

# 延迟冷却对牛肉品质及超微结构影响的研究

张先锋 罗欣 王玉宁 许永平

(山东农业大学食品学院 山东 泰安 271018)

**摘要:** 本文研究了常规冷却与延迟冷却对中国杂交黄牛(鲁西黄牛×西门塔尔)宰后冷却过程中牛胴体pH值、温度变化、胴体冷却失重、肉色及成熟过程中剪切力值、背最长肌汁液损失、蒸煮损失、保水性、肌原纤维结构变化的影响。结果表明延迟冷却能减缓牛胴体温度的下降速率( $P<0.05$ ),加快牛胴体pH值的降低( $P<0.05$ ),提高牛背最长肌的嫩化速率,改善肉色( $P<0.05$ ),但加剧了汁液损失、蒸煮损失,降低了保水性( $P<0.05$ )。延迟冷却对成熟0d、3d时的肌原纤维结构影响显著( $P<0.05$ ),延迟冷却组的肌节长度明显长于对照组的肌节长度。

**关键词:** 延迟冷却;牛肉;品质;超微结构

**Abstract:** This article studied the effects of delay chilling and conventional chilling on meat quality of beef. Postmortem changes of carcasses in the rate of pH and temperature decline, evaporative weight loss of carcasses, purge loss, cooking loss, shear force values and microstructure during aging were determined in the bovinem. longissimus thoracis et lumborum. The results showed that delay chilling had significant effect on pH and temperature decline ( $P<0.05$ ), delay chilling improved the tenderness of the bovinem. longissimus thoracis et lumborum after 0d, 3d, 7d aging ( $P<0.05$ ), however, no significant effect on meat tenderness after 10d aging; Contrarily, delay chilling exerted negative effects on meat water-holding capacity. As far as microstructure is concerned, sarcomere length of delay chilling was longer than sarcomere length of conventional chilling during 0d and 3d aging.

**Keywords:** delay chilling; beef; quality; microstructure

## 前言

牛肉嫩度除了受牛品种、年龄等生理因素影响外,牛屠宰后的冷却方式、电刺激处理等对牛肉的嫩度有显著影响。

宰后胴体的冷却方式(冷却速率)影响胴体的糖原酵解速率,而肌肉内糖原酵解的速率是影响牛肉品质的最重要因素之一(Guignot et al, 1994)。宰后冷却过程中pH值的降低速率和温度的关系与肌肉的收缩、蛋白的降解密切相关,最终影响到肉的嫩度以及保水性(Offer, 1991)。延迟冷却是将完整的胴体放于冷却间外(较高的温度)放置一定时间,然后再进入冷却间冷却的过程(Smulders, 1992)。

目前国外对延迟冷却研究的结论尚不一致。一些学者发现延迟冷却在改善肉的食用品质方面有积极作用,经延迟冷却处理的牛肉有较高的感官评定值,包括肌肉的颜色、消费者接受度等(Fields, 1976);Lochner (1980)发现,肉嫩度与死后早期温度呈正相关;Merrish 也发现宰后牛半胴体在37℃下放置3小时的肉质要比正常冷却肉的肉质嫩。而Smith 却发现在13℃下冷却胴体与在3℃下冷却胴体嫩度无差异。而且,延迟冷却提高嫩度的作用是由避免冷收缩引起,还是由蛋白分解导致,到目前为止还未有定论。

因而,本实验目的是在综合前人研究的基础上,评定延迟冷却对牛肉嫩度的影响并探讨其嫩化机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 肉牛的屠宰

选12头24月龄、体重约500 kg的杂交牛(鲁西黄牛×西门塔尔),随机分成两组,常规预冷组(温度0~4℃、风速0.5 m·s<sup>-1</sup>、时间24h)和延迟冷却组(温度15±2℃、时间3h,随后转入传统冷却间至24h)。按照伊斯兰屠宰方式屠宰,放血、

去蹄、剥皮去头、去内脏后劈半、称重(热胴体重)、冲洗。

### 1.2 胴体温度与pH值的测定

宰后1h始,每隔2h用DM-6801A型数字温度计和MP-120型酸度计分别测定胴体的温度与pH值,测定位置为半胴体12~13肋间背最长肌,电极插入深度为2cm,连续测定3次,取平均值。

### 1.3 牛肉品质的测定

#### 1.3.1 剪切力值的测定

用直径为1cm的空心取样器沿肌纤维方向取肉柱(避开筋、键),用质构分析仪(TA-XTZ 英国)测定各肉柱的剪切力,剪切力值为各肉柱剪切力值的平均值。

#### 1.3.2 冷却失重

半胴体预冷24h后,胴体称重,记做冷胴体重,冷却过程中胴体失重按下公式计算:

$$\text{冷却失重}(\%) = \frac{\text{热胴体重} - \text{冷胴体重}}{\text{热胴体重}} \times 100$$

#### 1.3.3 汁液损失

从半胴体背最长肌第12~13肋间取2.5cm厚肉块,修整去除可见的皮下脂肪和结缔组织。肉块称重( $W_1$ )后真空包装,4℃放置24h,打开包装取出肉块。用滤纸吸干肉块表面的汁液、水分,称重( $W_2$ )。汁液损失(purge loss)按下公式计算:

$$\text{purge loss}(\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100$$

#### 1.3.4 蒸煮损失

称重( $W_2$ )后,肉块封口包装在80℃水浴中加热至肉块中心温度达到75℃,保持20min,将熟肉块放置过夜(0~4℃),用滤纸吸干肉块表面汁液,称重( $W_3$ );按以下公式计算蒸煮损失(cooking loss)。

$$\text{cooking loss}(\%) = \frac{W_2 - W_3}{W_2} \times 100$$

#### 1.3.5 保水性

保水性可用汁液损失和蒸煮损失来计量,(汁液损失+蒸煮损失)越大,保水性越差。

#### 1.3.6 肉色

按照中华人民共和国农业行业标准NY/T 676

—2003牛肉质量分级标准对肉色进行分级评定。

### 1.4 肌节长度的测定

取第12~13肋骨间牛背最长肌,肉样放入3%的戊二醛中前固定,0.1M磷酸缓冲液冲洗,再用1%锇酸后固定,0.1M磷酸缓冲液冲洗,乙醇梯度脱水,Spurr树脂浸透包埋聚合;Leica超薄切片机进行超薄切片,醋酸铀-柠檬酸铅双染色;JEM-1200EX透射电镜观察拍照。后由AutoCADV2005软件测量肌节长度。

### 1.5 试验数据由SPSS11.0软件进行统计分析

## 2 结果分析与讨论

### 2.1 延迟冷却对胴体温度、pH值、牛肉品质的影响

#### 2.1.1 延迟冷却对胴体温度、pH值的影响

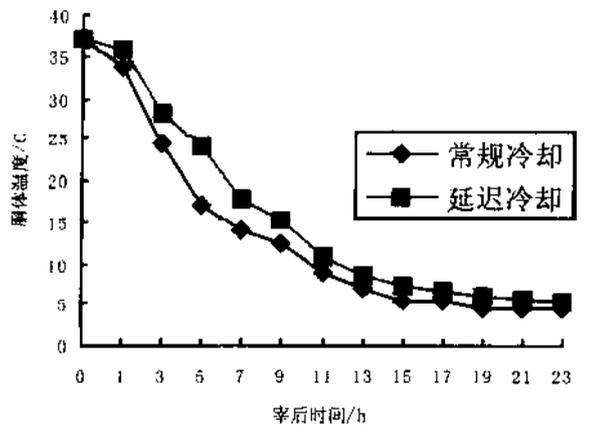


图1 延迟冷却对胴体温度下降的影响

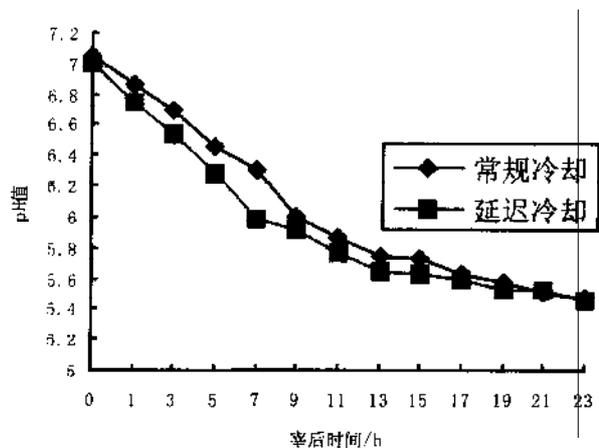


图2 延迟冷却对牛肉pH值下降的影响

如图1所示,宰后11h内,两组处理的胴体温度之间有显著差异( $P < 0.05$ ),表明延迟冷却处理对温度下降有显著影响,宰后1h、3h、5h、7h、9h、

11h时, 延迟冷却处理组的胴体温度比常规处理组高( $P < 0.05$ ), 表明延迟冷却减缓了胴体温度的下降速率。宰后第23h时, 所有胴体的温度都降到7以下。宰后40min内, 两组胴体的pH值均在7.0左右, 但在其后的9h内, 延迟冷却组的胴体pH值比常规冷却组低( $P < 0.05$ )(图2), 表明延迟冷却加快了胴体pH值的下降, 这是因为延迟冷却组胴体温度下降较慢, 糖原酵解比对照组快而使pH值下降较快, 这与(Smulder, 1992)研究一致。宰后24h时, 所有胴体pH值都趋于最终pH5.4。

## 2.1.2 延迟冷却对牛肉品质的影响

### 2.1.2.1 延迟冷却对背最长肌剪切力值的影响

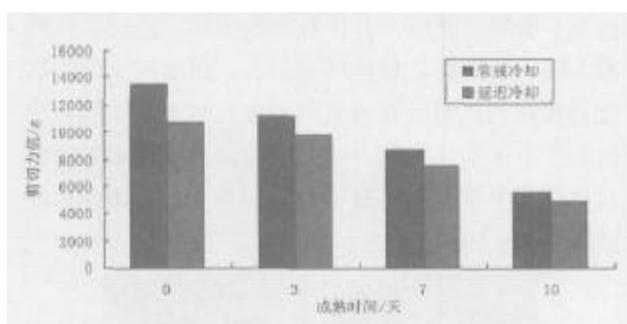


图3 延迟冷却对牛肉剪切力值的影响

如图3所示, 牛背最长肌成熟0d、3d、7d、10d时, 延迟冷却组的剪切力值分别比常规冷却处理组低18.25%、12.11%、13.47%、11.03%, 说明延迟冷却对牛肉的嫩度有积极作用, 促进了牛肉的成熟。随着成熟时间的延长, 牛肉的剪切力值降低, 在成熟0d、3d、7d时, 延迟冷却组对牛肉嫩度影响显著( $P < 0.05$ ), 到成熟10d时, 两组处理无显著差异( $P > 0.05$ ), 这可能是因为延迟冷却组由于高温而加快了成熟的开始, 促进了肌肉糖原的酵解; 同时, 高温也提高了参与糖原酵解的酶以及参与肌肉嫩化的内源酶的活性, 加快了肌纤维蛋白的降解速度, 从而使牛肉嫩化的速度加快。但是高温和低pH值的交互作用也使 $\mu$ -calpain被过早的分解消耗, 使其在成熟后期, 对牛肉的嫩化作用减弱(Dransfield, 1992)。因此, 延迟冷却对牛肉的嫩化作用主要集中在成熟前期, 后期似乎没有明显的作用。所以, 延迟冷却可促进牛肉成熟, 但除非在死后很早时期内使肌肉在接近生理度下放置一段时间, 否则不会使嫩度得到明显改善。

### 2.1.2.2 延迟冷却对胴体冷却失重、背最长肌汁液

损失、蒸煮损失、保水性及肉色的影响

表1 延迟冷却对胴体冷却失重、背最长肌汁液损失、蒸煮损失、保水性及肉色的影响

指标	处理	样本数	平均值 $\pm$ SD
冷却失重	CC	6	1.47 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>
	DC	6	1.39 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>
汁液损失	CC	6	2.22 $\pm$ 0.84 <sup>a</sup>
	DC	6	2.38 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>
蒸煮损失	CC	6	32.31 $\pm$ 1.43 <sup>a</sup>
	DC	6	34.26 $\pm$ 1.29 <sup>b</sup>
保水性	CC	6	65.41 $\pm$ 1.13 <sup>a</sup>
	DC	6	63.36 $\pm$ 1.29 <sup>a</sup>
肉色	CC	12	5 <sup>a</sup>
	DC	12	3 <sup>b</sup>

注: 数字后标有不同字母, 说明处理间有差异( $P < 0.05$ ); CC为常规冷却(Conventional chilling), DC为延迟冷却(Delay chilling)

由表1知: 延迟冷却组胴体冷却失重与常规冷却组相比无显著差异( $P > 0.05$ ), 但背最长肌的汁液损失和蒸煮损失增加( $P < 0.05$ )(表1), 保水性下降。Klont(2000)研究表明, 糖原酵解较快的肌肉有较大的蒸煮损失, 但其未阐明原因。此说明延迟冷却对于牛肉的保水性有负面影响。原因可能是因为高温使得pH值逐渐降低, 接近蛋白质的等电点, 因而静电荷减少, 肉的持水性降低, 但随着成熟的进行, 蛋白质分解成较小的单位而引起肌肉纤维渗透压增高, 保水性会部分恢复。另外, 肌纤维骨架蛋白(如desmin)降解时空间结构的改变也将影响到肉的保水性(Kristensen and Purslow, 2001; Rowe et al., 2001)。通过分级比较发现, 与对照组相比延迟冷却组能显著改善肉色。这可能是因为快速下降的pH值和温度复合作用促进了氧合肌红蛋白的转变, 也可能是某些沉淀变性的蛋白对肉的颜色改善起到了一定作用。

### 2.2 延迟冷却对牛肉肌原纤维结构的影响

由表2知: 预冷24h, 延迟冷却组肌节长度约为1.3717  $\mu$ m而对照组肌节长度约为1.2586  $\mu$ m, 到3d时两组仍有明显的差距, 分别为1.5679  $\mu$ m和1.3612  $\mu$ m。延迟冷却组牛肉的肌节长度在宰后24h(0d)时缩短至宰后1h的80.31%, 随着成熟时间的增加, 肌节长度又有所恢复, 但成熟至

3d 时仍比宰后 1h 时的肌节长度减少了 8.19%；对对照组牛肉的肌节长度宰后 24h 缩短至宰后 1h 的 73.46%，3d 时比宰后 1h 时的肌节长度减少了 20.56%，到 7d 后两组牛肉的肌节长度基本恢复到宰后时的长度。

表 2 延迟冷却对肌节长度的影响

处理	最大值(μm)	最小值(μm)	平均值(μm)	标准差	显著性	
宰后	GC	1.7677	1.6789	1.7134		
	DC	1.7785	1.7020	1.7078	0.0573	—
0d	CC	1.3452	1.2026	1.2586		
	DC	1.4892	1.3011	1.3717	0.3304	P < 0.05
3d	CC	1.4439	1.3087	1.3612		
	DC	1.6475	1.5188	1.5679	0.6200	P < 0.05
7d	CC	1.7254	1.6889	1.7049		
	DC	1.7257	1.6802	1.7035	0.0110	P > 0.05
10d	CC	1.8092	1.6798	1.7093		
	DC	1.8232	1.6656	1.7101	0.0098	P > 0.05

注:CC为常规冷却(Conventional chilling),DC为延迟冷却(Delay chilling)

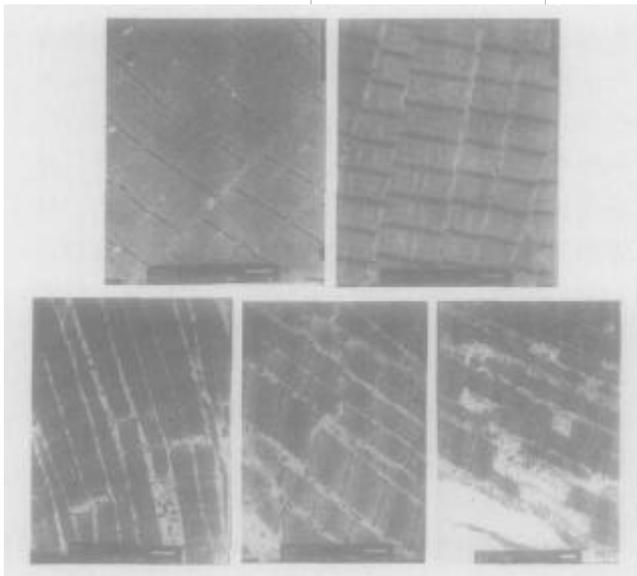


图 4 宰后、0d、3d、7d、10d 对照组样品肌原纤维结构电镜照片

由图 4，图 5：预冷 24h，延迟冷却组照片视野中大部分保持了原来结构，只是肌原纤维部分 Z 线发生了微微弯曲，少数 M 线产生裂隙，对照组并无明显变化。到 3d 时，两组中均发生了小片化，但是延迟冷却组的程度远大于对照组，而且视野中多数 A 带变得模糊，M 线及 H 带也部分消失；对照组中有少数 A 带模糊 M 线逐渐消失。延迟冷

却组肌原纤维的破坏程度明显大于对照组，这可能是由于高温 / 低 pH 值加速了肌肉糖酵解速度，促进 Calpains(66% μ-Calpains 分布在 Z 盘附近，14% 在 A 带，20% 在 I 带 (Kumamoto, 1992)) 和组织蛋白酶类的释放，而在较低的 pH 值条件下 Calpains 的抑制剂 Calpastatin 失活 因而能水解维持肌原纤维结构的相关蛋白质而使肌原纤维较快断裂。7d 时两组均观察不到肌节中 A 带与 I 带间的界线，A 带逐渐增长，Z 线由细增宽；只是延迟冷却组中 I 带模糊，无法测其宽度，而对照组部分区域 I 带仍能分辨。10d 时两组结构大面积被破坏，肌原纤维变得松散，相互间距离增大，许多肌节在 Z 线及 I 带附近断裂，并伴有细胞溶解，造成肌原纤维 I 带、A 带及 Z 线损坏或消失，粗丝细丝结构也变得模糊。此时两处理组的变化已不明显。因为此时由于 pH 值、温度、底物、抑制剂等因素导致肉成熟过程中最具作用的 Calpains 酶类的失活和自溶 (Mellgren, 1980)。

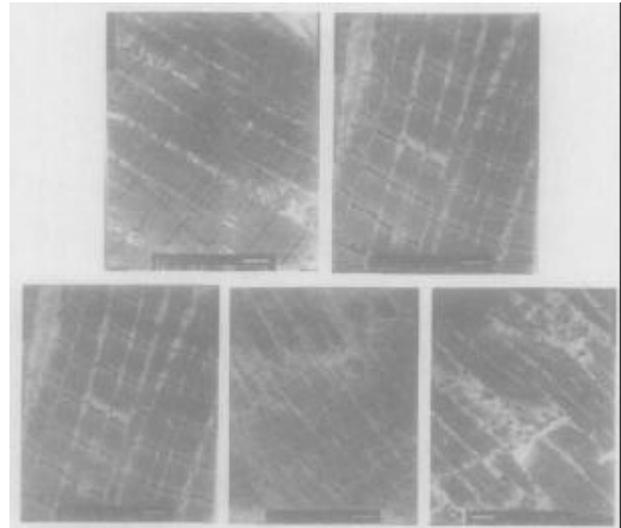


图 5 宰后、0d、3d、7d、10d 延迟冷却组样品肌原纤维结构电镜照片

### 2.3 讨论

冷却方式(冷却速率)影响着胴体的温度与 pH 值的变化，进而影响僵直的类型和性质，而此僵直的类型和性质决定着肌浆中游离钙离子的浓度。游离钙离子的浓度增加主要发生的僵直期，因此肉的嫩化作用在尸僵过程中就开始了，随着尸僵的进行游离钙离子的浓度进一步增加，嫩化作用加速，直到达到最大尸僵。接近完全僵直的肌肉其

收缩程度与温度具有很高的相关性。Dransfield (1992) 等提出延缓冷却导致早期嫩化加快, 但后期嫩化作用随冷却速度的加快而加快。他认为钙激活酶 I 的失活率与嫩化速度有关, 其活性并不稳定, 一旦激活就会很快降解, 降解的活化能比蛋白分解的活化能稍高。前期与本试验结果一致, 但后期并没发现嫩化作用随冷却速度的加快而加快。Yates (1983) 报道, 置于 37 °C 下的牛肉与置于 4 °C 下相比, 由 SDS 凝胶电泳检测发现, 肌原纤维蛋白的分解提高。这和本试验中的肌原纤维结构的变化相吻合。另有报道指出在 15 °C 肌肉进入僵直状态, 肌节缩短最少, 而在 15 °C 以上或 15 °C 以下 (冻结状态之前) 肌肉收缩都随温度升高或降低而加剧。肌肉的收缩程度与肉的嫩度呈负相关 (Koochmarai et al. 1996)。这一点从本试验中延迟冷却对肌节长度的影响可得到证实。另外, 肌原纤维结构脆化的一个方面是尸僵过程中缩短了肌节, 在肉成熟后又恢复的原来的长度, 这种肌节长度的复原意味着尸僵过程中由粗肌丝和细肌丝形成的尸僵交联的破坏 (Herring, 1965)。

本试验中, 延迟冷却组牛胴体在较高的温度下冷却, pH 值下降加快, 加速了僵直的进程, 避免了冷收缩的发生, 使肌肉的收缩程度降低, 而且高温提高了肌肉内源蛋白酶 Calpains 的活性及 Ca<sup>2+</sup> 的释放, 加快了肌原纤维蛋白和骨架蛋白的降解及主要由 Ca<sup>2+</sup> 引起的肌原纤维 Z 盘的脆化, 使得肌原纤维完整性破坏, 从而提高了牛肉嫩化速率。但是, 与对照组相比, 成熟 7 天后, 延迟冷却组对牛肉嫩度并无显著影响, 这是因为延迟冷却提高牛肉的嫩度主要是通过高温加快糖原酵解速度、提高酶活来实现的, 但这种对嫩度提高的影响, 会随着成熟时间的延长致使蛋白酶的过早消耗而消失 (Smulders et al., 1992)。

## 参考文献

- [1] 加速胴体成熟的技术. 朱燕, 罗欣, 王海燕. 肉类研究. 2000. 4.
- [2] Bendall, J.R. (1973). The biochemistry of rigormortis and cold-contraction. In Proceeding of the 19th European Meeting of Meat Research Workers (pp. 1-27), Paris, France.
- [3] Dransfield, E. (1992). Optimisation of tenderisation, aging and tenderness. Proc. 38th ICOMST, Clermont-Ferrand 1, 71 ~ 78. Crouse, J.D. (1987). Effect of post-mortem storage on Ca<sup>2+</sup> dependant proteases, their inhibitor and myofibril fragmentation. Meat Sci., 1987, 187 ~ 196.
- [4] Kristensen, L., and P. P. Purslow. 2001. The effect of aging on the water-holding capacity of pork: role of cytoskeletal proteins. Meat Sci., 58, 17 ~ 23.
- [5] Locker, R.H., & Hagyard, C.J. (1963). A cold shortening effect in beef muscles. Journal of the Science of Food and Agriculture, 14, 787 ~ 793.
- [6] Marsh, B.B., Lochner, J.V., Takahashi, G., & Kragness, D.D. (1980-1981). Effects of early postmortem pH and temperature on beef tenderness. Meat Sci., 57, 1456 ~ 1462.
- [7] Martin, A.H., Murray, A.C., Jeremiah, L.E., & Dutson, P.J. (1983). Electrical stimulation and carcass aging on beef carcasses in relation to postmortem glycolysis rate. J. Anim. Sci., 57, 1456 ~ 1462.
- [8] Offer, G. 1991. Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: Effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis. Meat Sci., 30, 157 ~ 184. products (pp. (182, 186-188). Utrecht, The Netherlands: Audet Tijdschriften.
- [9] Will, P.A., & Henrickson, R.L., (1976). The influence of delay chilling and hot boning on tenderness of bovine muscle. Journal of Food Science, 41, 1102 ~ 1106.

## 南通吕鲜公司江苏首家通过 QS 认证

南通吕鲜食品有限公司近日通过了 QS 认证, 成为江苏省水产行业中首家获此认证的企业。

吕鲜公司十分注重产品质量, 此前已在全球糟醉行业中首家通过 HACCP 认证。目前, 该公司年加工水产品已达到 200 多万吨。

QS 是食品“质量安全”(Quality Safety)的英文缩写。根据国家规定, 从事《食品质量安全

监督管理重点产品目录》中食品生产加工企业, 必须具备保证食品安全的基本条件, 按规定程序获得食品生产许可证, 产品必须经检验合格并加贴 QS 标志后, 方可出厂销售。目前, 我国已在大米、食用植物油、小麦粉、酱油、醋和肉制品、奶制品等食品行业中强制实行食品安全市场准入制度。