

姜汁提取物对鸭肉嫩化及肌原纤维微观组织结构的影响

赵立¹, 陈军¹, 李苗云², 白青云¹, 陈华侨¹, 张璐珏¹, 乙杨学¹

(1. 淮阴工学院生命科学与食品工程学院, 江苏淮安 223003)

(2. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南郑州 450002)

摘要: 本研究探讨了姜汁提取物对鸭肉的嫩化、肌肉全蛋白 SDS-PAGE 电泳以及微观组织结构的影响。利用姜汁提取物对鸭肉在 4±1 °C 条件下腌制 48 h。对照组和姜汁处理组 (5%, 姜汁:鸭肉=mL:g) 分别在不同时间 (0 h、6 h、12 h、24 h、36 h 和 48 h) 取样分析。结果表明: 整个腌制过程, 色差未受影响 ($p>0.05$); 24 h 腌制时间内, 姜汁处理组的 pH 值、持水力和 MFI (肌原纤维小片化指数) 分别由 5.92、26.00% 和 76.38 增高到 5.98、35.04% 和 97.45 ($p<0.05$); 肌原纤维蛋白含量和剪切力值分别由 108.01 mg/mL、32.71 N 下降到 83.78 mg/mL 和 23.75 N ($p<0.05$); 24 h 以上未有显著改变 ($p>0.05$)。SDS-PAGE 电泳显示, 24 h 后肌球蛋白和肌动蛋白发生了明显的降解。透射电镜观察, 腌制 24 h 的鸭肉肌节明显变短, Z 线断裂溶解, 出现了肌原纤维小片化现象。相对于对照组, 5% 的生姜提取物在 4±1 °C 下对鸭肉进行腌制处理 24 h, 即可显著降解肌原纤维, 提高鸭肉的嫩度, 改善鸭肉的品质。

关键词: 姜汁提取物; 鸭肉; 嫩化; 肌原纤维; SDS-PAGE 电泳; 微观组织结构

文章编号: 1673-9078(2016)12-241-246

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.12.037

Effects of Ginger Extract on Tenderness and Myofibrillar Ultrastructure of Duck Breast Muscle

ZHAO Li¹, CHEN Jun¹, LI Miao-yun², BAI Qing-yun¹, CHEN Hua-qiao¹, ZHANG Lu-yu¹, YI Yang-xue¹

(1. Department of Life Science and Food Technology, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an 223003, China)

(2. Institute of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The changes in the tenderness and myofibrillar ultrastructure of duck breast muscles upon marination in ginger extract (GE) were evaluated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Duck breast muscles were marinated for 48 h in GE at 4±1 °C. Samples from the control group and the GE-marinated group (5% GE : duck breast muscle = mL : g) were collected after 0, 6, 12, 24, 36, and 48 h of marination. Little difference was found in color between the control and GE-marinated samples after 48 h. However, between 0 and 24 h of marination, the pH, water-holding capacity, and the myofibrillar fragmentation index (MFI) of the GE-marinated samples increased from 5.92, 26.00%, and 76.38 to 5.98, 35.04%, and 97.45 ($p<0.05$), respectively. In contrast, myofibrillar protein solubility and shear force value decreased from 108.01 mg/mL and 32.71 N to 83.78 mg/mL and 23.75 N ($p<0.05$), respectively, in the same amount of time. No significant changes were observed in any of the parameters after 24 h ($p>0.05$). The SDS-PAGE results indicated that myosin and actin bands in the GE-marinated samples degraded rapidly after 24 h. Transmission electron microscopy (TEM) also revealed shortening of sarcomeres and breakdown and dissolution of Z-discs, in addition to the occurrence of myofibrillar fragmentation. Compared to the control samples, samples marinated for 24 h in 5% GE at 4±1 °C could significantly degrade myofibrils and enhance the tenderness of duck breast muscles, thereby improving its quality.

Key words: ginger extract; duck breast muscle; tenderness; myofibril; sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE); ultrastructure

收稿日期: 2016-02-01

基金项目: 十二五科技支撑项目 (2012BAD28B02); 淮安市应用研究与科技攻关 (工业) 计划项目 (HAG2014031); 江苏省大学生创新训练计划项目 (重点项目) (201411049018z)

作者简介: 赵立 (1977-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 农畜产品加工和利用

通讯作者: 陈军 (1975-), 男, 副教授, 研究方向: 水产品养殖、加工和利用

嫩度是评价肉的食用品质中最重要的指标之一,也是决定消费者购买度的最重要指标。利用外源酶(木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶和猕猴桃蛋白酶等)对肉类进行嫩化是普遍使用的方法^[1]。姜(*Zingiber officinale Roscoe*),作为一种常见的香辛料和调味品,是一种潜在的植物蛋白酶源。生姜蛋白酶是一种巯基蛋白酶,包含两个亚型(GP-I和GP-II),这两个亚型在氨基酸序列上有83%的相似度^[2]。有报道称生姜提取物(ginger extract, GE)显示了对肌原纤维蛋白的水解能力,增加了胶原蛋白溶解度,降低了肉的剪切力,对鸡肉和牛肉都有一定的嫩化作用^[3,4]。然而,日常生活中,生姜通常是作为一种调味品用于焙烤食品和香肠的加工,作为改善肉制品的品质上,如嫩化作用,还没有得到充分的认识,而相关文献报道也很少。国内对生姜嫩化肉品的研究,基本上集中在工艺上的研究,对其嫩化机理尚未有系统的报道。

在江苏地区,水禽业发展迅速,鸭的养殖是水禽业中重要的一部分。鸭肉具有高蛋白、低脂肪、高不饱和脂肪酸等营养特点,但因其肉质相对粗糙而不易被大众所接受,而对鸭肉的嫩化研究所能参考的文献也很少,Lin等^[5]研究发现,红酒可以通过水解肌肉蛋白,增加肌原纤维小片化程度而促进鸭肉的嫩化。Tsai等^[6]认为姜汁提取物可以有效的延长鸭肉的保鲜期,改善鸭肉的嫩度,减缓鸭肉的脂肪氧化速度。近年来,国内对生鲜鸭肉的嫩化研究所能参考的文献也有限,尤其是利用生姜提取物对鸭肉嫩化方面的研究。

尽管生姜易获得并具有多种功效,但由于缺乏充分的理论依据,在改善肉制品品质方面尚未在工业上广泛利用。对于植物提取物和外源酶的嫩化研究,大多数研究都是4℃腌制48h后来探讨腌制效果,而对于是否能在更短的时间即可达到改善品质的作用还少有报道。本研究是以鸭胸肉为原料,研究5%的姜汁提取物在4±1℃条件下对鸭肉的嫩度、肌肉全蛋白SDS-PAGE电泳以及肌纤维微观组织结构的影响。以期通过此研究为大众香辛料在肉制品加工方面的应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 原料

鸭胸肉:安徽强英集团有限公司提供,将鸭胸肉在4℃解冻24h,剔除可见脂肪和结缔组织,切成3cm×2.5cm×2.5cm的均匀块形。

姜汁提取物:当年产黄姜购买自淮安城南菜场,

洗净,去皮,切成2mm×2mm×1mm(长×宽×厚)的片状,用榨汁机进行压榨,之后于4层纱布进行过滤,滤液即为姜汁提取物(GE)。4℃下保存,24h内使用。

1.1.2 药品

牛血清蛋白、蛋白质mark, Takara生物公司; 亚甲基双丙烯酰胺、β-巯基乙醇、丙烯酰胺、SDS、甘氨酸、碘化钾、碘乙酸、氯化钾、磷酸二氢钾和磷酸氢二钾等, 国药集团化学试剂有限公司。

1.1.3 设备

ETS-2大容量高速匀浆机, 江苏金坛市亿通电子有限公司; PHS-3C型pH计, 上海仪电科学仪器股份有限公司; TA plus物性分析仪, 英国LLOAD公司; CR-10色差计, 日本柯卡尼公司; Avanti J-26 XP高速冷冻离心机, 美国贝克曼公司; DYCZ-23A电泳仪, 北京市六一仪器厂; 722-N可见分光光度计, 上海菁华科技仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计

将鸭胸肉用5%的姜汁提取物(姜汁体积mL:鸭肉总重g)进行腌渍处理,以蒸馏水处理作为对照组(CK),搅拌均匀,保证样品与姜汁充分接触,每个处理设3个重复,每个重复6袋(100g/袋)。置于4±1℃条件下分别腌渍0h、6h、12h、24h、36h和48h后取样进行各项指标的测定(pH、持水力、肌原纤维蛋白溶解度、色差、剪切力以及肌原纤维小片化指数),同时进行SDS-PAGE电泳和透射电镜分析。

1.2.2 测定方法

pH: 称取5g肉糜,加入25mL的蒸馏水,均质30s,然后采用pH电极计测量其pH值^[7]。

持水力(Water Holding Capacity, WHC): 10g肉糜加15mL、0.6mol/L的NaCl溶液,置于离心管中,旋涡振荡1min,放置在4℃下15min,再次振荡1min,置于高速冷冻离心机中4℃条件下5000r/min离心15min。测量上清液体积,结果以上清液体积占最初体积百分比表示^[7]。

肌原纤维的溶解度: 肌浆蛋白含量: 称取2g肉糜,用20mL冰冷的0.025M磷酸钾缓冲液(pH 7.2)提取,均质,4℃过夜,不断振荡,1500r/min离心20min,上清液蛋白含量用双缩脲法进行测定。总蛋白含量: 称取2g肉糜,用40mL冰冷的磷酸缓冲液(pH 7.2,内含1.1MKI),均质,4℃过夜,不断振荡,1500r/min离心20min,上清液蛋白含量用双缩脲法进行测定。肌原纤维蛋白含量为两者之差^[7]。

色差: 运用色差仪进行测定。测定L、a、b、c、h

五个值和dE值(L表示照度,也称亮度,表示样品从白到黑的水平;a值表示样品颜色从绿到红的范围,b值表示样品颜色从蓝到黄的范围;dE表示色空间的综合值,即总色差)。

肌原纤维小片化(MFI):肌原纤维悬液的制备采用Rawdkuen等^[8]的方法:4 g肉糜加入40 mL的分离介质(2 °C),用高速组织捣碎机匀浆,于5000 r/min离心15 min。将上清液慢慢倒出,沉淀中再倒入40 mL的分离介质,用玻璃棒搅匀,于5000 r/min离心15 min,缓慢倒出上清液。在沉淀中加入10 mL的分离介质制成悬液,通过20目的筛网过滤除去结缔组织和碎片,再加10 mL的分离介质冲洗筛网,制成肌原纤维悬液,蛋白质浓度的测定采用双缩脲法。MFI的测定:取肌原纤维悬液1 mL,用分离介质稀释至蛋白质浓度为 0.5 ± 0.05 mg/mL。稀释的肌原纤维悬液搅拌后倒入比色皿中,立即在540 nm处测吸光值。肌原纤维悬液小片化值以其测得的吸光值乘以200来记录。

剪切力:将姜汁腌制嫩化后的肉样于沸水浴中蒸煮30 min,取出,沥干水分,冷却,沿肌纤维方向切割成长 \times 宽 \times 高=20 mm \times 10 mm \times 10 mm的条型,取样后立即置于TA.PLUS物性分析仪上进行测定。采用复合剪切探头(FG/SBS)测试,探头移动速度30 mm/min,在样品中下行距离为20 mm,取最大应力值为剪切力(N)。

SDS-PAGE电泳^[6,9]:样液的提取:称取4 g肉样于10 mL样品提取液中(85 °C预热),用高速匀浆机以中速匀浆15 s,于高速冷冻离心机,在4 °C条件下10000 r/min离心5 min,取上清液备用。上清液和2 \times 样品缓冲液以1:1混合,沸水浴5 min,冷却至室温上样,上样量为20 μ g蛋白。初始电压为80 V,进入分离胶后电压加大至100 V。染色、脱色至背景清晰。

透射电镜^[10]:将鸭肉样品于2.5%戊二醛(25%戊二醛溶液与0.1 mol/L、pH 7.4 PBS按1:9体积比混合)中4 °C固定,送至南京农业大学生命科学院电镜室进行透射电子分析。

1.3 数据分析

采用SPSS 11.5 进行数据处理与分析。组内时间的数值比较分析采用单因素方差分析(ANOVA),Duncan 极差检验;对照组和姜汁处理组间数值比较分析采用独立样品T检验;不同时间组差异显著性用a、b和c表示,字母不同为差异显著($p<0.05$);对照组和姜汁处理组差异显著性用*表示,*为差异显著($p<0.05$),**为差异极显著($p<0.01$)。实验数据用平均数 \pm SD表示。

2 结果与讨论

2.1 pH 的变化

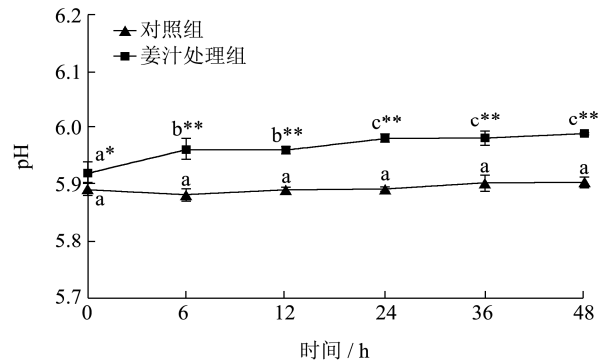


图1 姜汁提取物处理后鸭肉 pH 的变化

Fig.1 Changes in pH of duck breast muscle marinated in GE

由图1可见,随着腌制时间的增加,经姜汁处理的鸭肉 pH 增加,24 h 后姜汁处理组 pH 达到最高($p<0.05$),而24 h 到48 h 之间没有显著差别。而对照组样品 pH 在整个腌制过程都极显著低于姜汁处理组($p<0.01$),随着腌制时间的持续延长,pH 几乎没有变化。本实验说明姜汁处理可以增加肉的 pH 值,这是由于姜汁本身的高 pH (6.23) 和肌肉蛋白水解所致,此研究与 Tsai 等^[6]结果一致。

2.2 持水力的变化

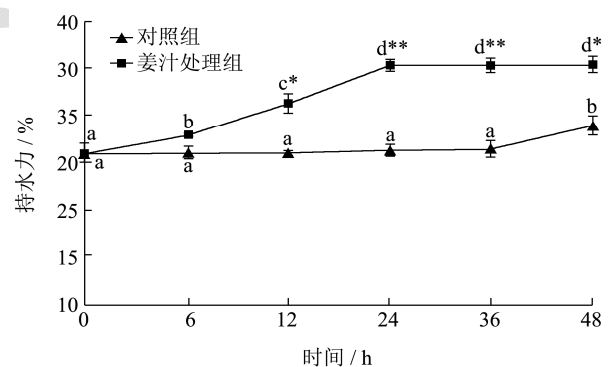


图2 姜汁提取物处理后鸭肉持水力的变化

Fig.2 Changes in water-holding capacity of duck breast muscle marinated in GE

由图2可见,随着腌制时间的增加,姜汁处理组鸭肉的持水力一直处于线性增加的趋势,在24 h 时达到了最大值,而在36 h 和48 h 时,持水力没有显著的增加($p>0.05$)。而对照组鸭肉样品在整个腌制过程中的36 h 之前持水力几乎没有发生变化,而在48 h 时显著增加($p<0.05$)。整个腌制过程,24 h 和36 h 时,姜汁处理组鸭肉的持水力都极显著高于对照组($p<0.01$)。肉的食用品质中,持水力是一个非常重要

的指标，它在很大程度上决定了肉的嫩度。持水力的下降通常是由于肌纤维的收缩和水分从肌丝内部转移到细胞外的原因。而肌纤维的收缩和肌原纤维的膨胀主要由三个原因：死后僵直、pH 下降和蛋白质小片化程度。本实验中，鸭肉样品是经过死后僵直过程，因此，持水力的增加是由于 pH 的增加和蛋白质小片化程度的增高。pH 值的增加会使肌内蛋白分子表面带有更多的净负电荷，从而使肌肉蛋白分子结合更多的水分子。肌丝（肌原纤维蛋白）间的静电斥力会使肌原纤维膨胀，也会使肌丝发生部分溶解，这都会导致持水力的增加^[11]。

2.3 肌原纤维蛋白溶解度的变化

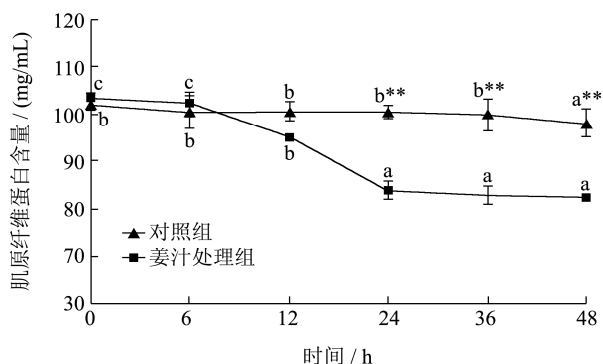


图3 姜汁提取物处理后鸭肉肌原纤维蛋白溶解度的变化

Fig.3 Changes in myofibrillar protein solubility of duck breast muscle marinated in GE

图3显示姜汁处理的鸭肉肌原纤维蛋白溶解度变化情况。由图可见，随着腌制时间的延长，姜汁处理组鸭肉的肌原纤维蛋白含量显著下降 ($p < 0.05$)，由0 h 的 108.01 mg/mL 下降到 12 h 的 95.26 mg/mL，24 h 时达到了 83.78 mg/mL，随后不再有显著下降。而对照组鸭肉仅在腌制 48 h 时显著下降，由 0 h 的 101.12 mg/mL 下降到 48 h 的 97.91 mg/mL ($p < 0.05$)。在整个腌制过程中，24 h 后，姜汁处理组肌原纤维蛋白含量都极显著低于对照组 ($p < 0.01$)。Dikeman^[12]指出肉类嫩度与肌原纤维蛋白含量之间呈负相关。Shin^[8]研究发现添加外源蛋白酶可以显著降低牛肉的肌原纤维蛋白含量。本实验中，肌浆蛋白含量呈现增加的趋势（数据未列出），说明水溶性蛋白质含量增加，肌原纤维蛋白碎片化程度增加，即 MFI 数据增加，与图 4 结果一致。

2.4 MFI 的变化

肌原纤维小片化指数 (MFI) 是指肌原纤维碎片程度，是肉类嫩化的标志。图 4 显示，姜汁处理后的鸭肉在 12 h 后 MFI 显著极高于对照组 ($p < 0.01$)，肌

原纤维小片化程度明显增加，24 h 时达到了最大值 (97.45)。后期透射电镜也显示姜汁处理组鸭肉在肌原纤维 Z 线附近发生了大量的断裂现象。肌肉细胞内和胞质内的内源酶，包括钙蛋白酶和组织蛋白酶，能促使肌肉发生嫩化。而钙蛋白酶是主要促使肌原纤维蛋白发生水解的内源酶，它是肉在贮藏过程中发生嫩化的潜在机制。而对照组在 48 h 左右 MFI 值 (84.45) 与 0 h (76.33) 有了显著的增加 ($p < 0.05$)，这主要是由于肌肉内源酶的作用。此研究与 Shin^[8]结果一致。

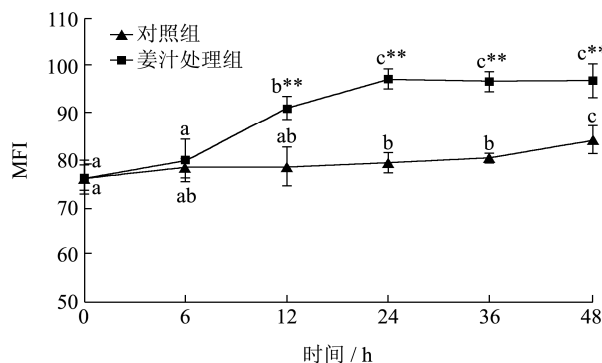


图4 姜汁提取物处理后鸭肉 MFI 的变化

Fig.4 Changes in MFI of duck breast muscle marinated in GE

2.5 色差的变化

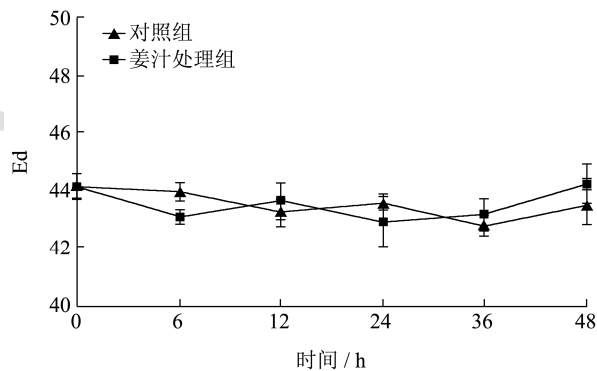


图5 姜汁提取物处理后鸭肉色差的变化

Fig.5 Changes in dE of duck breast muscle marinated in GE

色差值 (dE) 用来表示两种颜色的差异。本实验利用 CIELAB 色差分析系统对不同处理的鸭肉与标准白板进行色差比较，探究姜汁处理过程中鸭肉色泽的变化情况 (图 5)。从图 5 可见，姜汁处理和对照组的鸭肉在腌制过程中都只有轻微的颜色变深，姜汁处理组样品与对照组相比并未出现显著影响 ($p > 0.05$)，这可能是由于姜汁处理鸭肉时利用量较少，腌制时间短，同时姜汁本身色泽也相对较浅的原因，此结果与 Shin^[8]结论一致。

2.6 剪切力的变化

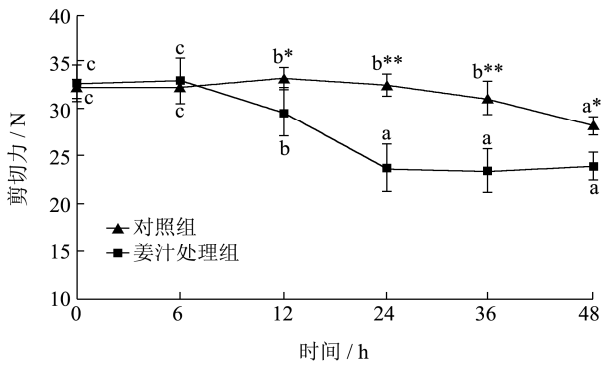


图6 姜汁提取物处理后鸭肉剪切力的变化

Fig.6 Changes in shear force of duck breast muscle marinated in GE

由图6可见,姜汁处理组的鸭肉剪切力值在腌制12 h后显著低于0 h的样品 ($p < 0.05$), 24 h时达到了最低值 (23.75 N)。随着腌制时间的延长,从12 h开始姜汁处理组鸭肉剪切力值显著低于对照组 ($p < 0.05$), 在24 h和48 h时与对照组相比差异极显著 ($p < 0.01$), 此结果与图2持水力的变化一致。本实验中,姜汁处理的鸭肉嫩度的增加是由于姜汁中蛋白酶和肌肉内源酶作用导致肌肉pH值和持水力的增加,致使蛋白质的功能性发生了改变。据文献记载,姜汁处理的鸡肉^[3]和牦牛肉^[4,13]剪切力也显著降低,进而改善了肉的嫩度。而对照组在经过48 h后发生了嫩度的增加,是由鸭肉内源酶的嫩化作用。

2.7 SDS-PAGE 电泳

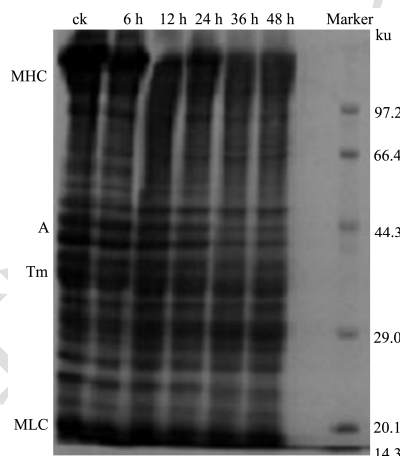


图7 姜汁提取物处理后鸭肉的 SDS-PAGE 全蛋白电泳图谱

Fig.7 Protein profiles of duck breast muscle marinated in GE obtained by SDS-PAGE

注:肌球蛋白重链(MHC)200 ku,肌球蛋白轻链(MLC)17~20 ku,原肌球蛋白(Tm)35 ku,肌动蛋白(A)43 ku。

本实验分别对姜汁处理组(6 h、12 h、24 h、36 h和48 h)和对照组0 h的鸭肉样品进行全蛋白电泳分析。从图7的电泳图谱可见,相对于对照组,姜汁处

理组的鸭肉蛋白条带明显减少,尤其大分子条带浓度明显降低,而低分子条带浓度明显增加,说明大分子蛋白被水解成小分子多肽或氨基酸。肌球蛋白占肌原纤维总蛋白的45%左右,是肌肉中最重要的一种结构蛋白,肌球蛋白重链的降解与肉的嫩化呈显著的正相关。24 h腌制后,肌动蛋白(43 ku)、原肌球蛋白(35 ku)条带颜色明显变浅,肌球蛋白重链(200 ku)和轻链(17~20 ku)也同时发生了降解,说明主要由肌球蛋白和肌动蛋白构成的肌原纤维蛋白发生了明显的降解。Rawdkuen等^[9]认为植物巯基蛋白酶能降解肌肉中的肌球蛋白和肌动蛋白,进而在肉的嫩化和肉保水性的提高方面起着重要作用。而生姜提取液中的生姜蛋白酶即为巯基蛋白酶,因此,生姜具有较强的蛋白水解能力,能够有效促使鸭肉的嫩化。

2.8 鸭肉微观组织学变化

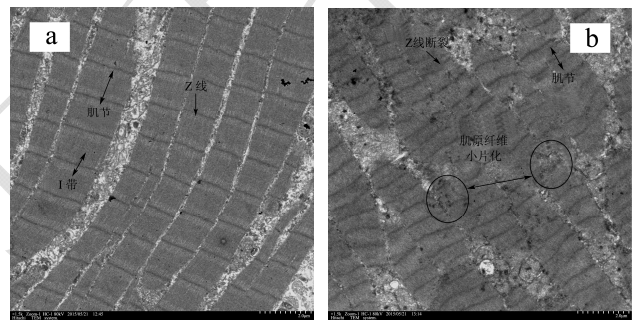


图8 姜汁提取物处理后鸭肉肌原纤维的透射电镜图(×1500)

Fig.8 Myofibrillar ultrastructure of duck breast muscle marinated in GE under TEM (×1500)

注:a为对照组;b为姜汁处理组。

基于上述的实验结果,很明显鸭肉经过5%的姜汁腌制24 h后就有了显著的嫩度的提高和品质的改善,因此,透射电镜分析选择了对照组0 h(图8a)和姜汁处理组腌制24 h(图8b)的样品进行。由图8可见,对照组(图8a)肉样肌原纤维的肌节完整,Z线平滑,I带清晰可见,姜汁处理组(图8b)鸭肉肌原纤维Z线断裂弥散,肌节松弛缩短,I带消失,肌原纤维结构被破坏。由图8b还可发现肌原纤维小片化现象。Ha等^[14]研究发现木瓜蛋白酶、生姜蛋白酶、中华猕猴桃蛋白酶和菠萝蛋白酶4种植物水解蛋白酶都能有效地水解牛肉中的肌原纤维和胶原蛋白。因此,姜汁提取物可以通过使肌原纤维的降解来嫩化鸭肉。

3 结论

本研究表明,在48 h的腌制过程中,对照组和姜汁处理组样品的色差值并未出现明显的变化 ($p > 0.05$);在0~24 h腌制时间内,姜汁处理组样品

的 pH 值、持水力和 MFI 呈现显著增加的趋势 ($p < 0.05$); 而肌原纤维蛋白溶解度和剪切力值显著下降 ($p < 0.05$); 而在 24-48 h 内, 各指标几乎未有显著改变 ($p > 0.05$)。相对于对照组样品的 48 h 出现嫩化效果, 姜汁处理组的样品在 24 h 的腌制时间可极显著的改善鸭肉的嫩度和品质 ($p < 0.01$)。SDS-PAGE 电泳显示, 24 h 姜汁提取物腌制后, 构成肌原纤维的主要成分的肌球蛋白和肌动蛋白条带都有发生了明显的降解, 条带变浅。而透射电镜表明, 姜汁提取物腌制 24 h 的鸭肉肌纤维肌节明显变短, Z 线断裂溶解, 出现了肌原纤维小片化现象。5% 的生姜提取物对鸭肉进行腌制处理 24 h, 即可使肌原纤维发生降解, 从而改善鸭肉的品质, 而尚未有明显的生姜气味。生姜作为一种大众香辛料, 被广泛用于肉制品, 本研究表明生姜提取物不仅对鸭肉有调味、去腥等作用, 还可以嫩化鸭肉, 改善鸭肉食用品质。此研究为生姜在肉制品上的应用提供了理论依据。

参考文献

- [1] Bekhit A A, Carne A, Ha M, et al. Physical interventions to manipulate texture and tenderness of fresh meat: A review [J]. International Journal of Food Properties, 2014, 237(17): 433-453
- [2] Rungsaeng P, Sangvanich P, Karnchanat A. Zingipain, a ginger protease with acetylcholinesterase inhibitory activity [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2013, 170(4): 934-950
- [3] Naveena B M, Mendiratta S K. Tenderisation of spent hen meat using ginger extract [J]. British Poultry Science, 2001, 42(3), 344-349
- [4] Naveena B, Mendiratta S K, Anjaneyulu A S R. Tenderisation of buffalo meat using plant proteases from *Cucumis trigonus* Boxb (*Kachri*) and *Zingiber officinale roscoe* (*Ginger rhizome*) [J]. Meat Science, 2004, 68(68): 363-369
- [5] Lin Y C, Chen W T, Chou R G R. Postmortem changes in mule duck muscle marinated with red wine [J]. Journal of the Food Science, 2000, 65(5): 906-908
- [6] Tsai L, Yen N, Chou R R. Changes in muscovy duck breast muscle marinated with ginger extract [J]. Food Chemistry, 2012, 130(2): 316-320
- [7] Naveena B M, Ramakrishna C, Vaithyanathan S, et al. Effect of ammonium hydroxide on ultrastructure and tenderness of buffalo meat [J]. Meat Science, 2011, 88(4): 727-732
- [8] Shin H G, Choi Y M, Kim H K, et al. Tenderization and fragmentation of myofibrillar proteins in bovine *longissimus dorsi* muscle using proteolytic extract from *Sarcodon aspratus* [J]. LWT, 2008, 41(8): 1389-1395
- [9] Rawdkuen S, Jaimakreu M, Benjakul S. Physicochemical properties and tenderness of meat samples using proteolytic extract from *Calotropis procera latex* [J]. Food Chemistry, 2013, 136(2): 909-916
- [10] 臧大存. 鸭肉嫩度影响因素及变化机制的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007
- [11] ZANG Da-cun. Studied on the mechanism and factors of tenderness variation in duck meat [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2007
- [12] Ahmad R, Hasnain A. Ultrasonication of chicken natural actomyosin: Effect on ATPase activity, turbidity and SDS-PAGE profiles at different protein concentrations [J]. American Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2013, 1: 1-8
- [13] Dikeman M E, Tuma H J, Beecher G R. Bovine muscle tenderness as related to protein solubility [J]. Journal of Food Science, 1971, 36(2): 190-193
- [14] Sullivan G A, Calkins C R. Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low-connective tissue [J]. Meat Science, 2010, 85(4): 730-734
- [15] Ha M, Bekhit A E D A, Carne A, et al. Characterisation of commercial papain, bromelain, actinidin and zingibain protease preparations and their activities toward meat proteins [J]. Food Chemistry, 2012, 134(1): 95-10