

牦牛肉宰后成熟嫩化与细胞凋亡酶活力变化研究*

孙志昶¹ 冯晓琴¹ 韩玲¹ 赵会平^{2,3} 余群力¹

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 兰州 730070; 2. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193;
3. 华盛顿大学药学院, 华盛顿 98133)

摘要: 为研究宰后牦牛肉成熟过程中前驱肱三头肌(TB)、中部背最长肌(ML)、后驱半膜肌(SM)的剪切力、肌原小片化指数及细胞凋亡酶(caspase)的变化趋势,选取24头甘南黑牦牛进行屠宰,于0~4℃、风速0.5 m/s条件下成熟,在宰后成熟过程中的不同时间点(0.5 h、2 h、5 h、10 h、1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d)进行剪切力、肌原纤维小片化指数和caspase-3、caspase-8、caspase-9活力测定。宰后7 d, TB、ML和SM 3个不同部位肉的剪切力值分别下降了35.6%、27.4%、33.5%;肌原小片化指数值分别升高了69.7%、65.7%、63.0%。TB和SM在宰后1 d caspase-3活力达到最高值($P < 0.001$), ML则在宰后10 h后达到活力最高值。TB和ML在宰后5 h达到caspase-8活力最高值($P < 0.001$),比ML提前达到caspases-8活力最高值。宰后5 h后caspase-9活力显著高于宰后0.5 h($P < 0.001$),且ML和SM的caspase-9活力达到最高值,而TB的caspase-9在宰后10 h后达到最高值,是其初始值的2.39倍;3个不同部位肉的caspase-3与caspase-8活力分别与剪切力和肌原小片化指数呈显著相关性($P < 0.01$),caspase-3活力与caspase-8和caspase-9活力相互之间都呈显著相关性($P < 0.05$)。结果表明:宰后成熟过程使牦牛肉的剪切力降低、肌原小片化指数提高,率先激发caspase-8、caspase-9活力,同时活化了caspase-3,破坏肌原纤维结构,降解细胞骨架蛋白,从而提高牦牛肉的嫩度。

关键词: 牦牛肉 成熟 剪切力 肌原小片化指数 细胞凋亡

中图分类号: TS201.7; S823.8*5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)01-0191-06

引言

牦牛遍布于高寒高山草原^[1],甘南州有着丰富的草地资源,拥有牦牛80多万头,占甘肃省牦牛总数的80%,占世界牦牛总数的5%^[2],牦牛肉营养丰富,具有高蛋白、脂肪低等特点,具有良好的加工特性,是一种优质健康的肉类资源^[3]。

宰后肉冷藏能改善肉的嫩度,宰后牛肉在延迟冷却成熟过程中,加速糖酵解,加快肌原纤维蛋白和结缔组织蛋白的水解,从而改善牛肉的嫩度。Lamare等^[4]在宰后牛肉成熟过程中发现,宰后第7天,还能检测到蛋白酶的活力,而Robert等^[5]则表示蛋白酶体有水解牛肉肌原纤维蛋白的能力,从而提高牛肉嫩度。Koochmarai^[6]等研究发现,宰后成熟过程中,细胞骨架蛋白的降解是提高牛肉嫩度的主导因素。Calkins等^[7]则提出溶酶体组织蛋白酶在成熟过程中对牛肉嫩度发挥着重要作用。

caspases系统是一种半胱氨酸蛋白酶家族,与

细胞的凋亡和坏死有关,与细胞凋亡有关的caspase酶分为上游起始酶和下游效应酶,caspase-8、caspase-9属于上游起始酶,caspase-3则属于下游最重要的效应酶,上游起始酶的作用是活化下游的效应酶^[8]。内源酶的作用是降解肌原纤维和细胞骨架蛋白,与肉的嫩化有直接关系^[9]。这些酶包括 μ -calpain、溶酶体组织蛋白酶、蛋白酶体系与与凋亡相关的caspases^[10]。由于动物宰后成熟过程与“细胞凋亡”过程相似,因此caspase-3作为细胞凋亡最重要的酶是否参与肉的成熟过程^[11-13],成为多数学者研究的对象^[14]。同时caspases家族也有可能对宰后骨骼肌细胞骨架降解和改善肉的品质有很大作用,具有非常重要的研究意义。

然而,宰后成熟过程对细胞凋亡酶的影响及其在牦牛肉成熟嫩化过程中的作用,国内外鲜有报道,本文研究牦牛宰后成熟过程中不同部位肉剪切力、肌原纤维小片化指数和细胞凋亡酶活力的变化,为提高宰后牦牛肉成熟嫩化工艺提供理论依据。

收稿日期: 2013-07-29 修回日期: 2013-09-23

* 国家自然科学基金资助项目(31060221)和中国国家现代农业(肉牛牦牛)产业技术体系资助项目(CARS-38)

作者简介: 孙志昶,博士生,主要从事动物食品营养与工程研究,E-mail: 371137837@qq.com

通讯作者: 余群力,教授,博士生导师,主要从事畜产品加工研究,E-mail: yuqunli@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 试验材料与试剂

试验材料:牦牛由甘肃陇原中天集团提供。选取在专门的饲养场,由同一个饲养员饲养,自然放养、发育正常、健康无疾病、年龄在2~4岁、体重均匀的24头黑牦牛,宰前禁食16~18 h,只提供水。

试验试剂:氯化钾、磷酸钾、EDTA、氯化镁、叠氮钠、乙醇、CHAPS、HEPES、五水硫酸铜、酒石酸钾钠、氢氧化钠,均为分析纯。底物:Ac-DEVD-AMC、Ac-IETD-AMC、Ac-LEHD-AMC。

1.2 试验仪器

UV-250型紫外分光光度计(日本岛津公司生产),C-LM4型数显式肌肉嫩度仪(东北农业大学),TGL-24MC型台式高速冷冻离心机(长沙英泰仪器有限公司),FA2004B型电子天平(上海佑科仪器有限公司),研钵,研锤。

1.3 试验设计

选择24头年龄体重相近的牦牛为试验对象,对其进行随机编号,集中屠宰后,置于0~4℃、风速0.5 m/s环境下成熟。取每组中的前驱肱三头肌(TB)、中部背最长肌(ML)、后驱半膜肌(SM)3个不同部位肉样,于成熟时间点上(0.5 h、2 h、5 h、10 h、1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d)进行剪切力、肌原纤维小片化指数以及caspase-3、caspase-8、caspase-9活力测定。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 剪切力

取厚约4 cm、质量100 g左右的肉样(除去表面脂肪和结缔组织),装入塑料薄膜袋,用夹子封口,放入80℃水浴锅加热至肉样中心温度75℃,取出冷却至室温(20℃),然后用直径1.27 cm的取样器沿肌纤维方向钻取测定样,用剪切力仪测定剪切力,每组作3次,取平均值。

1.4.2 肌原纤维小片化指数

取1 g肉样,用8 mL MFI缓冲液(100 mmol/L KCl、20 mmol/L K_3PO_4 、1 mmol/L EDTA、1 mmol/L $MgCl_2$ 、1 mmol/L NaN_3 , pH值7.1),将肉研磨均质化。所得悬浊液在1000 g下离心15 min,弃去上清液,沉淀再用8 mL的MFI缓冲液使之重新处于悬浊态,再于1000 g离心15 min,弃去上清液。沉淀用5 mL的MFI缓冲液使之重新处于悬浊态,用200目尼龙筛网过滤该悬浊液,另用5 mL MFI缓冲液帮助肌原纤维蛋白通过滤网。过滤所得的肌原纤维蛋白悬浊液用双缩脲法测定其蛋白含量,然后用MFI缓冲液将其质量浓度稀释至0.5 mg/mL,然后在

540 nm下测定其吸光度,将结果乘以200,就是肌原纤维小片化指数。

1.4.3 caspases 活力

取冷冻样品200 mg,于冷冻条件下在0.5 mL 100 mol/L HEPES(pH值7.5,10%蔗糖,0.1% NP-40,10 mol/L DTT)裂解液中破碎,匀浆,反复冻融3次(冷冻条件为-20℃),18 000 g离心30 min,取上清液,置于4℃条件下备用。由20 μ L裂解物上清液、0.2 mL反应缓冲液(10% sucrose,0.1% CHAPS,100 mmol/L HEPES,pH值7.5)和5 μ L重建的荧光底物构成反应液。caspase-3、caspase-8、caspase-9的底物分别是Ac-DEVD-AMC, Ac-IETD-AMC, Ac-LEHD-AMC。将反应液置于96孔板的酶标仪中在37℃条件下孵化1 h,然后分别在360 nm和460 nm的激发和发射波长下读取荧光强度。酶活力单位用每分钟、每毫克肉样的相对荧光强度表示。

1.5 统计分析

用SASS 19.0统计分析软件进行数据处理,用origin 8作图软件进行图形制作。

2 结果与分析

2.1 剪切力

从图1得出,宰后牦牛肉成熟过程中3个不同部位肉的剪切力逐渐下降,宰后1 d 3个部位剪切力值的变化呈显著差异($P < 0.05$),宰后5 d剪切力显著下降(TB, $P < 0.01$; ML, $P < 0.05$; SM, $P < 0.01$),在随后的时间里没有显著变化。宰后对应的各个阶段里,TB剪切力值始终显著大于SM,而SM剪切力值始终显著大于ML。相比于宰后0 h,宰后7 d TB、ML和SM的剪切力值分别下降了35.6%、27.4%、33.5%。

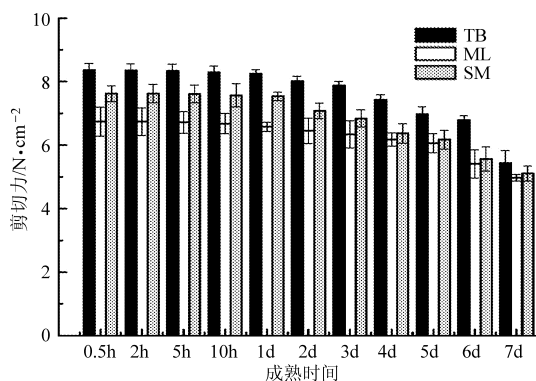


图1 宰后成熟过程中牦牛肉剪切力变化

Fig.1 Shear force values of the muscles during the postmortem aging

2.2 肌原纤维小片化指数

从图2得出,3个不同部位肉,肌原纤维小片化

指数宰后 1 d 内变化趋势较小,而宰后 5 d 和 7 d 显著升高(TB, $P < 0.01$; ML, $P < 0.01$; SM, $P < 0.01$), ML 的肌原纤维小片化指数明显高于 TB 和 SM。TB、ML 和 SM 3 个不同部位肉的肌原纤维小片化指数相互呈极显著相关性($P < 0.01$),且分别升高了 69.7%、65.7%、63.0%。

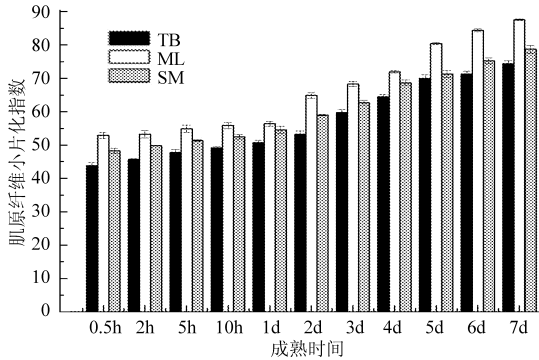


图 2 宰后成熟过程中牦牛肉肌原纤维小片化指数变化
Fig.2 MFI of the muscles during the postmortem aging

2.3 caspases-3,8,9 活力

从图 3 得出, caspase-3 在宰后 0.5 h 时没有显著差异($P > 0.05$),宰后 1 d TB、ML 和 SM 3 个不同部位 caspase-3 活力都呈极显著差异($P < 0.001$)。宰后 2 d 开始,3 个不同部位 caspase-3 活力都没有相关性($P > 0.05$),caspase-3 在宰后 1 d 活力显著高于屠宰后 0.5 h (TB, $P < 0.01$; ML, $P < 0.01$; SM, $P < 0.01$),TB 和 SM 的 caspase-3 宰后 1 d 达到最高活力,TB 的 caspase-3 宰后 4 d 出现活力最低值。ML 的 caspase-3 宰后 10 h 后达到最高活力,之后酶活力开始出现显著下降趋势,宰后 2 d 出现平稳趋势,研究结果与 Underwood^[15] 研究结果相反,Underwood 研究结果显示 caspase-3 酶活力在牛肉宰后无明显变化,从本次试验结果可以看出,宰后 caspase-3 有升高和降低的显著变化,由此得出 caspase-3 参与了宰后牦牛肉的嫩化过程。

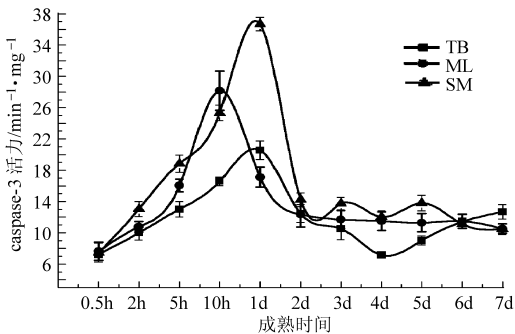


图 3 宰后成熟过程中牦牛肉 caspases-3 酶活力变化
Fig.3 Caspases-3 activity changes of yak meat during aging

从图 4 得出,3 个不同部位牦牛肉的 caspases-8 在宰后 5 h 达到最高活力,且显著高于宰后 0.5 h (TB, $P < 0.01$; ML, $P < 0.01$; SM, $P < 0.01$),而宰后

6 d TB 和 ML 的 caspase-8 活力没有显著差异($P > 0.05$)。宰后 2 d 开始,3 个不同部位牦牛肉中 caspases-8 活力有一个升高到降低的趋势,ML 和 SM 的 caspases-8 活力在宰后 2 d 后达到一个最低值,宰后 3 d 开始缓慢升高,而 TB 的 caspases-8 在宰后 4 d 出现最低活力,4 d 后有缓慢升高趋势。

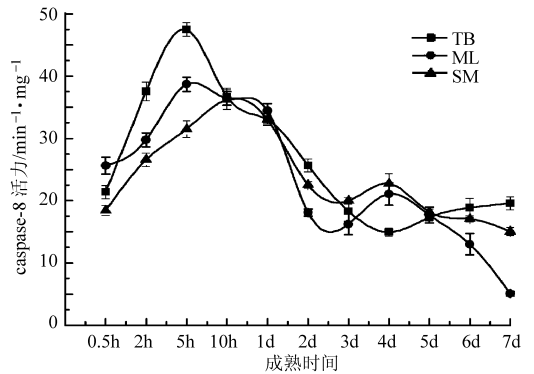


图 4 宰后成熟过程中牦牛肉 caspases-8 酶活力变化
Fig.4 Caspases-8 activity changes of yak meat during aging

从图 5 得出,宰后 5 h caspase-9 活力显著高于宰后 0.5 h (TB, $P < 0.01$; ML, $P < 0.01$; SM, $P < 0.01$),且 ML 和 SM 的 caspase-9 达到最高活力,而 TB 的 caspase-9 在宰后 10 h 后达到最高活力,是其初始值的 2.39 倍,10 h 后开始显著下降($P > 0.05$)。ML 的 caspase-9 活力在宰后 5 h 开始显著下降,宰后 3 d caspase-9 活力不再变化($P > 0.05$),趋于平稳,TB 的 caspase-9 在宰后 5 d 达到最低活力,之后开始呈现上升趋势。

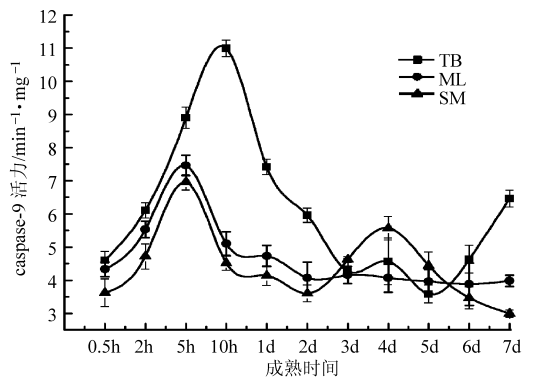


图 5 宰后成熟过程中牦牛肉 caspases-9 酶活力变化
Fig.5 Caspases-9 activity changes of yak meat during aging

2.4 宰后 caspases 活力相关性分析

从表 1 得出,TB 的 caspase-3 和 caspase-8 活力宰后呈显著相关性($R = 0.692, P < 0.001$);caspase-3 和 caspase-9 活力也呈显著相关性($R = 0.683, P < 0.001$);而 caspase-8 和 caspase-9 活力之间同样存在显著相关性($R = 0.813, P < 0.001$);剪切力与 caspase-3 和 caspase-8 活力都呈显著相关性($R = 0.630, P = 0.002; R = 0.800, P < 0.001$);肌原纤维

小片化指数与 caspase-3,8,9 活力和剪切力都呈极显著相关性 ($R = 0.945, P < 0.001; R = 0.833, P < 0.001; R = 0.959, P < 0.001; R = 0.958, P < 0.001$)。从表 2 得出, ML 的 caspase-3 和 caspase-8 活力宰后呈显著相关性 ($R = 0.517, P = 0.014$); caspase-3 和 caspase-9 活力也呈显著相关性 ($R = 0.760, P < 0.001$); 而 caspase-8 和 caspase-9 活力之间同样存在显著相关性 ($R = 0.790, P < 0.001$); 剪切力与 caspase-3、caspase-8 和 caspase-9 活力都呈显著相关性 ($R = 0.703, P < 0.001; R = 0.767, P < 0.001; R = 0.642, P = 0.001$); 肌原纤维小片化指数与 caspase-3,8,9 活力和剪切力都呈极显著相关性 ($R = 0.941,$

$P < 0.001; R = 0.885, P < 0.001; R = 0.961, P < 0.001; R = 0.958, P < 0.001$)。从表 3 得出, SM 的 caspase-3 和 caspase-8 活力宰后呈显著相关性 ($R = 0.46, P = 0.030$); caspase-3 和 caspase-9 活力也呈显著相关性 ($R = 0.718, P < 0.001$); 而 caspase-8 和 caspase-9 活力之间同样存在显著相关性 ($R = 0.894, P < 0.001$); 剪切力与 caspase-3,8,9 活力呈显著相关性 ($R = 0.643, P = 0.001; R = 0.871, P < 0.001; R = 0.733, P < 0.001$); 肌原纤维小片化指数与 caspase-3,8,9 活力和剪切力都呈极显著相关性 ($R = 0.925, P < 0.001; R = 0.905, P < 0.001; R = 0.968, P < 0.001; R = 0.965, P < 0.001$)。

表 1 宰后前驱肱三头肌 (TB) 剪切力、肌原纤维小片化指数、caspase-3,8,9 活力相关分析

Tab. 1 Correlations among share force, MFI, caspase-3,8,9 activity in TB muscle

参数	caspase-3 活力	caspase-8 活力	caspase-9 活力	剪切力	肌原纤维小片化指数
caspase-3 活力	$R = 1$	$R = 0.692, P < 0.001$	$R = 0.683, P < 0.001$	$R = 0.630, P = 0.002$	$R = 0.945, P < 0.001$
caspase-8 活力		$R = 1$	$R = 0.813, P < 0.001$	$R = 0.800, P < 0.001$	$R = 0.833, P < 0.001$
caspase-9 活力			$R = 1$	$R = 0.346, P = 0.115$	$R = 0.959, P < 0.001$
剪切力				$R = 1$	$R = 0.958, P < 0.001$
肌原纤维小片化指数					$R = 1$

表 2 宰后中部背最长肌 (ML) 剪切力、肌原纤维小片化指数、caspase-3,8,9 活力相关分析

Tab. 2 Correlations among share force, MFI, caspase-3,8,9 activity in ML muscle

参数	caspase-3 活力	caspase-8 活力	caspase-9 活力	剪切力	肌原纤维小片化指数
caspase-3 活力	$R = 1$	$R = 0.517, P = 0.014$	$R = 0.760, P < 0.001$	$R = 0.703, P < 0.001$	$R = 0.941, P < 0.001$
caspase-8 活力		$R = 1$	$R = 0.790, P < 0.001$	$R = 0.767, P < 0.001$	$R = 0.885, P < 0.001$
caspase-9 活力			$R = 1$	$R = 0.642, P = 0.001$	$R = 0.961, P < 0.001$
剪切力				$R = 1$	$R = 0.958, P < 0.001$
肌原纤维小片化指数					$R = 1$

表 3 宰后后驱半膜肌 (SM) 剪切力、肌原纤维小片化指数、caspase-3,8,9 活力相关分析

Tab. 3 Correlations among share force, MFI, caspase-3,8,9 activity in SM muscle

参数	caspase-3 活力	caspase-8 活力	caspase-9 活力	剪切力	肌原纤维小片化指数
caspase-3 活力	$R = 1$	$R = 0.46, P = 0.030$	$R = 0.718, P < 0.001$	$R = 0.643, P = 0.001$	$R = 0.925, P < 0.001$
caspase-8 活力		$R = 1$	$R = 0.894, P < 0.001$	$R = 0.871, P < 0.001$	$R = 0.905, P < 0.001$
caspase-9 活力			$R = 1$	$R = 0.733, P < 0.001$	$R = 0.968, P < 0.001$
剪切力				$R = 1$	$R = 0.965, P < 0.001$
肌原纤维小片化指数					$R = 1$

3 讨论

由图 1 和图 2 看出, 宰后不同部位肉的剪切力值显著下降, 尤其体现在第 3 天和第 7 天, 剪切力显著下降, 而 ML 的剪切力始终小于 TB 和 SM, 在成熟 1~5 d, ML 与 TB 和 SM 的剪切力相差较大, 第 5 天之后相差开始变小。Polidori^[16] 研究表明羊背最长肌嫩度显著优于其他部位肉。与 Calkins^[7] 等早期研究结果相似, 发现成熟 3 d 和 6 d 的猪肉剪切力下降显著, 成熟第 6 天到第 9 天剪切力值呈平稳趋势。

肌原纤维小片化指数与肉的嫩度有关^[17], 宰后成熟过程中, 随着肌原纤维蛋白的降解, 肌原纤维小片化指数会逐渐升高, 从而改善肉的嫩度^[18]。由图 2 可知, 宰后成熟过程中, 肌原纤维小片化指数显著增加, 3 个不同部位牦牛肉肌原纤维小片化指数在宰后 1 d 到 5 d 显著升高。而 ML 的肌原纤维小片化指数要比 TB 和 SM 的高, 宰后 3 d 和 5 d 尤为明显。从图 1 看出, 宰后牦牛肉的剪切力显著下降, 从相关性分析中得出剪切力与肌原纤维小片化指数呈负相关性, Koohmaraie^[19] 研究发现宰后羊肉伴随

剪切力下降,肌原纤维小片化指数呈逐渐上升趋势,与本研究结果相吻合。

由图 3~5 显示,宰后成熟显著提高了 caspase 活力,caspase-3 活力宰后 1 d 显著高于宰后 0.5 h ($P < 0.05$),caspase-8 活力在宰后 5 h 达到最高活力 ($P < 0.001$),宰后 5 h caspase-9 活力显著高于宰后 0.5 h ($P < 0.001$),caspase-9 活力最高点出现较 caspase-8 和 caspase-3 早,Adams^[20] 发现宰后成熟过程使 caspase-9 与 caspase-8 被激活,同时活化 caspase-3。宰后 1 d TB 和 SM caspase-3 活力达到最高值,ML 则在宰后 10 h 达到最高活力,宰后 2 d 3 个不同部位肌肉的酶活力基本相同 ($P > 0.05$); TB 和 ML 比 SM 提前达到 caspase-8 活力最高值;且 ML 和 SM 的 caspase-9 在宰后 5 h 达到最高活力,而 TB 的 caspase-9 活力在宰后 10 h 达到最高值,是其初始值的 2.39 倍。最近对羊肉的研究结果显示,发现不同部位肉中 caspase 活力存在差异^[21],Kemp^[22] 研究表明,在猪不同的骨骼肌中 caspase 系统组成部分的表达和活性以不同的比例存在。

从相关性分析中得出 caspase-3 与 caspase-8 活力分别与剪切力和肌原纤维小片化指数呈显著相关性 ($P < 0.05$),Kemp^[22] 在研究宰后猪肉成熟过程中背最长肌 caspase 活力与剪切力的关系时发现了活化后的 caspase-3 对降解细胞骨架蛋白起到关键作用,因此推测 caspase-3 活力升高可以改善肉的嫩度。Kemp 等^[22] 研究发现细胞凋亡酶 3、7、9 宰后 0 h 和 32 h 的比例与肉的嫩度呈显著相关性。Costelli^[10] 研究发现细胞凋亡酶能有限降解肌原纤维蛋白,Ming Huang^[23] 发现,caspase-3 可以降解伴肌动蛋白和伴肌球蛋白等蛋白,同时还发现其可以将 I 线和 Z 线结合的部分弱化,对肌原纤维结构有破坏作用,因此证明 caspase-3 是参与肉类嫩化的关键蛋白酶。Porn-Ares^[24] 发现 calpain 的特异性抑制剂 calpastatin 可以被 caspase-3 降解,进而 caspase-3 可以间接促进 calpain 的激活,calpain 被认为是动物宰后嫩度改善的主要原因^[25],calpain 可以对肌原纤维蛋白进行水解,从而有助于嫩度的提高^[26],本研究中 caspase-3 活力在宰后 1 d 急速下降,但嫩度和

肌原纤维小片化指数在之后的成熟过程中仍在继续上升,很可能是 caspase-3 和 calpain 相互协调共同完成的。不同部位肌肉的 caspase-3、8、9 活力相互之间都呈显著相关性 ($P < 0.05$)。一般认为细胞凋亡是 caspases 被激活后开始,实际上在此之前有大量的活动,在细胞分解过程中,caspases 先发挥作用,其次是在其他蛋白水解系统的帮助下完成。caspase 被激活,从而诱导细胞液中膜联蛋白 A1 的聚集,从细胞质向细胞膜外转移与磷脂酰丝氨酸和细胞凋亡需要的有效间隙定位^[27],该特性支持且证明了宰后肌肉成熟过程激活 caspase 和这些蛋白酶可以改善肉的嫩度^[28]。结合本次试验得出,宰后成熟过程较早激活 caspase-8、caspase-9 活力同时活化了 caspase-3,破坏了肌原纤维结构,从而改善了牦牛肉嫩度。

4 结束语

宰后成熟过程使牦牛肉的剪切力降低、肌原纤维小片化指数升高,TB、ML 和 SM 3 个不同部位的肉剪切力分别下降了 35.6%、27.4%、33.5%。肌原纤维小片化指数分别升高了 69.7%、65.7%、63.0%。

宰后成熟过程使牦牛肉中 caspase-3、caspase-8、caspase-9 活力显著升高,caspase-3 在宰后 1 d 显著高于屠宰后 0.5 h ($P < 0.001$),TB 和 SM 在第 1 天 caspase-3 达到活力最高值,ML 则在宰后 10 h 后达到活力最高值。TB 和 ML 的 caspase-8 在宰后 5 h 达到活力最高值 ($P < 0.001$),TB 和 ML 比 SM 提前达到 caspase-8 活力最高值。宰后 5 h caspase-9 活力显著高于宰后 0.5 h ($P < 0.001$),且 ML 和 SM 的 caspase-9 活力达到最高值,而 TB 在宰后 10 h 后达到最高值,是其初始值的 2.39 倍。

caspase-3 与 caspase-8 活力分别与剪切力和肌原纤维小片化指数呈极显著相关性 ($P < 0.01$),不同部位肉中 caspase-3 与 caspase-8 和 caspase-9 相互之间都呈显著相关性 ($P < 0.05$),TB 部位肉中剪切力值和肌原纤维小片化指数分别与 caspase-3 和 caspase-8 活力呈显著相关性 ($P < 0.05$)。

参 考 文 献

- 田甲春,师希雄,韩玲. 牦牛宰后成熟机理与肉用品质研究[J]. 农业机械学报,2012,43(12):34~40.
Tian Jiachun, Shi Xixiong, Han Ling. Ageing mechanism and meat quality during postmortem ageing of yak meat[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012,43(12): 34~40. (in Chinese)
- 孙志昶. 冷热剔骨工艺对牛肉品质的影响[J]. 农业工程学报,2012,28(1):288~293.
Sun Zhichang. Effects of hot and cold boning technologies on quality of beef[J]. Transactions of the CSAE, 2012, 28(1):288~293. (in Chinese)
- 李鹏,余群力. 甘南黑牦牛肉品质分析[J]. 甘肃农业大学学报,2006,41(6):114~117.

- Li Peng, Yu Qunli. Meat quality of Gannan black yak [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2006, 41(6): 114 ~ 117. (in Chinese)
- 4 Lamare M, Taylor R G. Changes in proteasome activity during postmortem aging of bovine muscle[J]. Meat Science, 2002, 61(2): 199 ~ 204.
 - 5 Robert N, Briand M. The effect of proteasome on myofibrillar structures in bovine skeletal muscle[J]. Meat Science, 1999, 51(2): 149 ~ 153.
 - 6 Koohmaraie M. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat [J]. Meat Science, 1996, 43(1): 193 ~ 201.
 - 7 Calkins C R, Seiderman C C. Relationships among calcium dependent protease, cathepsins B and H, meat tenderness and response of muscle to aging[J]. Journal of Animal Science, 1988, 66(5): 1 186 ~ 1 193.
 - 8 Boleman S J, Boleman S L, Miller R K, et al. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness[J]. Journal of Animal Science, 1997, 75(6): 1 521 ~ 1 524.
 - 9 Hopkings D L, Thompson J M. Factors contributing to proteolysis and disruption of myofibrillar proteins and the impact on tenderization in beef and sheep meat[J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2002, 53(2): 149 ~ 166.
 - 10 Costelli P, Reffo P, Penna F, et al. Ca²⁺-dependent proteolysis in muscle wasting[J]. International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2005, 37(10): 2 134 ~ 2 146.
 - 11 Ventimiglia R, Lau L F, Kinloch R A, et al. Role of caspases in neuronal apoptosis [J]. Drug Development Research, 2001, 52(4): 515 ~ 533.
 - 12 Grunewald S, Sharma R, Paasch U, et al. Impact of caspase activation in human spermatozoa[J]. Microscopy Research and Technique, 2009, 72(11): 878 ~ 888.
 - 13 Pinton P, Ferrari D, Virgilio F D, et al. Molecular machinery and signaling events in apoptosis [J]. Drug Development Research, 2001, 52(4): 558 ~ 570.
 - 14 Cao J, Sun W, Zhou G, et al. Morphological and biochemical assessment of apoptosis indifferent skeletal muscles of bulls during conditioning[J]. Journal of Animal Science, 2010, 88(10): 3 439 ~ 3 444.
 - 15 Underwood K R, Means W J, Du M. Caspase 3 is not likely involved in the postmortem tenderization of beef muscle[J]. Journal of Animal Science, 2008, 86(4): 960 ~ 966.
 - 16 Polidori P, Lee S, Kauffman R G, et al. Low voltage electrical stimulation of lamb carcasses: effects on meat quality[J]. Meat Science, 1999, 53(3): 179 ~ 182.
 - 17 Volpelli L A, Failla S, Sepulcri A, et al. Calpain system in vitro activity and myofibril fragmentation index in fallow deer (Damadama): effects of age and supplementary feeding[J]. Meat Science, 2005, 69(3): 579 ~ 582.
 - 18 Culler R D, Parrish F C, Jr G C, et al. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle[J]. Food Sci., 1978, 43: 1 177 ~ 1 180.
 - 19 Koohmaraie M, Shackelford S D, Wheeler T L, et al. A muscle hypertrophy condition in lamb (callipyge): characterization of effects on muscle growth and meat quality traits[J]. Journal of Animal Science, 1995, 73(12): 3 596 ~ 3 607.
 - 20 Adams J M. Ways of dying: multiple pathways to apoptosis[J]. Genes & Development, 2003, 17(20): 2 481 ~ 2 495.
 - 21 Kemp C M, King D A, Shackelford S D, et al. The caspase proteolytic system in callipyge and normal lambs in longissimus dorsi, semimembranosus and infraspinatus muscles during postmortem storage[J]. Journal of Animal Science, 2009, 87(9): 2 943 ~ 2 951.
 - 22 Kemp C M, Bardsley R G, Parr T. Changes in caspase activity during the postmortem conditioning period and its relationship to shear force in porcine longissimus muscle[J]. Journal of Animal Science, 2006, 84(10): 2 841 ~ 2 846.
 - 23 Huang Ming, Huang Feng, Xue Mei, et al. The effect of active caspase-3 on degradation of chicken myofibrillar proteins and structure of myofibrils[J]. Food Chemistry, 2011, 64(12): 1 281 ~ 1 283.
 - 24 Porn-Ares M I, Samali A, Orrenius S. Cleavage of the calpain inhibitor, calpastatin, during Apoptosis [J]. Cell Death and Differentiation, 1998, 5(12): 1 028 ~ 1 033.
 - 25 Geesink G H, Kuchay S, Chishti A H, et al. Micro-calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins[J]. Journal of Animal Science, 2006, 84(10): 2 834 ~ 2 840.
 - 26 Olsen D G, Parrish F C, Dayton W R, et al. Effect of postmortem storage and calcium activation factor on myofibrillar proteins of bovine skeletal muscle[J]. Journal of Food Science, 1977, 42(1): 117 ~ 124.
 - 27 Arur S, Uche U E, Rezaul K, et al. Annexin I is an endogenous ligand that mediates apoptotic cell engulfment [J]. Developmental Cell, 2003, 4(4): 587 ~ 598.
 - 28 Ouali A, Herrera-Mendez C H, Coulis G, et al. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms [J]. Meat Science, 2006, 74(1): 44 ~ 58.

Modelling Establishment of the Cardinal Parameters Model as a Function of Temperature, pH Value and Sodium Lactate for *Pseudomonas aeruginosa*

Dong Qingli¹ Yao Yuan¹ Zhao Yong² Chen Hao¹

(1. School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China

2. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: An automated turbidimetric system, Bioscreen C, was used to monitor the growth of *Pseudomonas aeruginosa*, which was separated from spoilage pork at a range of temperature (25 ~ 40°C), pH (5.0 ~ 7.5) and mass concentration of sodium lactate (0 ~ 0.035 g/mL). The cardinal parameters model (CPM) was built on the basis of nonlinear least squares method using `fminsearch` function of Matlab software, and CPM represented the lag time of *P. aeruginosa* growth as a function of temperature, pH value and sodium lactate mass concentration. The CPM is able to determine the cardinal parameters T_{\min} , T_{opt} , T_{\max} , P_{\min} , P_{opt} , P_{\max} and the minimum inhibitory concentration of sodium lactate, respectively. This model was validated with ten random data within above ranges. The results showed that the growth parameters are predicted well by CPM with $R^2 = 0.9291$, $B_f = 1.0975$, $A_f = 1.3936$, and $E = 1.5989$, respectively. The validation parameters are 0.8546, 1.1225 and 1.2117 for R^2 , B_f and A_f , respectively.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa* Lag time Temperature pH value Sodium lactate cardinal Parametric model

(上接第 196 页)

Tenderness and Apoptotic Activity of Yak Meat during Postmortem Aging

Sun Zhichang¹ Feng Xiaoqin¹ Han Ling¹ Zhao Huiping^{2,3} Yu Qunli¹

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

2. Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

3. University of Washington, Washington 98133, U. S. A.)

Abstract: Totally 24 Gannan yak were slaughtered at 0 ~ 4°C, wind speed 0.5 m/s conditions to aging, then the shear force, MFI and apoptotic enzymes activity were determined during postmortem aging. Results from this research show that the shear force values of TB, ML and SM decrease by 35.6%, 27.4%, 33.5%, and the MFI values increase by 69.7%, 65.7%, 63.0%. This investigation also indicated that TB and SM at 1d postmortem aging caspase-3 activity reach the highest value ($P < 0.001$), while ML at 10 h postmortem aging caspase-3 activity reaches the highest value; caspase-8 activity reaches the highest value activity ($P < 0.001$) at 5 h postmortem aging, and the caspase-8 activity of TB and SM reach highest value earlier than ML; at 5 h postmortem aging, caspase-9 activity is significantly higher than that at 0.5 h postmortem aging ($P < 0.001$), at the same time caspase-9 activity reaches the highest value in ML and SM muscles, while the caspase-9 activity of TB reaches the highest value at 10 h postmortem aging, it is 2.39 times than its initial value; the caspase-3 and caspase-8 activity is related to shear force and MFI significantly ($P < 0.01$), while caspase-3, caspase-8 and caspase-9 activity show significant correlation with each other ($P < 0.05$).

Key words: Yak Postmortem aging Share force MFI Apoptotic