肉品质的影响,以期对牦牛肉冷冻过程中相关技术的控制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试验材料:牦牛由甘肃天玛生态科技股份有限公司提供,在同一牧场选取 15 头 3~4 岁、生长发育状况良好、健康无病、体重均匀的甘南牦牛,宰前禁食 24 h、禁水 2 h。

试验试剂:磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、亚铁氰化钾、1,4-哌嗪二乙磺酸(PIPES)、氨基磺酸铵、醋酸铅、醋酸双氧铀、柠檬酸铅、三氯乙酸(TCA)、硫代巴比妥酸(TBA)、戊二醛、四氧化钼、氯仿、浓盐酸、十二烷基磺酸钠(SDS)、丙烯酰胺、过硫酸铵(APS)、牛血清白蛋白(BSA)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、考马斯亮蓝(R-250)等,试验试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

AE-6450 型电泳槽(美国伯乐公司)、DYY-7C 型电泳仪电源(北京六一仪器厂)、HT7700 型透射电子显微镜(日本日立高新技术公司)、CR-10 型色差计(日本柯尼卡美能达投资有限公司)、UV765PC 型紫外分光光度计(上海光谱仪器有限公司)、TGL-16M 型离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)、JJ-2B 型组织捣碎机(金坛市医疗仪器厂)、FA2004B 型电子天平(上海佑科仪器有限公司)、DNP-9162 型水浴锅(上海精宏实验设备有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 样品采集和制备

牦牛进行集中屠宰后,分别取背最长肌,切成质量 200 g、厚度 3 cm 的肉块,装入聚乙烯食品保鲜袋,样品随机分成新鲜组(T0)、1 次冻融循环组(T1)、2 次冻融循环组(T2)。将 T0 组立即置于 4℃ 条件下冷藏 7 d,而 T1 和 T2 组先置于 -20℃ 冰箱中冷冻 12 h,在 4℃ 条件下解冻 12 h(T2 组重复该操作 2 次),然后再置于 4℃ 条件下冷藏 7 d。对于不同的处理组,分别在冷藏的 1、3、5、7 d 测定肉色(L^* 、 a^* 、 b^*)、肌红蛋白氧化状态、高铁肌红蛋白还原能

力、硫代巴比妥酸值和解冻损失率。采用 SDS - PAGE 电泳分析冷藏 1 d 和 7 d 时肌肉蛋白质的降解情况。采用透射电镜观察不同冻融循环处理后肌纤维的微观结构变化。

1.3.2 肉色

采用色差计测定样品表面的 L^* 值(亮度)、 a^* 值(红色度)和 b^* 值(黄色度),每个样品至少测定 3 次,求平均值。

1.3.3 肌红蛋白氧化状态

采用 Krzywicki 等^[11]的方法。取肉样 5 g,加入 20 mL 0.04 mol/L pH 值 6.8 的磷酸钠缓冲液,室温(20℃)下匀浆 25 s。匀浆液冰浴中放置 1 h,然后在 3 500 r/min、10 ~ 15℃ 条件下离心 30 min。上清液经滤纸过滤,用同样的缓冲液补足至 25 mL,测定其在 525、545、565、572 nm 处的吸光度。氧合肌红蛋白和高铁肌红蛋白相对含量计算公式为

$$C_{OMB} = (0.882A_{572\text{ nm}}/A_{525\text{ nm}} - 1.267A_{565\text{ nm}}/A_{525\text{ nm}} + 0.809A_{545\text{ nm}}/A_{525\text{ nm}} - 0.361) \times 100\% \quad (1)$$

$$C_{MMb} = (-2.514A_{572\text{ nm}}/A_{525\text{ nm}} + 0.777A_{565\text{ nm}}/A_{525\text{ nm}} + 0.800A_{545\text{ nm}}/A_{525\text{ nm}} + 1.098) \times 100\% \quad (2)$$

式中 C_{OMB} ——氧合肌红蛋白相对含量,%
 C_{MMb} ——高铁肌红蛋白相对含量,%
 A_λ ——相应波长 λ 下的吸光度

1.3.4 高铁肌红蛋白还原能力

采用 King 等^[12]的方法,稍作修改。取 2.0 g 肉样,加入 10 mL 25 mmol/L pH 值 5.8 的 PIPES 缓冲液,室温下匀浆 45 s。取 5 mL 匀浆液,加入 2 mL 5 mol/L 的亚铁氰化钾溶液,混匀后在 4℃ 条件下反应 1 h。然后在混合液中分别加入 0.1 mL 5% 的氨基磺酸铵溶液和 0.2 mL 0.5 mol/L 的醋酸铅溶液,混匀并静置 5 min 后加入 2.5 mL 20% 的 TCA 溶液,再静置 5 min 后用滤纸过滤,滤液在 2 ~ 4℃ 条件下静置 30 min,在波长 420 nm 下测定样品吸光度。高铁肌红蛋白还原能力用 420 nm 下 1.0 mol/L 的亚铁氰化钾溶液的吸光度与样品吸光度的差值表示。

1.3.5 硫代巴比妥酸值

参照 Descalzo 等^[13]的方法并做适当修改。取 0.5 g 肉样放入试管中,加入 3 mL TBA 溶液和 15 mL TCA 溶液并混和均匀后在 90℃ 水浴条件下反应 40 min,冷却后取 5 mL 反应液样品加入等体积的氯仿,然后用离心机于 3 500 r/min 条件下离心 10 min,在 532 nm 下测定吸光度。以 1 kg 鲜肉中硫代巴比妥酸值表示样品的脂质氧化程度,计算公式为

$$V_{TBARS} = 9.48A_{532\text{ nm}} \quad (3)$$

式中 V_{TBARS} ——硫代巴比妥酸值,mg/kg

$A_{532\text{ nm}}$ ——溶液的吸光度

1.3.6 解冻损失率

通过解冻前后牦牛肉质量的变化来计算其解冻损失率,计算公式为

$$V_{TL} = (m_1 - m_2)/m_1 \times 100\% \quad (4)$$

式中 V_{TL} ——解冻损失率,%
 m_1 ——解冻前肉样质量,g
 m_2 ——解冻后肉样质量,g

1.3.7 肌肉蛋白 SDS - PAGE 电泳

参照 Marino 等^[14]的方法提取牦牛肉肌浆蛋白和肌原纤维蛋白质,采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS - PAGE)电泳分析不同冻融处理对牦牛肉蛋白的影响。浓缩胶质量分数 4%,浓缩电流 20 mA,分离胶质量分数 12%,上样量 20 mg。

1.3.8 微观结构观察

参照 Bolumar 等^[15]的方法进行电镜样品的制备。将牦牛肉切成 3 mm × 4 mm × 5 mm 的小块,用包含 2.5% 戊二醛的 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 值 7.2)在 2 ~ 4℃ 下将样品固定 24 h,用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液在 2 ~ 4℃ 下清洗 15 min(清洗 3 次),然后用含 1% 四氧化锇的 0.1 mol/L 磷酸缓冲液在 2 ~ 4℃ 下固定 2 h,用蒸馏水漂洗 3 次,再分别用 50%、60%、70%、80%、90%、95% 的乙醇脱水 10 min,用 Epon812 树脂包埋,最后将样品放入 60℃ 恒温箱内 3 d。用超薄切片机制备超薄切片,再用 2% 醋酸双氧铀和 6.18% 柠檬酸铅溶液进行染色,最后在透射电镜下观察肌原纤维超微结构。

1.4 统计分析

用 SPSS 19.0 统计分析软件进行试验数据处理,平均值之间的显著性差异($P < 0.05$)通过 LSD 法进行比较分析。用 Origin 8 软件制图。用相机对 SDS - PAGE 电泳图进行拍照,并采用图像处理软件进行处理。

2 结果与分析

2.1 肉色

从表 1 得出,新鲜牦牛肉(T0)和冻融循环 1 次(T1)的牦牛肉 L^* 值在冷藏过程中无显著地变化,但是冻融循环 2 次的牦牛肉 L^* 值变化显著($P < 0.05$)。T2 组在冷藏 1 d 时 L^* 值显著地低于 T0 组和 T1 组,但随着时间的延长,其 L^* 值显著升高。所有样品的 a^* 值和 b^* 值在冷藏过程中都有不同程度的降低。冷藏 7 d 时,T1 组和 T2 组 a^* 值分别比 T0 组降低了 13.42% 和 20.02%, b^* 值则降低了 9.94% 和 16.22% ($P < 0.05$)。Jeremiah 等^[16]研究发现贮藏温度对牛肉色泽稳定性的影响显著,贮藏

过程中温度波动越大,肉色越容易发生劣变。Hopkins 等^[17]报道温度的急剧变化会加剧肌纤维结构的破坏,使肌肉水分损失增加,大量水分渗出并堆积到肌肉表面,从而提高对光线的散射程度,导致肉亮度的升高。还有许多学者认为肉色的劣变主要是由脂质氧化引起的,脂质氧化过程中产生大量羟自由基、过氧化氢以及一些氧化产物(如丙二醛、4-羟基壬烯醛),这些物质可以促使肌红蛋白中的二价铁离子氧化,使肉的 a^* 值迅速降低,加快肉色的褐

变^[5-7],而温度的反复波动又是促进脂质氧化的主要因素之一^[18]。此外,Tolstorebrov 等^[18]在研究中发现脂质氧化不仅促进肉中的肌红蛋白的氧化,还会加速蛋白质的降解,导致高铁肌红蛋白还原酶活性降低,无法及时将氧化的肌红蛋白还原,最终由于高铁肌红蛋白的积累使红色度降低。本研究中,随着冻融次数的增加,牦牛肉在冷藏过程中 L^* 值显著升高, a^* 值、 b^* 值显著降低,也说明了肉色稳定性受冷冻-解冻过程中温度大幅度变化的影响。

表 1 不同冻融循环处理的牦牛肉冷藏过程中肉色的变化
Tab.1 Changes in color of yak meat by different freeze-thaw cycles during cold storage

指标	处理	冷藏时间/d			
		1	3	5	7
L^*	T0	38.88 ± 1.82 ^{Aa}	38.15 ± 1.86 ^{Aa}	38.68 ± 3.01 ^{Aa}	38.66 ± 2.08 ^{Aa}
	T1	39.26 ± 3.08 ^{Aa}	37.23 ± 2.92 ^{ABa}	39.48 ± 4.95 ^{Aa}	37.93 ± 3.24 ^{Aa}
	T2	35.83 ± 2.05 ^{Bb}	35.53 ± 3.39 ^{Bb}	37.30 ± 3.04 ^{Aab}	39.04 ± 2.66 ^{Aa}
a^*	T0	22.63 ± 2.19 ^{ABa}	22.47 ± 2.33 ^{Aa}	21.62 ± 1.26 ^{Ab}	21.23 ± 2.65 ^{Ab}
	T1	24.64 ± 2.39 ^{Aa}	21.34 ± 1.01 ^{ABb}	19.51 ± 2.11 ^{ABbc}	18.38 ± 2.39 ^{Bc}
	T2	20.74 ± 2.36 ^{Ba}	19.59 ± 2.46 ^{Bab}	17.17 ± 1.71 ^{Bab}	16.98 ± 2.68 ^{Bb}
b^*	T0	11.43 ± 1.43 ^{Aa}	10.78 ± 1.25 ^{Aab}	10.56 ± 1.54 ^{Ab}	10.36 ± 1.90 ^{Ab}
	T1	12.19 ± 2.25 ^{Aa}	10.36 ± 1.07 ^{ABb}	10.07 ± 1.70 ^{ABb}	9.33 ± 1.85 ^{ABb}
	T2	9.47 ± 1.36 ^{Ba}	9.39 ± 1.64 ^{Ba}	9.57 ± 2.21 ^{Ba}	8.68 ± 1.88 ^{Bb}

注:对于同一指标,同列不同大写字母表示不同处理间的均值差异显著($P < 0.05$),同行不同小写字母表示不同冷藏时间的均值差异显著($P < 0.05$),下同。

2.2 肌红蛋白氧化状态

从图 1 得出,冷藏过程中不同处理组牦牛肉中氧合肌红蛋白相对含量显著降低($P < 0.05$),T0 组氧合肌红蛋白相对含量显著地高于 T1 组和 T2 组($P < 0.05$)。冷藏 7 d 时,T0 组氧合肌红蛋白相对含量分别比 T1 组和 T2 组高 26.30% 和 52.52%;冷藏过程中不同处理组高铁肌红蛋白相对含量显著升高($P < 0.05$),T1 组和 T2 组高铁肌红蛋白相对含量显著高于 T0 组($P < 0.05$)。冷藏 7 d 时,T1 组和 T2 组高铁肌红蛋白相对含量分别比 T0 组高 18.03% 和 45.46% ($P < 0.05$)。肉中的氧合肌红蛋白为鲜红色,是消费者喜欢的颜色,在鲜肉中其相对含量一般在 70% 以上,但是由于氧合肌红蛋白中二

价铁离子不稳定,很容易被氧化为三价态而形成黄褐色的高铁肌红蛋白,当肉中高铁肌红蛋白相对含量超过 30% 时,肉就呈现出褐色^[11-12]。但肉中存在一些化学反应能将高铁肌红蛋白还原成其他形式,Suman 等^[5]报道高铁肌红蛋白还原酶催化的还原过程是高铁肌红蛋白的主要还原途径。Xia 等^[8]发现新鲜牛肉中内生的 NAD^+ 和 FAD^+ 等内源性还原物质会经过线粒体电子呼吸链途径向高铁肌红蛋白血红素基的三价铁离子提供电子,从而使高铁肌红蛋白还原,同时也指出运输、贮藏和销售过程中的温度和 pH 值变化是导致新鲜肌肉丧失高铁肌红蛋白还原能力的主要原因。此外,Tolstorebrov 等^[19]发现温度变化不仅破坏高铁肌红蛋白还原能力,而且

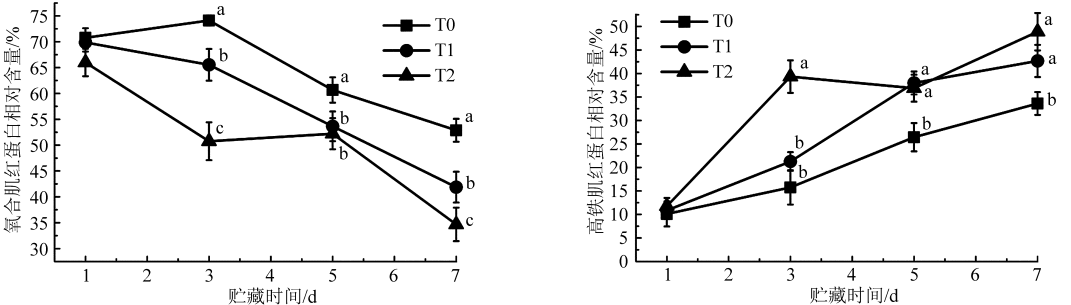


图 1 不同冻融循环处理的牦牛肉冷藏过程中肌红蛋白氧化状态变化
Fig.1 Changes of chemical state of myoglobin in yak meat by different freeze-thaw cycles during cold storage

会加剧脂质氧化,促进高铁肌红蛋白生成。因此,冻融循环次数增多会促进牛肉中高铁肌红蛋白的积累,这可能是造成不同处理组高铁肌红蛋白相对含量有明显差异的原因。

2.3 高铁肌红蛋白还原能力

从图 2 看出,T1 组和 T2 组高铁肌红蛋白还原能力略低于 T0 组,但差异不显著($P > 0.05$),但在 7 d 的储藏过程中,各组的高铁肌红蛋白还原能力均有明显的降低($P < 0.05$),T0、T1 和 T2 组分别降低了 18.06%、23.77% 和 21.34%,冻融循环组高铁肌红蛋白还原能力降低程度略高于对照组。近年来一些研究发现除了高铁肌红蛋白还原酶外,线粒体中的呼吸电子传递链是组成高铁肌红蛋白还原能力的重要因素,而 NADH 不仅是线粒体电子呼吸链中重要的反应基质,同时也作为辅酶对高铁肌红蛋白还原过程起着重要作用^[5]。NADH 在线粒体电子呼吸链中通过 NADH 脱氢酶催化反应生成 NAD^+ ,这个过程中产生的电子可以传递给高铁肌红蛋白,促使其还原,而线粒体作为反应场所,其结构的完整性是保证该还原能力的前提^[20]。由于宰后物理及生化环境的改变,线粒体的结构和功能很容易受到破坏,Herring 等^[21]研究发现冻融循环次数越多,肌肉细胞受到的机械损伤越严重,导致线粒体能量代谢途径受阻,使其对高铁肌红蛋白的还原能力下降。此外,随着贮藏时间的延长,脂质氧化也会使线粒体膜受到损伤,造成线粒体功能紊乱^[19]。因此,本研究中不同处理组高铁肌红蛋白还原能力的差异可能与线粒体受到冻融循环的机械损伤以及脂质氧化损伤有关。

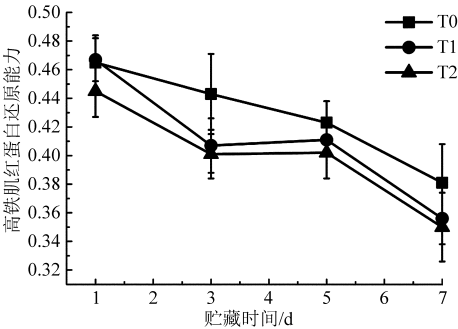


图 2 不同冻融循环处理的牦牛肉冷藏过程中高铁肌红蛋白还原能力变化

Fig. 2 Changes of metmyoglobin reductase activity in yak meat by different freeze-thaw cycles during cold storage

2.4 硫代巴比妥酸值

硫代巴比妥酸值主要反映肌肉的脂质氧化程度,脂质氧化是衡量肉品质变化的重要指标之一,脂质氧化会导致肉褪色、风味劣变、营养损失、甚至会产生毒素^[22]。从图 3 看出,冷藏前 3 d 不同处理组

牛肉中硫代巴比妥酸值变化不明显并且处理组之间差异不显著($P > 0.05$)。T2 组硫代巴比妥酸值从第 3 天开始显著升高($P < 0.05$),而 T0 和 T1 组从第 5 天开始显著升高($P < 0.05$)。冷藏 7 d 时,T1 组和 T2 组硫代巴比妥酸值分别比 T0 组升高了 20.55% 和 30.30% ($P < 0.05$)。Benjakul 等^[23]认为冻融循环对加快牛肉在贮藏过程中的脂质氧化速率起到了促进作用,冷冻过程中冰晶体会破坏肌肉细胞结构,使细胞释放铁、血红素蛋白等能够促进脂质氧化的成分。而脂质氧化产生的自由基和一些氧化产物又会促进肌红蛋白的氧化,使肉的红色度降低^[19],这与本文的研究结果相吻合。因此,冻融循环会加快牛肉脂质氧化速率,引起其他品质的劣变。

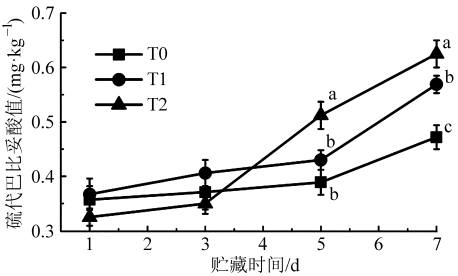


图 3 不同冻融循环处理的牦牛肉冷藏过程中硫代巴比妥酸值变化

Fig. 3 Changes of thiobarbituric acid reactive substances in yak meat by different freeze-thaw cycles during cold storage

2.5 解冻损失率

从图 4 得出,不同冻融循环处理的牛肉在冷藏期间解冻损失率显著升高($P < 0.05$)。T1 组和 T2 组的解冻损失率在第 1 天无显著差异($P > 0.05$),但显著高于 T0 组($P < 0.05$)。T1 组和 T2 组解冻损失率在第 7 天时分别比 T0 组高 43.71% 和 121.14% ($P < 0.05$)。解冻损失率是衡量牛肉加工性能和营养成分损失程度的重要指标,解冻损失率越高,肉中一些水溶性蛋白质、维生素、矿物质等营养成分流失也就越严重,过多的汁液流失也使得肉

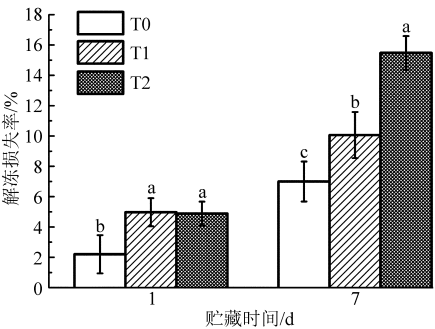


图 4 不同冻融循环处理的牦牛肉冷藏过程中解冻损失率变化

Fig. 4 Changes of thawing loss rate in yak meat by different freeze-thaw cycles during cold storage

熟肉率减小、加工性能降低^[8-9]。Boonsumrej 等^[9]研究发现在冷冻和冻藏过程中冰晶体的形成是导致肌肉汁液损失的主要原因。Kim 等^[3]指出冷冻时随着冰晶体的形成,肌细胞受到机械损伤而破裂,大量水分渗出,同时肌纤维也会发生变形和断裂,使肌肉持水能力下降,导致解冻后肌肉大量汁液流失。冰晶体的大小与汁液损失程度密切相关,冰晶体越大,肌肉组织受到的破坏越大,汁液流失越严重,而冻融循环次数越多,这种机械损伤也就越严重^[23]。故而本研究中冻融循环处理使肌肉解冻损失率升高可能是由上述原因造成的。

2.6 肌肉蛋白降解程度

从图 5a 中可以看出,牦牛肉肌原纤维蛋白中,肌球蛋白重链(200 kDa)、副肌球蛋白(97 kDa)和肌动蛋白(45 kDa)在贮藏过程中 SDS - PAGE 条带变化明显,这表明牦牛肉在冷藏 7 d 过程中这些蛋白质发生了不同程度的降解。同时,不同冻融循环处理组之间肌纤维蛋白 SDS - PAGE 条带存在一定差

异,T2 组肌球蛋白重链和肌动蛋白条带比 T0 和 T1 组淡,说明 T2 组这 2 种蛋白质降解程度较高,这表明冻融循环次数增多在一定程度上加速了肌纤维蛋白的降解。从图 5b 中可以看出,牦牛肉肌红蛋白(17 kDa)在贮藏过程中肌红蛋条带没有发生显著变化,不同冻融循环处理组之间也没有区别,表明肌红蛋白在冷藏 7 d 过程中降解不明显,并且冻融循环不会导致其降解。肌球蛋白和肌动蛋白是肌纤维中主要的蛋白质,占蛋白总量的 50% 以上,这 2 种蛋白质发生降解后对肌纤维结构的完整性和肌肉营养价值有很大的损害^[6]。造成肌肉中蛋白质降解的因素很多,在冷藏过程中二硫化物、氢键和疏水键的形成是导致蛋白质降解的主要原因,而反复冷冻-解冻也是诱发蛋白质降解的重要因素^[24-25]。肉中蛋白质的降解与肌肉持水能力密切相关,李银等^[26]研究发现肌纤维中主要蛋白质的降解导致肌纤维结构破坏,使肌肉持水能力下降,这与本研究牦牛肉解冻损失率变化趋势相吻合。

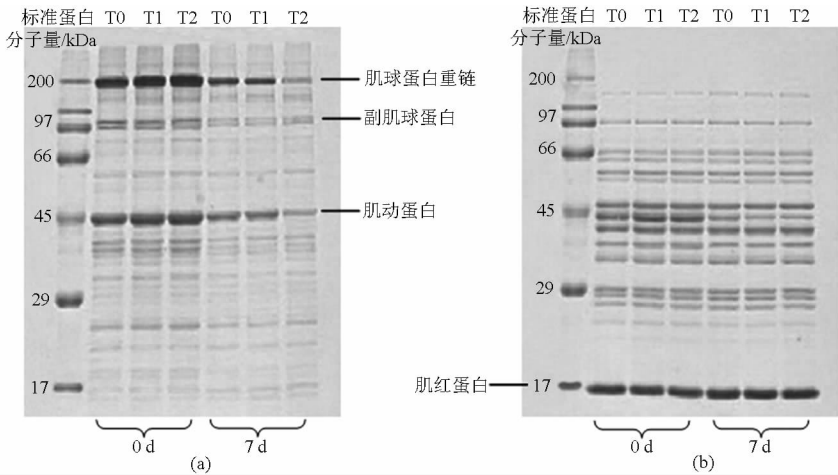


图 5 不同冻融循环处理的牦牛肉冷藏过程中蛋白质 SDS - PAGE 图
Fig. 5 SDS - PAGE profiles of yak meat protein by different freeze-thaw cycles during cold storage
(a) 肌纤维蛋白 (b) 肌浆蛋白

2.7 微观结构

由图 6 可以看出,牦牛肉肌纤维微观结构明显受到不同冻融循环处理的影响。未经过冻融处理的 T0 组肌纤维结构完整且排列紧密有序,明带、暗带、Z 线和 M 线排列清晰整齐。T1 组经 1 次冻融循环后,其肌纤维微观结构受到了破坏,主要表现在肌纤维间隙变大、Z 线排列不整齐并且部分发生降解、M 线模糊不清。T2 组经 2 次冻融循环后肌纤维结构破坏程度更严重,肌纤维发生大面积断裂和溶解、Z 线逐渐消失。以上结果表明随着冻融循环次数的增加,牦牛肉肌纤维结构受到的破坏愈加严重,这可能

与肌纤维主要蛋白质的降解和反复冻融过程中冰晶体的机械破坏作用有关。李银等^[25]研究发现随着冷冻-解冻次数的增加,猪肉肌纤维明显发生断裂、结缔组织膜严重受损,使肌肉失去原有的完整性。Boonsumrej 等^[9]发现冻融循环过程中反复形成的冰晶体会对肌纤维造成机械破坏,使肌纤维发生断裂。此外,Zhou 等^[27]指出肌肉中氧化反应产生的羟自由基也会引发肌纤维蛋白氧化,使其发生变性和降解。肌纤维的适度破坏有利于改善牦牛肉的嫩度,但是过度破坏反而会影响其口感,影响牦牛肉的食用品质。

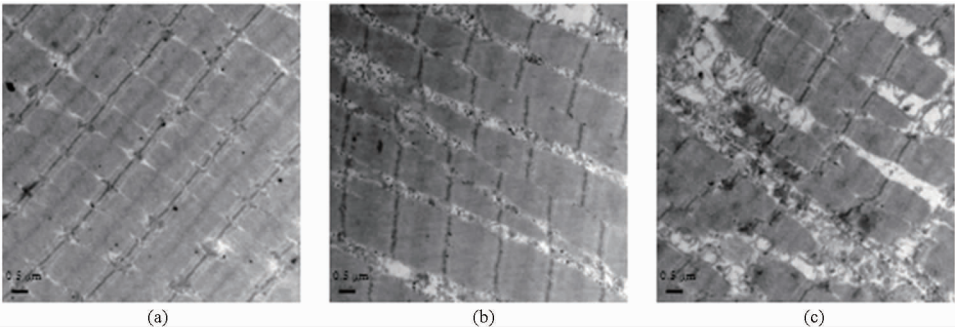


图6 不同冻融循环处理的牦牛肉肌原纤维微观结构

Fig.6 Microstructure of yak muscle fiber by different freeze-thaw cycles

(a) T0 组 (b) T1 组 (c) T2 组

3 结论

(1) 冻融循环促进牦牛肉肌红蛋白氧化,使高铁肌红蛋白相对含量迅速积累,同时肉在贮藏过程中高铁肌红蛋白还原能力降低,从而使肉的红色度降低,失去鲜肉应有的颜色。

(2) 冻融循环促进牦牛肉的脂质氧化,并且随着冻融次数的增加,脂质氧化程度明显升高。脂质氧化与肉色稳定性存在一定的联系,在牛肉生产加工过程中控制脂质氧化速率对维持肉色稳定性有重

要作用。

(3) 随着冻融循环次数的增加,牦牛肉蛋白质发生降解,微观结构受到破坏。使肌肉持水能力大大降低,由此引起的解冻损失会影响其加工性能和营养品质。

(4) 牦牛肉由于产地僻远、运输时间长,更容易受到冻融循环的影响,因此在牦牛肉加工、运输及销售过程中,完善冷链技术,减少温度波动引起的反复冻融循环,对保护牦牛肉的品质有重要意义。

参 考 文 献

1 刘寿春,赵春江,杨信廷,等.猪肉冷链物流感官质量控制图设计与应用[J].农业机械学报,2014,45(7):177-182.
Liu Shouchun, Zhao Chunjiang, Yang Xinting, et al. Design and application of control charts in pork sensory quality during cold chain logistics[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(7): 177-182. (in Chinese)

2 胡亚芹,胡庆兰,杨水兵,等.不同冻结方式对带鱼品质影响的研究[J].现代食品科技,2014,30(2):23-30.
Hu Yaqin, Hu Qinglan, Yang Shuibing, et al. Effects of different freezing methods on the quality of *Trichiurus haumela* [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(2): 23-30. (in Chinese)

3 Kim G D, Jung E Y, Lim H J, et al. Influence of meat exudates on the quality characteristics of fresh and freeze-thawed pork[J]. Meat Science, 2013, 95(2): 323-329.

4 Sriket P, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Comparative studies on the effect of the freeze-thawing process on the physicochemical properties and microstructures of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) muscle[J]. Food Chemistry, 2007, 104(1): 113-121.

5 Suman S P, Hunt M C, Nair M N, et al. Improving beef color stability: practical strategies and underlying mechanisms[J]. Meat Science, 2014, 98(3): 490-504.

6 Qi J, Li C, Chen Y, et al. Changes in meat quality of ovine longissimus dorsi muscle in response to repeated freeze and thaw[J]. Meat Science, 2012, 92(4): 619-626.

7 Utrera M, Morcuende D, Estévez M. Fat content has a significant impact on protein oxidation occurred during frozen storage of beef patties[J]. LWT—Food Science and Technology, 2014, 56(1): 62-68.

8 Xia X, Kong B, Liu Q, et al. Physicochemical change and protein oxidation in porcine longissimus dorsi as influenced by different freeze-thaw cycles[J]. Meat Science, 2009, 83(2): 239-245.

9 Boonsumrej S, Chaiwanichsiri S, Tantratian S, et al. Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 80(1): 292-299.

10 田甲春,韩玲,刘昕,等.牦牛肉宰后成熟机理与肉用品质研究[J].农业机械学报,2012,43(12):146-150.
Tian Jiachun, Han Ling, Liu Xin, et al. Ageing mechanism and meat quality during postmortem ageing of yak meat[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(12): 146-150. (in Chinese)

11 Krzywicki K. The determination of haem pigments in meat[J]. Meat Science, 1982, 7(1): 29-36.

12 King D A, Shackelford S D, Rodriguez A B, et al. Effect of time of measurement on the relationship between metmyoglobin reducing activity and oxygen consumption to instrumental measures of beef longissimus color stability[J]. Meat Science, 2011, 87(1): 26-32.

13 Descalzo A M, Insani E M, Biolatto A, et al. Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on

- antioxidant/oxidative balance of Argentine beef[J]. *Meat Science*, 2005, 70(1): 35–44.
- 14 Marino R, Albenzio M, Della Malva A, et al. Changes in meat quality traits and sarcoplasmic proteins during aging in three different cattle breeds[J]. *Meat Science*, 2014, 98(2): 178–186.
- 15 Bolumar T, Bindrich U, Toepfl S, et al. Effect of electrohydraulic shockwave treatment on tenderness, muscle cathepsin and peptidase activities and microstructure of beef loin steaks from Holstein young bulls[J]. *Meat Science*, 2014, 98(4): 759–765.
- 16 Jeremiah L E, Gibson L L. The influence of storage temperature and storage time on color stability, retail properties and case-life of retail-ready beef[J]. *Food Research International*, 2001, 34(9): 815–826.
- 17 Hopkins D L, Lamb T A, Kerr M J, et al. Examination of the effect of ageing and temperature at rigor on colour stability of lamb meat[J]. *Meat Science*, 2013, 95(2): 311–316.
- 18 Hansen E, Juncher D, Henckel P, et al. Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage[J]. *Meat Science*, 2004, 68(3): 479–484.
- 19 Tolstorebrov I, Eikevik T M, Indergård E. The influence of long-term storage, temperature and type of packaging materials on the lipid oxidation and flesh color of frozen Atlantic herring fillets (*Clupea harengus*) [J]. *International Journal of Refrigeration*, 2014, 40: 122–130.
- 20 Gao X, Wang Z, Miao J, et al. Influence of different production strategies on the stability of color, oxygen consumption and metmyoglobin reducing activity of meat from Ningxia Tan sheep[J]. *Meat Science*, 2014, 96(2): 769–774.
- 21 Herring J L, Jonnalongadda S C, Narayanan V C, et al. Oxidative stability of gelatin coated pork at refrigerated storage[J]. *Meat Science*, 2010, 85(4): 651–656.
- 22 Tang J, Faustman C, Mancini R A, et al. The effects of freeze-thaw and sonication on mitochondrial oxygen consumption, electron transport chain-linked metmyoglobin reduction, lipid oxidation, and oxymyoglobin oxidation[J]. *Meat Science*, 2006, 74(3): 510–515.
- 23 Benjakul S, Bauer F. Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis* Linne) muscle as influenced by different freeze-thaw cycles[J]. *Food Chemistry*, 2001, 72(2): 207–217.
- 24 Ngapo T M, Babare I H, Reynolds J, et al. Freezing rate and frozen storage effects on the ultrastructure of samples of pork[J]. *Meat Science*, 1999, 53(3): 159–168.
- 25 Benjakul S, Sutthiphan N. Muscle changes in hard and soft shell crabs during frozen storage[J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2009, 42(3): 723–729.
- 26 李银, 孙红梅, 张春晖, 等. 牛肉解冻过程中蛋白质氧化效应分析[J]. *中国农业科学*, 2013, 46(7): 1426–1433.
Li Yin, Sun Hongmei, Zhang Chunhui, et al. Analysis of frozen beef protein oxidation effect during thawing[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(7): 1426–1433. (in Chinese)
- 27 Zhou F, Zhao M, Zhao H, et al. Effects of oxidative modification on gel properties of isolated porcine myofibrillar protein by peroxyl radicals[J]. *Meat Science*, 2014, 96(4): 1432–1439.
-

(上接第 256 页)

- 76 龙国徽, 纪媛, 余涛, 等. 高压对大麦种子萌发的影响及诱变的 DNA 分子指纹分析[J]. *吉林大学学报: 理学版*, 2007, 45(2): 305–310.
Long Guohui, Ji Yuan, Yu Tao, et al. Molecular analysis of high pressure induced barley DNA structure and effect of high pressure on germination of barley seed[J]. *Journal of Jilin University: Science Edition*, 2007, 45(2): 305–310. (in Chinese)
- 77 Saraiva J A, Rodrigues I M. Inhibition of potato tuber sprouting by pressure treatments[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2011, 46(1): 61–66.
- 78 Gao Jiaqi, Yang Haixia, Rong A, et al. Effects of HHP on microorganisms, enzyme inactivation and physicochemical properties of instant oats and rice[J]. *Journal of Food Process Engineering*, 2014, 37(2): 191–198.
- 79 赵冬, 蒲彪, 黎雪梅, 等. 超高压处理对泡豇豆杀菌效果的影响[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(21): 78–80.
Zhao Dong, Pu Biao, Li Xuemei, et al. Effect of inactivation on microorganisms in pickled cowpea by high hydrostatic pressure[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 33(21): 78–80. (in Chinese)
- 80 Peñas E, Gómez R, Frías J, et al. Application of high-pressure treatment on alfalfa (*Medicago sativa*) and mung bean (*Vigna radiata*) seeds to enhance the microbiological safety of their sprouts[J]. *Food Control*, 2008, 19(7): 698–705.
- 81 Alexandre E M C, Carvalho A M, Saraiva J A. Effect of high pressure on green pea seeds germination and plantlets development [J]. *High Pressure Research*, 2014, 34(1): 133–146.
- 82 梁灵, 张正茂, 段旭昌, 等. 高压对小麦种子发芽和幼苗生长的影响初探[J]. *高压物理学报*, 2005, 19(3): 241–246.
Liang Ling, Zhang Zhengmao, Duan Xuchang, et al. Effect of high pressure on seed germination and seedling growth of wheat[J]. *Chinese Journal of High Pressure Physics*, 2005, 19(3): 241–246. (in Chinese)