

牦牛肉宰后成熟机理与肉用品质研究^{*}

田甲春 韩玲 刘昕 师希雄 王文婷 郭兆斌

(甘肃农业大学食品科学与工程学院, 兰州 730070)

【摘要】 以10头青海牦牛为研究对象,对其在宰后8 d成熟期间的机理指标:pH值、糖原含量、肌原纤维小片化指数(MFI)、钙激活酶活性、组织蛋白酶L活性以及肉用品质:加压损失、蒸煮损失、剪切力、色度 L^* 、 a^* 、 b^* 进行了测定分析,并对剪切力、MFI、钙激活酶活性、组织蛋白酶L活性进行相关性分析。结果表明:成熟过程中上述指标均发生变化,最直接的效应是改善了牦牛肉的嫩度。MFI和钙激活酶活性相关性极显著($P < 0.01$)与组织蛋白酶L活性相关性显著($P < 0.05$),钙激活酶活性与组织蛋白酶L活性呈显著负相关($P < 0.05$)。

关键词: 牦牛肉 肉用品质 成熟机理 嫩度 钙激活酶 组织蛋白酶

中图分类号: TS251.5⁺2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2012)12-0146-05

Ageing Mechanism and Meat Quality during Postmortem Ageing of Yak Meat

Tian Jiachun Han Ling Liu Xin Shi Xixiong Wang Wenting Guo Zhaobin
(College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract

The indicators about ageing mechanism including pH value, content of glycogen, myofibril fragmentation index (MFI), the activities of calpains and cathepsin L and meat quality including pressing loss, cooking loss, shear force and chromaticity during ageing of eight days were determined from ten Qinghai yaks. The correlation between shear force and MFI, activities of calpains and cathepsins L were also analyzed. The results showed that the all above mentioned indicators changed during the ageing period, and the direct reflect was improving the yak meat tenderness. MFI had a very significantly ($P < 0.01$) correlated with the activities of calpains, and had a significantly correlated with the activity of cathepsin L ($P < 0.05$), while there was a significant negative correlated with the activity of cathepsin L ($P < 0.05$).

Key words Yak meat, Meat quality, Ageing mechanism, Tenderness, Calpains, Cathepsin L

引言

宰后肌肉成熟 (ageing) 是指动物屠宰后由肌肉到肉的转变过程^[1]。该过程是通过将屠宰后的胴体贮藏于冷藏温度下8~11 d完成的^[2]。在这个过程中伴随着一些物理和化学变化,如pH值、离子强度和肌原纤维结构变化等。肌肉成熟后,会获得消

费者能够满意的嫩度和风味。因此,成熟过程也称为嫩化 (tenderization)^[3~4]。依钙蛋白酶系 (钙激活酶) 和溶酶体蛋白酶系 (组织蛋白酶) 被认为是这个过程主要的贡献者。钙激活酶在肌肉中的作用已经被广泛证明^[5~6],组织蛋白酶B、D、L及H能够引起宰后肌肉的降解,其中组织蛋白酶L的影响最为显著^[7]。Taylor等证明了组织蛋白酶L能够降解兔骨

收稿日期: 2012-06-21 修回日期: 2012-07-03

^{*} 国家自然科学基金资助项目(31060221)和国家公益性行业(农业)科研专项经费资助项目(201203009)

作者简介: 田甲春, 博士生, 主要从事动物食品营养与工程研究, E-mail: tianjiachunlz@126.com

通讯作者: 韩玲, 教授, 博士生导师, 主要从事畜产品加工与贮藏研究, E-mail: hanl@gsau.edu.cn

酪肌中的肌球蛋白重链、肌动蛋白、 α -辅肌动蛋白、肌钙蛋白 T 和 I^[8]。Yamashita 等认为组织蛋白酶 L 对鲑鱼宰后肌肉软化起着主要作用^[9]。

牦牛主要分布在我国以青藏高原为中心的高山地区,具有肉质鲜美、低脂、高蛋白、矿物质含量丰富的特点,是消费者青睐的天然绿色食品^[10]。但在目前生产中,牦牛肉不经过成熟便直接销售,严重影响了其品质。鉴于此,本文对牦牛肉成熟过程中肉用品质的变化以及与成熟机理相关的 pH 值、糖原含量、MFI、钙激活酶及组织蛋白酶 L 的活性进行研究,并分析它们之间的相关性,以期为日后牦牛肉的加工、运输和消费提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 肉样采集

选取自然放牧状态下,健康无病的 3~4 岁龄青海大通牦牛 10 头,集中屠宰,现场采集背最长肌,装入洁净保鲜袋中密封,在 0~4℃ 条件下运往实验室待测。

1.2 仪器设备

RF5301-PC 型荧光分光光度计,日本岛津公司;UV2550 型紫外可见分光光度计,日本岛津公司;CR-10 型色差仪,日本美能达公司;H2050R 型高速冷冻离心机,湘仪离心机仪器有限公司;AB-S 型电子天平,梅特勒-托利多仪器上海有限公司;C-LM4 型剪切力仪,东北农业大学;WW3 型应变式立侧限压缩仪,南京土壤仪器厂;PHS2-25 型数字酸度计,上海雷磁公司。

1.3 测定指标与方法

将采集的牦牛背最长肌置于 4℃ 条件下分别贮藏 0、1、3、5、8 d,进行成熟过程中各指标测定。

1.3.1 机理指标

(1) pH 值

将酸度计电极插入打碎的肉样中,与肉样充分接触,待 pH 计读数稳定后记录,每个肉样测定 3 次,每次读数精确到 pH 值 0.01,最后求其平均值。

(2) 糖原含量

采用蒽酮比色法^[11]。

(3) 肌原纤维小片化指数(MFI)

参考 Delgado 等的方法测定^[12]。

(4) 钙激活酶活性

提取:称取 50 g 肉样,去除脂肪和结缔组织,加入 3 倍体积的抽提液(0.17 mol/L Tris-HCl,4 mmol/L EDTA,pH 值 7.9)进行匀浆。对匀浆后的肌浆离心 40 min(4℃,6 000g),收集上清液调 pH 值至 6.1~6.2,在 4℃ 下静置 20 min,离心(6 000g,30 min)。

调上清液 pH 值至 4.9~5.0,离心(6 000g,30 min),弃去上清液,向沉淀中加入 10 mL 缓冲液(0.17 mol/L Tris-HCl,4 mmol/L EDTA,10 mmol/L 巯基乙醇,pH 值 8.3),置于磁力搅拌器上至沉淀全部溶解,然后用蒸馏水将溶液稀释至 20 mL,调节 pH 值至 7.0,离心 60 min(4℃,30 000g),取上清液进行透析,以除去小分子物质。透析完全后收集透析袋内的液体离心过滤,得到的清液即为钙激活酶粗酶液。(注:提取过程中 pH 值调节均用 1 mol/L 的乙酸。)

活性测定:将 5 mg/mL 酪蛋白和 0.25 mg/mL 钙激活酶加入 100 mmol/L KCl、10 mmol/L Tris 缓冲液(pH 值 7.5),100 mmol/L 巯基乙醇、1 mmol/L EDTA,5 mmol/L CaCl₂ 的反应体系中,25℃ 恒温反应 30 min 后,加入 2 mL 质量分数为 5% 三氯乙酸终止反应,在波长 278 nm 处测得的吸光度记为 A₁,然后以 10 mmol/L EDTA 代替反应体系中的 5 mmol/L CaCl₂作为对照组进行反应,反应后测得的吸光度记为 A₂^[13]。钙激活酶活性计算公式为

$$C_A = \frac{A_1 - A_2}{m}$$

式中 C_A——钙激活酶活性 m——样品质量
(5) 组织蛋白酶 L

组织蛋白酶 L 的提取参照董训江等方法^[14]。酶活性测定参照 Aranishi 等方法^[15]稍加改动,反应体系为 980 μL 质量分数为 0.1% Brij35,400 μL 0.4 mol/L 乙酸钠缓冲液(含 5 mmol/L EDTA,pH 值 5.5),200 μL 10 mmol/L L-Cys 和 200 μL 酶液。混合液置于 40℃ 水浴中 2 min,然后加入 400 μL 25 μmol/L 的底物 Z-Phe-Arg-AMC,在相同的温度下反应 30 min 后,加入 3 mL 终止液(0.1 mol/L 乙酸,0.1 mol/L 氯乙酸钠,pH 值 4.3)终止反应。用荧光分光光度计,在激发波长 380 nm,发射波长 460 nm 时测定其荧光强度。1 个酶活单位(U)被定义为在最适反应温度(40℃)及最适 pH 值(5.5)条件下,每分钟内催化 1 μmol AMC 转化为产物所需的酶量。

1.3.2 肉用品质

(1) 加压损失

取 1 cm 厚的肉样用取样器截取面积为 5.0 cm² 的肉样,质量为 m₁,将肉样置于两层医用纱布之间,上、下各垫 18 层滤纸,置于压缩仪平台上,匀速加压至 343 N,保持 5 min,撤除压力后立即称量记为 m₂,测定 3 次,取其平均值。加压损失计算公式为

$$P_L = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%$$

式中 P_L——加压损失,%

(2) 蒸煮损失

修整去除肉块表面的脂肪和结缔组织,称量记为 m_a ,80℃恒温水浴加热,用数显温度计记录加热过程中肉块的中心温度。当中心温度达到 75℃时,恒温保持 5 min 后取出流水冷却至室温,再次称量记为 m_b ,蒸煮损失计算公式为

$$C_L = \frac{m_a - m_b}{m_b} \times 100\%$$

式中 C_L ——蒸煮损失, %

(3) 剪切力

将测定蒸煮损失后的肉样沿肌纤维方向取 3 个直径为 1.27 cm 肉柱,用 C-LM4 型嫩度仪垂直肌纤维方向剪切肉柱,记录每个肉柱的剪切力,计算平均值。

(4) 色度

用色差仪测定肉样的 L^* (亮度)、 a^* (红度)、 b^* (黄度),平行测定 3 次,求其平均值。

1.4 数据处理和统计分析

试验结果均采用平均数 ± 标准差,用 SPSS 19.0 软件对数据进行方差分析,并用 Duncan 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 机理指标的变化

pH 值、糖原含量、MFI、钙激活酶和组织蛋白酶 L 被认为与宰后肌肉的成熟机理有直接的联系。牦牛肉宰后成熟过程中各机理指标随时间变化如表 1 所示。

表 1 牦牛肉宰后成熟过程中机理指标的变化
Tab.1 Changes of ageing mechanism indicators during yak meat ageing

指标	成熟天数/d				
	0	1	3	5	8
pH 值	6.84 ± 0.06 ^{a,A}	6.32 ± 0.05 ^{b,B}	5.54 ± 0.06 ^{c,C}	5.51 ± 0.04 ^{c,C}	5.68 ± 0.07 ^{c,C}
糖原/mg·g ⁻¹	2.41 ± 0.04 ^{a,A}	1.97 ± 0.01 ^{b,A}	1.21 ± 0.13 ^{c,B}	1.05 ± 0.01 ^{c,B}	0.93 ± 0.04 ^{c,B}
MFI	29.7 ± 6.06 ^{e,E}	52.1 ± 2.53 ^{d,D}	128.4 ± 9.98 ^{c,C}	146.9 ± 5.05 ^{b,B}	157.7 ± 7.29 ^{a,A}
钙激活酶/U	2.76 ± 0.19 ^{a,A}	1.94 ± 0.08 ^{b,B}	1.28 ± 0.08 ^{c,C}	0.94 ± 0.17 ^{d,D}	0.75 ± 0.06 ^{d,D}
组织蛋白酶 L/U	1 281.93 ± 85.04 ^{c,C}	1 480.19 ± 25.19 ^{b,BC}	1 644.37 ± 77.43 ^{b,AB}	1 679.01 ± 54.79 ^{b,AB}	1 917.63 ± 12.62 ^{a,A}

注:上标 a、b、c 代表差异显著性 $P < 0.05$;上标 A、B、C 代表差异显著性 $P < 0.01$,表 2 同。

在宰后 0~3 d pH 值迅速下降,在 3 d 时达到最小值随后缓慢上升趋于稳定。本研究结果与 Chasco 等报道的牛肉在宰后 24 h 达到最小值相比,pH 值下降速率较慢,这可能受到电刺激、冷却处理的影响^[16]。肌糖原是糖酵解过程中产生乳酸的底物,pH 值表明了机体生成酸性物质(主要是乳酸)的含量^[17]。在屠宰刚刚完成时,牦牛肉中的糖原含量最高。在宰后 0~3 d 糖原被大量消耗,3 d 后糖原下降趋于缓慢。主要原因可能是 pH 值降低到一定程度后, H^+ 浓度大幅升高使得与糖酵解有关的酶相继失活,随着时间延长,糖原含量逐渐降低,酵解速度和程度逐渐减小。

MFI 代表了肌原纤维蛋白被降解及肌原纤维结构破坏的程度,也可以说这一指标直接反映了成熟进行的程度^[17]。MFI 的上升主要发生在成熟前 3 d,而在接下来的成熟过程中 MFI 的上升速率和幅度都较之减弱。这与 Veiseth 等对绵羊背最长肌的研究结果一致,MFI 的增加被视为 μ -钙激活酶作用的结果^[18]。

钙激活酶在成熟早期表现出较高的活性,随着成熟时间的延长活性逐渐下降,当牦牛肉成熟 8 d

时钙激活酶的活性仅为刚屠宰时活性的 27%。这说明钙激活酶在水解肌原纤维蛋白的同时也发生了自身的降解,可以将钙激活酶活性的下降视为其参与了蛋白水解^[19]。

组织蛋白酶被视为与宰后肌肉成熟嫩化相关的另一大酶系,其中组织蛋白酶 L 发挥的作用最为显著。随着成熟时间的延长该酶的活性逐渐增大。主要的原因可能是在成熟 3 d 以后肌肉的 pH 值基本保持在 5.5~5.7,这与组织蛋白酶 L 的最适 pH 值接近,使得其能够发挥最大活力^[15]。也有报道证明:在宰后成熟初期组织蛋白酶 L 的活性较低,因为它们没有完全从溶酶体中释放出来,随着成熟时间的延长组织蛋白酶 L 逐渐从溶酶体中释放出来,活性逐渐增大,直到成熟 14 d 后溶酶体才能彻底破裂^[20]。

2.2 肉用品质的变化

牦牛肉宰后成熟过程中肉用品质随时间变化如表 2 所示。

加压损失和蒸煮损失反映了肌肉的持水力。在牦牛肉成熟过程中加压损失和蒸煮损失都是呈先上升后下降的趋势,这在很大程度上受到 pH 值的影

表 2 宰后成熟过程中牦牛肉的肉用品质变化
Tab.2 Changes of meat quality during yak meat ageing

指标	成熟时间/d				
	0	1	3	5	8
加压损失/%	5. 50 ± 0. 31 ^{d,D}	16. 83 ± 0. 99 ^{b,B}	24. 31 ± 0. 80 ^{a,A}	15. 46 ± 1. 30 ^{b,B}	10. 44 ± 1. 38 ^{e,C}
蒸煮损失/%	28. 06 ± 1. 31 ^{e,C}	34. 83 ± 1. 38 ^{e,B}	39. 63 ± 2. 94 ^{a,A}	35. 07 ± 3. 92 ^{b,A}	33. 06 ± 3. 64 ^{d,B}
剪切力/N	49. 81 ± 3. 37 ^{cd,CD}	64. 02 ± 5. 82 ^{b,B}	89. 70 ± 3. 98 ^{b,A}	56. 17 ± 1. 13 ^{c,BC}	42. 67 ± 1. 67 ^{d,D}
<i>L</i> *	33. 30 ± 1. 57 ^{b,C}	34. 45 ± 1. 63 ^{b,BC}	39. 45 ± 1. 33 ^{a,A}	37. 58 ± 2. 13 ^{a,AB}	35. 04 ± 1. 27 ^{b,BC}
<i>a</i> *	26. 90 ± 1. 96 ^{a,A}	25. 80 ± 1. 45 ^{b,B}	24. 13 ± 1. 77 ^{b,B}	24. 12 ± 2. 35 ^{b,B}	25. 63 ± 2. 51 ^{b,B}
<i>b</i> *	13. 63 ± 1. 35 ^{bc,BC}	14. 25 ± 1. 33 ^{b,B}	16. 70 ± 0. 97 ^{a,A}	11. 47 ± 0. 98 ^{d,D}	12. 46 ± 1. 43 ^{cd,CD}

响。由于 pH 值对肌肉持水力影响的实质是蛋白质分子的静电荷效应,当 pH 值下降到或接近等电点时,肌肉蛋白的净电荷减少,蛋白质分子之间的静电斥力减小,使其网状处于紧缩状态,所容纳的水就少,所以持水力就小^[21]。

剪切力是肌肉成熟过程中嫩度变化的直接反映,宰后牦牛肉的剪切力呈先上升后下降的变化趋势。因为肌肉在成熟早期会进入僵直状态,主要是肌节的收缩引起的,当达到最大僵直以后,在一系列内源性蛋白酶的作用下将肌肉结构破坏,使得肌肉的嫩度增大^[22]。

牦牛肉宰后成熟过程中 *L* * 及 *b* * 均呈先升高后降低的趋势,*a* * 呈先降低后升高的趋势。这与吴菊清对冷却牛肉和猪肉中色泽的研究结果相似^[23]。*L* * 增加主要是肌肉内部水分渗出,堆积在肉块表面,从而增强光的反射。*a* * 下降是由于随着成熟时间的延长,肌红蛋白与氧气充分接触,被氧化生成高铁肌红蛋白。肌肉与氧气充分接触后,肌肉中的脂肪被氧化,从而使 *b* * 增加^[24]。

2.3 剪切力与 MFI、钙激活酶、组织蛋白酶 L 相关性分析

剪切力直接反映嫩度,而 MFI、钙激活酶、组织蛋白酶是嫩度改变的内在因素,所以对这几个指标进行相关性分析。由表 3 可以看出,MFI 和钙激活酶活性相关性极显著 ($P < 0.01$),这说明牦牛肉成熟过程中,钙激活酶被大量的 Ca^{2+} 激活,作用于 Z 线后使之受到持续的张力,导致其断裂、崩解,因此 MFI 随之增大^[25]。MFI 和组织蛋白酶 L 活性相关性显著 ($P < 0.05$),可能是因为在成熟后期组织蛋白酶 L 开始从溶酶体中释放出来,作用于肌原纤维,导致 MFI 增大。钙激活酶活性和组织蛋白酶活

性呈显著负相关 ($P < 0.05$),随着成熟时间的延长钙激活酶的活性越来越弱,组织蛋白酶从溶酶体中逐渐释放,其活性越来越大。Baron 等研究发现,钙激活酶首先破坏肉中的肌间线蛋白的多肽结构,然后组织蛋白酶再将其进一步降解为更小的肽类物质^[26]。

表 3 剪切力与 MFI、钙激活酶、组织蛋白酶相关性分析

Tab.3 Correlations analysis between shear force and MFI, calpains and cathepsin L

指标	剪切力	MFI	钙激活酶	组织蛋白酶 L
剪切力	1	0. 045	- 0. 043	- 0. 101
MFI	0. 045	1	- 0. 973 * *	0. 931 *
钙激活酶	- 0. 043	- 0. 973 * *	1	- 0. 958 *
组织蛋白酶 L	- 0. 101	0. 931 *	- 0. 958 *	1

注: * 表示 $P < 0.05$ 时相关性显著; * * 表示 $P < 0.01$ 时相关性极显著。

3 结论

(1)牦牛肉宰后成熟过程中,pH 值、糖原、MFI、钙激活酶活性及组织蛋白酶 L 活性都发生了变化。且 pH 值、糖原、MFI 和钙激活酶活性的变化主要集中在宰后 0 ~ 3 d,而组织蛋白酶 L 的活性在这一时期相对较低。

(2)成熟对肌肉的加压损失、蒸煮损失、剪切力及色度都有影响,而对肉质最直接的影响是改善了其嫩度。

(3)在整个成熟过程中,MFI 与钙激活酶活性相关性极显著,与组织蛋白酶 L 活性相关性显著,钙激活酶活性与组织蛋白酶 L 活性呈显著负相关。

参 考 文 献

1 Herrera-mendez C H, Becila S, Boudjellal A, et al. Meat ageing: reconsideration of the current concept[J]. Trends in Food Science & Technology, 2006, 17(8):394 ~ 405.

- 2 Smith G C, Culp G R, Carpenter Z L. Postmortem conditioning of beef carcasses[J]. *Journal of Food Science*, 1978, 43(3):823 ~ 826.
- 3 Taylor R G, Tassy C, Briand M, et al. Proteolytic activity of proteasome on myofibrillar structures[J]. *Molecular Biology Reports*, 1995, 21(1):71 ~ 73.
- 4 Ouali A, Talmant A. Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles[J]. *Meat Science*, 1990, 8(4):331 ~ 348.
- 5 Chéreta R, Delbarre-Ladrat C, de Lamballerie-Anton M, et al. Calpain and cathepsin activities in post mortem fish and meat muscles[J]. *Food Chemistry*, 2007, 101(4):1 474 ~ 1 479.
- 6 Lamare M, Taylor R G, Farout L, et al. Changes in proteasome activity during postmortem aging of bovine muscle[J]. *Meat Science*, 2002, 61(2):199 ~ 204.
- 7 陈琳, 唐玮, 徐幸莲, 等. 溶酶体中的组织蛋白酶及其在肌肉成熟中的作用[J]. *江西农业学报*, 2008, 20(2): 72 ~ 75.
Chen Lin, Tang Wei, Xu Xinglian, et al. Cathepsin in lysosomes and its roles during muscle aging[J]. *Acta Agriculture Jiangxi*, 2008, 20(2): 72 ~ 75. (in Chinese)
- 8 Taylor M A, Almond R E, Etherington D J. The immunohistochemical location of cathepsin L in rabbit skeletal muscle: evidence for a fiber type dependence distribution [J]. *Histochemistry*, 1987, 86(4): 379 ~ 383.
- 9 Yamashita M, Konagaya S. Purification and characterization of cathepsin L from the white muscle of chum salmon, *Oncorhynchus keta*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology B: Biochemistry and Molecular Biology*, 1990, 96(2):247 ~ 252.
- 10 师希雄, 余群力, 田甲春. 牦牛肉成熟过程中主要挥发性成分的变化[J]. *农业机械学报*, 2011, 42(11):144 ~ 146.
Shi Xixiong, Yu Qunli, Tian Jiachun. Change in main volatile compounds during aging process of yak meat [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2011, 42(11):144 ~ 146. (in Chinese)
- 11 李永鹏. 宰后成熟对藏羊肉肉用品质及挥发性化合物的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2011.
Li Yongpeng. The effect of postmortem aging on meat quality and volatile compounds of meat of Tibet sheep[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2011. (in Chinese)
- 12 Delgado E F, Geesink G H, Marchello J A, et al. The calpain system in three muscles of normal and callipyge sheep[J]. *Journal of Animal Science*, 2001, 79(2):398 ~ 412.
- 13 Koohmaraie M. Effect of pH, temperature, and inhibitors on autolysis and catalytic activity of bovine skeletal muscle μ -calpain[J]. *Journal of Animal Science*, 1992, 70(1): 3 071 ~ 3 080.
- 14 董训江, 钟婵, 蔡秋凤, 等. 杂色鲍组织蛋白酶 L 的分离纯化与酶学性质[J]. *食品工业科技*, 2011, 21(12): 247 ~ 250.
Dong Xunjiang, Zhong Chan, Cai Qiufeng, et al. Purification and characterization of cathepsin L from abalone (*Haliotis Diversicolor*) [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2011, 21(12): 247 ~ 250. (in Chinese)
- 15 Aranishi F, Ogata H, Hara K, et al. Purification and characterization of cathepsin L from hepatopancreas of carp cyprinus carpio[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology B: Biochemistry and Molecular Biology*, 1997, 118(3): 531 ~ 537.
- 16 Rhee M S, Ryu Y C, Kim B C. Postmortem metabolic rate and calpain system activities on beef Longissimus tenderness classifications[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2006, 70(5):1 166 ~ 1 172.
- 17 李泽, 靳烨, 马霞. 不同贮藏温度下宰后羊肉的肉质变化及其影响因素[J]. *农业工程学报*, 2010, 26(增刊1): 338 ~ 342.
- 18 Veiseth E, Shackelford S D, Wheeler T L, et al. Indicators of tenderization are detectable by 12 h postmortem in ovine longissimus[J]. *Journal of Animal Science*, 2004, 82(5): 1 428 ~ 1 436.
- 19 Ji J R, Takahashi K. Changes in concentration of sarcoplasmic free calcium during post-mortem ageing of meat[J]. *Meat Science*, 2006, 73(3): 395 ~ 403.
- 20 Krause J, Tshidino S C, Ogawa T, et al. Purification and partial characterization of ostrich skeletal muscle cathepsin D and its activity during meat maturation[J]. *Meat Science*, 2011, 87(3):196 ~ 201.
- 21 崔丽娟. 负向近冰点温度下绵羊宰后肌肉主要理化指标的研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2007.
Cui Lijuan. Study on changes of biochemical properties of sheep muscle meat stored at the temperature close to cryoscopic point[D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2007. (in Chinese)
- 22 Brooks J C, Savell J W. Perimysium thickness as an indicator of beef tenderness [J]. *Meat Science*, 2004, 67(2): 329 ~ 334.
- 23 吴菊清, 李春保, 周光宏, 等. 宰后成熟过程中冷却牛肉、猪肉色泽和嫩度的变化[J]. *食品科学*, 2008, 29(10): 136 ~ 139.
- 24 余小颖, 李学斌, 陈会. 猪肉色泽和保水性的相关性研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(23): 44 ~ 46.
- 25 Huang J, Forsberg N E. Role of calpain in skeletal-muscle protein degradation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(21): 12 100 ~ 12 105.
- 26 Baron C P, Jacobsen S, Purslow P P. Cleavage of desmin by cysteine proteases: calpains and cathepsin B[J]. *Meat Science*, 2004, 68(3): 447 ~ 456.