

牛肉高压冷冻过程中热变化和冰晶形态研究*

苏光明¹ Hosahalli S. Ramaswamy² 于勇¹ 胡菲菲¹ 徐梦龙¹ 朱松明¹

(1. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 杭州 310058;

2. 麦吉尔大学食品科学与农业化学学院, 蒙特利尔 H9X3V9)

摘要:以牛肉为研究对象,分别进行高压冷冻和传统冷冻试验,分析了冷冻过程中的热变化和形成的冰晶形态。高压冷冻试验在3个不同的压力下进行,分别为100 MPa(-9℃)、150 MPa(-15℃)和200 MPa(-20℃);传统冷冻(空气冷冻和液体浸没冷冻)在0.1 MPa和-20℃条件下进行。试验结果表明:传统冷冻形成的冰晶多数位于组织细胞外,冰晶粗大且不均匀,对组织细胞造成严重的压迫和机械损伤;高压冷冻形成的冰晶体积较小,在样品中分布较均匀,且压力越大,位于胞内的冰晶越多,对样品组织的破坏程度越小。空气冷冻的冻结时间最长(85 min),液体浸没冷冻结冰速率较快(5.5 min),高压冷冻的冻结时间在100、150和200 MPa时分别为2.47、1.22和0.83 min;压力越大,卸压时形成的超冷度越大,冰点越低,冻结所需时间越短。

关键词:牛肉 热变化 冰晶 高压冷冻

中图分类号: TS251.5⁺2; TB66 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)03-0206-09

引言

高压冷冻是超高压与低温冷冻相结合的一种快速冷冻技术。近年来,得益于超高压技术在食品工业的快速发展,高压冷冻在食品中的应用研究也越来越多^[1-15]。目前,高压冷冻的研究多集中在国外的高校和研究机构,国内关于高压冷冻的研究仅有极少的报道^[16-17],其他多为综述^[18-22]。产生这种情况的原因之一是由于试验研究对设备的依赖程度较高,高压冷冻试验不仅需要快速有效地使高压腔冷却到低温状态(如-15℃),还需精准地实时测量试验过程中压力腔的温度变化,以保证样品不提前冻结并在卸压时得到足够大的超冷度。这对目前国内的超高压设备提出了一个巨大的挑战。

目前对诸如牛肉等肉产品的远距离运输和长时间保藏多采用冷冻的方法,但是传统冷冻速率慢、效率低,冷冻过程中形成的冰晶粗大且分布不均匀,常导致肌肉组织损伤严重、细胞破裂、解冻后汁液流失等后果,给产品的品质和风味带来严重影响^[23]。因此,对牛肉新型冷冻方法的开发研究尤为重要。高压冷冻可以缩短冷冻时间,减小冰晶的尺寸,从而大大降低冷冻对组织的损伤,能有效地提高冷冻产品的品质。

本文在经过改造后加装温控和检测装置的超高压设备的基础上,以牛肉为研究对象,研究在高压冷冻过程中的热变化以及形成的冰晶微观特征,并比较分析高压冷冻法与传统冷冻方法(空气冷冻和液体浸没冷冻)之间的差异和优缺点,为今后利用高压冷冻开发具有高品质的冷冻牛肉提供一定的技术支持。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

牛肉,购于超市;乙醇(体积分数为95%)、无水乙醇、三氯甲烷、冰乙酸、正丁醇、甲苯、石蜡、亮蓝均为分析纯,购于Fisher Scientific公司;EUKITT封固剂,购于德国O. Kindler公司。

1.2 主要仪器与设备

ACIP-3500/1/8-VB型超高压设备,法国ACB公司;Agilent 34970A型数据采集仪,美国Agilent公司;K型热电偶,美国Omega Stamford公司;Presto-LH47型低温恒温循环槽,德国Julabo Labortechnik GMBH公司;冷冻冰箱,法国Servathin公司;定型模具(20 mm×15 mm×15 mm),Fisher Scientific公司;SM-2000-R型切片仪,德国Leica公司;MACC-C71型CCD RGB相机,日本Sony公

收稿日期:2013-11-07 修回日期:2013-12-14

* 国家自然科学基金资助项目(31071620)和国家高技术研究发展计划(863计划)资助项目(2011AA100801)

作者简介:苏光明,博士生,主要从事食品非热加工技术研究,E-mail: roger.sugm@gmail.com

通讯作者:朱松明,教授,博士生导师,主要从事食品非热加工技术研究,E-mail: zhusm@zju.edu.cn

司;Wild M3C 型显微镜,德国 Leica 公司。

1.3 样品前处理

将牛肉按照一定尺寸切块(直径约 6 mm,长度约 30 mm)。切块后的牛肉放置于 10 mL 离心管,填满。将离心管盖紧后即作为一个样品,待冷冻处理。每个处理同时准备 3 个样品。取一个样品,在离心管盖上打一个孔(直径 1 mm),插入一根 K 型热电偶探针至牛肉中心位置,测量牛肉在冷冻过程中温度的变化。

对照组为不经过冷冻处理的样品,其他处理与样品组相同。

1.4 含水率测定

称取一定质量牛肉置于 101℃ 的干燥箱干燥至恒质量。牛肉干燥前质量与干燥后质量的差数对干燥后质量的百分比即牛肉的湿基含水率(%)。

1.5 高压冷冻

高压冷冻试验设备如图 1 所示。高压设备压力腔有效工作体积为 3.5 L,内径为 120 mm,高度为 310 mm。试验压力分别设定为 100、150 和 200 MPa,对应的试验温度分别为 -9、-15 和 -20℃。传压介质为体积分数 50% 的乙醇溶液。升压速率为 3 MPa/s,卸压速率为 40 MPa/s。

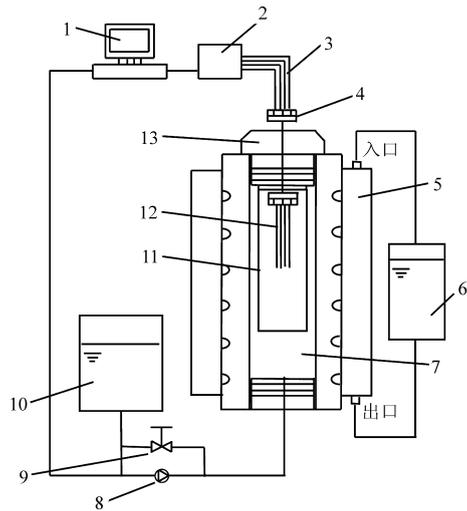


图 1 高压冷冻试验装置示意图

Fig. 1 Schematic of apparatus for pressure shift freezing

1. 计算机 2. 数据采集仪 3. 热电偶 4. 转接口和接口面板
5. 保温层 6. 低温恒温循环器 7. 高压腔 8. 倍加器 9. 卸压阀
10. 传压介质 11. 样品支撑架 12. K 型热电偶 13. 堵头和密封

试验过程按照图 2 所示,以 200 MPa(-20℃) 的高压冷冻试验为例,过程分为 4 步:①将样品放置于高压设备压力腔,密封后加压至 200 MPa,如图 2 中 A-B 所示。②样品在 200 MPa 下冷却,至 -20℃。开启低温槽与超高压设备之间的循环开关,如图 2 中 B-C,但冷却后的温度不能低于样品的结

冰相变温度。按照苏光明等对虾肉在不同压力下的相变温度的计算方法^[17],牛肉样品在 100、150 和 200 MPa 的压力下的相变温度分别为 -12.1、-17.6 和 -23.9℃。③快速卸压,如图 2 中 C-D-E-F。在卸压过程中产生极大的超冷度(D-E),形成无数的冰晶核。④在常压下完成冻结(图 2 中 F-G),卸压过程中未形成冰晶核的水以冰晶核为中心逐渐长大成冰晶。冷冻后的样品取出于 -40℃ 保存,并在 48 h 内进行冰晶分析。

在 100、150 和 200 MPa 条件下的高压冷冻试验结束后,将用于温度测定的牛肉样品于室温下进行解冻(48 h)。解冻后样品再次进行冷冻,并用同样的方法分别测定牛肉样品在 100、150 和 200 MPa 下高压冷冻试验过程中的温度变化,并以此方法重复 2 次。

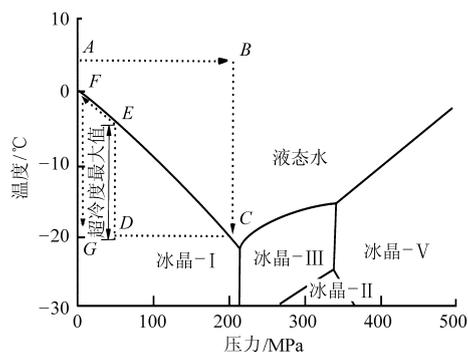


图 2 水在不同压力和温度下的相变图及高压冷冻原理示意图^[24]

Fig. 2 Water phase diagram under different pressure and temperature, and the principle of pressure shift freezing

1.6 高压冷冻过程中温度的测定

将待处理的 3 个样品固定于图 1 中的样品支撑架,从压力腔内的转接口接出两根热电偶,一根与预先装在样品上的热电偶相连接,另一根置于压力腔内,测量试验过程中腔内传压介质的温度。将高压设备的上堵头旋紧至密封状态,将位于堵头上方的热电偶与数据采集仪相连接。数据采集仪的设置如下:测量项目设为温度(单位:℃);传感器类别设为 K 型热电偶;测量间隔设为 10 s(卸压时改为 1 s)。试验开始时,开启自动扫描功能即可实现温度的测量并记录在与数据采集仪相连的计算机上。

1.7 传统冷冻试验

1.7.1 空气冷冻

将 3 个样品同时置于 -20℃ 的冷冻冰箱,1 个样品用于温度测定,另外 2 个样品用于冰晶显微结构分析。将待处理的 3 个样品固定于冰箱内支架,从数据采集仪的转接口接出两根热电偶,一根与预先装在样品上的热电偶相连接,另一根置于冰箱内

(热电偶线于冰箱内固定使探头悬空,避免与冰箱内表面接触),测量试验过程中冰箱内空气(冷媒)的温度。数据采集仪的设置与高压冷冻试验的设定相同。当样品中心温度达到样品低于初始冻结温度 10°C 时即完成冷冻处理。冷冻后的样品取出于 -40°C 保存,并在48 h内进行冰晶分析。

用于温度测定的牛肉样品在室温下经过48 h解冻后再次进行冷冻,用同样的方法测定牛肉样品在空气冷冻过程中的温度变化,并以此方法重复2次。

1.7.2 液体浸没冷冻

3个样品同时置于 -20°C 的低温恒温槽,冷媒为体积分数50%的乙醇溶液,1个样品用于温度测定,另外2个样品用于冰晶显微结构分析。将待处理的3个样品固定于恒温槽内的网状支架,浸没于乙醇溶液。从数据采集仪的转接口接出两根热电偶,一根与预先装在样品上的热电偶相连接,另一根固定于恒温槽内网状支架(避免与恒温槽内壁接触,浸没于乙醇溶液内),测量试验过程中恒温槽内乙醇溶液(冷媒)的温度。数据采集仪的设置与高压冷冻试验的设定相同。当样品中心温度达到样品低于初始冻结温度 10°C 时即完成冷冻处理。冷冻后的样品取出于 -40°C 保存,并在48 h内进行冰晶分析。

用于温度测定的牛肉样品在室温下经过48 h解冻后再次进行冷冻,用同样的方法测定牛肉样品在液体浸没冷冻过程中的温度变化,并以此方法重复2次。

1.8 冰晶固定化处理

冰晶固定化处理参照猪肉的高压冷冻试验^[6]。将冷冻的样品从离心管中取出,用预先冷却的刀从中间切取约4 mm长的正方体样品,切割方向顺纤维方向。每个样品切10小块正方体,整个操作过程在 -18°C 冷冻室中进行,以保证样品中冰不融化。正方体样品再用Carnoy溶液进行固定。Carnoy溶液由无水乙醇、甲苯和冰乙酸组成(体积比6:3:1)。将样品浸没于Carnoy溶液, -18°C 下静置18 h。未冷冻的对照样品用同样的方法进行固定,但于 4°C 下静置18 h。静置后的样品取出用无水乙醇脱水。脱水后样品取出沥干,并浸没于正丁醇继续脱水并静置2 h,此操作重复2次,再将样品用正丁醇浸没静置12 h。将脱水后的样品浸没于甲苯,静置30 min(重复3次),取出后沥干再浸没于 57°C 的熔融石蜡,静置1 h并重复3次。最后将样品放置于定型模具中(横截面向上),并用熔融的石蜡固定,冷却至室温(20°C)。

用切片机对固定的样品切片,厚度 1×10^{-8} mm。将样品的切片水平放置于载玻片上,载玻片预先置于 56°C 的恒温加热板上预热,待石蜡熔融且样品紧贴于载玻片后,取下载玻片并冷却至室温。

将附有切片样品的载玻片浸于甲苯溶液10 min,以去除载玻片和样品中的石蜡,载玻片取出后沥干再浸没于无水乙醇10 min,去除样品中甲苯。再将载玻片浸没于体积分数为50%的乙醇溶液中并静置10 min。最后将载玻片放置于蒸馏水中静置10 min完成再水化。再水化后的样品置于质量分数为0.4%的亮蓝水溶液染色3 min,取出并浸没于无水乙醇清洗10 min,再用甲苯浸没10 min。最后滴加适量封固剂至载玻片上的样品处,并用盖玻片覆盖密封,待显微分析。

1.9 显微结构分析

固定后的样品用显微镜观察分析,分别经 20×10 倍和 20×40 倍放大并拍照记录。图片中的冰晶用Image Pro Plus软件分析(Media Cybernetics)。

1.10 数据分析

不同冷冻处理得到的冰点、超冷度和冻结时间等数据采用 t 检验法进行显著性分析。 t 检验用SPSS软件进行分析,显著性水平为0.05。

2 结果与分析

2.1 高压冷冻过程的热变化

本文以150 MPa(-15°C)的高压冷冻试验为例,阐述牛肉在高压冷冻过程中的温度变化,如图3所示。

试验开始时,样品浸没于高压腔内的传压介质,由于低温槽的冷却作用,样品和传压介质的温度开始下降。增压开始后,由升压过程中绝热压缩的作用,样品和传压介质的温度逐渐升高,当压力达到150 MPa,样品的温度增加 9.8°C ,介质的温度增加了 14.9°C 。从图3可知,传压介质的升温速率比样品快(斜率大),究其原因:①加压后,传压介质(液体)比样品(固体)的压缩比大。②在增压过程中,经由倍加器泵送进压力腔的传压介质位于压力腔外的贮槽,而贮槽中的介质是常温,高于压力腔中介质的温度,从而引起介质的增温速率快,温度的增加量高于牛肉样品。

如图3所示,样品经过约80 min的冷却,温度从室温(20°C)降低到 -14.8°C ,此时,样品的温度接近相变点但未冻结。在快速卸压后,样品的温度呈现先降低,又快速上升至 -2.3°C (冰点)的变化,如图3b所示。样品温度的小幅降低是由于卸压过程中绝热膨胀引起的。而在压力快速改变至

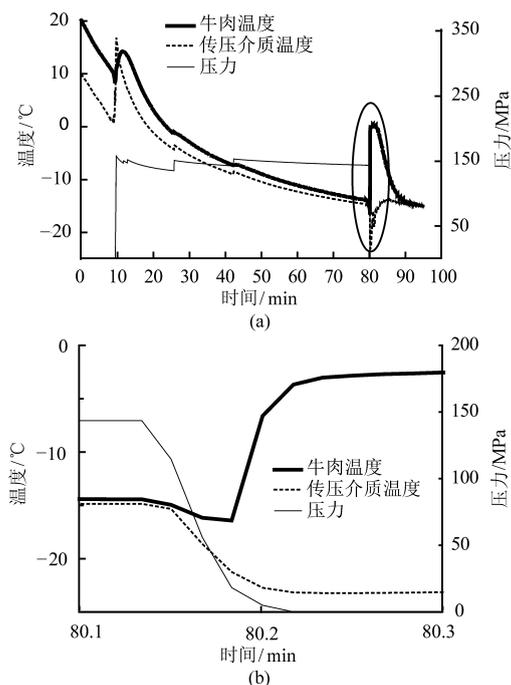


图3 牛肉样品在高压冷冻和卸压过程中压力和温度变化曲线

Fig. 3 Pressure and temperature curves of beef in process of pressure shift freezing and depressurization

0.1 MPa时,样品的相变温度变化为 -2.3°C ,而在这一瞬间,超低温的水却仍然没有结冰,这样就出现了一个很大的超冷度(12.7°C),驱动大量冰晶核的形成。由于冷冻过程是冰晶核的形成和长大过程,因此,在高压冷冻试验中,大量冰晶核的出现有2方面作用:①样品中水能够以更多的冰晶核为中心进行附着并长大形成冰晶,从而形成大量的、细小的冰晶。②样品中水在卸压瞬间形成大量的冰晶核,剩下少量未被冻结的水,因此缩短了之后的冻结过程。结冰过程是一个放热过程,热量由潜热变成显热,表现为温度从 -14.8°C 上升到 -2.3°C ,在图3b中呈现一个较平缓的水平冻结曲线($-2.3 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$),结冰过程持续1.22 min。在结冰过程后,样品的温度开始逐渐下降,直至环境温度。在卸压过程中,由于绝热膨胀,传压介质的温度由 -14.8°C 降低至 -23.2°C ,随着结冰的完成,传压介质的温度也逐渐回升至约 -15°C 。

2.2 传统冷冻过程的热变化

2.2.1 空气冷冻过程

样品在空气冷冻过程中的温度变化如图4所示。经过约28 min的冷却,样品温度由室温(20°C)降低至 -4°C (图4中A-B),此时样品中水并未开始结冰,但随着试验的进行,样品的温度迅速上升至 -1.6°C (图4中B-C),并维持一段曲线变化较平缓、温度降低速率较慢的过程,该过程即为最大冰晶

生成过程。在牛肉中水转化为冰晶的过程中,由于溶质效应的作用,冰点逐渐下降,且样品中液态水不可能被完全冻结。因此,为了描述结冰过程的完成,按照O. Schlüter等研究的报道^[25],当样品中心温度低于相变起始温度 5°C 时,样品中水可视为全部冻结。由图4可知,冻结过程持续87 min(图4中C-D)。

超冷是指样品的温度到达冰点但仍未出现冻结的现象。本试验中,样品在传统空气冷冻过程中出现了明显的超冷现象:牛肉在冷却至 -4°C 时仍未结冰,而实际的冰点为 -1.6°C ,当超过B点(图4)时,样品的温度迅速转变,并开始冻结。超冷现象的出现与样品中含有的溶质、样品大小、冷却速率、组织中存在的微隙等有关^[26],并呈现一定的随机性^[27]。本试验中使用的牛肉样品含水率为70.36%,肌肉组织中存在大量的溶质;同时,牛肉组织构成比较松散,组织纤维之间含有少量空穴,这些因素的存在都会引起冷冻过程中出现超冷现象。样品的超冷状态属于亚稳态^[28],当样品处于亚稳状态时,粘度越高,冰晶核的生成机率越小,且冰晶核的生成过程是随机的,不发生在特定的温度下,冰晶核产生时的温度处于相变点和一个较低的温度范围内^[29]。肉类样品含有大量的水和肌肉蛋白凝胶,凝胶的粘度和持水性存在着强正相关^[30],这些因素都会影响超冷现象的发生。

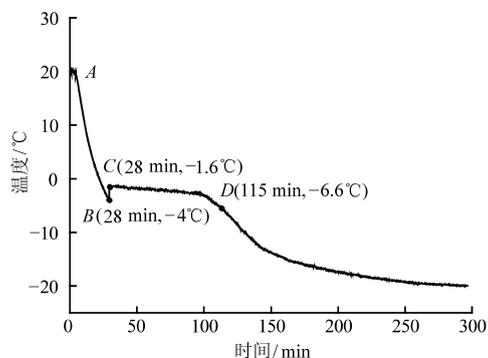


图4 牛肉样品在空气冷冻过程中温度变化曲线
Fig. 4 Temperature curve of beef sample in process of conventional air freezing (CAF)

2.2.2 液体浸没冷冻过程

样品在液体浸没冷冻过程中温度变化如图5所示,冷冻速度明显比空气冷冻的速度快。样品中心温度从室温(20°C)降低到超冷点(图5中B点)只经历了2.5 min。随后,伴随着超冷状态的打破(图5中B-C),牛肉样品中水开始结冰,按照2.2.1节中对冻结过程的定义,经过5.5 min的结冰过程,完成了牛肉样品中水的冻结。

2.3 不同条件下高压冷冻和传统冷冻的热特性比较

表1列出了在不同压力和温度条件下进行的高

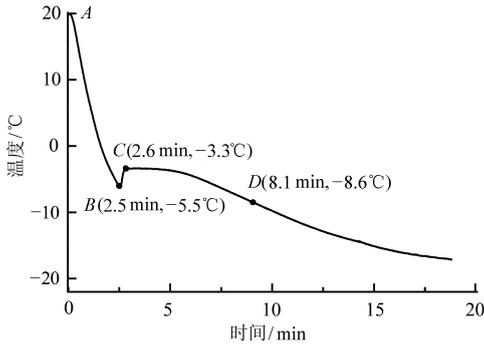


图5 牛肉样品在液体浸没冷冻过程中温度变化曲线

Fig.5 Temperature curve of beef in process of liquid immersion freezing (LIF)

压冷冻与传统冷冻过程中冰点、超冷度和冻结时间。对于高压冷冻试验,冰点由卸压后出现的水平冻结曲线得到^[7],而对于空气冷冻和浸没冷冻,冰点为起始冻结点;高压冷冻试验的超冷度为试验温度与冰点的差值^[31]。

表1 牛肉在不同冷冻过程中冰点、超冷度和冻结时间
Tab.1 Freezing point, super-cooling and freezing time of beef in different freezing processes

冷冻方法	冰点/°C	超冷度/°C	冻结时间/min
100 MPa 高压冷冻	-1.0 ± 0.4^a	7.4 ± 0.8^a	2.47 ± 1.08^a
150 MPa 高压冷冻	-2.3 ± 0.2^b	12.7 ± 1.2^b	1.22 ± 0.5^{ab}
200 MPa 高压冷冻	-4.0 ± 0.1^c	16 ± 0.5^c	0.83 ± 0.13^{bc}
空气冷冻	-1.6 ± 0.5^{cd}	—	87 ± 5.2^d
液体浸没冷冻	-3.3 ± 0.3^e	—	5.5 ± 0.4^e

注:每列不同字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。

在高压冷冻试验中,对于相同的牛肉样品,冰点随着压力的增大而逐渐降低。卸压过程形成超冷度的不同是冰点呈现差异的主要原因,而溶质效应是差异产生的直接原因。如2.1节所述,在卸压过程中产生了大量细小的冰晶核,根据Burke等的研究报告^[32],冰晶核的形成数量与卸压过程中产生的超冷度成正比:超冷度每增加1°C,形成的冰晶核以10倍增加。因此,高压冷冻试验压力越高,产生的超冷度也越高,从而形成越多的冰晶核。对于相同的试验样品,产生的冰晶核越多,未冷冻的水就越少,样品中存在的溶质浓度会越高,而溶质效应对降低冰点的作用就越明显。因此,在100、150和200 MPa高压冷冻试验中,冰点分别为 -1.0 、 -2.3 和 -4.0 °C。

产生最大超冷度(如图2、表1所示)是高压冷冻相比传统冷冻的优势所在。在高压冷冻试验卸压开始前,样品的中心温度已经达到非常低的程度,由于样品中水并没有冻结,样品表面和中心没有明显的温度差,同样,样品表面和中心也不存在明显的压力梯度,当压力卸除至0.1 MPa时,水的冰点立即变

回常压时的冰点,此时样品从表面至中心都会产生均一的非常大的超冷度,诱发产生的冰晶核均匀分布于整个试验样品,从而加速冰晶的形成,此外,如2.1节所述,由于大量冰晶核的形成,减少了未冷冻水的含量,从而也加速了随后的冷冻过程(常压下进行)。如表1,100、150和200 MPa的高压冷冻所需的冻结时间分别为2.47、1.22和0.83 min。但是,在传统冷冻试验中,冷媒(空气和50%乙醇)的冷却作用是从样品表面开始,待样品表面的水结冰后温度才开始下降,再进一步冷却样品的内层,依此循环。因此,传统冷冻过程中,样品从外至内形成了明显的温度梯度,正是在温度梯度的影响下,样品冻结过程缓慢发生。在本试验中,空气冷冻所需冻结时间为87 min,液体浸没冷冻所需时间为5.5 min,比高压冷冻所需的冻结时间显著增加。

对比相同温度时的冷冻试验, -20 °C时高压冷冻试验(200 MPa)的冰点为 -4 °C,比空气冷冻和液体浸没冷冻的冰点均低,且有显著性差异。冰点的差异也间接地反映了在起始冻结点开始时,样品内形成冰晶的含量,这种冰晶含量的差异主要是由在结冰开始时超冷的差异所引起的。空气冷冻过程中,超冷为4°C,液体浸没冷冻时为5.5°C,对于相同的牛肉样品,超冷越大,在冻结开始时形成的冰晶量越多,剩余的水分越少,冰点也越低。由于 -20 °C的高压冷冻在卸压时形成的超冷最大(为20°C,即 -20 °C与常压下水的冰点之差),在卸压瞬间形成的冰晶量也最多,使得 -20 °C的高压冷冻冰点最低。 -20 °C高压冷冻的冻结时间为0.83 min,显著小于液体浸没冷冻的5.5 min($P < 0.05$)(为高压冷冻的6.6倍),且远小于空气冷冻所需的87 min(为高压冷冻的104.8倍)。冻结时间的减少,是高压冷冻与传统冷冻方法相比的优势之一。

2.4 不同冷冻过程形成的冰晶形态分析

图6是未冷冻的牛肉样品肌肉纤维显微图(200倍)。未冷冻样品视为对照,与冷冻后的样品显微图进行对比,分析冷冻对组织的破坏程度。如图所示,新鲜牛肉组织细胞分布较均匀,组织细胞之间纹理较清晰,结缔组织明显,表明牛肉组织较松散。

空气冷冻形成的冰晶尺寸最大而不规则,且冰晶环绕着牛肉组织细胞连成一片,如图7所示,组织纤维破坏较为明显,多数肌肉纤维断裂成小片段,且被压缩成扁平状。如上文所述,空气冷冻是一个缓慢冷冻过程,被证明能够形成个头较大且通常位于胞外的冰晶体^[9]。由图7可知,牛肉样品经过冷冻后,形成的冰晶几乎都位于纤维细胞外,组织细胞之间的结缔组织被冰晶占据并压迫,肌肉细胞变性严重。

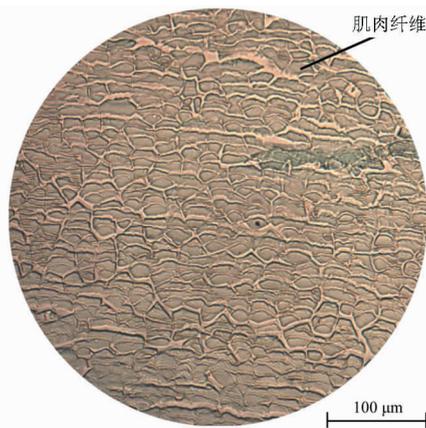


图 6 未冷冻牛肉样品肌肉纤维显微图

Fig. 6 Micrograph of muscle fibers of unfrozen beef tissue

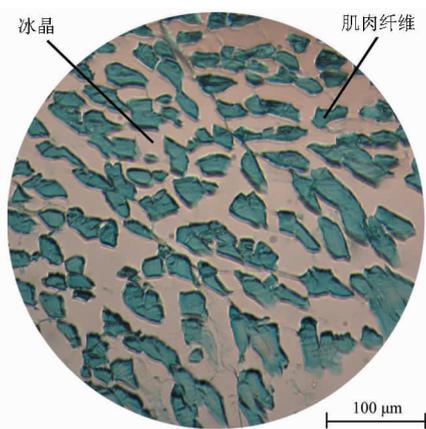


图 7 空气冷冻牛肉肌肉纤维和冰晶显微图

Fig. 7 Micrograph of beef muscle fibers and ice crystals frozen by conventional air freezing (CAF)

牛肉样品经过液体浸没冷冻后得到的显微结构如图 8 所示。液体浸没冷冻形成的冰晶较空气冷冻的分散,在一定面积内肌肉组织细胞较多,这主要因为液体浸没冷冻的冷冻速率高,但显微图中仍有较多的肌肉纤维片段,表明组织在冻结过程中,被冰晶破坏。本试验中的样品虽然体积比较小(10 mL),但在冷冻过程中冷媒引起的热传递仍然存在一定的

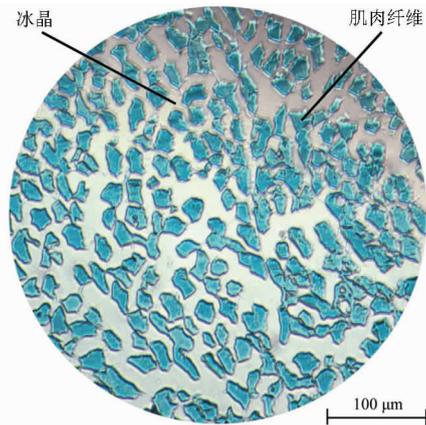


图 8 液体浸没冷冻牛肉肌肉纤维和冰晶显微图

Fig. 8 Micrograph of beef muscle fibers and ice crystal frozen by liquid immersion freezing (LIF)

温度梯度,冰晶从离心管内样品表面逐渐向样品中心延伸。

如图 9 (100 MPa)、图 10 (150 MPa) 和图 11 (200 MPa) 所示,高压冷冻能够形成较好的冰晶,对组织的破坏程度较小。样品高压冷冻时压力越高,组织细胞之间存在的冰晶越少;组织细胞内的冰晶逐渐由细胞外层向内层扩散;组织细胞内的冰晶体积越小,冰晶越多。

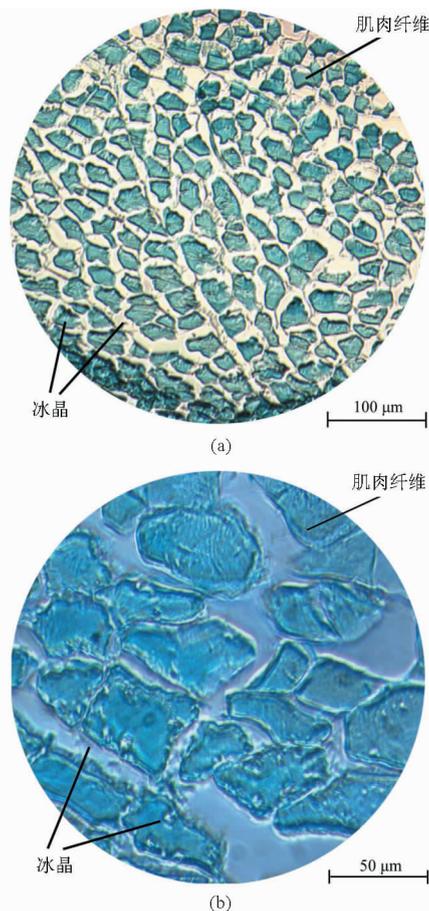


图 9 高压冷冻(100 MPa)牛肉肌肉纤维和冰晶显微图

Fig. 9 Micrograph of beef muscle fibers and ice crystal frozen by pressure shift freezing (PSF) at 100 MPa

(a) 200 倍 (b) 400 倍

相对于传统冷冻,高压冷冻形成的冰晶较小、分布较均匀,从而减少了冰晶对肌肉组织造成的机械伤害。传统冷冻(空气冷冻和液体浸没冷冻)形成的冰晶大多位于肌肉细胞间隙之间,冰晶颗粒大且彼此相连,对细胞组织构成严重压迫和机械损伤。通常,冰晶造成细胞膜的破坏不可逆,导致样品解冻后汁液流失^[6]。高压冷冻形成的冰晶多数位于肌肉细胞内部,冰晶颗粒小而分布均匀,因此对肌肉细胞的机械损伤较小,不易出现类似传统冷冻的解冻后汁液流失的现象,且高压冷冻的压力越高,冷冻效果越好。

冷冻过程一般包含冰晶核的形成与长大形成冰

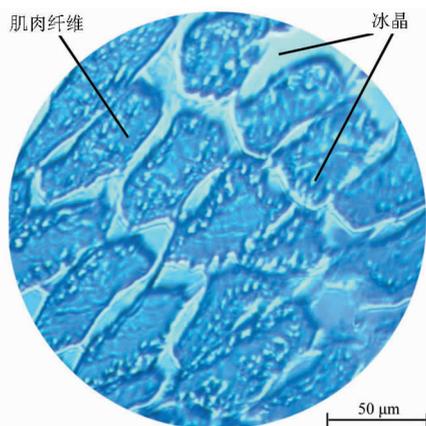


图10 高压冷冻(150 MPa)牛肉肌肉纤维和冰晶显微图
Fig. 10 Micrograph of beef muscle fibers and ice crystal frozen by pressure shift freezing (PSF) at 150 MPa

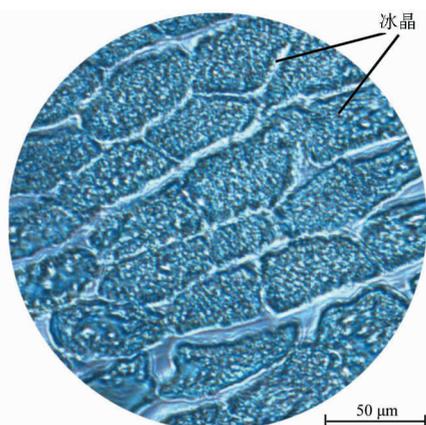


图11 高压冷冻(200 MPa)牛肉肌肉纤维和冰晶显微图
Fig. 11 Micrograph of beef muscle fibers and ice crystal frozen by pressure shift freezing (PSF) at 200 MPa

晶两个步骤。Otero 等^[33]研究表明:对于纯水,在高压冷冻的卸压膨胀过程中,100 MPa(-8.8℃)、150 MPa(-14.4℃)和200 MPa(-20℃)瞬间形成的冰晶核分别为11.7%、19.3%和27.5%。虽然在高压冷冻的卸压膨胀过程中形成了不等量的冰晶核,但是,冰晶核的形成需要的是一定的超冷度作驱动,而冰晶核长大需要除去一定的热量,而不需要有

明显的超冷度^[34]。如表1所示:100、150和200 MPa的高压冷冻所形成的超冷度分别为7.4、12.7和16℃,且超冷度在样品冻结过程中不会显著降低,仅当样品冻结完成时,样品与冷媒之间的温差才逐渐降低。在卸压过程中,由于形成大量的分布均匀的冰晶核,而冰晶核的长大需要除去一定的热量,对于较高压力的高压冷冻,相对应的冷冻温度也较低,冷媒与样品之间的温度差较高,更利于除去冰晶核长大所释放的由潜热转化而成的显热。冰晶核长大的过程中,热量的去除也具有一定的方向性,即由样品中心向外扩散。200 MPa的高压冷冻,样品与冷媒之间温差最大,更易去除冰晶核长大所释放的热量,因此,如图11所示,形成了大量的、细小的、于细胞内分布均匀的冰晶;150 MPa的高压冷冻,所得温差较200 MPa的高压冷冻小,因此,除了细胞外的冰晶,只在细胞的外层形成了部分细小冰晶(图10);而对于100 MPa的高压冷冻,所得的温差最小,细胞内只形成了零散的少量冰晶(图9)。而如图7和图8所示的传统冷冻,在细胞内没有出现明显的冰晶。

3 结束语

传统冷冻由于形成颗粒大、多位于组织细胞外且连成片的冰晶,容易导致严重的组织变形、细胞萎缩以及机械裂痕,从而导致牛肉在解冻过程中出现严重的汁液流失现象,使产品品质下降。高压冷冻由于能形成非常大的超冷度,促使大量冰晶核迅速生成,并在食品中均匀地成长为冰晶。在一定范围内(0.1~210 MPa),压力越高,冰晶颗粒越多越小、分布越均匀,对牛肉组织细胞的破坏程度越小。

因此,与传统冷冻方法相比,高压冷冻是新鲜牛肉的一种具有潜在价值的新型冷冻方法,其优势主要体现在:缩短冻结所需时间,提高生产效率,节约能源;形成大量细小且分布均匀的冰晶,对牛肉组织破坏程度小,能最大限度地保留产品品质。

参 考 文 献

- 1 Zhu Songming, Ramaswamy H S, Alain Le Bail. Ice-crystal formation in gelatin gel during pressure shift versus conventional freezing[J]. *Journal of Food Engineering*, 2005, 66(1): 69-76.
- 2 Lévy J, Dumay E, Kolodziejczyk E, et al. Freezing kinetics of a model oil-in-water emulsion under high pressure or by pressure release. Impact on ice crystals and oil droplets[J]. *LWT—Food Science and Technology*, 1999, 32(7): 396-405.
- 3 Fuchigami M, Teramoto A, Jibu Y. Texture and structure of pressure-shift-frozen agar gel with high visco-elasticity[J]. *Food Hydrocolloids*, 2006, 20(2): 160-169.
- 4 Otero L, Sanz P, Guignon B, et al. Experimental determination of the amount of ice instantaneously formed in high-pressure shift freezing[J]. *Journal of Food Engineering*, 2009, 95(4): 670-676.
- 5 Martino M, Otero L, Sanz P, et al. Size and location of ice crystals in pork frozen by high-pressure-assisted freezing as compared to classical methods[J]. *Meat Science*, 1998, 50(3): 303-313.
- 6 Zhu Songming, Alain Le Bail, Chapleau N, et al. Pressure shift freezing of pork muscle: effect on color, drip loss, texture, and protein stability[J]. *Biotechnology Progress*, 2004, 20(3): 939-945.

- 7 Zhu Songming, Alain Le Bail, Ramaswamy H. Ice crystal formation in pressure shift freezing of Atlantic salmon (*Salmo salar*) as compared to classical freezing methods[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2003, 27(6): 427-444.
- 8 Chevalier D, Sentissi M, Havet M, et al. Comparison of air-blast and pressure shift freezing on Norway lobster quality[J]. *Journal of Food Science*, 2000, 65(2): 329-333.
- 9 Chevalier D, Sequeira-Munoz A, Alain Le Bail, et al. Effect of freezing conditions and storage on ice crystal and drip volume in turbot (*Scophthalmus maximus*): evaluation of pressure shift freezing vs. air-blast freezing[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2000, 1(3): 193-201.
- 10 Fernández P P, Préstamo G, Otero L, et al. Assessment of cell damage in high pressure shift frozen broccoli: comparison with market samples[J]. *European Food Research and Technology*, 2006, 224(1): 101-107.
- 11 Castro S M, Van Loey A, Saraiva J A, et al. Effect of temperature, pressure and calcium soaking pre-treatments and pressure shift freezing on the texture and texture evolution of frozen green bell peppers (*Capsicum annuum*)[J]. *European Food Research and Technology*, 2007, 226(1-2): 33-43.
- 12 Van Buggenhout S, Lille M, Messagie I, et al. Impact of pretreatment and freezing conditions on the microstructure of frozen carrots: quantification and relation to texture loss[J]. *European Food Research and Technology*, 2006, 222(5-6): 543-553.
- 13 Otero L, Martino M, Zaritzky N, et al. Preservation of microstructure in peach and mango during high-pressure-shift freezing[J]. *Journal of Food Science*, 2000, 65(3): 466-470.
- 14 Thiebaud M, Dumay E, Cheftel J-C. Pressure-shift freezing of o/w emulsions; influence of fructose and sodium alginate on undercooling, nucleation, freezing kinetics and ice crystal size distribution[J]. *Food Hydrocolloids*, 2002, 16(6): 527-545.
- 15 Chevalier D, Bail A L, Ghoul M. Evaluation of the ice ratio formed during quasi-adiabatic pressure shift freezing[J]. *International Journal of High Pressure Research*, 2001, 21(5): 227-235.
- 16 陈淑花,赵启成,夏远景,等.超高压与低温协调作用对黄花鱼品质影响的研究[J].*食品与生物技术学报*,2009,28(4): 517-520.
Chen Shuhua, Zhao Qicheng, Xia Yuanjing, et al. Quality related aspects of high pressure low temperature processed fish[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2009, 28(4): 517-520. (in Chinese)
- 17 苏光明,Hosahalli S Ramaswamy,朱松明,等.鲜虾卸压超冷速冻过程中的热变化和冰晶形态[J].*农业工程学报*,2013,29(22):267-276.
Su Guangming, Hosahalli S. Ramaswamy, Zhu Songming, et al. Study on thermal behavior and ice crystal formation in pressure shift freezing of shrimp[J]. *Transactions of the CSAE*, 2013, 29(22): 267-276. (in Chinese)
- 18 朱立贤,罗欣.新技术在食品冷冻过程中的应用[J].*食品与发酵工业*,2009,35(6):145-150.
Zhu Lixian, Luo Xin. Application of new technologies in frozen food processing[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2009, 35(6): 145-150. (in Chinese)
- 19 李勇,苏世彦.超高压在速冻食品加工中的应用[J].*食品与机械*,2000(5):33-34.
Li Yong, Su Shiyan. Application of superhigh pressure in quick-frozen food processing[J]. *Food and Machinery*, 2000(5): 33-34. (in Chinese)
- 20 吴喆,刘泽勤.食品冷冻中新技术的研究进展[J].*冷藏技术*,2010,12(4):18-21.
- 21 赵金红,胡锐,刘冰,等.几种冷冻新技术对食品冻结过程中冰晶形成的影响[J].*食品与机械*,2012,28(6):241-245.
Zhao Jinhong, Hu Rui, Liu Bing, et al. Effect of novel freezing technologies on ice crystals during food freezing[J]. *Food and Machinery*, 2012, 28(6): 241-245. (in Chinese)
- 22 邹妍,龙道崎,陶兵兵,等.高压切换冷冻在食品保鲜中的应用[J].*食品工业科技*,2012,33(22):432-435.
Zou Yan, Long Daoqi, Tao Bingbing, et al. Mechanism and application progress of high-pressure-shift-freezing in food preservation[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 33(22): 432-435. (in Chinese)
- 23 Bello R A, Luft J H, Pigott G M. Ultrastructural study of skeletal fish muscle after freezing at different rates[J]. *Journal of Food Science*, 1982, 47(5): 1389-1394.
- 24 Bridgman P W. Water in the liquid and five solid forms under pressure[J]. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences*, 1912,47(13): 441-382.
- 25 Schlüter O, Benet G U, Heinz V, et al. Metastable states of water and ice during pressure-supported freezing of potato tissue[J]. *Biotechnology Progress*, 2004, 20(3): 799-810.
- 26 Pham Q T. Calculation of bound water in frozen food[J]. *Journal of Food Science*, 1987, 52(1): 210-212.
- 27 Heneghan A, Wilson P, Haymet A. Heterogeneous nucleation of supercooled water, and the effect of an added catalyst[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99(15): 9631-9634.
- 28 Marcus V, Max P, Hans-Jürgen W, et al. Effects of high pressure-low temperature treatment on freezing behavior, sensorial properties and air cell distribution in sugar rich dairy based frozen food foam and emulsions[J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2012,13:75-85.
- 29 Kimizuka N, Chotika V, Toru S. Ice nucleation and supercooling behavior of polymer aqueous sugar solutions[J]. *Cryobiology*, 2007, 56: 80-87.
- 30 彭增起,王晓燕,魏瑞兰,等.肌肉蛋白质凝胶的粘度和持水力之间的相关性[J].*肉类研究*,1997(2):14-15.

- Peng Zengqi, Wang Xiaoyan, Wei Ruilan, et al. Correlativity between the viscosity and the water-holding capacity of the muscle protein gels[J]. *Meat Research*, 1997(2): 14 – 15. (in Chinese)
- 31 Fernández P, Otero L, Guignon B, et al. High-pressure shift freezing versus high-pressure assisted freezing; effects on the microstructure of a food model[J]. *Food Hydrocolloids*, 2006, 20(4): 510 – 522.
- 32 Burke M J, George M F, Bryant R G. Water in plant tissues and frost hardiness[M] // Duckworth R B. *Water Relations of Foods*. London: Academic Press, 1975: 111 – 135.
- 33 Otero L, Sanz P D. High-pressure shift freezing, part 1, amount of ice instantaneously formed in the process[J]. *Biotechnology Progress*, 2000, 16(6): 1030 – 1036.
- 34 Fennema O R. Nature of freezing process[M] // Fennema O R, Powrie W D, Marth E H. *Low temperature preservation of foods and living matter*. New York: Marcel Dekker, 1973: 151 – 222.

Thermal Behaviors and Ice Crystal Properties in Pressure Shift Freezing of Beef

Su Guangming¹ Hosahalli S. Ramaswamy² Yu Yong¹ Hu Feifei¹ Xu Menglong¹ Zhu Songming¹

(1. College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

2. Department of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University, Montreal H9X3V9, Canada)

Abstract: The experiments of pressure shift freezing (PSF) and conventional freezing were conducted on beef, and the thermal behaviors and ice crystal properties in freezing process were analyzed. The PSF experiments at 100 MPa (-9℃), 150 MPa (-15℃) and 200 MPa (-20℃) were performed as well as conventional air freezing (CAF) and liquid immersion freezing (LIF) at -20℃ and 0.1 MPa. The results show that most of the ice crystals formed in conventional freezing is extracellular, the size is large and non-uniform, and severe strain and mechanical injuries has happened on the tissue cells. The crystals formed in PSF have smaller and more uniform size and spread more evenly in samples than that in conventional freezing. And the higher the pressure was, the more crystals formed in intracellular spaces and the less cell injuries happened. The freezing time in CAF is 85 min, in LIF is 5.5 min, and is 2.47, 1.22 and 0.83 min when subjecting to 100, 150 and 200 MPa PSF treatments; the degree of supercooling formed in depressurization increases with pressure increasing. However, the freezing point drops with and the freezing time needed reduces with the pressure increasing.

Key words: Beef Thermal behavior Ice crystal Pressure shift freezing