

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2021.03.040

宰后 H₂O₂ 处理的藏羊肉能量代谢、细胞凋亡及嫩化研究

师希雄 岳建伟 张攀高 田铸 陈骋 马旭悦

(甘肃农业大学食品科学与工程学院, 兰州 730070)

摘要: 为明确宰后 H₂O₂ 处理对欧拉藏羊肉成熟过程中能量代谢、细胞凋亡及嫩化的影响, 选取欧拉藏羊背最长肌为试验材料, 分别用蒸馏水和 50、200 mmol/L 活性氧激活剂进行过氧化氢处理, 在 4℃ 条件下成熟, 测定在成熟期间(0、0.5、1、3、5、7 d) ROS 相对含量、ATP 含量、Ca²⁺-ATPase 活力、Na⁺/K⁺-ATPase 活力、细胞凋亡率、肌原纤维小片化指数(MFI)与肌纤维直径的变化。结果表明, H₂O₂ 处理后成熟 7 d 时, 50 mmol/L H₂O₂ 处理组的 ROS 相对含量比对照组高 39.19% ($P < 0.05$); 50 mmol/L H₂O₂ 和 200 mmol/L H₂O₂ 处理组的 ATP 含量、Ca²⁺-ATPase 和 Na⁺/K⁺-ATPase 活力、肌纤维直径比对照组分别低 25.73% 和 25.77%、38.39% 和 36.70%、27.30% 和 29.46%、13.68% 和 13.94% ($P < 0.05$); 两个处理组的细胞凋亡率与 MFI 比对照组分别高 63.07%、50.42% 与 5.74%、5.19% ($P < 0.05$)。研究表明, 宰后 H₂O₂ 处理藏羊肉, 导致 ROS 含量增加, 改变了藏羊肉能量代谢, 诱导了细胞凋亡, 促进了藏羊肉的嫩化。本研究可为藏羊肉品质改善提供理论参考。

关键词: 藏羊肉; 过氧化氢; 能量代谢; 细胞凋亡; 嫩化

中图分类号: TS251.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-1298(2021)03-0357-07

OSID:



Tibetan Sheep Meat Energy Metabolism, Apoptosis and Tenderization during Postmortem Aging after H₂O₂ Treatment

SHI Xixiong YUE Jianwei ZHANG Pan'gao TIAN Zhu CHEN Cheng MA Xuyue
(College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: In order to clarify the effect of H₂O₂ treatment on energy metabolism, apoptosis and tenderization in the postmortem aging of Tibetan sheep meat. The *Longissimus dorsi* (LD) of Tibetan sheep was selected as the experimental material, Tibetan sheep meat was treated with distilled water, 50 mmol/L and 200 mmol/L reactive oxygen activator hydrogen peroxide, and then aged at 4℃ for 0 d, 0.5 d, 1 d, 3 d, 5 d and 7 d. The changes in ROS relative content, ATP content, Ca²⁺-ATPase and Na⁺/K⁺-ATPase activity, apoptosis rate, myofibril fragmentation index (MFI) and muscle fiber diameter during postmortem aging were tested. The results showed that after aging of 7 d, the relative content of ROS in the 50 mmol/L H₂O₂ treatment group was 39.19% significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$), the ATP content, Ca²⁺-ATPase and Na⁺/K⁺-ATPase activity and muscle fiber diameter of 50 mmol/L and 200 mmol/L H₂O₂ treatments were 25.73% and 25.77%, 38.39% and 36.70%, 27.30% and 29.46%, and 13.68% and 13.94% significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$), the apoptosis rate and MFI in the two treatment groups were 63.07% and 50.42%, and 5.74% and 5.19% significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). To sum up, the H₂O₂ treated Tibetan sheep meat could promote ROS production, change energy metabolism of the Tibetan sheep meat, improve the activity of apoptosis, and promote the meat tenderization. It provided a theoretical basis for improving the quality of Tibetan sheep meat.

Key words: Tibetan sheep meat; hydrogen peroxide; energy metabolism; apoptosis; tenderization

0 引言

藏羊是我国特有的草地型藏系绵羊品种, 主要分

布在青藏高原及其邻近区域。甘南藏羊包括欧拉、甘加与乔科 3 种类型, 其中, 欧拉藏羊以产肉为主, 肉皮毛兼用^[1], 其肉的蛋白质与能量含量高、脂肪与胆固

收稿日期: 2020-11-09 修回日期: 2020-12-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31760436、31860426)和甘肃省高校创新基金项目(2020A-049)

作者简介: 师希雄(1977—), 男, 副教授, 博士, 主要从事畜产品加工研究, E-mail: sxix77@163.com

醇含量低、矿物质与氨基酸含量相对较高以及风味物质丰富^[2-3]。但是,藏羊肉嫩度较低,从而影响了食用品质。因此,有必要改善藏羊肉的品质。

宰后肉的成熟过程是肌细胞死亡与内部许多生化变化的过程,该过程可改善羊肉嫩度。在缺氧条件下,肌细胞死亡的方式以凋亡为主^[4]。动物宰后肌细胞代谢过程会产生一系列活性氧簇(ROS),主要包括过氧化氢、超氧自由基、羟自由基等^[5],其中大部分ROS由线粒体中电子传递链产生^[6]。在正常生理状态时,活性氧的产生与清除处于动态平衡,而宰后肌细胞在缺氧应激与营养物质缺少时,其抗氧化能力降低,部分ROS不能被清除,会破坏一系列正常的细胞信号通路,从而导致细胞凋亡,对肉的嫩度等品质产生影响^[7]。因此,ROS会对宰后肌肉的能量代谢、细胞凋亡以及嫩化产生影响。

文献[8]研究发现,骨骼肌积累过多的ROS可能会使线粒体结构发生破坏,最终诱导细胞凋亡。文献[9]研究表明,通过H₂O₂诱导产生活性氧可改善鹅肉的嫩度。文献[10]也证实,在U251细胞内由于H₂O₂诱导产生的ROS大量积累,导致线粒体通透性转换孔增大,加剧了细胞色素C的释放,促进了细胞凋亡。文献[11]认为,ROS的堆积使得线粒体氧化应激水平提高,造成线粒体氧化损伤,从而发生凋亡,改善了牦牛肉的嫩度。但文献[12]研究指出,ROS可抑制钙激活酶的活力,不利于肉的嫩化。综上所述,宰后H₂O₂处理对宰后肉嫩化的影响尚不明确,而且相关研究主要集中在猪肉、牛肉及禽肉的研究方面,关于ROS对青藏高原欧拉藏羊肉嫩化的影响尚未见报道,本文采用50 mmol/L和200 mmol/L的ROS激活剂(H₂O₂)分别处理欧拉藏羊背最长肌,在4℃条件下成熟,在成熟的不同时间点(0、0.5、1、3、5、7 d)分别测定ROS相对含量、ATP含量、Ca²⁺-ATPase和Na⁺/K⁺-ATPase活力、细胞凋亡率、肌原纤维小片化指数(MFI)与肌纤维直径,研究H₂O₂对宰后藏羊肉能量代谢、细胞凋亡与嫩化的影响,以期为肉品质改善提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

1.1.1 试验原料及样品处理

随机选取10只自然放牧、健康状况良好的4~5岁欧拉型藏羊,屠宰后迅速取背最长肌(*Longissimus dorsi*, LD)分割成50 g左右的肉块,再将肉块随机分为3组,分别用蒸馏水、50 mmol/L H₂O₂和200 mmol/L H₂O₂溶液处理,处理时按肉液比10 g/mL进行对称注射。然后在4℃条件下进行

成熟,在不同成熟时间点(0、0.5、1、3、5、7 d)分别取样,用于ROS及肉品质的测定。

1.1.2 试验仪器与试剂

试验仪器:AL104型电子天平,梅特勒-托利多仪器上海有限公司;HG101-A型电热鼓风干燥箱,南京腾飞实验仪器有限公司;PHS-3C型pH计,上海宁隆仪器有限公司;BCD-450WDS型冰箱,海尔集团;HG200-158型插入式pH计,北京百万电子科技有限公司;CR-10型小型色差仪,日本KonicaMinolta公司;UV-2550型紫外-可见分光光度计,岛津上海有限公司;TGL-24MC型高速冷冻离心机,湖南平凡科技有限公司;RF 5301-PC型荧光分光光度计,日本岛津公司。

试验试剂:过氧化氢、戊二醛、柠檬酸铅、甘露醇、蔗糖、无水乙醇、硫酸铝钾、甲醛、酒精、冰醋酸、甘油、碘酸钠、二甲苯、苏木清过氧化氢、多聚甲醛、醋酸双氧铀,均为分析纯;ROS检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 ROS相对含量测定

ROS相对含量的测定参照文献[13]的方法并稍作修改,取蛋白质浓度为0.1 mg/mL蛋白悬浮液,然后按体积比1:1的比例将蛋白悬浮液与10 μmol/L DCFH-DA工作液(用50 mmol/L、pH值7.4磷酸盐缓冲液配置而成)充分混合。将混合后的液体立即在37℃的水浴锅中孵育15 min,之后将混合液离心8 min(12 000 g, 4℃),再用荧光分光光度计测定荧光强度,ROS相对含量用每毫克蛋白的相对荧光强度表示。

1.2.2 ATP含量测定

操作步骤和计算公式参照文献[11]的方法。

1.2.3 Ca²⁺-ATPase和Na⁺/K⁺-ATPase活力测定

操作步骤和计算公式参照文献[11]的方法。

1.2.4 细胞凋亡率测定

参照文献[14]的方法进行测定。利用原位末端法(TUNEL)原理,将羊肉切成1.0 cm×0.5 cm×0.5 cm的肉块,用4%多聚甲醛溶液进行固定,然后将羊肉组织先用石蜡包埋,再冰冻切片、脱蜡、封闭、漂洗,用荧光显微镜测定并计数。

1.2.5 肌原纤维小片化指数(MFI)测定

参照文献[15]的方法,并稍作修改。称取剔除脂肪和筋膜的肉样,加入肉样20倍体积的MFI缓冲液(20 mmol/L K₃PO₄、100 mmol/L KCl、1 mmol/L MgCl₂、1 mmol/L NaN₃、1 mmol/L EDTA(乙二胺四乙酸), pH值7.1), 10 000 r/min冰浴匀浆得到肌原纤维蛋白悬浊液,并在4℃、1 000 g下离心15 min,

弃上清液,将沉淀继续悬浮于 20 倍体积的 MFI 缓冲液中,重复上述步骤 1 次。再将肌原纤维蛋白悬浮于 10 mL MFI 缓冲液,然后通过 200 目尼龙筛网过滤。双缩脲法测蛋白质量浓度,并将蛋白质量浓度稀释至 0.5 mg/mL,540 nm 处测定吸光度,吸光度乘以 200 即为 MFI。

1.2.6 肌纤维直径测定

参照文献[16]的方法,并稍作修改。将肉样切割成尺寸(长×宽×高)为 1.0 cm×0.3 cm×0.3 cm 的肉块,放入 10% 甲醛溶液浸泡 48 h,制作石蜡切片,然后染色,中性树胶封片后显微拍照。然后用 image-ProPlus 6.0 软件测量单根肌纤维直径。

1.3 数据处理

采用 SPSS 19.0 软件进行方差分析(ANOVA),用 Duncan 法进行多重比较。所有指标测定 3 次,结果用平均数±标准差表示,用 Microsoft Office Excel 2010 软件进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 H₂O₂ 处理对藏羊肉成熟过程中 ROS 相对含量的影响

ROS 作为一种信号分子,在细胞中产生与消除的动态平衡如果被打破,就会产生过量的 ROS,从而导致氧化应激反应^[17]。由图 1(图中相同时间不同字母表示不同处理组之间差异显著($P < 0.05$),下同)可知,H₂O₂ 处理藏羊肉 0.5 d 后,处理组与对照组的 ROS 相对含量呈现先上升后下降的趋势,第 3 天时达到最大值,之后,不断下降。第 7 天时,50 mmol/L H₂O₂ 处理组的 ROS 相对含量比对照组高 39.19% ($P < 0.05$),可能由于 H₂O₂ 作为 ROS 的诱导剂,促进了 ROS 的生成。本试验结果与文献[18]研究发现过氧化氢处理使宰后牦牛肉成熟过程中线粒体 ROS 水平升高以及文献[19]报道的过氧化氢处理后鸡胚成肌细胞 ROS 水平上升相一致。由此可见,采用 H₂O₂ 处理欧拉藏羊肉后,由于 H₂O₂ 的诱导作用,使得羊肉中 ROS 相对含量增加,氧化应激水平提高。

2.2 H₂O₂ 处理对藏羊肉成熟过程中 ATP 含量的影响

ATP 既是细胞的直接供能物质,也是维护细胞离子稳态的关键调节因子,主要来源于线粒体,线粒体的结构和功能直接影响肌肉的能量水平^[20]。同时,ATP 是 caspases 家族发生级联反应的必要条件,细胞凋亡的发生与 ATP 含量的变化密切相关^[21]。从图 2 看出,处理组与对照组 ATP 含量随着宰后时间的延长呈下降趋势。处理后第 7 天时,50 mmol/L

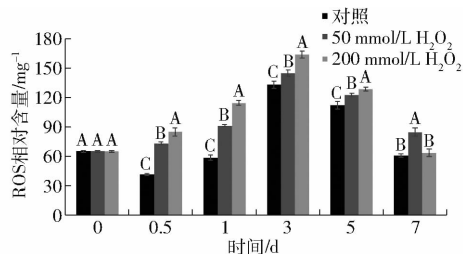


图 1 H₂O₂ 处理对宰后藏羊肉成熟过程中 ROS 相对含量的影响

Fig. 1 Effect of H₂O₂ treatment on relative content of ROS in Tibetan sheep meat during postmortem aging

H₂O₂ 和 200 mmol/L H₂O₂ 处理组 ATP 含量分别比对照组低 25.73% 和 25.77% ($P < 0.05$)。试验结果表明,H₂O₂ 处理欧拉藏羊肉导致了成熟过程中 ATP 含量的显著降低,可能由于 H₂O₂ 诱导产生的 ROS 在线粒体中大量积累,造成线粒体结构和功能受损,抑制了 ATP 的产生^[22]。文献[23]研究发现,大鼠心肌细胞经 1 mmol/L H₂O₂ 处理后,ATP 含量逐渐下降。文献[24]研究表明,ROS 的大量积累,导致电子传递链功能受损,ATP 合成减少。此外,文献[25]报道,H₂O₂ 诱导产生的氧化应激,导致 ATP 水平和线粒体膜电位下降。本研究结果与上述报道相一致。由此可知,采用 H₂O₂ 处理后,宰后欧拉藏羊肉成熟过程中 ATP 含量显著降低。

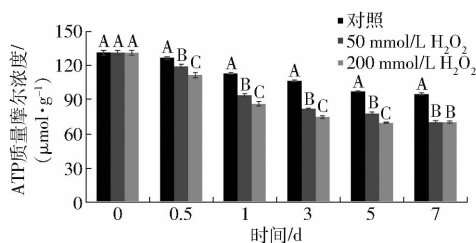


图 2 H₂O₂ 处理对宰后藏羊肉成熟过程 ATP 含量的影响

Fig. 2 Effect of H₂O₂ treatment on content of ATP in Tibetan sheep meat during postmortem aging

2.3 H₂O₂ 处理对藏羊肉成熟过程中能量代谢酶的影响

ATPase 作为维持生物体正常生理代谢的重要酶系统,其中,Na⁺/K⁺-ATPase 为维持胞外高钠、胞内高钾的不均衡离子分布,通常会将胞内的钠离子转运到胞外,同时将胞外的钾离子转移到胞内。Ca²⁺-ATPase 通过主动转运 Ca²⁺,使胞浆内游离 Ca²⁺ 处于较低水平,保证细胞的正常生理功能^[26]。由图 3 可知,随着成熟时间的延长,处理组和对照组的 Na⁺/K⁺-ATPase 活力和 Ca²⁺-ATPase 活力均呈整体下降趋势,且 H₂O₂ 处理组 Na⁺/K⁺-ATPase 活力和 Ca²⁺-ATPase 活力均显著低于对照组 ($P < 0.05$),H₂O₂ 处理后第 7 天时,50 mmol/L H₂O₂ 和 200 mmol/L H₂O₂ 处理组 Ca²⁺-ATPase 活力分别比

对照组低 38.39% 和 36.70% ($P < 0.05$), Na^+/K^+ -ATPase 活力分别比对照组低 27.30% 和 29.46% ($P < 0.05$)。结果表明, H_2O_2 处理后, 藏羊肉成熟过程中 Na^+/K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活力显著降低, 可能由于处理后 ROS 相对含量增加, 造成线粒体膜脂质的破坏, 从而使 Na^+/K^+ -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase 活力下降^[27]。文献[28]报道, 经 H_2O_2 处理 2 h 后的心肌细胞, Na^+/K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活力显著低于正常对照组。文献[29]研究发现 H_2O_2 处理(姜黄素处理作对照)的 H9c2 心肌细胞, Na^+/K^+ -ATPase 活性显著低于对照组。同时, 文献[30]研究表明, H_2O_2 处理组线粒体 Na^+/K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活力与对照组相比均显著降低。本试验结果与以上报道相似。由此可见, 采用 H_2O_2 处理欧拉藏羊肉后, 宰后成熟过程中由于 ROS 对线粒体膜的破坏, 导致了 Na^+/K^+ -ATPase 活力和 Ca^{2+} -ATPase 活力显著降低。

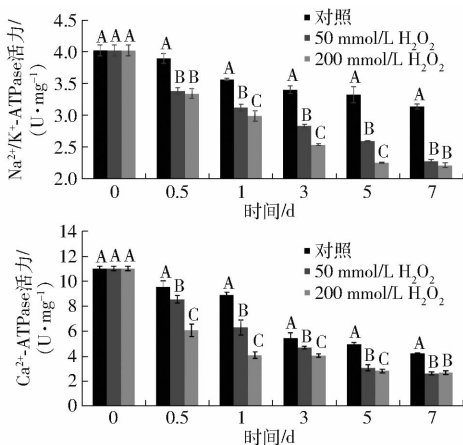


图3 H_2O_2 处理对宰后藏羊肉成熟过程中能量代谢酶活力的影响

Fig. 3 Effect of H_2O_2 treatment on energy metabolism enzyme in Tibetan sheep meat during postmortem aging

2.4 H_2O_2 处理对藏羊肉成熟过程中细胞凋亡率的影响

细胞凋亡是细胞的程序性死亡, 细胞凋亡率能够客观地反映细胞凋亡程度^[31]。从图4可以看出, 采用 TUNEL 法对宰后藏羊肉成熟过程中骨骼肌细胞的凋亡率检测发现, 处理组与对照组的细胞凋亡率均随着宰后成熟时间的延长呈上升趋势。 H_2O_2 处理后, 第 3~7 天时, H_2O_2 处理组的细胞凋亡率均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 第 7 天时, 50 mmol/L H_2O_2 和 200 mmol/L H_2O_2 处理组细胞凋亡率分别比对照组高 63.07% 和 50.42% ($P < 0.05$)。可能因为 H_2O_2 处理后, ROS 相对含量增加, 造成线粒体的氧化损伤, 线粒体膜电位下降, 进而导致细胞凋亡, 从而使凋亡率增加^[32]。文献[33]研究发现, 外

源过氧化氢可引起线粒体损伤, 促进细胞凋亡的发生。此外, 文献[34]也研究表明, ROS 可促进细胞凋亡的发生。本研究结果与以上报道相似。由此可见, 采用 H_2O_2 处理欧拉藏羊肉后, 由于 ROS 的增加, 可能造成线粒体的氧化损伤, 线粒体膜电位下降, 进而导致细胞凋亡, 凋亡率增加。

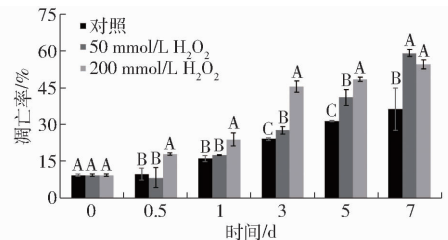


图4 H_2O_2 处理对藏羊肉成熟过程中细胞凋亡率的影响

Fig. 4 Effect of H_2O_2 treatment on apoptosis in Tibetan sheep meat during postmortem aging

2.5 H_2O_2 处理对藏羊肉成熟过程中 MFI 的影响

MFI 表征肌原纤维内部结构破坏的情况, 其大小可反映肉的嫩化程度, MFI 越大, 表明肌原纤维内部结构受破坏的程度越大, 肉的嫩度也越好^[35]。从图5可以看出, 处理组与对照组的 MFI 随宰后时间的延长整体呈上升趋势。 H_2O_2 处理藏羊肉 0.5 d 后, H_2O_2 处理组的 MFI 均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。第 7 天时, 50 mmol/L H_2O_2 和 200 mmol/L H_2O_2 处理组 MFI 分别比对照组高 5.74% 和 5.19% ($P < 0.05$)。结果表明, H_2O_2 处理后 MFI 显著升高, 可能由于处理后 ROS 增加, 诱导了细胞凋亡, 启动了 caspases 级联反应, 从而对肌原纤维蛋白进行降解, 破坏了肌原纤维的内部结构, 导致 MFI 升高^[14]。文献[36]研究发现, ROS 可促进钙蛋白酶的激活, 有利于肌原纤维蛋白的降解。此外, 文献[11]报道, 耗牛肉宰后成熟过程中 H_2O_2 处理组 MFI 显著高于对照组。本研究结果与上述报道相似。因此, 采用 H_2O_2 处理欧拉藏羊肉后, 促进了 ROS 的生成, 诱导了细胞凋亡, 激活了细胞凋亡酶, 对肌原纤维蛋白进行降解, 导致 MFI 增加。

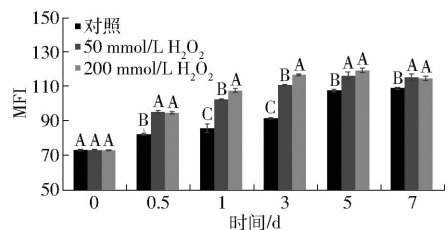


图5 H_2O_2 处理对藏羊肉成熟过程中 MFI 的影响

Fig. 5 Effect of H_2O_2 treatment on MFI in Tibetan sheep meat during postmortem aging

2.6 宰后 H_2O_2 处理对藏羊肉成熟过程中肌纤维直径的影响

肌纤维直径是评价肌纤维组织学特性的指标之

一,其越细肉质越嫩,肉品质越好^[37]。图6反映了宰后 H₂O₂ 处理对藏羊肉成熟过程中肌纤维直径的影响,由图6可知,随着宰后成熟时间的增加,处理组与对照组的肌纤维直径均呈现整体下降的趋势。H₂O₂ 处理藏羊肉 7d 时,50 mmol/L H₂O₂ 和 200 mmol/L H₂O₂ 两个处理组肌纤维直径分别比对照组低 13.68% 和 13.94% ($P < 0.05$)。结果表明,H₂O₂ 处理藏羊肉后,肌纤维直径显著降低,可能由于 H₂O₂ 处理后,ROS 增加,促进了细胞凋亡的发生,从而使肌原纤维蛋白结构发生变化,导致了肌纤维直径减小,嫩度增加。该结果与文献[38]报道的 H₂O₂ 处理牦牛肉后嫩度提高的结果相似。总之,采用 H₂O₂ 处理后,欧拉藏羊肉的肌纤维直径显著降低,促进了肉嫩度的改善。此外,过氧化氢处理后

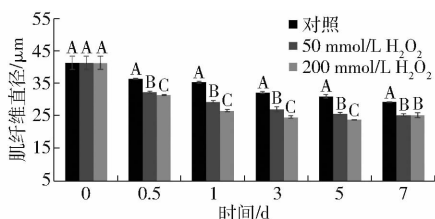


图6 H₂O₂ 处理对藏羊肉成熟过程中肌纤维直径的影响

Fig. 6 Effect of H₂O₂ treatment on muscle fibers

diameter in Tibetan sheep meat during postmortem aging

ROS 生成增多,可能通过攻击多不饱和脂肪酸,导致风味发生变化^[39];其次,造成凋亡的发生,可能破坏线粒体电子传递链,造成肉色的褐变^[40],同时,激活了细胞凋亡酶,可能对肌原纤维蛋白发生降解,引起质构的变化^[41]。因此,H₂O₂ 对欧拉藏羊肉其他品质的影响有待进一步研究。

3 结束语

采用蒸馏水、50 mmol/L 与 200 mmol/L 的过氧化氢对藏羊肉进行处理,测定了 ROS 相对含量、ATP 含量、Ca²⁺-ATPase 和 Na⁺/K⁺-ATPase 活力、细胞凋亡率、MFI 与肌纤维直径在成熟期间的变化。结果表明,成熟 7 d 时,50 mmol/L 和 200 mmol/L 处理组与对照组相比,ATP 含量分别降低了 25.73% 和 25.77%,Ca²⁺-ATPase 活力分别降低了 38.39% 和 36.70%,Na⁺/K⁺-ATPase 活力分别降低了 27.30% 和 29.46%,肌纤维直径分别降低了 13.68% 和 13.94% ($P < 0.05$),细胞凋亡率分别提高了 63.07% 和 50.42%,MFI 分别提高了 5.74% 和 5.19% ($P < 0.05$)。因此,采用过氧化氢处理藏羊肉可促进肉的嫩化。本研究可为肉品质改善提供理论参考。

参 考 文 献

- [1] 毛学荣. 欧拉型藏羊的肉质分析[J]. 青海畜牧兽医杂志,2005(3):3-4.
MAO Xuerong. Analysis mutton quality of Oula-type of Tibetan sheep[J]. Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences,2005(3):3-4. (in Chinese)
- [2] 李梦琪. 欧拉藏羊肉品质分析及冻藏对其脂肪和蛋白氧化的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学,2018.
LI Mengqi. Quality analysis and the effects of frozen storage on lipid and protein oxidation of Oula Tibetan sheep meat[D]. Lanzhou:Gansu Agricultural University,2018. (in Chinese)
- [3] 陈学敏,朱国茵,罗海玲,等. 基于指纹图谱的欧拉羊肉挥发性风味物质定量分析[J/OL]. 农业机械学报,2020,51(5):349-355.
CHEN Xuemin, ZHU Guoyin, LUO Hailing, et al. Quantitative analysis of Oula lamb meat volatile compounds based on fingerprint[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2020, 51(5): 349-355. http://www.jcsam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20200538&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2020.05.038. (in Chinese)
- [4] KEMPP C M, SENSKY P L, BARDSLEY R G, et al. Tenderness—an enzymatic view[J]. Meat Science, 2010, 84(2):248-256.
- [5] 许琼琼,韩兵社,罗军涛,等. 低温胁迫诱导斑马鱼 ZF4 细胞 ROS 及 MAPK 相关蛋白表达的影响[J]. 中国水产科学,2016,23(4):771-776.
XU Qiongqiong, HAN Bingshe, LUO Juntao, et al. Effects of low temperature stress on expression of ROS and MAPK-related proteins in zebrafish ZF4 cells[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(4):771-776. (in Chinese)
- [6] 薛梅. 蛋白质氧化对牛肉成熟过程肌原纤维蛋白降解和食用品质的影响[D]. 南京:南京农业大学,2012.
XUE Mei. Influence of protein oxidation on myofibrillar proteins degradation and meat eating quality from bovine during postmortem ageing[D]. Nanjing:Nanjing Agricultural University,2012. (in Chinese)
- [7] GABRIEL B, SUREAU F, CASSELYN M, et al. Retroactive pathway involving mitochondria in electroloaded cytochrome c-induced apoptosis. Protective properties of Bcl-2 and Bcl-XL[J]. Experimental Cell Research, 2003, 289(2):195-210.
- [8] 刘延莹,冯庆鲲,杨海平. 线粒体稳态失衡与肌肉减少症发生[J]. 肇庆学院学报,2020,41(2):81-85.
LIU Yanying, FENG Qingkun, YANG Haiping. Mitochondrial homeostasis imbalance and myopenia[J]. Journal of Zhaoqing University, 2020, 41(2):81-85. (in Chinese)
- [9] ZHANG Xiaotao, PAN Daodong, CAO Jinxuan, et al. Changes in the major caspases involved in cytoskeletal degradation of goose muscle during prolonged aging[J]. Food Research International, 2013, 51(2):603-610.

- [10] XU Jingjing, DAI Xiaomin, LIU Hailiang, et al. A novel 7-azaisoindigo derivative-induced cancer cell apoptosis and mitochondrial dysfunction mediated by oxidative stress[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2015, 31(2):164-172.
- [11] 王琳琳. Cyt-c 释放和介导宰后牦牛肉线粒体凋亡途径激活机制及对嫩度影响的研究[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2018.
WANG Linlin. Study on the effect of cytochrome c release and its mediation mechanism of mitochondrial apoptosis activation on yak meat tenderness during postmortem aging[D]. Lanzhou:Gansu Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [12] 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.
- [13] LEE J, YU B, HERLIHY J. Modulation of cardiac mitochondrial membrane fluidity by age and calorie intake[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26(3-4):260-265.
- [14] 孙志昶. 宰后牦牛肉成熟过程中细胞凋亡的发生及其对肉品质与微观结构变化的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2015.
SUN Zhichang. The research in the mechanism of apoptosis occurrence on yak meat quality and microstructure changes during postmortem aging[D]. Lanzhou:Gansu Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [15] 陈信彰. 民猪及其杂交猪肌肉组织学特性与肉质性状关系的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2015.
CHEN Xinzhang. Study on the relationships between the muscle tissue characteristics and meat quality traits of Min pig and its hybrids[D]. Harbin:Northeast Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [16] 任秋斌, 郑世学, 李海鹏, 等. 中国西门塔尔牛前肢肌肉组织学和理化特性的研究[J]. *中国畜牧兽医*, 2011, 38(1):244-247.
REN Qiubin, ZHENG Shixue, LI Haipeng, et al. Studies on the histological characteristics and physicochemical properties of Chinese Simmental's forelimb muscles[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2011, 38(1):244-247. (in Chinese)
- [17] 杨光涛. p53 依赖性和非依赖性信号通路在邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯致肝细胞凋亡中的调控机制[D]. 武汉:华中科技大学, 2012.
YANG Guangtao. Modulations of p53-dependent and p53-independent pathways in mono-(2-ethylhexyl) phthalat-induced apoptosis in cell lines L02 and HepG2 [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2012. (in Chinese)
- [18] WANG Linlin, YU Qunli, HAN Lin, et al. Study on the effect of reactive oxygen species-mediated oxidative stress on the activation of mitochondrial apoptosis and the tenderness of yak meat[J]. *Food Chemistry*, 2018, 244:394-402.
- [19] 姚海东. 硒蛋白 W 抗氧化功能及其在鸡缺硒性骨骼肌细胞凋亡作用中的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2013.
YAO Haidong. The analysis of the antioxidant function of selenoprotein W and its role in selenium-deficiency induced apoptosis in skeletal muscles cells of chick[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2013. (in Chinese)
- [20] 马秀丽. CaCl₂ 处理对不同品种牛肉成熟过程中品质及能量代谢的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2018.
MA Xiuli. Effects of CaCl₂ on meat quality and energy metabolism of different varieties beef during postmortem aging[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [21] 王琳琳, 马君义, 余群力, 等. 宰后牦牛肉细胞凋亡对肌肉内环境与嫩度的影响[J/OL]. *农业机械学报*, 2017, 48(7):317-324.
WANG Linlin, MA Junyi, YU Qunli, et al. Effects of apoptosis on muscle internal environment and tenderness during yak meat postmortem aging[J/OL]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2017, 48(7):317-324. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20170740&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2017.07.040. (in Chinese)
- [22] 张瑞. 乙醛脱氢酶 2 对心脏骤停后心功能障碍的作用和机制研究[D]. 济南:山东大学, 2020.
ZHANG Rui. The effect and mechanism study on aldehyde dehydrogenase 2 protects against post cardiac arrest myocardial dysfunction[D]. Ji'nan: Shandong University, 2020. (in Chinese)
- [23] 孙维. MicroRNA-210 在 H₂O₂ 诱导心肌细胞氧化应激损伤中对能量代谢的作用及机制研究[D]. 长春:吉林大学, 2018.
SUN Wei. The role and regulation mechanism of microRNA-210 on the energy metabolism during H₂O₂ induced oxidative stress damage of cardiomyocytes[D]. Changchun: Jilin University, 2018. (in Chinese)
- [24] 王锦, 张爱青, 甘卫华. Mic60 介导线粒体功能障碍在 CKD 发生发展中作用机制的研究进展[J]. *山东医药*, 2020, 60(28):101-104.
WANG Jin, ZHANG Aiqing, GAN Weihua. Mic60 mediates mitochondrial dysfunction in CKD progress in the study of the mechanism of action during development[J]. *Shandong Medical Journal*, 2020, 60(28):101-104. (in Chinese)
- [25] 钟源, 孙善全. 番茄红素对心肌细胞氧化应激损伤的保护作用[J]. *重庆医学*, 2015, 44(9):1157-1161.
ZHONG Yuan, SUN Shanquan. Protective effects of lycopene against oxidative stress-induced injury[J]. *Chongqing Medicine*, 2015, 44(9):1157-1161. (in Chinese)
- [26] 孔祥会, 王桂忠, 李少菁, 等. 锯缘青蟹不同器官组织中 4 种类型 ATPase 活性比较研究[J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2004, 43(1):98-101.
KONG Xianghui, WANG Guizhong, LI Shaojing, et al. Comparative study on the activities of four ATPases in different organs

- and tissues of Mud Crab, *Scylla serrata* [J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2004, 43(1): 98 - 101. (in Chinese)
- [27] 廖日滔, 郭静科, 李冰洁, 等. 自由基相关细胞信号传导的研究进展 [J]. 中国细胞生物学学报, 2014, 36(11): 1573 - 1583.
LIAO Ritao, GUO Jingke, LI Bingjie, et al. The review on the cell signal transduction pathway related to free radicals [J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2014, 36(11): 1573 - 1583. (in Chinese)
- [28] 杨萍, 李杰, 李丽君, 等. 丹参酮 II A 抗过氧化氢诱导的心肌细胞凋亡作用及机制研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2009, 36(12): 2140 - 2142.
YANG Ping, LI Jie, LI Lijun, et al. A study of antiapoptosis effect and mechanism of tanshinone II A in hydrogen peroxide damaged myocardial cell [J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2009, 36(12): 2140 - 2142. (in Chinese)
- [29] 廖雪艳, 汪克纯. 姜黄素对氧化应激条件下心肌细胞线粒体的保护作用 [J]. 实用临床医药杂志, 2019, 23(3): 38 - 43.
LIAO Xueyan, WANG Kechun. Role of curcumin in protection of cardiac muscle mitochondria under circumstance of oxidative stress [J]. Journal of Clinical Medicine in Practice, 2019, 23(3): 38 - 43. (in Chinese)
- [30] 曹秀明, 高越, 徐德林. 虾青素保护活性氧所致线粒体损伤的作用 [J]. 食品与药品, 2010, 12(11): 412 - 414.
CAO Xiuming, GAO Yue, XU Delin. Protection of astaxanthin against active oxygen-induced mitochondria injury [J]. Food and Drug, 2010, 12(11): 412 - 414. (in Chinese)
- [31] 崔剑. 抑肽酶对凝血酶诱导的体外星形胶质细胞凋亡性损伤的保护作用研究 [D]. 重庆: 第三军医大学, 2004.
CUI Jian. Protective effect of aprotinin on apoptotic injury of astrocytes induced by thrombin in vitro [D]. Chongqing: Third Military Medical University, 2004. (in Chinese)
- [32] CALLISTA Y, WEN Y, SIEGFRIED H, et al. The intrinsic apoptosis pathway mediates the pro-longevity response to mitochondrial ROS in *C. elegans* [J]. Cell, 2014, 157(4): 897 - 909.
- [33] 常春艳. Parkin 通过氧化应激途径保护 DJ-1 下调和 DJ-1 L166P 突变的 SH-SY5Y 细胞的线粒体稳态 [D]. 上海: 复旦大学, 2012.
CHANG Chunyan. Up-regulated Parkin in SH-SY5Y cells of deficient DJ-1 or over-expressed DJ-1 L166P protect mitochondria homeostasis by the way of against oxidative stress [D]. Shanghai: Fudan University, 2012. (in Chinese)
- [34] DUTTA S, KHANNA A. Aglycone rich extracts of phytoestrogens cause ROS-mediated DNA damage in breast carcinoma cells [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2016, 84: 1513.
- [35] 丰永红, 王勇峰, 李海鹏, 等. 新疆褐牛不同部位肉宰后成熟过程中蛋白降解变化研究 [J/OL]. 农业机械学报, 2018, 49(5): 382 - 389.
FENG Yonghong, WANG Yongfeng, LI Haipeng, et al. Protein degradation of different cuts in Xinjiang brown cattle beef during postmortem aging [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(5): 382 - 389. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20180546&flag=1. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2018.05.046. (in Chinese)
- [36] POWERS S K, HUDSON M B, NELSON W B, et al. Mitochondria-targeted antioxidants protect against mechanical ventilation-induced diaphragm weakness [J]. Critical Care Medicine, 2011, 39(7): 1749 - 1759.
- [37] 贾青. 细胞凋亡酶-3 及其激活剂对宰后牦牛肉品质变化的影响 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016.
JIA Qing. Influence of caspases-3 and the inhibitors on yak meat quality changes [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [38] 藏磊, 马纪兵, 韩玲, 等. 活性氧对宰后牦牛肉成熟过程中腺苷一磷酸活化蛋白激酶通路, 糖酵解及肉品质的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(12): 44 - 50.
ZANG Lei, MA Jibing, HAN Ling, et al. Effect of reactive oxygen species on yak meat AMPK pathway, glycolysis and meat quality during postmortem aging [J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(12): 44 - 50. (in Chinese)
- [39] 岳建伟, 师希雄, 孙金龙, 等. 宰后成熟过程中活性氧介导的氧化应激对肉品质的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(2): 247 - 251.
YUE Jianwei, SHI Xixiong, SUN Jinlong, et al. Effects of reactive oxygen species mediated oxidative stress on meat quality during postmortem aging [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(2): 247 - 251. (in Chinese)
- [40] 孙志昶, 余群力, 韩玲, 等. 细胞凋亡对牦牛肉成熟过程中品质的影响 [J]. 现代食品科技, 2014, 30(8): 82 - 88.
SUN Zhichang, YU Qunli, HAN Ling, et al. The research of apoptotic in yak muscles during postmortem aging [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(8): 82 - 88. (in Chinese)
- [41] 邹明辉, 李来好, 郝淑贤, 等. 凡纳滨对虾虾仁在冻藏过程中品质变化研究 [J]. 南方水产, 2010, 6(4): 37 - 42.
ZOU Minghui, LI Laihao, HAO Shuxian, et al. Study on the quality change of prawns and shrimp during freezing storage [J]. South Aquatic Products, 2010, 6(4): 37 - 42. (in Chinese)