

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2021.05.038

解冻方式对牦牛肉蛋白氧化、功能特性及新鲜度的影响

王琳琳¹ 陈炼红¹ 李璐倩¹ 李 键² 杜荣胜³ 蔡自建¹

(1. 西南民族大学食品科学与技术学院, 成都 610041; 2. 西南民族大学畜牧兽医学院, 成都 610041;
3. 甘肃农业大学动物医学院, 兰州 730070)

摘要: 以冻结牦牛肉背最长肌为试验对象,探究不同解冻方式对牦牛肉蛋白质氧化、功能特性及新鲜度的影响。结果表明,空气解冻方式牦牛肉肌原纤维蛋白(MP)总巯基含量最高,其质量摩尔浓度为9.80 nmol/mg,表面疏水性指数最高,为48.53 μg,总巯基含量最低,其质量摩尔浓度为41.73 nmol/mg,Ca²⁺-ATPase活性最低,为0.245 U/mg;空气解冻与其他解冻方式之间均存在显著差异($p < 0.05$),说明空气解冻后肌肉蛋白质氧化程度最严重,其他解冻方式导致的蛋白质氧化程度由轻到重顺序依次为冷藏解冻、静水解冻、微波解冻、室温解冻。空气解冻牦牛肉的全蛋白溶解度为109.28 mg/g、MP溶解度为69.16 mg/g、乳化活性指数为31.51 m²/g,均显著低于其他解冻方式($p < 0.05$),说明空气解冻对肌肉蛋白质溶解和乳化能力最为不利。冷藏解冻牦牛肉脂质过氧化程度最低,微波解冻牦牛肉挥发性盐基氮(TVB-N)含量和菌落总数最低。同时,解冻牦牛肉蛋白质氧化和脂质氧化之间存在极显著相关性,蛋白溶解度与蛋白乳化能力之间也存在极显著相关性($p < 0.01$)。研究表明,空气解冻方式对牦牛肉品质最为不利,其次是室温解冻,而冷藏解冻、微波解冻和静水解冻可在不同层面有效延缓肌肉品质的下降过程,在一定程度上维持解冻肉的品质。

关键词: 冻结牦牛肉; 解冻方式; 蛋白质氧化特性; 蛋白质功能特性; 新鲜度

中图分类号: TS251.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2021)05-0342-08 OSID: 

Effects of Thawing Methods on Protein Oxidation, Protein Functional Properties and Freshness of Yak Meat

WANG Linlin¹ CHEN Lianhong¹ LI Luqian¹ LI Jian² DU Rongsheng³ CAI Zijian¹

(1. College of Food Science and Technology, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China
2. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China
3. College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The frozen *Longissimus dorsi* (LD) of yak meat were taken as the experimental objects to investigate the effects of different thawing methods on the protein oxidation, functional properties and freshness of yak meat. The results showed that the myofibrillar protein carbonyl groups were the highest of 9.80 nmol/mg, surface hydrophobicity was the highest of 48.53 μg and the total sulfhydryl groups were the lowest of 41.73 nmol/mg and Ca²⁺-ATPase activity was the lowest of 0.245 U/mg protein in the air thawing yak meat, which was significantly different from other thawing methods ($p < 0.05$), indicating that the meat protein oxidation was the heaviest after air thawing. And the other thawing methods resulting in protein oxidation in descending order were refrigerated thawing, hydrostatic thawing, microwave thawing, and room temperature thawing. The protein solubility was 109.28 mg/g, MP solubility was 69.16 mg/g and EAI was 31.51 m²/g in the air thawing yak meat, all of which were significantly lower than those of other thawing methods ($p < 0.05$), indicating that air thawing was most unfavorable to meat proteolysis and emulsification. Meanwhile, the lipid peroxidation of refrigerated thawed yak meat was the lowest as well as the TVB-N of microwave thawed yak meat was the lowest. There was a significant correlation between protein oxidation and lipid oxidation in thawed yak meat, and also between protein solubility and emulsifying ability ($p < 0.01$). These above results indicated that the air thawing was most detrimental to the quality of thawed yak meat, followed by thawing at room temperature. However,

收稿日期: 2020-08-15 修回日期: 2020-10-22

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项(2020NQN35)和国家重点研发计划项目(2018YFD0502404)

作者简介: 王琳琳(1988—),女,讲师,博士,主要从事畜产品加工与质量安全控制研究,E-mail: jiayouwl123@163.com

refrigerated thawing, microwave thawing and hydrostatic thawing respectively can delay the onset of meat quality decline process effectively in different levels, and can maintain the defrosted meat quality to some extent. The findings can provide data support and theory reference for illustrating the mechanism of different thawing methods on defrosted meat quality in the future.

Key words: frozen yak meat; thawing method; protein oxidation properties; protein functional properties; freshness

0 引言

冷冻技术主要通过抑制食品内部的微生物活动和酶的活性来保证产品品质,并延长货架期^[1],被广泛应用于各类食品的贮存加工中,尤其在畜肉、禽肉和水产品贮存中应用更为广泛^[2]。牦牛肉产自高原地区,是牧民重要的生活资料和经济来源,然而,受高海拔特殊地理环境的限制,牦牛肉主要依靠冷冻进行贮存和运输,在加工食用前需经解冻处理。因此,选择适宜解冻方法对于维持牦牛肉的加工品质至关重要^[3]。

近年来,我国冻结肉食品发展迅速,从而带动了解冻技术的发展。不同解冻方式对肌肉品质的影响有所不同,解冻方式也会产生较多肌肉品质下降问题,较为常见的主要有肌肉色泽劣变、汁液流失加重、营养物质损失、质构和感官品质下降等^[4]。笔者前期研究发现,不同解冻方式对牦牛肉食用品质、营养品质、感官品质和组织显微结构均有不同程度的影响^[5]。然而,解冻方式对肌肉品质影响的具体机制尚不完全清楚。因此,了解解冻处理对肌肉内部生化物化反应的影响,对于阐释解冻引起的肌肉及其制品品质下降机制、提高解冻肉品质具有重要意义。

在肌肉内部众多化学反应中,蛋白质氧化和脂质氧化是肌肉在自然成熟、加工和贮藏运输过程中极易发生的两个重要的化学变化,对肌肉品质具有重要影响^[6]。文献[7-8]研究发现,冻结和解冻过程通过影响肌肉蛋白质氧化和脂质氧化的发生进程,从而影响肌肉品质。蛋白质氧化是指蛋白质分子在活性氧自由基的直接作用下,通过次生氧化产物对蛋白质的间接作用导致其结构和功能性质发生变化的化学反应^[9]。蛋白质被氧化后,通过不同的氧化机理形成蛋白交联派生物,包括二硫化物、二聚酪氨酸和羰基以及肽链,通过上述派生物变化而最终导致肌肉肉色、保水性和质构特性等品质下降^[10]。一些学者对不同解冻方式影响虾肉、鱼肉和猪肉 MP 的氧化程度进行了研究^[11-14]。除了蛋白质氧化外,解冻肉内部发生的脂质氧化也是引起肌肉品质下降的另一重要因素。在原料肉解冻过程中,肌肉内脂肪氧化所产生的大量代谢产物会进一

步与蛋白质发生聚合反应,使蛋白质进一步被氧化^[15]。在解冻肉 MP 氧化和脂质氧化反应发生的同时,还伴随着肌肉蛋白质其他性质的改变,如溶解性和乳化性等,但具体变化情况尚不清楚,有待进一步研究。

本文以冻结牦牛肉背最长肌为研究对象,在前期研究基础上,探究 5 种常规解冻方式对牦牛肉 MP 氧化特性、功能特性、乳化特性、脂质氧化以及肌肉新鲜度的影响,进一步研究上述指标之间的潜在关系,以期明确不同解冻方式对肌肉品质的影响机制。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器设备

试验材料:选取平均年龄 3.5 岁,生长发育良好、体质量相近,并在相同饲养环境条件下生长的牦牛(由广汉市盛大食品有限公司提供),以宰后牦牛肉背最长肌作为试验对象;氯化钠、盐酸、氢氧化钠、硫酸铜、2,4-二硝基苯胍、三氯乙酸、盐酸胍、尿素、溴酚蓝、磷酸钾、碘化钾、十二烷基硫酸钠、硫代硫酸钠、磷酸二氢钾,均为分析纯;平板计数培养基、Ca²⁺-ATPase 活性检测试剂盒,南京建成生物工程研究所。

仪器设备:UV-6100 型紫外分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;HH-6 型数显恒温水浴锅,国华电器有限公司;SKD-800 型凯氏定氮仪、SKD-08S2 型红外石英消化炉,上海沛欧分析仪器有限公司。

1.2 牦牛肉解冻方法

取屠宰 24 h 内且胴体在 2~4℃ 条件下存放运输的牦牛肉背最长肌,剔除表面脂肪和结缔组织,切割分块(3.0 cm×3.0 cm×3.0 cm),分装后用聚乙烯密封袋包装,共 5 组肉样,并置于-18℃ 条件下冻结后按照不同解冻方式处理并测定相应指标。其中,静水解冻方法为:将冻结肉样从冰箱中取出密实包装后置于温度为(15±0.5)℃ 的静水中解冻。微波解冻方法为:将冻结肉样取出后放入微波炉中,在快速解冻模式下进行解冻。冷藏解冻方法为:将冻结肉样取出后放入 5℃ 冷藏室内解冻。室温解冻方法为:将冻结肉样置于温度为 25℃ 的环境内解冻。空气解冻方法为:使用 1 200 W 的电吹风,并在冷风

挡模式下对冻结肉样进行解冻处理。在解冻过程中,将温度计插在肉样中心位置,观察数显温度计的温度变化情况,并以肉样中心温度达到 5℃ 时为解冻终点。

1.3 指标测定方法

1.3.1 MP 氧化特性

(1) 总羰基含量

参考文献[16]方法。向 0.5 mL 蛋白溶液中加入 0.5 mL 含 0.02 mol/L 2,4-二硝基苯肼的 2 mol/L HCl 溶液,空白组也加入 0.5 mL 2 mol/L HCl 溶液(不含 2,4-二硝基苯肼),混匀后在 25℃ 下反应 40 min,再加入 2.0 mL 三氯乙酸(质量分数 20%),混匀后离心(4℃,11 000 g,5 min),弃上清后,用 1.0 mL 乙醇-乙酸乙酯溶液(体积比 1:1)对沉淀洗涤 3 次,并用 3.0 mL 6.0 mol/L 盐酸胍溶液对蛋白溶液进行悬浮并在 37℃ 条件下水浴保温 30 min,以空白组为对照。在 370 nm 波长处测定吸光度,总羰基含量计算公式为

$$A = 10^6 A_1 n / (\varepsilon \rho) \tag{1}$$

式中 A——总羰基质量摩尔浓度,nmol/mg

A₁——370 nm 波长处吸光度

n——稀释倍数

ε——摩尔吸光系数,取 22 000 mol/(L·cm)

ρ——蛋白质质量浓度,mg/mL

(2) 总巯基含量

参考文献[17]方法。将提取的肌原纤维蛋白溶液分散在 25 mmol/L 磷酸钠缓冲液中(pH 值 6.25),将蛋白溶液质量浓度调至 2 mg/mL,取 0.5 mL 稀释后的肌原纤维蛋白溶液依次加入 2 mL 尿素-SDS(十二烷基硫酸钠)溶液(含 8.0 mol/L 尿素,30 g/L SDS,0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液,pH 值 7.4)和 0.5 mL 10 mmol/L DTNB(2-硝基苯甲酸)试剂(溶解在 0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液中,pH 值 7.4),空白组不含 DTNB,室温下反应 15 min 后,测定吸光度(波长为 412 nm)。总巯基含量计算公式为

$$B = 10^6 A_2 n / (\varepsilon \rho) \tag{2}$$

式中 B——总巯基质量摩尔浓度,nmol/mg

A₂——412 nm 波长处吸光度

摩尔吸光系数 ε 取 11 400 mol/(L·cm)。

(3) 表面疏水性

参考文献[18]方法。用磷酸盐缓冲液(pH 值 7.4)将蛋白溶液质量浓度调至 5.0 mg/mL,向 1.0 mL 上述蛋白溶液中加入 200 μL 1.0 mg/mL 溴酚蓝溶液后进行离心处理(6 000 r/min,15 min),并对上清液进行 10 倍稀释,以无 MP 的磷酸盐溶液为空白对照,在 595 nm 波长处测定吸光度,以溴酚蓝

结合量来表示表面疏水性指数,公式为

$$C = 200(A_d - A_y) / A_d \tag{3}$$

式中 C——表面疏水性指数,μg

A_d——对照组溴酚蓝吸光度

A_y——样品吸光度

(4) Ca²⁺-ATPase 活性

根据 Ca²⁺-ATPase 活性检测试剂盒方法测定 Ca²⁺-ATPase 活性,单位为 U/mg。

1.3.2 蛋白质功能特性

(1) 蛋白质溶解度

参考文献[19]方法。肌浆蛋白溶解度测量方法:1.0 g 肉样加入 10 mL 磷酸钾缓冲液(0.025 mol/L,pH 值 7.2),冰上匀浆后 4℃ 摇动抽提 12 h,然后对抽提液进行离心处理(1 500 r/min,20 min),用双缩脲法测定其蛋白含量。全蛋白溶解度测量方法:1.0 g 肉样加入 20 mL 磷酸钾缓冲液(0.1 mol/L,1.1 mol/L KI,pH 值 7.2),冰上匀浆后 4℃ 摇动抽提 12 h,然后对抽提液进行离心处理(1 500 r/min,20 min),用双缩脲法测定其蛋白含量。以全蛋白溶解度和肌浆蛋白溶解度差值表示 MP 溶解度,公式为

$$D = D_1 - D_2 \tag{4}$$

式中 D——MP 溶解度,mg/g

D₁——全蛋白溶解度,mg/g

D₂——肌浆蛋白溶解度,mg/g

(2) 乳化活性指数及乳化稳定性指数

参考文献[20-21]方法。向 28.0 mL 稀释后的 MP 溶液中加入 7.0 mL 大豆色拉油,15 000 r/min 匀浆 60 s 后制成乳状液;然后,从乳状液底部移取 60 μL,并用 30 mL 1.0 mg/mL 的 SDS 溶液将其稀释 500 倍,未加入蛋白的 SDS 溶液作为对照组,立即在 500 nm 波长下测定各样品吸光度;室温放置 10 min 后,用相同方法再次测定吸光度,乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性指数(ESI)计算公式为

$$E = 5A_3 / (A_3 - A_4) \tag{5}$$

$$F = 2 \times 2.303 / (500 \times 10^4 A_3 G \Phi) \tag{6}$$

式中 E——乳化活性指数,m²/g

F——乳化稳定性指数

A₃——500 nm 波长处样品吸光度

A₄——500 nm 波长处放置 10 min 后样品吸光度

G——乳化前 MP 质量浓度,mg/mL

Φ——乳状液中大豆油所占的体积分数,%

1.3.3 肌肉新鲜度

(1) 过氧化值(POV)

称取 2.0 g 肉样,加入 20 mL 氯仿,振荡 20 min,

玻璃漏斗过滤后,加 30 mL 冰乙酸,振荡 30 min,再加入 1.0 mL 碘化钾,再加入 30 mL 蒸馏水,混合均匀,加入 1.0 mL 淀粉溶液作为指示剂,用硫代硫酸钠滴定,并计算得到 POV 值。

(2) 硫代巴比妥酸值(TBARS)
参照 GB 5009. 81—2016《食品安全国家标准 食品中丙二醛的测定》测定 TBARS 值。

(3) TVB-N 含量
参照 GB 5009. 228—2016《食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》。

(4) 菌落总数
参照 GB/T 4789. 2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》。

1.4 数据处理

数据均采用平均值 ± 标准差表示,试验重复测定 3 次取平均值,用 Microsoft 2016 Excel 整理,用 SPSS 19.0 软件进行多重比较 (Duncan),用 Origin 8.5 软件绘制图形。

2 结果与分析

2.1 不同解冻方式对牦牛肉 MP 氧化特性的影响

蛋白质在被氧化过程中会产生很多氧化产物,其中羰基是蛋白质氧化后形成的最主要产物之一,羰基含量常被用作蛋白质氧化发生程度的评价指标^[22]。由图 1a(图中不同字母表示不同处理组指标差异显著($p < 0.05$),下同)可知,空气解冻牦牛肉中 MP 总羰基含量最高,质量摩尔浓度为 9.80 nmol/mg,显著高于静水解冻、室温解冻和冷藏解冻处理后的 MP 总羰基含量($p < 0.05$),但与微波解冻的牦牛肉中 MP 总羰基含量无显著差异;冷藏解冻牦牛肉中 MP 总羰基含量最低,质量摩尔浓度为 5.35 nmol/mg,并显著低于其他解冻方式($p < 0.05$)。前人在研究解冻方式对虾肉品质影响时也发现空气解冻处理后羰基含量最高,微波解冻次之,低温冷藏解冻和静水解冻最低^[12],此研究结果与本研究相一致,均说明不同解冻方式对肌肉的蛋白质氧化特性存在不同程度影响。巯基具有很高的抗氧化活性,被氧化后易形成—SOH、—SOOH、—SS—等氧化产物,从而导致巯基含量减少,与蛋白质氧化程度呈负相关关系^[23]。如图 1b 所示,不同解冻方式处理对牦牛肉中 MP 总巯基含量影响不同,其中冷藏解冻牦牛肉中 MP 总巯基含量最高,质量摩尔浓度为 69.56 nmol/mg,与微波解冻无显著差异但显著高于其他解冻方式处理的 MP 总巯基含量($p < 0.05$);空气解冻后 MP 总巯基含量最低,质量摩尔浓度为 41.73 nmol/mg,说明经此方法解冻后肌肉

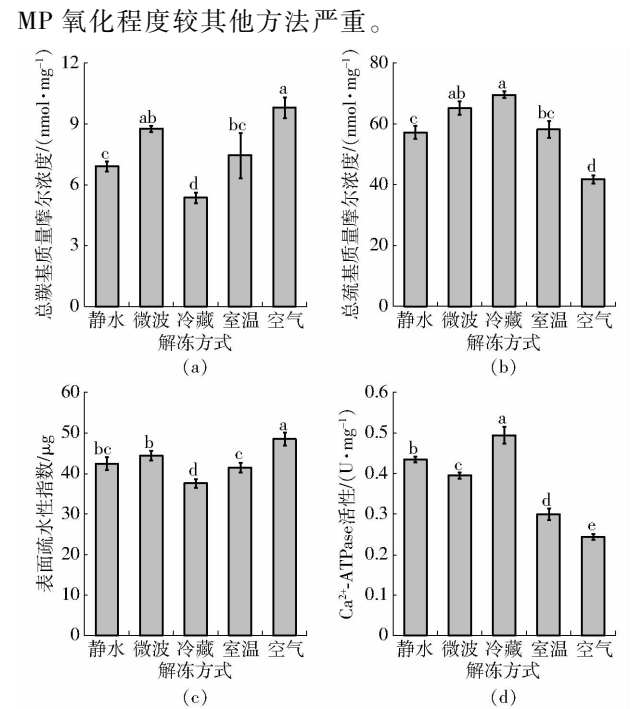


图 1 不同解冻方式对牦牛肉蛋白质氧化特性的影响
Fig.1 Effects of different thawing methods on protein oxidation properties of yak meat

蛋白表面疏水性指数反映了蛋白的水合特性,可以用来评价持水力对 MP 构象稳定性的影响^[24]。不同解冻方式对 MP 表面疏水性指数影响如图 1c 所示。空气解冻牦牛肉 MP 表面疏水性指数最高,为 48.53 μg,显著高于其他解冻方式($p < 0.05$);静水解冻和微波解冻牦牛肉中 MP 表面疏水性指数次之,分别为 42.47 μg 和 44.52 μg,且无显著差异;冷藏解冻牦牛肉中 MP 表面疏水性指数最低,为 37.63 μg,说明冷藏解冻处理后牦牛肉 MP 氧化程度最低。ATPase 活性是反映肌球蛋白完整性的指标,其头部的一SH_i氧化形成二硫键后可影响 Ca²⁺-ATPase 活性,其也是反映蛋白质氧化变性的重要指标之一。如图 1d 所示,不同解冻方式处理对牦牛肉 MP 的 Ca²⁺-ATPase 活性的影响不同,冷藏解冻牦牛肉中 MP 的 Ca²⁺-ATPase 活性最高,为 0.495 U/mg,显著高于其他解冻方式($p < 0.05$);静水解冻、微波解冻、室温解冻牦牛肉中 MP 的 Ca²⁺-ATPase 活性次之;空气解冻牦牛肉中 MP 的 Ca²⁺-ATPase 活性最低,为 0.245 U/mg,均显著低于其他解冻方式($p < 0.05$),且不同解冻方式对牦牛肉 MP 的 Ca²⁺-ATPase 活性的影响与蛋白质氧化程度其他评价指标相类似,说明空气解冻对牦牛肉 MP 氧化程度较大,易造成牦牛肉 MP 的氧化;冷藏解冻最不易引发 MP 的氧化,进而有利于维持肌肉品质;微波解冻和静水解冻次之。上述研究结果与作者前期研究相对应,证实不同解冻方式可能通过影响肌肉蛋白质氧

化影响肌肉品质,且冷藏解冻和微波解冻对维持牦牛肉品质效果较好,静水解冻次之^[5]。

2.2 不同解冻方式对牦牛肉蛋白功能特性的影响

2.2.1 对牦牛肉蛋白溶解特性的影响

蛋白溶解度是肌肉及其制品重要的功能性评价指标,只有在高溶解状态下蛋白质才能发挥良好的功能性质,受到蛋白质氧化程度的影响。由图 2a 可知,静水解冻处理后牦牛肉的全蛋白溶解度最高,为 189.98 mg/g,显著高于其他解冻方式($p < 0.05$);微波解冻和室温解冻次之,分别为 160.76 mg/g 和 152.88 mg/g,空气解冻牦牛肉的全蛋白溶解度最

低,为 109.28 mg/g,均显著低于其他解冻方式牦牛肉全蛋白溶解度,说明空气解冻处理后牦牛肉的全蛋白溶解度下降趋势显著,这可能由于空气解冻处理过程中牦牛肉蛋白质分子之间发生的氧化聚集和多肽链展开等导致了蛋白质分子的变性,进而影响了其溶解度。如图 2b 所示,静水解冻后 MP 溶解度最高,为 118.55 mg/g,并与微波解冻和室温解冻无显著差异但均显著高于其他解冻方式($p < 0.05$);微波解冻的 MP 溶解度为 110.20 mg/g,与静水解冻和室温解冻均无显著差异;空气解冻处理后 MP 溶解度最低,为 69.16 mg/g。

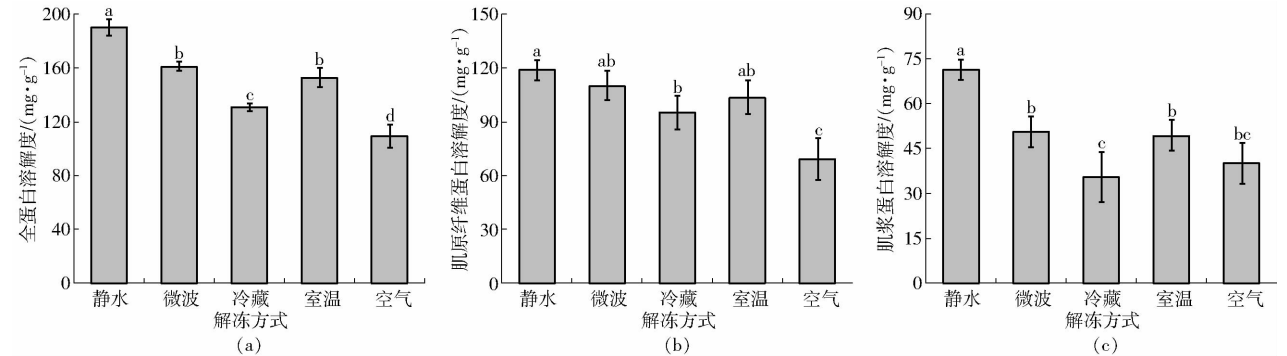


图 2 不同解冻方式对牦牛肉蛋白溶解特性的影响
Fig. 2 Effects of different thawing methods on protein solubility of yak meat

肌浆蛋白主要包括糖酵解途径的大部分酶、肌酸激酶和肌红蛋白等,在加工肉质量中发挥重要作用,约占肌肉蛋白总量的 30%^[25]。由图 2c 可知,静水解冻处理后牦牛肉肌浆蛋白溶解度最高,为 71.43 mg/g;微波解冻组和室温解冻组的肌浆蛋白溶解度次之,分别为 50.56 mg/g 和 49.40 mg/g;冷藏解冻牦牛肉的肌浆蛋白溶解度最低,为 35.48 mg/g,显著低于静水、微波和室温解冻($p < 0.05$),说明空气解冻与其他解冻方式相比不利于肌浆蛋白的溶解。上述研究结果表明,静水解冻处理后全蛋白溶解度、MP 溶解度和肌浆蛋白溶解度均最高;空气解冻与其他解冻方式相比不利于全蛋白、MP 和肌浆蛋白的溶解。

2.2.2 对牦牛肉 MP 乳化特性的影响

在一定条件下,蛋白质溶解所能乳化脂肪的能力通常用乳化能力表示,在油-水界面蛋白质膜的稳定性取决于蛋白质-油相和蛋白质-水相的相互作用,受到蛋白质溶解度的显著影响,常用 EAI 表示蛋白质作为乳化剂的乳化效力,用 ESI 表示蛋白质保持乳化体系油水界面的能力^[26]。如图 3a 所示,静水解冻后 MP 的 EAI 处于较高水平,为 43.66 m²/g,与微波解冻无显著差异,但均高于其他解冻方式($p < 0.05$);微波解冻次之,并与冷藏解冻和室温解冻无显著差异;空气解冻后 EAI 最小,为 31.51 m²/g,说明

空气解冻后 MP 的乳化效力与其他方式相比较低,原因可能是空气解冻后牦牛肉 MP 的氧化使其溶解度下降,进一步导致参与乳化的蛋白分子数量减少,最终影响了 MP 的 EAI,前人研究也证实 MP 乳化能力的下降与溶解度的降低有较大关系^[27]。由图 3b 可知,静水解冻和微波解冻处理后 ESI 分别为 38.03 和 35.53,两者无显著差异但均高于其他 3 种解冻方式($p < 0.05$);冷藏解冻和空气解冻后 ESI 均处于较低水平。同时,EAI 和 ESI 的变化趋势整体与 MP 溶解度变化趋于一致,表明空气解冻处理不利于 MP 的乳化活性和乳化稳定性,原因可能是此两种解冻方式通过影响蛋白溶解性对蛋白的乳化能力造成影响。

2.3 不同解冻方式对牦牛肉新鲜度的影响

不同解冻方式对解冻后牦牛肉新鲜度的影响如表 1 所示。由表 1 可知,微波解冻处理牦牛肉 POV 值最大,为 12.75 mmol/kg,说明微波解冻后牦牛肉脂质氧化程度较其他方式严重;室温解冻次之,为 12.50 mmol/kg,与静水解冻和微波解冻牦牛肉 POV 值无显著差异;冷藏解冻牦牛肉 POV 值最低,为 9.00 mmol/kg,与空气解冻牦牛肉 POV 值无显著差异,但均显著低于其他解冻方式($p < 0.05$),说明冷藏解冻牦牛肉脂质过氧化程度最低,在低温解冻环境下肌肉不易发生脂肪的氧化作用,进而有利于维

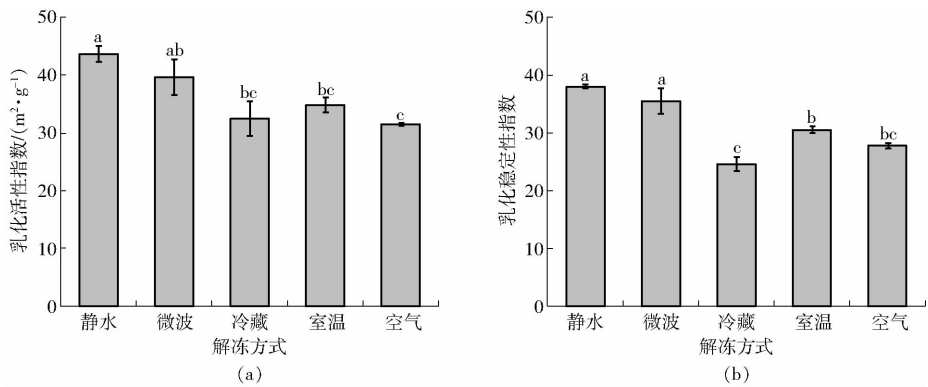


图 3 不同解冻方式对牦牛肉 MP 乳化特性的影响

Fig. 3 Effects of different thawing methods on protein emulsifying properties of yak meat

护肌肉的色泽稳定性,而微波和室温环境肌肉脂质过氧化现象较为严重,此研究结果与文献[12]相一致,均说明微波和室温环境有利于肌肉脂质过氧化的发生。TBARS 值表征脂质二级氧化产物丙二醛的含量,也是评价脂质氧化程度的重要指标之一^[28]。如表 1 所示,空气解冻牦牛肉 TBARS 值最大,为 0.503 mg/kg,显著高于其他解冻方式 ($p < 0.05$),说明空气解冻处理的牦牛肉脂质易被氧化

形成丙二醛,此研究结果与文献[29]相一致;微波解冻牦牛肉 TBARS 值次之,并与室温解冻无显著差异,但均高于静水解冻和冷藏解冻牦牛肉 TBARS 值 ($p < 0.05$),原因可能是微波传递热量速度较快,促进脂肪氧化的发生;冷藏解冻牦牛肉 TBARS 值最低并显著低于其他解冻方式,此结果与 POV 值相对应,说明低温解冻肉脂质过氧化程度较其他方式低,有利于维持肌肉色泽和新鲜度。

表 1 不同解冻方式对牦牛肉新鲜度的影响

Tab. 1 Effects of different thawing methods on freshness of yak meat

指标	解冻方式				
	静水	微波	冷藏	室温	空气
POV 值/(mmol·kg ⁻¹)	(11.00 ± 0.50) ^{ab}	(12.75 ± 0.75) ^a	(9.00 ± 0.50) ^c	(12.50 ± 0.50) ^a	(10.25 ± 0.25) ^{bc}
TBARS 值/(mg·kg ⁻¹)	(0.253 ± 0.022) ^c	(0.412 ± 0.018) ^b	(0.183 ± 0.018) ^d	(0.378 ± 0.015) ^b	(0.503 ± 0.063) ^a
TVB-N 质量比/(mg·(100 g) ⁻¹)	(13.77 ± 0.09) ^a	(9.29 ± 0.04) ^c	(11.47 ± 0.43) ^b	(12.32 ± 0.40) ^b	(14.38 ± 0.29) ^a
菌体浓度/(lgCFU·g ⁻¹)	(4.50 ± 0.09) ^a	(4.35 ± 0.01) ^a	(4.45 ± 0.08) ^a	(4.53 ± 0.08) ^a	(4.50 ± 0.09) ^a

注:同行数据不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。

畜禽肉在腐败过程中,肉中蛋白质被酶和微生物分解而产生的氨以及胺类等碱性含氮物质常用 TVB-N 表示,主要用于表征肌肉的新鲜程度^[30]。由表 1 可知,空气解冻牦牛肉 TVB-N 含量最高,质量比为 14.38 mg/(100 g),与静水解冻牦牛肉 TVB-N 含量无显著差异,并显著高于其他 3 种解冻方式 ($p < 0.05$);微波解冻牦牛肉 TVB-N 含量最低,为 9.29 mg/(100 g),说明经微波解冻后牦牛肉新鲜度较其他解冻方式优,原因可能是在解冻过程中微波起到了一定的杀菌作用,降低了肌肉表面微生物数量,抑制了微波解冻肉的腐败。同时,经不同解冻方式处理后牦牛肉菌落总数变化趋势类似于 TVB-N 含量的变化,也是室温解冻牦牛肉菌落总数最多,微波解冻最少,但几种方式解冻后牦牛肉菌落总数无显著差异,说明室温解冻因温度较高肌肉内部蛋白质被酶和微生物分解程度较其他方式严重,微波解冻对上述过程具有一定抑制作用,可维持肌肉的新鲜度。

2.4 相关性分析

解冻牦牛肉各指标相关性分析如表 2 所示。由表 2 可知,解冻牦牛肉 MP 总巯基质量摩尔浓度与总巯基质量摩尔浓度、Ca²⁺-ATPase 活性呈极显著负相关,并与表面疏水性指数、TBARS 值呈极显著正相关($p < 0.01$);总巯基质量摩尔浓度与表面疏水性指数、TBARS 值、TVB-N 质量比呈极显著负相关($p < 0.01$);表面疏水性指数与 Ca²⁺-ATPase 活性、TBARS 值之间也存在极显著相关性($p < 0.01$);Ca²⁺-ATPase 活性与 TBARS 值之间也存在极显著负相关性($p < 0.01$),蛋白质氧化指标与蛋白功能特性、菌落总数之间相关性不显著。以上结果说明解冻处理牦牛肉呈现出明显的蛋白质氧化现象,氧化进一步导致蛋白质氧化聚集交联,巯基减少且表面疏水性及 Ca²⁺-ATPase 活性下降,最终导致肌肉品质下降;且蛋白质氧化指标和脂质氧化指标 TBARS 值之间均存在极显著相关性($p < 0.01$),说明解冻过程中肌肉蛋白质在被氧化的同时,肌内脂肪也在不断被氧化降

解,且两者之间可能存在一定的促进和依赖关系。前人研究也发现氧化对蛋白质羰基的影响总体上类似于对 TBARS 值的影响,表明蛋白质氧化和脂质氧化

之间存在一定的关系,可能是脂质氧化产生的二羰基产物如丙二醛与肌球蛋白发生反应产生了羰基^[31-32],具体机制还有待进一步研究。

表 2 解冻处理牦牛肉各指标相关性分析
Tab. 2 Correlation analysis of various indexes of thawing yak meat

指标	总羰基 质量摩尔 浓度	总巯基 质量摩尔 浓度	表面 疏水性 指数	Ca ²⁺ - ATPase 活性	全蛋白 溶解度	MP 溶解度	肌浆 蛋白 溶解度	EAI	ESI	POV 值	TBARS 值	TVB-N 质量比	菌落 总数
总羰基质量摩尔浓度	1												
总巯基质量摩尔浓度	-0.665 **	1											
表面疏水性指数	0.921 **	-0.766 **	1										
Ca ²⁺ -ATPase 活性	-0.785 **	0.808 **	-0.749 **	1									
全蛋白溶解度	-0.286	0.370	-0.246	0.429	1								
MP 溶解度	-0.402	0.596	-0.404	0.578	0.920 **	1							
肌浆蛋白溶解度	-0.058	-0.027	0.027	0.120	0.852 **	0.580	1						
EAI	-0.088	0.244	0.043	0.355	0.873 **	0.825 **	0.717 **	1					
ESI	0.185	-0.004	0.199	0.100	0.841 **	0.702 **	0.813 **	0.819 **	1				
POV 值	0.383	-0.005	0.276	-0.301	0.463	0.488	0.312	0.406	0.650 *	1			
TBARS 值	0.938 **	-0.688 **	0.887 **	-0.900 **	-0.389	-0.499	-0.143	-0.219	0.044	0.426	1		
TVB-N 质量比	0.156	-0.745 **	0.309	-0.425	-0.173	-0.415	0.194	-0.166	-0.121	-0.405	0.126	1	
菌落总数	-0.067	-0.344	-0.094	-0.276	-0.076	-0.199	0.108	-0.129	-0.103	-0.256	-0.064	0.624	1

注: * 表示显著相关($p < 0.05$), ** 表示极显著相关($p < 0.01$)。

全蛋白溶解度与 MP 溶解度、肌浆蛋白溶解度、EAI、ESI 之间存在极显著正相关性($p < 0.01$);同时,MP 溶解度与 EAI、ESI 之间存在极显著正相关性($p < 0.01$),说明蛋白质溶解性与其功能特性 EAI 和 ESI 之间存在紧密联系,有研究也表明蛋白质的溶解性尤其 MP 溶解性对肌肉的加工特性有重要影响,且蛋白质的 EAI 和 ESI 只有在其处于高度溶解状态时才能表现出来^[33]。肌浆蛋白溶解度与 EAI、ESI 之间也存在极显著正相关性($p < 0.01$),且 EAI 与 ESI 之间也存在极显著正相关性($p < 0.01$),以上结果说明蛋白溶解度对蛋白乳化能力有显著影响,蛋白溶解度下降会显著降低其乳化活性和乳化稳定性,进而影响肌肉加工品质。前人研究也发现蛋白质溶解度对其乳化性质起重要作用,原因可能是当蛋白质溶解度增加时,会有更多蛋白质参与乳化,使乳化颗粒蛋白膜厚度增加,从而防止了油的聚集,使乳状液更加稳定^[26]。

3 结论

(1)冷藏解冻牦牛肉蛋白质氧化程度最低,其次是静水解冻、微波解冻和室温解冻,空气解冻牦牛肉蛋白质氧化程度最为严重。静水解冻最有利于各蛋白质的溶解,其次是微波解冻和室温解冻,空气解冻最不利于肌肉蛋白质的溶解,且对 MP 的乳化活性和乳化稳定性最为不利。

(2)与其他解冻方式相比,冷藏解冻可在一定程度上延缓解冻肉脂质过氧化物的发生,微波解冻肉的腐败变质程度最低。在解冻过程中,蛋白质氧化和脂质氧化之间存在一定的促进和依赖关系,蛋白溶解度对其乳化能力有显著影响。

(3)与空气解冻和室温解冻方式相比,冷藏解冻、微波解冻和静水解冻可在不同层面有效延缓引起肌肉品质的下降过程,如蛋白质氧化和脂质氧化的发生,进而可在一定程度上维持解冻肉的品质。

参 考 文 献

[1] TANÓN M C, CALVELO A. Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef[J]. Meat Science, 1980, 4(1): 1-14.

[2] LI B, SUN D. Novel methods for rapid freezing and thawing of foods: a review[J]. Journal of Food Engineering, 2002, 54(3): 175-182.

[3] SHAFIEIPOUR A, SAMI M. The effect of different thawing methods on chemical properties of frozen pink shrimp (*Penaeus duorarum*) [J]. Journal of Veterinary Internal Medicine, 2015, 9(1): 1-6.

[4] XIA X F, KONG B H, LIU J, et al. Influence of different thawing methods on physicochemical changes and protein oxidation of porcine longissimus muscle[J]. LWT—Food Science Technology, 2012, 46(1): 280-286.

[5] 李璐倩,严琪格,哈玉洁,等. 不同解冻方法对牦牛肉品质特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(23): 124-131.

LI Luqian, YAN Qige, HA Yujie, et al. Effects of different thawing methods on the quality characteristics of yak meat[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(23): 124-131. (in Chinese)

- [6] 陈骋, 韩玲, 余群力, 等. 冻融对牦牛肉色、微观结构和蛋白质降解的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2015, 46(10): 290–297. CHEN Cheng, HAN Ling, YU Qunli, et al. Impact of freeze-thaw cycles on color, microstructure and protein degradation of yak meat[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(10): 290–297. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20151039&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2015.10.039. (in Chinese)
- [7] SOYER A, ÖZALP B, DALMIŞ Ü, et al. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat[J]. Food Chemistry, 2010, 120(4): 1025–1030.
- [8] SALES L A, RODRIGUES L M, SILVA D R G, et al. Effect of freezing/irradiation/thawing processes and subsequent aging on tenderness, color, and oxidative properties of beef[J]. Meat Science, 2020, 163: 108078.
- [9] XIONG Y L, PARK D, OOIZUMI T. Variation in the cross-linking pattern of porcine myofibrillar protein exposed to three oxidative environments[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(1): 153–159.
- [10] BAO Y, BOEREN S, ERTBJERG P. Myofibrillar protein oxidation affects filament charges, aggregation and water holding[J]. Meat Science, 2018, 135(1): 102–108.
- [11] 张树峰, 陈丽丽, 赵利, 等. 不同解冻方法对脆肉鲩鱼肉品质特性的影响[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2019, 40(3): 56–62.
- [12] 侯晓荣, 米红波, 茅林春. 解冻方式对中国对虾物理性质和化学性质的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(4): 243–247. HOU Xiaorong, MI Hongbo, MAO Linchun, et al. Influence of thawing methods on physico-chemical changes of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) [J]. Food Science, 2014, 35(4): 243–247. (in Chinese)
- [13] 姜晴晴. 冻融过程中带鱼脂肪和蛋白氧化及其对肌肉品质影响的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015. JIANG Qingqing. Studies on the oxidation of lipid and protein as well as muscle quality changes of *Trichiurus haumela* during freezing and thawing[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015. (in Chinese)
- [14] KIM H W, KIM J H, SEO J K, et al. Effects of aging/freezing sequence and freezing rate on meat quality and oxidative stability of pork loins[J]. Meat Science, 2018, 139(1): 162–170.
- [15] 王静杰, 朱传旭, 朱磊, 等. 解冻方法对原料肉质量及蛋白质结构影响的研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(16): 363–368.
- [16] LEVINE R L, WILLIAMS J A, STADTMAN E R, et al. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins[J]. Methods in Enzymology, 1994, 233: 346–357.
- [17] SRINIVASAN S, HULTIN H O. Chemical, physical, and functional properties of cod proteins modified by a nonenzymic free-radical-generating system[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(2): 310–320.
- [18] CHELH I, GATELLIER P, SANTE-LHOUELLIER V. Technical note: a simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination[J]. Meat Science, 2006, 74(4): 681–683.
- [19] JOO S T, KAUFFMAN R G, KIM B C, et al. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to color and water-holding capacity in porcine longissimus muscle[J]. Meat Science, 1999, 52(3): 291–297.
- [20] PEARCE K, KINSELLA J. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1978, 26(3): 716–723.
- [21] AGYARE K, ADDO K, XIONG Y. Emulsifying and foaming properties of transglutaminase-treated wheat gluten hydrolysates influenced by pH, temperature and salt[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(1): 72–81.
- [22] BHATTACHARYA D, KANDEEPAN G, VISHNURAJ M R. Protein oxidation in meat and meat products—a review[J]. Journal of Meat Science and Technology, 2016, 4(2): 44–52.
- [23] ÖZEN B Ö, SOYER A. Effect of plant extracts on lipid and protein oxidation of mackerel (*Scomber scombrus*) mince during frozen storage[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 55(1): 120–127.
- [24] 郭兆斌, 余群力, 陈骋, 等. 宰后牦牛肉水分分布变化与持水性能关系研究[J/OL]. 农业机械学报, 2019, 50(10): 343–351. GUO Zhaobin, YU Qunli, CHEN Cheng, et al. Relationship between water distribution change and water retention properties of yak meat during postmortem aging[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2019, 50(10): 343–351. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20191040&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2019.10.040. (in Chinese)
- [25] MARCOS B, KERRY J P, MULLEN A M. High pressure induced changes on sarcoplasmic protein fraction and quality indicators[J]. Meat Science, 2010, 85(1): 115–120.
- [26] SILVA V D M, SILVESTRE M P C. Functional properties of bovine blood plasma intended for use as a functional ingredient in human food[J]. LWT—Food Science and Technology, 2003, 36(7): 709–718.
- [27] 林静, 张斌斌, 王晓君, 等. 解冻后兔肉待加工过程中肌原纤维蛋白功能性质的变化[J]. 食品科学, 2015, 36(23): 105–110.
- [28] LEE M A, KIM T K, HWANG K E, et al. Kimchi extracts as inhibitors of color deterioration and lipid oxidation in raw ground pork meat during refrigerated storage[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(6): 2735–2742.
- [29] 葛孟甜, 李肖婵, 林琳, 等. 不同解冻方式对早熟蟹蟹肉理化性质及挥发性风味物质的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(8): 2181–2189.
- [30] KUSWANDI B, LARASATI T S, ABDULLAH A, et al. Real-time monitoring of shrimp spoilage using on-package sticker sensor based on natural dye of curcumin[J]. Food Analytical Methods, 2012, 5(4): 881–889.
- [31] DELLES R M, XIONG Y L. The effect of protein oxidation on hydration and water-binding in pork packaged in an oxygen-enriched atmosphere[J]. Meat Science, 2014, 97(2): 181–188.
- [32] 赵冰, 张顺亮, 李素, 等. 脂肪氧化对肌原纤维蛋白氧化及其结构和功能性质的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(5): 40–46. ZHAO Bing, ZHANG Shunliang, LI Su, et al. Effect of lipid oxidation on myofibrillar protein oxidation, structure and functional characteristics[J]. Food Science, 2018, 39(5): 40–46. (in Chinese)
- [33] 孙金辉. 冻融、反复冻融鸡解冻方式对兔肉品质的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2013. SUN Jinhui. The effect of frozen storage, freeze-thaw cycles and thawing methods on the quality of rabbit meat[D]. Chongqing: Southwest University, 2013. (in Chinese)