

线粒体介导高铁肌红蛋白还原活性与肉色变化 关联性研究进展

郜娜, 葛玲, 薛洋洋, 韩青莉, 马飞*
(合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230009)

摘要: 高铁肌红蛋白还原活性 (metmyoglobin-reducing activity, MRA) 是肉色保持鲜红与稳定的主要因素, 其影响途径与作用机制备受业内人员关注。线粒体是影响MRA的关键细胞器, 与MRA的关系十分密切, 已成为肉类研究的热点方向。本文重点总结线粒体介导高铁肌红蛋白还原的影响路径与关键因素, 阐述肉色变化与线粒体结构和功能特征的关联性, 为后期开展肉色研究提供参考。

关键词: 肉色; 高铁肌红蛋白; 还原; 线粒体; 影响因素

Progress in Understanding the Relationship between Mitochondria-Mediated Metmyoglobin Reduction and Changes in Meat Color

GAO Na, GE Ling, XUE Yangyang, HAN Qingli, MA Fei*
(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: Metmyoglobin-reducing activity (MRA) is considered as a major factor that influences the brightness and stability of meat color. The underlying pathways and mechanism have attracted much attention from meat researchers. Mitochondria is a key organelle for MRA, and the close relationship between them has become a hot direction of meat research. In this paper, we summarize the key factors affecting mitochondria-mediated metmyoglobin reduction and the underlying pathways and elucidate the relationship between meat color changes and the structure and function of mitochondria, which will provide some useful information for further research of meat color.

Keywords: meat color; metmyoglobin; reduction; mitochondria; factors

DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20210309-056

中图分类号: TS251.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-8123 (2021) 03-0060-06

引文格式:

郜娜, 葛玲, 薛洋洋, 等. 线粒体介导高铁肌红蛋白还原活性与肉色变化关联性研究进展[J]. 肉类研究, 2021, 35(3): 60-65. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20210309-056. <http://www.rlyj.net.cn>

GAO Na, GE Ling, XUE Yangyang, et al. Progress in understanding the relationship between mitochondria-mediated metmyoglobin reduction and changes in meat color[J]. Meat Research, 2021, 35(3): 60-65. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20210309-056. <http://www.rlyj.net.cn>

色泽是衡量肉类品质与新鲜度的第一感官指标, 直接影响消费者的购买力与购买决定。长期以来, 肉类变色已造成巨大经济损失, 仅美国年均损失就高达数十亿美元^[1]。如何提升肉色稳定性, 依然是肉类研究人员面临的重点与难点问题。现阶段, 分析总结肉色变化机制的

研究成果十分必要, 可为进一步探究肉色稳定性方法提供参考。

线粒体在畜禽宰后仍维持较高活性, 显著影响肌内氧分压、电子链传递、高铁肌红蛋白 (metmyoglobin, MetMb) 还原酶活性等生理生化功能, 是调控MetMb

收稿日期: 2021-03-09

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31801611);

安徽省重点研究与开发计划项目 (202004a06020010); 大学生创新训练项目 (S202010359353)

第一作者简介: 郜娜 (1995—) (ORCID: 0000-0002-2439-4484), 女, 硕士研究生, 研究方向为肉色调控及机制。

E-mail: 1907844656@qq.com

*通信作者简介: 马飞 (1984—) (ORCID: 0000-0002-7313-1787), 男, 副教授, 博士, 研究方向为肉品加工与质量安全。

E-mail: mafei_2015@hfut.edu.cn



还原活性 (MetMb-reducing activity, MRA) 的重要细胞器^[2-4]。MRA是肉色保持鲜红与稳定的主要因素^[5-7], 已成为肉色研究焦点。本文重点阐述线粒体介导MetMb还原的影响路径与关键因素, 并阐述各要素与肉色变化的关联性。

1 MetMb还原与肉色变化的关联性

MetMb是肌红蛋白的一种存在形式, 在特定条件下可转化为脱氧肌红蛋白和氧合肌红蛋白, 直接影响肉色特征与稳定性^[8]。肌红蛋白是一种球状血红素蛋白, 主要由珠蛋白与血红素组成^[9]。血红素中的铁原子状态和配体类型决定了肌红蛋白的存在形式^[10-11], 赋予不同的肉色特征。通常情况下, 当血红素中心的铁原子为二价 (Fe^{2+}) 形式时, 若第6个配位键不与配体结合则为脱氧肌红蛋白, 肉呈现暗红色^[12]; 若该配位键与氧结合则为氧合肌红蛋白, 肉呈现出樱桃红色^[12-13], 为消费者喜好色泽。然而, 血红素中心的二价铁 (Fe^{2+}) 极不稳定, 易形成稳态的三价铁 (Fe^{3+}), 转变成MetMb, 肉呈现出褐红色^[14], 为非喜好色泽。

MetMb在一定条件下可转化为脱氧肌红蛋白, 此能力称为MRA^[2]。在肉类研究中, 控制MRA的方式或途径十分关键, 直接影响肉色特征与稳定性, 且MRA越高, 肉色越稳定^[15]。截至目前, 影响MetMb还原的途径主要有2种: 1) 酶促、非酶促和电子链传递, 三者可独立或选择性联合发生作用^[16-17]; 2) 肌肉竞争性或非竞争性耗氧^[18], 受肌肉种类、贮藏加工条件等影响较为显著。研究发现, 线粒体是影响MetMb还原的关键细胞器^[8,19], 其作用路径与调控机制已逐渐成为肉色研究的重点与难点课题。

2 线粒体介导MRA与肉色变化的关联性

线粒体是参与能量代谢的重要细胞器, 在畜禽宰后仍具有生化活性, 且能维持较长时间, 已成为肉色研究的重要切入点^[20-21]。研究表明, 线粒体不仅影响肌红蛋白储氧与氧转运输功能^[22-23], 还与肌红蛋白氧化还原状态密切相关, 参与MetMb还原, 在肉色变化中具有重要作用, 其作用路径主要有耗氧、酶促和电子链传递3种^[3,24]。

2.1 线粒体介导MRA之耗氧路径

线粒体是肌细胞有氧呼吸的主要场所, 可持续调节肌肉内氧分压, 导致MRA呈动态变化。研究发现, 线粒体耗氧速率越快, 肌肉内氧分压越低, 促进氧合肌红蛋白转化为脱氧肌红蛋白, 随即转化为MetMb^[17]。若线粒体含量较高, 耗氧量增加, 导致肌肉内快速形成无氧环境, 进而促进MetMb还原, 提高了肉色稳定性^[25]。尽管线粒体

耗氧速率与MRA密切相关, 但它与肌肉内MetMb相对含量并非呈现线性关系^[17,21], 二者之间的互作模型报道较少, 可列为肉色机制性研究的重要方向。有研究表明, 线粒体与肌红蛋白存在耗氧竞争关系, 且线粒体耗氧竞争力显著高于肌红蛋白, 并认为这种竞争关系是影响樱桃红肉色的关键因素^[26]。对于牛肉样品, 肌肉内线粒体含量和耗氧率均对肉色稳定性产生较大影响, 其影响程度取决于肌肉类型; 一般情况下, 肉色不稳定型牛肉的线粒体含量和耗氧率相对高于肉色稳定型牛肉^[3]。Mancini^[3]、Raines^[27]等认为, 随着贮藏时间的延长, 肌肉内储氧量快速消耗, 显著降低线粒体对MetMb的还原能力, 导致肉色稳定性降低。

2.2 线粒体介导MRA之酶促路径

MetMb还原酶也被称为细胞色素b₅还原酶或烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) 依赖型MetMb还原酶, 是还原MetMb的一类酶的总称。该酶系统由NADH-细胞色素b₅还原酶、细胞色素b₅和线粒体外膜细胞色素b构成^[28], 分别存在于线粒体内、微粒体内和线粒体外膜^[29]。可见, 线粒体具有完整的MetMb还原酶系统, 可作为独立细胞器介导MetMb还原。值得注意的是, Hagler等^[30]从牛心中分离出高纯度NADH依赖型MetMb还原酶, 该酶被白凤霞等^[31]认为是还原MetMb的关键酶, 主要利用NADH-细胞色素b₅ MetMb还原酶将2个电子从NADH (辅助因子) 传递到细胞色素b₅ (中间体), 还原的中间体随即将电子传递至MetMb, 引发MetMb还原。

线粒体介导下的MetMb还原酶对肉色变化的影响十分复杂, 作用途径与机制仍未明晰, 目前的研究报道主要分为2种: 1) MetMb还原酶与肉色无直接关系, 依据是鲜羊肉和牛肉在贮藏期间有较高的MetMb还原酶活性, 而色泽却相对稳定^[32-33]; 2) MetMb还原酶是影响肉色稳定性的重要因素, 依据是牛肉中MetMb还原酶活性与红度值 (a^*) 有一定的正相关性 ($r=0.322$), 且与MetMb相对含量呈显著的负相关性 ($r=-0.877$)^[34]。Ledward^[35]认为, MetMb还原酶抑制MetMb相对含量的增加是调控肉色稳定性的主要原因。研究发现, 牛背最长肌 (肉色稳定型) 中的MetMb还原酶活力显著高于牛腰大肌 (肉色不稳定型), 也间接表明MetMb还原酶与肉色稳定性之间存在一定的关联性, 且受酶活力影响^[36]。由此可知, MetMb还原酶对肉色变化的影响不仅取决于酶活力, 还与肌肉部位、贮藏条件、加工方式等因素相关联, 因素互作及机制将是未来研究的重点。

2.3 线粒体介导的MRA电子链传递路径

电子链传递是线粒体介导MetMb还原的重要途径, 所涉组分主要包括黄素蛋白、铁硫蛋白、细胞色素和泛醌, 并在线粒体膜表面形成NADH-Q还原酶 (I)、



琥珀酸-Q还原酶(II)、细胞色素还原酶(III)与细胞色素氧化酶(IV) 4个复合体^[37]。

研究发现,厌氧条件下添加 NAD^+ 显著增加碎牛肉中的NADH含量、显著降低MetMb含量,当添加电子传递复合物I抑制剂(鱼藤酮)后, MetMb生成受到抑制,致使MetMb相对含量显著降低,认为厌氧条件下MetMb相对含量的降低是由于NADH将线粒体中的电子转移至氧分子(O_2)^[38]。线粒体电子对MetMb可产生直接影响的研究也被报道, Tang Jiali等^[24]研究发现,线粒体和琥珀酸同时存在时可导致MetMb相对含量显著降低,独立存在时未观察到MetMb含量变化;添加鱼藤酮(复合物I抑制剂)提高MetMb的减少量;添加丙二酸(复合物II抑制剂)降低MetMb的减少量,且该减少量均因抗霉素A(复合物III抑制剂)的添加而消失,并由此认为线粒体电子对MetMb可产生直接作用,且电子作用位点在细胞色素还原酶(复合物III)和细胞色素氧化酶(复合物IV)之间,具体作用途径为:琥珀酸盐→复合体II→辅酶Q→复合体III→细胞色素C→外膜细胞色素 b_5 →MetMb。此外,针对线粒体电子介导MetMb还原机理, Gao Xiaoguang等^[15]开展了琥珀酸盐与NADH的比较研究,当线粒体与底物、抑制剂共同孵育3 h后,添加8 mol/L琥珀酸酯可使MetMb相对含量降低约69%,添加2 mol/L NADH可导致MetMb相对含量降低约56%,也认为琥珀酸-Q还原酶(复合物II)和NADH-Q还原酶(复合物I)经不同途径参与了电子链传递,直接影响MetMb的还原,且琥珀酸酯-MetMb还原系统较NADH-MetMb还原系统更加稳定。综上所述,电子链传递介导MRA主要归于2个途径:1)厌氧条件下,电子首先传递给氧分子(O_2),随后还原MetMb;2)电子经细胞色素C传递,直接作用于MetMb还原。2种途径主要由体外实验获取,体内传递机制尚不明晰。

3 影响线粒体介导MRA的加工贮藏因子

通常情况下,造成线粒体结构与功能变化的内外因子均可影响线粒体介导MRA,导致肉色变化^[24]。影响线粒体结构与功能的内外因子主要有肌肉特异性、贮藏条件、活性氧(reactive oxygen species, ROS)、脂质氧化等^[32]。

3.1 肌肉特异性

线粒体含量与退化率差异性造成肌肉特异性的主要原因之一,二者共同影响肉色特征^[27,39-40]。以腰大肌和腰最长肌为例,尽管腰大肌中线粒体含量为腰最长肌的1.2~2.5倍,但腰最长肌色泽稳定性却显著高于腰大肌^[41]。类似现象在聚氯乙烯包装样品中也被发现,虽然腰大肌在零售展示0~7 d内的线粒体耗氧量和MRA均高于腰最长肌,而色泽稳定性却呈相反趋势^[42]。此类现象

表明,线粒体含量不是决定肉色稳定性的唯一因素。然而,线粒体退化率对肉色稳定性的影响却与线粒体含量无关,因为腰大肌和腰最长肌在零售展示7 d后的线粒体含量分别降低68%和28%,而腰大肌中的细胞色素c增加量却明显高于腰最长肌,表明腰大肌线粒体退化率高于腰最长肌^[41],具体机制有待进一步研究。对牛半膜肌外部和内部肌肉而言,肌肉特异性对肉色稳定性的影响依然存在,且认为线粒体功能性差异是造成半膜肌内部和外部色泽不稳定的主要原因^[43]。Nair等^[44]研究发现,牛半膜肌内部在零售初期呈现出较低的线粒体耗氧和较高的 a^* ,而在零售展示7 d后则呈现出显著较高的 a^* ($P<0.05$),并呈现出更高的线粒体耗氧和色泽稳定性。因此,线粒体含量与退化率是决定肌肉特异性的主要因素,也是考察肉色变化及机制的关键研究指标。

3.2 贮藏时间

畜禽宰后线粒体仍维持较高的生理生化活性,其结构会发生贮藏损伤,耗氧能力明显降低^[45-47]。研究发现,骨骼肌细胞线粒体在宰后0.5~2.0 h具有完整结构,96 h后可观察到清晰的内、外膜结构,120、144 h后开始出现少量肿胀^[48],直至21 d后完整结构基本消失^[24]。研究表明,宰后线粒体的贮藏结构损伤会显著影响线粒体的耗氧能力^[49],且贮藏时间越长,耗氧能力越低^[24]。类似现象也发生在牛肉的冷鲜贮藏(4℃、0~21 d)过程中^[50]。Mancini等^[20]认为,尽管贮藏受损的线粒体结构对肉色 a^* 有提升作用,但却减少了线粒体介导的MetMb还原,致使肉色稳定性显著降低。可见,调控线粒体的贮藏损伤、保持线粒体结构的完整性,对提升肉色的贮藏稳定性具有现实意义。

3.3 脂质氧化

脂质氧化产生的醛、酮、环氧化物、自由基等产物对贮藏期肌红蛋白氧化速率、线粒体活性等有显著影响,是造成肉色及其稳定性变化的重要原因^[51-53]。据现有报道,脂质氧化对肌红蛋白的影响主要有2种途径:1)氧化产物直接作用于肌红蛋白,促进肌红蛋白氧化成MetMb;2)富含不饱和脂肪酸(约50%)的线粒体膜磷脂双分子层极易受到自由基攻击而发生脂质氧化,导致线粒体膜发生结构性损伤^[54],降低线粒体介导的MRA,进而改变肉色。Hutchins等^[55]研究发现,脂质氧化对MetMb的还原有抑制作用,并呈现出显著的负相关关系,但作用机理尚不明确。相关研究表明,脂质氧化产物对线粒体介导MRA的影响,主要是通过钝化线粒体中的NADH-Q还原酶(复合物I)、琥珀酸-Q还原酶(复合物II)和酮戊二酸脱氢酶,或攻击线粒体膜分子层,造成电子呼吸链功能紊乱^[56-58]。

4-羟基壬烯醛(4-hydroxynonenal, HNE)是一种最具代表性的脂质氧化产物^[55],不仅显著影响线粒体

的生理功能,还会改变线粒体介导的MRA^[59-60]。Chen Cheng等^[61]研究发现,HNE加速牛肉最长肌氧合肌红蛋白的氧化,导致线粒体膜的通透性显著增加,进而抑制电子传递链介导的MRA。在不同pH值条件下,HNE对线粒体结构的影响会产生较大差异:当pH值为7.4时,HNE可促使线粒体发生肿胀,膜通透性增加;而当pH值为5.6时,HNE作用下的线粒体体积和通透性均呈现降低趋势^[62]。此外,与对照组相比,HNE不仅可以降低MetMb还原酶的活性,还会与乳酸脱氢酶发生共价结合,以阻止乳酸脱氢酶再生NADH,降低由NADH引发的MetMb还原^[63]。总的来说,HNE对线粒体的结构与功能都会产生较大的破坏作用,并在一定程度上降低MetMb还原酶的活性,但具体机制有待探究。

3.4 ROS

ROS是一种源于线粒体电子传递链NADH-Q还原酶(复合物I)和细胞色素还原酶(复合物III)的高活性分子,能够从结构上改变线粒体的功能^[56]。当线粒体电子链局部ROS浓度偏高时,电子传递复合物极易受ROS攻击而造成氧化损伤^[64-65],进而抑制线粒体的电子链传递,并引发电子泄漏,加剧ROS生成,造成恶性循环^[37]。Musatov等^[66]认为,ROS是电子传递复合物的有效抑制剂。ROS积累至一定浓度时,将会引发线粒体膜电位发生改变,这不仅会影响线粒体的氧化通道,还会导致线粒体中的细胞色素c释放进入细胞质,加速各种细胞类型的凋亡^[67]。有研究表明,高浓度ROS会促使机体细胞或线粒体组织发生氧化应激,降低细胞中的内源酶(超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶)活性或促进线粒体中细胞色素c的释放,造成细胞或线粒体结构发生不可逆损伤,甚至死亡^[66]。

4 结 语

线粒体是还原MetMb的关键细胞器,主要通过耗氧、酶促与电子链传递3种路径调控MRA,与肉色之间存在极大的关联性,已成为肉色研究的重点与难点课题。肉类加工与贮藏因子(贮藏条件、肌肉特异性、ROS、脂质氧化等)可改变线粒体的结构与功能,进而显著影响线粒体介导的MetMb还原。然而,针对线粒体介导的MetMb还原的机制性研究主要集中在体外模拟,系统性研究仍不完善,有待深入探究。基于蛋白组学、代谢组学、光谱原位检测技术等新方法,开展线粒体功能特性与肉色变化的关系研究,将成为未来肉色研究的新热点。

参考文献:

[1] SUMAN S P, HUNT M C, NAIR M N, et al. Improving beef color stability: practical strategies and underlying mechanisms[J]. Meat Science, 2014, 98(3): 490-504. DOI:10.1016/j.meatsci.2014.06.032.

[2] RAMANATHAN R, NAIR M N, HUNT M C, et al. Mitochondrial functionality and beef colour: a review of recent research[J]. South African Journal of Animal Science, 2019, 49(1): 9-19. DOI:10.4314/sajas.v49i1.2.

[3] MANCINI R A, BELSKIE K, SUMAN S P, et al. Muscle-specific mitochondrial functionality and its influence on fresh beef color stability[J]. Journal of Food Science, 2018, 83(8): 2077-2082. DOI:10.1111/1750-3841.14219.

[4] KIYIMBA F, HARTSON S D, ROGERS J, et al. Changes in glycolytic and mitochondrial protein profiles regulates postmortem muscle acidification and oxygen consumption in dark-cutting beef[J]. Journal of Proteomics, 2020, 232: 104016. DOI:10.1016/j.jprot.2020.104016.

[5] PUROHIT A, SINGH R K, KERR W L, et al. Influence of redox reactive iron, lactate, and succinate on the myoglobin redox stability and mitochondrial respiration[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(52): 12570-12575. DOI:10.1021/jf5037596.

[6] KIM Y H, KEETON J T, SMITH S B, et al. Role of lactate dehydrogenase in metmyoglobin reduction and color stability of different bovine muscles[J]. Meat Science, 2009, 83(3): 376-382. DOI:10.1016/j.meatsci.2009.06.009.

[7] LI Xin, ZHANG Dequan, IJAZ M, et al. Colour characteristics of beef *Longissimus thoracis* during early 72 h postmortem[J]. Meat Science, 2020, 170: 108245. DOI:10.1016/j.meatsci.2020.108245.

[8] TANG J, FAUSTMAN C, MANCINI R A, et al. Mitochondrial reduction of metmyoglobin: dependence on the electron transport chain[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(13): 5449-5455. DOI:10.1021/jf050092h.

[9] LIVINGSTON D J, BROWN W D. The chemistry of myoglobin and its reactions: meat pigments, food quality indices[J]. Food Technology, 1981, 35(5): 238-252.

[10] SUMAN S P, JOSEPH P. Myoglobin chemistry and meat color[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2013, 4(1): 79-99. DOI:10.1146/annurev-food-030212-182623.

[11] GRIMM B. Regulatory mechanisms of eukaryotic tetrapyrrole biosynthesis[M]// The porphyrin handbook. Salt Lake City: Academic Press, 2003: 1-32. DOI:10.1016/B978-0-08-092386-4.50007-1.

[12] MANCINI R A, HUNT M C. Current research in meat color[J]. Meat Science, 2005, 71(1): 100-121. DOI:10.1016/j.meatsci.2005.03.003.

[13] 朱彤, 王宇, 杨君娜, 等. 肉色研究的概况及最新进展[J]. 肉类研究, 2008, 22(2): 11-18. DOI:10.3969/j.issn.1001-8123.2008.02.005.

[14] 陈骋. 脂质氧化和抗氧化因子对牦牛肉肌红蛋白稳定性及高铁肌红蛋白还原能力的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016: 2.

[15] GAO Xiaoguang, WANG Zenyu, TANG Mengtian, et al. Comparison of the effects of succinate and NADH on postmortem metmyoglobin reductase activity and beef colour stability[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2014, 13(8): 1817-1826. DOI:10.1016/S2095-3119(14)60754-1.

[16] BELSKIE K M, BUITEN C, RAMANATHAN R, et al. Reverse electron transport effects on NADH formation and metmyoglobin reduction[J]. Meat Science, 2015, 105: 89-92. DOI:10.1016/j.meatsci.2015.02.012.

[17] GAO Xiaoguang, LI Xie, WANG Zenyu, et al. Effect of postmortem time on the metmyoglobin reductase activity, oxygen consumption, and colour stability of different lamb muscles[J]. European Food Research and Technology, 2013, 236(4): 579-587. DOI:10.1007/s00217-012-1903-8.

[18] WU Shuang, LUO Xin, YANG Xiaoying, et al. Understanding the development of color and color stability of dark cutting beef based on mitochondrial proteomics[J]. Meat Science, 2020, 163: 108046. DOI:10.1016/j.meatsci.2020.108046.

- [19] 罗培, 赵伟杰, 王丽娜, 等. 肌红蛋白和线粒体互作研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(5): 6-11. DOI:10.19556/j.0258-7033.20190929-04.
- [20] MANCINI R A, RAMANATHAN R. Effects of postmortem storage time on color and mitochondria in beef[J]. Meat Science, 2014, 98(1): 65-70. DOI:10.1016/j.meatsci.2014.04.007.
- [21] MCKEITH R O, KING D A, GRAYSON A L, et al. Mitochondrial abundance and efficiency contribute to lean color of dark cutting beef[J]. Meat Science, 2016, 116: 165-173. DOI:10.1016/j.meatsci.2016.01.016.
- [22] YAMADA T, TAKAKURA H, JUE T, et al. Myoglobin and the regulation of mitochondrial respiratory chain complex IV[J]. The Journal of Physiology, 2016, 116(7): 165-173. DOI:10.1113/JP270824.
- [23] MASUDA K, SHIBAGUCHI T, YAMADA T, et al. Localization of myoglobin in mitochondria: implication on regulation of mitochondrial respiration in muscle[J]. Medicine and Science in Sports and Exercise, 2018, 50(5S): 197. DOI:10.1249/01.mss.0000535733.23084.bd.
- [24] TANG Jiali, FAUSTMAN C, MANCINI R A, et al. Mitochondrial reduction of metmyoglobin: dependence on the electron transport chain[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(13): 5449. DOI:10.1021/jf050092h.
- [25] TANG J, FAUSTMAN C, HOAGLAND T A, et al. Postmortem oxygen consumption by mitochondria and its effects on myoglobin form and stability[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(4): 1223-1230. DOI:10.1021/jf048646o.
- [26] RAMANATHAN R, MANCINI R A, MAHESWARAPPA A B, et al. Effects of lactate on bovine heart mitochondria-mediated metmyoglobin reduction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(9): 5724-5729. DOI:10.1021/jf1002842.
- [27] RAINES C R, HUNT M C, UNRUH J A. Contributions of muscles of various color stabilities to the overall color stability of ground beef[J]. Journal of Food Science, 2010, 75(1): C85-C89. DOI:10.1111/j.1750-3841.2009.01430.x.
- [28] BEKHIT A E, FAUSTMAN C. Metmyoglobin reducing activity[J]. Meat Science, 2005, 71(3): 407-439. DOI:10.1016/j.meatsci.2005.04.032.
- [29] ARIHARA K, CASSENS R G, GREASER M L, et al. Localization of metmyoglobin-reducing enzyme (NADH-cytochrome b(5) reductase) system components in bovine skeletal muscle[J]. Meat Science, 1995, 39(2): 205-213. DOI:10.1016/0309-1740(94)P1821-C.
- [30] HAGLER L, COPPES R I, HERMAN R H, et al. Metmyoglobin reductase. Identification and purification of a reduced nicotinamide adenine dinucleotide-dependent enzyme from bovine heart which reduces metmyoglobin[J]. Journal of Biological Chemistry, 1979, 254(14): 6505. DOI:10.1016/S0021-9258(18)50397-5.
- [31] 白凤霞, 戴瑞彤, 苏春元, 等. 高铁肌红蛋白还原酶与肉色关系研究进展[J]. 食品工业科技, 2008(11): 276-280.
- [32] BEKHIT A E D, GEESINK G H, MORTON J D. Metmyoglobin reducing activity and colour stability of ovine *Longissimus* muscle[J]. Meat Science, 2001, 57(4): 427-435. DOI:10.1016/S0309-1740(00)00121-2.
- [33] BEKHIT A E D, GEESINK G H, ILIAN M A, et al. The effects of natural antioxidants on oxidative processes and metmyoglobin reducing activity in beef patties[J]. Food Chemistry, 2003, 81(2): 175-187. DOI:10.1016/S0308-8146(02)00410-7.
- [34] 陈景宜, 牛力, 黄明, 等. 影响牛肉肉色稳定性的主要生化因子[J]. 中国农业科学, 2012, 45(16): 3363-3372.
- [35] LEDWARD P B C A. Inhibition of metmyoglobin formation in fresh beef by pressure treatment[J]. Meat Science, 1997, 45(3): 411-418. DOI:10.1016/S0309-1740(96)00112-X.
- [36] MADHAVI D L, CARPENTER C E. Aging and processing affect color, metmyoglobin reductase and oxygen consumption of beef muscles[J]. Journal of Food Science, 2010, 58(5): 939-942. DOI:10.1111/j.1365-2621.1993.tb06083.x.
- [37] ZHAO Ruzhou, JIANG Shuai, ZHANG Lin, et al. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (review)[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2019, 44(2): 3-15. DOI:10.3892/ijmm.2019.4188.
- [38] WATTS B M, KENDRICK J, ZIPSER M W, et al. Enzymatic reducing pathways in meat[J]. Journal of Food Science, 2010, 31(6): 855-862. DOI:10.1111/j.1365-2621.1966.tb03261.x.
- [39] NAIR M N, RAMANATHAN R, RENTFROW G, et al. Intramuscular variation in mitochondrial functionality of beef *Semimembranosus*[J]. South African Journal of Animal Science, 2017, 47(5): 635-639. DOI:10.4314/sajas.v47i5.6.
- [40] BELSKIE K M, RAMANATHAN R, SUMAN S P, et al. Effects of muscle type and display time on beef mitochondria[J]. Meat Science, 2015, 101: 157-158. DOI:10.1016/j.meatsci.2014.09.132.
- [41] KE Y, MITACEK R M, ABRAHAM A, et al. Effects of muscle-specific oxidative stress on cytochrome c release and oxidation-reduction potential properties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(35): 7749-7755. DOI:10.1021/acs.jafc.7b01735.
- [42] HERGENREDER J E, BAGGERMAN J O, SPIVEY K S, et al. Zinc methionine alters muscle cross-sectional area and fiber type of Holstein steers fed zilpaterol hydrochloride[J]. Meat Science, 2015, 101: 156-157. DOI:10.1016/j.meatsci.2014.09.130.
- [43] SAMMEL L M, HUNT M C, KROPF D H, et al. Influence of chemical characteristics of beef inside and outside *Semimembranosus* on color traits[J]. Journal of Food Science, 2010, 67(4): 1323-1330. DOI:10.1111/j.1365-2621.2002.tb10282.x.
- [44] NAIR M N, SUMAN S P, RAMANATHAN R, et al. Intramuscular variation in mitochondrial functionality and sarcoplasmic proteome profile of bovine *Semimembranosus* muscle[J]. Neuromuscular Disorders, 2014, 24(9/10): 868. DOI:10.1016/j.nmd.2014.06.250.
- [45] RAMOS P M, LI C, ELZO M A, et al. Mitochondrial oxygen consumption in early postmortem permeabilized skeletal muscle fibers is influenced by cattle breed[J]. Journal of Animal Science, 2020, 98(3): 1-10. DOI:10.1093/jas/skaa044.
- [46] MITACEK R M, KE Y, PRENNI J E, et al. Mitochondrial degeneration, depletion of NADH, and oxidative stress decrease color stability of wet-aged beef *Longissimus* steaks[J]. Journal of Food Science, 2019, 84(1/3): 38-50. DOI:10.1111/1750-3841.14396.
- [47] KE Y, ABRAHAM A, MAFI G G, et al. Effects of display time on mitochondrial and cytochrome c content in beef *Longissimus* and *Psoas* muscles[J]. Meat and Muscle Biology, 2017, 1(2): 154. DOI:10.22175/rmc2016.147.
- [48] CHEAH K S, CHEAH A M. Post-mortem changes in structure and function of ox muscle mitochondria. I. Electron microscopic and polarographic investigations[J]. Journal of Bioenergetics, 1971, 2(2): 85-92. DOI:10.1007/BF01648923.
- [49] 曹锦轩. 宰后牛肉成熟过程中肌细胞死亡生理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2010: 1. DOI:10.7666/d.Y1986596.
- [50] 张同刚, 李亚蕾, 罗瑞明, 等. 冷鲜牛肉贮藏过程中线粒体变化与肌红蛋白氧化状态的相关性[J]. 食品科学, 2019, 40(9): 35-40. DOI:10.7506/spkx.1002-6630-20180409-103.
- [51] FAUSTMAN C, SUN Q, MANCINI R, et al. Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control[J]. Meat Science, 2010, 86(1): 86-94. DOI:10.1016/j.meatsci.2010.04.025.



- [52] TEREVINTO A, RAMOS A, CASTROMAN G, et al. Oxidative status, *in vitro* iron-induced lipid oxidation and superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rhea meat[J]. Meat Science, 2010, 84(4): 706-710. DOI:10.1016/j.meatsci.2009.11.007.
- [53] 刘文轩, 罗欣, 杨啸吟, 等. 脂质氧化对肉色影响的研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(21): 247-256. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190916-201.
- [54] CATALÁ A. Lipid peroxidation modifies the picture of membranes from the "Fluid Mosaic Model" to the "Lipid Whisker Model"[J]. Biochimie, 2012, 94(1): 101-109. DOI:10.1016/j.biochi.2011.09.025.
- [55] HUTCHINS B K, LIU T H P, WATTS B M. Effect of Additives and refrigeration on reducing activity, metmyoglobin and malonaldehyde of raw ground beef[J]. Journal of Food Science, 2010, 32(2): 214-217. DOI:10.1111/j.1365-2621.1967.tb01297.x.
- [56] LONG Jiangang, WANG Xuemin, GAO Hongxiang, et al. Malonaldehyde acts as a mitochondrial toxin: inhibitory effects on respiratory function and enzyme activities in isolated rat liver mitochondria[J]. Life Science, 2006, 79(15): 1466-1472. DOI:10.1016/j.lfs.2006.04.024.
- [57] D'ALESSANDRO A, MARROCCO C, RINALDUCCI S, et al. Chianina beef tenderness investigated through integrated omics[J]. Journal of Proteomics, 2012, 75(14): 4381-4398. DOI:10.1016/j.jprot.2012.03.052.
- [58] 陈骋, 余群力, 韩玲, 等. 丙二醛对牛肉线粒体高铁肌红蛋白还原能力的影响[J]. 农业机械学报, 2015, 46(12): 253-259. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2015.12.034.
- [59] WAKITA C, HONDA K, SHIBATA T, et al. A method for detection of 4-hydroxy-2-nonenal adducts in proteins[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2011, 51(1): 1-4. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2011.02.037.
- [60] 姚仕彬, 叶元土, 蔡春芳, 等. 丙二醛对离体草鱼肠道黏膜细胞的损伤作用[J]. 水生生物学报, 2015, 39(1): 133-141. DOI:10.7541/2015.17.
- [61] CHEN Cheng, YU Qunli, HAN Ling, et al. Effects of aldehyde products of lipid oxidation on the color stability and metmyoglobin reducing ability of bovine *Longissimus* muscle[J]. Animal Science Journal, 2018, 89(5): 810-816. DOI:10.1111/asj.12993.
- [62] RAMANATHAN R, MANCINI R A, SUMAN S P, et al. Effects of 4-hydroxy-2-nonenal on beef heart mitochondrial ultrastructure, oxygen consumption, and metmyoglobin reduction[J]. Meat Science, 2012, 90(3): 564-571. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.09.017.
- [63] RAMANATHAN R, MANCINI R A, SUMAN S P, et al. Covalent binding of 4-hydroxy-2-nonenal to lactate dehydrogenase decreases NADH formation and metmyoglobin reducing activity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(9): 2112-2117. DOI:10.1021/jf404900y.
- [64] SEDLAK E, MUSATOV A. Inner mechanism of protection of mitochondrial electron-transfer proteins against oxidative damage. Focus on hydrogen peroxide decomposition[J]. Biochimie, 2017, 142: 152-157. DOI:10.1016/j.biochi.2017.09.003.
- [65] BRAND M D. Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2016, 100: 14-31. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.001.
- [66] MUSATOV A, ROBINSON N C. Susceptibility of mitochondrial electron-transport complexes to oxidative damage. Focus on cytochrome c oxidase[J]. Free Radical Research, 2012, 46(11): 1313-1326. DOI:10.3109/10715762.2012.717273.
- [67] 李勇, 李竹. 线粒体与细胞凋亡[J]. 中华预防医学杂志, 2000, 34(3): 285-287.