



전기 자극의 연도증진 기작에 관한 연구동향

황인호·박범영
축산기술연구소

The Mechanisms by Which Electrical Stimulation Affect Meat Tenderness

InHo Hwang and Beom-Young Park
National Livestock Research Institute, RDA

Abstract

The use of electrical stimulation in the red meat processing has been inconsistent and the mechanism(s) associated with the improvement of meat quality in electrically stimulated carcass has been disputed. This may reflect an incomplete knowledge of how to optimise the technology and also mirrors the existence of unknown factors. Although it is well established that the stimulation treatment increases the rate of *post-mortem* glycolysis, other biochemical and biophysical effects have been implicated with the use of this technology. The classical view that stimulation prevents muscle from shortening excessively during *rigor* development has been expanded to include the possibility that it also results in physical disruption of muscle structure and early 'turn-on' of tenderizing process. However, the interaction of these effects with the acceleration of the rate of proteolysis through activation of the calpain protease system has not been comprehensively unravelled. This mini-review attempts to examine the current theories about the effect of stimulation on *post-mortem* muscle.

Key words : electrical stimulation, tenderness, tenderization, μ -calpain, ultrastructure.

서론

육질개선을 위한 전기자극에 대한 연구는 오랜 역사를 가지고 있으나(Rentschler, 1951), 산업적 이용은 '70년대 초반 뉴질랜드와 호주에서(Chrystall and Hagyard, 1976) 저온단축을 완화할 목적으로 이용되었고, 현재 미국과 유럽 등 많은 나라에서 이용되고 있다. 전기자극을 통해 육질이 개선된다는 것은 여러 축종에서 증명되어 왔으며(Chrystall and Devine, 1985), 우리나라에서도 이용 가능성에 대한 자료들이 보고되고 있다(Rhee and Kim, 2001; Hwang et al., 2002; unpublished data, Table 1). 전기자극기법 개발은 사후 근육 대사를 촉진하여 사후 강직시 단축을 최소화하는데 있었다(Carse et al., 1973). 그 후 전기자극을 통한 연도증진의 원인

이 근섬유의 파괴(Ho et al., 1997; Hwang and Thompson, 2002a)와 근단백질 분해효소의 활성 증가(Uytterhaegn et al., 1992; Hwang and Thompson, 2001a)에 있다는 것이 밝혀졌다. 그러나 이 특성들의 중요성에 대해서는 아직까지 학자들 간 의견일치가 이루어지지 않고 있다. 이것은 각 연구들이 각기 다른 실험조건에서 수행되었다는 점에 기인하겠으나, 아직 밝혀지지 않은 많은 원인들이 있다는 것을 간접적으로 시사한다.

연도는 궁극적으로 소비자들이 느끼는 고기의 연한 정도를 표현하기 위해 이용되고, 그 과정에서 일어나는 연화도는 질감도의 변화나 단백질 분해 정도 등에 의하여 설명된다. 근단백질 분해 속도와 지속도는 근육이나 단백질 특성에 따라 다르고, 연화도에 미치는 효과는 고기의 초기 질감도에 의해서 많이 좌우된다. 예를 들면 단축된 근육에서 단백질 분해는 계속 일어나지만 연도증가는 미미하고, 이완된 근육은 연화속도가 빠르나 단백질 분해속도는 이를 설명하지 못한다. 고기의 연화 정도는 질감도의 변화를 표현하는 것으로

Corresponding author : InHo Hwang, National Livestock Research Institute, RDA, 564 Omokchun-dong, Suwon 441-350, Korea. Tel: +82-31-290-1702, Fax: +82-31-290-1697, E-mail: ihhwang@rda.go.kr

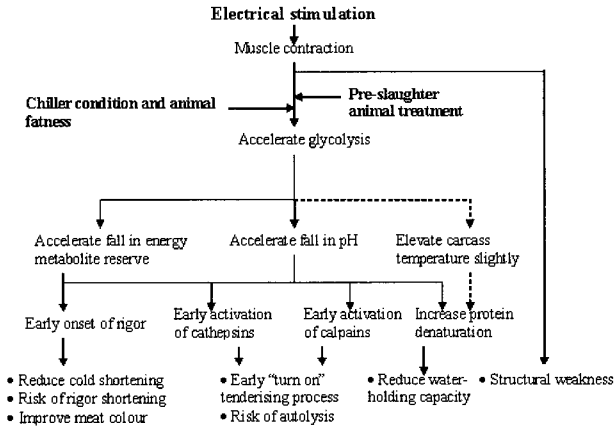


Fig. 1. Flow diagram of the possible mechanisms by which electrical stimulation affects meat quality. The diagram explains that the output of electrical stimulation is a function of the interactions between stimulation condition, pre-slaughter animal status and chilling condition. Hastening glycolysis during *rigor* development results in reduction in cold shortening, early 'turn-on' of tenderizing process, and early 'set-on' of muscle tissue. These facilitate color development and granulation of fat cells. In spite of the superiority, inappropriate practice can cost autolysis of endogenous proteolytic enzymes and reduction in water-holding capacity.

이런 관점에서 연도와 질감도는 약간의 차이점이 있다. 연화는 도축직후부터 시작된다는 많은 연구결과가 있으나, 사후 강직이 종료될 때까지는 미약한 것으로 알려져 있다(Devine and Graafhuis, 1995). 근육은 근섬유들의 집합체이고, 각 근섬유들은 조금씩 다른 초기 에너지원과 단축특성으로 사후 강직에 도달하는 시간이 다르다. 이것은 각 근섬유들의 연화 시작점이 다르다는 것을 시사한다(Devine et al., 1999). 이런 의미에서 도축 후 근육 내에서 두 가지 상반되는 작용이 일어나는데 그중 하나는 근섬유의 단축으로 인하여 고기의 질감도가 증가한다는 점이고, 그 이후 숙성시작으로 연도증가가 일어난다는 것이다. 전기자극이 육질에 미치는 효과 즉, 연도, 육색, 다즙성, 보수성, 향미, 저장성 등에 관한 많은 연구가 이루어졌다(Fig. 1). Fig. 1은 전기자극의 궁극적 효과는 도살전 가축의 영양상태, 전기자극조건, 전기자극 후 도체처리조건 등에 따라 다르다는 것을 보여주고 있다. 본 총설은 전기자극이 연도에 미치는 영향중 미세구조와 단백질 분해효소와 관련된 기작에 대해 알아보기 위하여 실시하였다.

미세구조 변화와 연도

근섬유의 구조적 변화

전기자극은 근육의 물리적 약화(supercontracture 형성)와 전기자극 기간 중이나 후 당대사를 가속하여 연도를 증가시

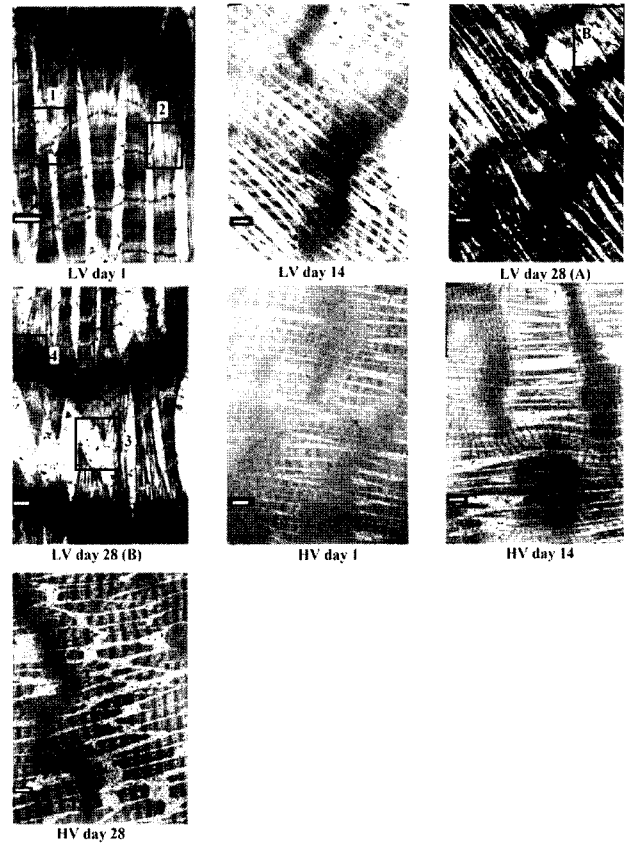


Fig. 2. Electron micrograph images of the contracture bands in longissimus muscle for low voltage (LV) and high voltage (HV) stimulation at 1, 14 and 28 days post-mortem. "LV day 28(B)" is the higher magnification of square B in "LV day 28(A)". The images show the appearance of contractile bands containing predominantly stretched, ill-defined and disrupted sarcomeres (squares 1, 2, 3, 4). Adopted from Hwang and Thompson (2002a) and Hwang et al. (2002b).

키거나 감소를 막는다. 전기 자극에 의한 물리적 약화에 대한 많은 연구결과 있지만 근 단축이나 효소작용과 비교시 그 중요성과 효과는 아직 명확하지 않다. Dutson 등(1977)은 최초로 전기자극이 소 등심의 미세구조를 변화시켰다고 보고하였고, 그것이 연도 증가와 관련이 있다고 보고하였다 (Fig. 2). 이 결과는 전기자극이 근섬유 파괴에 의한 기작으로 연도를 증가시킨다는 확신을 갖게 하는 결과였으며, 또한 많은 연구자들이 초기 전기자극의 효과가 저온단축 방지에 비롯된다고 많은 연구자들이 믿었던 시점에서 아주 중요한 발견이었다. 그 중요한 이유는 근단축이 일어나지 않는 도체에서도 전기자극은 연도를 증진시킨다는 것이었다(Savell et al., 1978). 이와 유사한 결과들은 여러 조건에서 관찰되었다 (Takahashi et al., 1987; Ho et al., 1996). 특히 Takahashi 등 (1984, 1987)의 연구는 전기자극 형태에 따른 특성들을 조사했다. 이들의 결과에 따르면 50~60 Hz-500 volts 처리는 연

도를 증가시키고 근내에 물리적 변화가 있었으나, 2 Hz 처리는 연도를 증가시키지 못하고 근섬유의 물리적 변화도 주지 못했다고 보고하였다. 하지만 이 연구는 pH 저하속도에 따른 다른 요인들(즉, 분해효소)과 근 단축에 관련된 증거들을 제시하지 못한 결점을 남겼다. 한편 몇몇 연구들은 이러한 효과와 전기자극의 연도 증진관계에 많은 의구심을 보이고 있다. 그 이유는 물리적 변화가 단백질 변성(George et al., 1980) 또는 시료 준비과정의 잘못(Fabionsson and Libelius, 1985)과 연결되어 있다고 보기 때문이다. George 등(1980)의 결과를 보면 소의 경우 고전압 처리(700 volts, 25pps, 도살 60분 후 2분동안) 후 16°C에서 8시간 처리한 결과, 그 이상 단축 모형은 PSE육과 비슷한 특징을 보였다고 하였다. 이 연구는 전기자극 직후 극심한 단축현상이 관찰되지 않았으므로 설득력은 있으나, 그것을 증명할 만한 대조구가 없는 아쉬움을 남겼다.

근육에 극심한 단축현상은 전기 자극에서만 나타나는 특성은 아니고 PSE(Bendall and Wismer-Pendersen, 1962), 고온 단축(Stromer et al., 1967), 저온단축(Marsh et al., 1974), 온도체 발골육(Fabionsson and Libelius, 1985) 근육에서도 관찰된다. 이 비정상적인 단축은 근소포체나 미토콘드리아의 칼슘이온의 조절기능 실패와 관련되어 있다(Davey and Gilbert, 1974). 따라서 이 극심한 단축현상 형성은 높은 온도에서 빠른 pH 강화에 따른 단백질 변성도 배제할 수 없지만, 전기자극에 대한 도체반응은 근육타입과 전기자극시 자극조건에 따라 달라지므로 그 직접적 효과를 확인하는데는 많은 어려움이 따른다. 예를 들면, *m. masseter*은 전기자극에 의해 pH 저하에는 큰 차이가 없었으나 근섬유가 파괴되었고, 저온단축에 민감하지 않는 *m. cutaneous*는 pH 저하에는 많은 반응을 보였으나 극심한 단축현상은 보이지 않았다(Devine et al., 1984). 사실 극심한 단축현상 형성은 근육형태뿐 아니라 전기자극의 전파빈도(Marsh, 1985), 또는 전압과의 상호작용(Hwang and Thompson, 2002a)에 의해 달라진다. 전파빈도가 0.25초 이하면 전기자극기간동안 근육은 원상 복구된다. 한편, 높은 빈도에서는 근육이완이 불가능해 복구 불가능한 극심한 단축현상이 발생할 수 있다. 많은 전기자극에 관련된 연구들이 당대사 속도 조절과 관련된 전압과 전파빈도에 중점을 두었으나 연구에 이용된 전기자극 조건들은 극심한 단축현상을 충분히 일으킬 만한 것들이었다. 예를 들면 Hwang and Thompson(2002a)은 14.3 pps (800 volts, 사후 약 45분 45초동안)와 36 pps(45 volts, 기절 직후 45초 동안) 처리는 각각 89%와 55%의 등심 시료에서 물리적 변화를 관찰했다.

일반적으로 몇몇 연구 결과를 제외하고, 전기자극에 의한 물리적 변화가 일어나는 것으로 보고하였다. 하지만 연도에 미치는 영향에서 다른 효소작용과 근단축에 비해 그 중요성

을 규명할 수 없다. 이러한 중요성을 규명하기 위해서는 전기자극 연구에서, 전기자극 조건과 냉각온도 요소들이 잘 고려되어야 될 것이다.

근섬유의 구조적 변화와 단백질 분해

미세구조에서 몇 개의 근섬유 절단은 연도에 많은 영향을 준다(Dransfield, 1994)는 것은 superstretch된 근육관찰에서 잘 밝혀졌다(Hopkins et al., 2000). 이것은 또한 Purslow (1985)에 의해 가열된 고기의 tensile 시료에서도 증명되었다. 양적인 연구에서 Ho 등(1996)은 contracture band주위는 더욱 빠른 단백질분해 속도를 보였으며, 이것은 직접적인 물리적 영향 뿐 아니라 그 손상된 부분의 분해속도의 증가로 연도증진에 이중적 효과가 있음을 증명하였다. 한편 전기자극된 근육에서 물리적 영향을 받지 않은 부위에서도 단백질 분해 속도가 빠르다는 것은 전자현미경적 관찰(Fabiansion and Libelius, 1985)과 단백질분해물질 출현속도 (Ho et al., 1996) 등에 의해 증명되었다. Ho 등(1996)에 의하면 저전압(200 volt, 20Hz)이 contracture band 발현과 동시에 단백질 분해속도를 가속화시켰다. 이 연구는 물리적 영향과 함께 단백질분해효소에 미치는 영향(Dransfield et al., 1992; Hwang and Thompson, 2001a)을 조사하지는 않았으나 일반적으로 전기자극은 근섬유의 물리적 충격과 근섬유 분해 단백질의 활성화를 통해 연도에 영향을 주는 것으로 보고하였다.

만약 전기자극 처리된 근육에서 물리적 충격이 광범위하게 일어난다면, 이완된 부분은 근단백질분해효소에 많이 접촉되면서 이 부분의 단백질분해속도가 빨라질 것이다. 하지만 이러한 가정을 증명할만한 자료가 아직 보고되지 않았고 불행하게도 대부분의 전자현미경 연구들은 등심의 대표적인 현미경 사진을 제시했을 뿐 도체 전체적인 정보가 부족한 상태이다. Will 등(1980)은 저전압(300volt, DV, 400 pps)이 *M. Longissimus*에는 물리적 영향을 주었으나, *M. Psoas*, *M. Semitendinosus*, *M. Suprisspinatus*에는 영향을 미치지 못했다고 보고하였으나 연도와 단백질분해에 관한 연구는 병행되지 않은 아쉬움을 남겼다. Sorinmade 등(1982)은 60Hz 전기자극(145~250 volts, 사후 60분에 2분 동안 자극)이 약 30%의 등심에 물리적 영향을 주었다고 보고했다. 한편 미세구조에 대한 연구는 수행되지 않았지만 전기자극의 물리적 영향을 단백질분해효소에 대한 상대적 영향으로 볼 때 아주 미미한 것으로 보고하였다(Pommier et al., 1987). 이 연구들의 종합적인 결과는 전기자극한 도체를 고온처리했을 때 연도가 전기자극 처리되지 않는 도체보다 나빠진다는 것이다. 따라서 μ -calpain가 단백질 분해작용에 관여하는 것보다 자가소화에 관여하는 것에 더 가깝다는 것이다(Dransfield et al., 1992). 또한 Hwang and Thompson(2002a)는 연도가 좋은 축

중이나 조건에서는 전기자극이 연도를 증진시키지 않는다고 결론지었다. 이 간접적인 증거들은 전기자극의 물리적 효과가 연도에 미치는 직접적인 요인에 관한 많은 의문점을 남겨 두고 있다.

근섬유의 구조적 변화와 칼슘이온

전기자극이 물리적 영향에 미치는 요인은 칼슘이온을 저장하는 근소포체와 미토콘드리아에 미치는 영향과 관련하여 많은 흥미로운 점을 남기고 있다. 특히 이것은 근단축과 calpain system과 관련하여 많은 관심을 끈다. 전기자극 기간 동안 근세포내 칼슘이온의 양은 증가하지만(Westerblad and Allen, 1991) 전기자극기간 동안 모든 에너지원이 고갈되지 않았다면(Chrystall and Devine, 1985), 자극이 끝나면 다시 흡수된다. 물리적 영향이 근세포내 유리 칼슘농도를 높이는 결과를 가져온다면 이것은 calpain system을 자극할 것이고 동시에 근단축을 유발할 것이다. Boehm 등(1998)은 만약 근세포체에 손상이 오면 세포내 칼슘농도가 100 μ M 이상이 될 것이라고 가정했고, 이것이 calpain system에 영향을 미칠 것이라고 보고했다. 이것은 정량 가능한 calpain 양을 줄이는 결과를 가져올 것이고 고온단축을 유도할 것이다. 그러나 전기 자극된 도체에서 고온단축에 대한 문제는 심각하지 않고(Harris and Shrothose, 1988), μ -calpain 수준은 전기자극 전 후에 안정적이거나 오히려 증가하는 경향을 보였다(Morton et al., 1999). 이러한 연구결과는 물리적 영향은 칼슘이온에 큰 영향이 미치지 않는다는 것을 간접적으로 시사하는 것이다. 만약 영향을 준다면이라도 칼슘과 칼슘이온 결합단백질의 특성이 변화되지 않아 유리 칼슘에는 큰 영향을 주지 않았다는 것을 설명하는 것이다. 지금까지 보고된 전기자극 실험에서는 m-calpain의 변화가 관찰되지 않았다(Uytterhaegen et al., 1992). 그러나 전기자극의 칼슘이온에 대한 영향은 우리가 m-calpain을 고기 연화에 이용할 수 있을까하는 관점에서 아직도 많은 관심사로 남아있다.

전기자극의 근섬유 단백질 분해에 미치는 영향

전기자극과 근단백질 분해

pH와 온도가 cysteine계열 단백질 분해 효소에 미치는 영향은 그 동안 많은 연구가 수행되었다(Hopkins and Thompson, 2001). 전기자극은 도살 후 pH와 온도의 상호작용에 영향을 미치므로, 전기자극과 이들 단백질 분해효소 계열의 상관관계는 아주 밀접한 관계에 있다. 사후 근 섬유단백질 분해는 Myofibril Fragmentation Index(Olson et al., 1976), 유리 아미노산(Field and Chang, 1969), 단백질 해리도(Claeys et

Table 1. Effects of 45 volts stimulation of Hanwoo(n=3) and Hanwoo \times Holstane(n=3) on meat quality traits of longissimus muscle*

	WB-shear force(kg)	Cooking loss(%)	Hunter L	Hunter a
Control	6.88 \pm 3.3	25.0 \pm 1.3	30.6 \pm 1.2	13.5 \pm 1.4
ES	3.93 \pm 1.2	25.6 \pm 4.3	33.7 \pm 3.6	18.1 \pm 3.3

* Forty five volts (50 Hz, 36 pulse/sec) stimulation was applied immediately after bleeding by a nose/anal system for 2 bursts of 10 seconds. Meat quality traits were assessed the following day of slaughter according the methods described by Park et al. (2001). As only 6 animals were evaluated, the treatment effect was not statistically tested. The results demonstrate noticeable improvements in WB-shear force and objective redness (a*). On the basis of shear force data, electrically stimulated Hanwoo and Hanwoo \times Holstane appears to need less than three days of ageing time. Hwang et al. (2002, unpublished data).

al., 1994), 비단백태 질소(Davey and Gilbert, 1966)와 전기영동법(Olson et al., 1977)등에 의해서 관찰되었다. 일반적인 관점에서 전기자극은 단백질 분해 속도에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 보이지만 각각의 연구에서 이용된 검색방법을 관찰해 볼 필요가 있고(Ho et al., 1996; 1997)이다. 이 연구에서 품종은 달랐으나 같은 조건에서 같은 연구진에 의해서 수행된 연구들이다. Ho et al.은 1996년 보고서에서 전기자극 처리가 단백질 분해 속도에 큰 영향을 미쳤다고 보고했으나 그 다음 실험에서는 그와 같은 결과를 얻는데 실패했다. 하지만 이 실험들의 문제점은 주관적인 시각적 판단에 의한 결과였다는 문제점을 남겼고, Hopkins and Thompson(2001)의 연구와는 대조적이었다. 전기자극처리의 결과를 해석하는데 또 다른 어려움 하나는 전기자극 결과와 냉각속도와와의 상호작용을 고려하지 않은 연구들이 많다는 것이고 그 문제점은 여러 연구들에서 잘 설명되어 있다(Rhee et al., 2000). 이전 연구결과들을 종합하면 전기 자극은 사후 단백질 분해 속도를 증가시키는 것 같다. Geesink 등(2001)은 전기자극에 의한 단백질 분해는 연도에 영향을 주지 못했다고 보고했으나, 그 연구자들은 결론에 도달하는 과정에서 대조구의 연도에 대한 언급이 부족했고, 연도가 높은 도체에서는 전기자극의 효과가 미미하다는 것을 간과했다. 일반적인 식육에서 연화증진이 더 이상 일어나지 않은 점에 도달해도 단백질 분해는 계속된다는 것을 인식하여야 한다.

전기자극이 단백질 분해 효소에 미치는 영향

전기자극에 의해서 lysosomal 계열 효소가 유리되는 증거에 대하여 많은 연구가 보고되어 왔다(O'Halloran et al., 1999). 그러나 이 효소들이 연도에 미치는 직접적인 요인은 많은 연구에서 잘 설명되지 못했다(Hopkins and Thompson,

2002). Lysosomal 계열 효소의 유리는 전기자극의 직접적 요인이라는 증거는 없으며 시간, 온도, pH의 상호작용에 의한 것으로 믿어진다. 한편 왜 전기자극이 특정 cysteine 계열 단백질 분해효소 특히 calpain의 활성을 증가시키는 가에는 몇 가지 설명이 가능하다. 첫 번째 가능한 설명은 높은 온도에서 빠른 pH 저하는 calpain/calpastatin 상호작용에 영향을 줄 것이다. 다음 가능한 설명은 칼슘이온의 빠른 유리속도이다. 이 점에서 Dransfield 등(1992)은 전기자극 처리된 근육과 같은 빠른 pH 저하 속도에서는 calpain 활성이 6배 높아진다고 예측했다. 대조구는 없었으나 Ducasting 등(1985)은 550 volts(60Hz 2분 자극) 자극은 사후 4시간후 80%의 μ -calpain 활성을 감소시켰다고 보고했다. Uytterhaegen 등(1992)의 경우 사후 1시간에는 큰 차이가 없었으나 24시간에는 μ -calpain과 calpastatin의 활성이 감소했고 보고하였다. Geesink 등(1994)의 경우 전기자극은 calpain system에 큰 영향을 주지 못했다고 보고했으나, 이 실험에서는 전기자극 처리에 대한 도체의 반응이 아주 적었다는 것을 저자들은 간과하였다. 이것은 전기자극이 calpain system에 직접 영향을 주는 것이 아니고 다른 요인(즉, pH-온도)에 의하여 간접적으로 영향을 준다는 것을 시사하는 것이다. 이점에서 Dransfield 등(1992)은 근육 pH가 6.2에 도달하기 전에 calpain system은 외부 요인(즉 온도)에 의해 영향을 받지 않는 것으로 예측했다. 그러나 Hwang and Thompson(2001b)은 이 예측 모델의 한계점을 지적하고 있다. 이들의 예측 모델에 의하면 calpain system은 pH에 관계없이 온도에 의해 영향을 받는 것으로 나타나고 있다. 근단축이 일어나지 않은 상황에서 전기자극의 연도증가 기작에는 물리적 충격과 더불어 calpain system에 대한 영향이 가장 설득력이 강한 가설로 받아들여지고 있다. 하지만 온도와 pH의 상호작용이 주는 calpain과 calpastatin의 상호작용과 특히 calpastatin 작용능력에는 아직도 더 많은 의문점이 남아있다.

요 약

전기자극 처리는 도체의 온도가 저하되기 전 사후강직에 도달하게 하여 저온 단축을 줄이는 효과와 함께 연화 시작점을 빠르게 하여 근섬유 분해속도를 증가시킨다고 보고되고 있다. 전도체 또는 반도체에 전기자극을 한후 냉각을 했을 때 근육의 종류와 부위에 따른 사후 대사/강직/냉각의 속도가 각기 다르기 때문에 국소 전기자극기 같은 처리와 전기자극 효과의 그 직접적 기능 및 상대적 중요성은 앞으로 많은 연구를 필요로 하고 있다. 결론적으로 각각의 실험 조건과 방법이 달라 대폭 그 결과가 달라짐으로써 직접적인 비교가 어려웠다는 점을 강조하고 싶다.

참고문헌

1. Bendall, J. R. and Wismer-Pedersen, J. (1962) Some properties of the fibrillar proteins of normal and watery pork muscle. *J. Food Sci.*, **27**, 144-158.
2. Boehm, M. L., Kendall, T. L., Thompson, V. F. and Goll, D. E. (1998) Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. *J. Anim. Sci.*, **76**, 2415-2423.
3. Carse, W. A. (1973) Meat quality and the acceleration of post-mortem glycolysis by electrical stimulation. *J. Food Tech.*, **8**, 163-166.
4. Chrystall, B. B. and Devine, C. E. (1985) Electrical stimulation: Its early development in New Zealand. In A. M. Pearson, and T. R. Dutson (Eds.), *Advances in Meat Research-Electrical stimulation*. New York: Van Nostrand Reinhold Company Inc. pp. 73-90.
5. Chrystall, B. B. and Hagyard, C. J. (1976) Electrical stimulation and lamb tenderness, New Zealand. *J. Agric. Res.*, **19**, 7-11.
6. Claeyss, E., Uytterhaegen, L., Demeyer, D. and DeSmet, S. (1994) Beef myofibrillar protein salt solubility in relation to tenderness and proteolysis. In *Proceedings 40th International Congress of Meat Science and Technology*, The Hague, The Netherlands. pp. SIVB.09.
7. Davey, C. L. and Gilbert, K. V. (1966) Studies in meat tenderness II. Proteolysis and the aging of beef. *J. Food Sci.*, **31**, 135-140.
8. Davey, C. L. and Gilbert, K. V. (1974) The mechanism of cold-induced shortening in beef muscle. *J. Food Tech.*, **9**, 51-58.
9. Devine, C. E., Ellery, S. and Averill, S. (1984) Responses of different types of ox muscle to electrical stimulation. *Meat Sci.*, **10**, 35-51.
10. Devine, C. E. and Graafhuis, A. E. (1995) The basal tenderness of unaged lamb. *Meat Sci.*, **39**, 285-291.
11. Devine, C. E., Wahlgren, N. M. and Tornberg, E. (1999) Effect of rigor temperature on muscle shortening and tenderisation of restrained and unrestrained beef m. longissimus thoracis et lumborum. *Meat Sci.*, **51**, 61-72.
12. Dransfield, E., Etherington, D. J. and Taylor, M. A. J. (1992) Modelling post-mortem tenderisation-II: Enzyme changes during storage of electrically stimulated and non-stimulated beef. *Meat Sci.*, **31**, 75-84.
13. Ducasting, A., Valin, C., Schollmeyer, J. and Cross, R. (1985) Effects of electrical stimulation on postmortem changes in the activities of two Ca dependent neutral proteinases and their inhibitor in beef muscle. *Meat Sci.*, **15**, 193-202.
14. Dutson, T. R., Yates, L. D., Smith, G. C., Carpenter, Z. L. and Hostetler, R. L. (1977) rigor onset before chilling. In *Proceedings of the 30th Annual Reciprocal Meat Conference*, Illinois, Chicago. pp 79-86.
15. Fabiansson, S. and Libelius, R. (1985) Structural changes in beef longissimus dorsi induced by postmortem low voltage electrical stimulation. *J. Food Sci.*, **50**, 39-44.
16. Field, R. A. and Chang, Y. O. (1969) Free amino acids in bovine muscles and their relationship to tenderness. *J. Food Sci.*, **34**, 329-331.
17. Geesink, G. H., Mareko, M. H. D., Morton, J. D. and Bickerstaffe,

- R. (2001) Effects of stress and high voltage electrical stimulation on tenderness of lamb m. Longissimus. *Meat Sci.*, **57**, 265-271.
18. Geesink, G. H., van Laack, R. L., Barnier, V. M. H. and Smulders, F. J. M. (1994) Does electrical stimulation affect the speed of ageing or ageing response. *Sciences Des Aliments.*, **14**, 409-422.
 19. George, A. R., Bendall, J. R. and Jones, R. C. (1980) The tenderising effect of electrical stimulation of beef carcasses. *Meat Sci.*, **4**, 51-68.
 20. Harris, P. V. and Shorthose, W. R. (1988) Meat texture. In: Developments in Meat Science-4. Lawrie, R., Elsevier Applied Science Publisher, London, pp. 245-296.
 21. Ho, C. Y., Stromer, M. H. and Robson R. M. (1996) Effect of electrical stimulation on postmortem titin, nebulin, desmin, and troponin T degradation and ultrastructural changes in bovine longissimus muscle. *J. Anim. Sci.*, **74**, 1563-1575.
 22. Ho, C. Y., Stromer, M. H., Rouse, G. and Robson, R. M. (1997) Effects of electrical stimulation and postmortem storage on changes in titin, nebulin, desmin, troponin-T, and muscle ultrastructure in Bos indicus crossbred cattle. *J. Anim. Sci.*, **75**, 366-376.
 23. Hopkins, D. L. and Ferrier, G. R. (2000) The tenderness of lamb meat after low voltage stimulation under commercial conditions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 13 Supplement July 2000 Vol B, 356-365.
 24. Hopkins, D. L. and Thompson, J. M. (2001) Inhibition of protease activity 2. Degradation of myofibrillar proteins, myofibril examination and determination of free calcium levels. *Meat Sci.*, **59**, 199-209.
 25. Hopkins, D. L. and Thompson, J. M. (2002) Factors contributing to proteolysis and disruption of myofibrillar proteins and the impact on tenderisation in beef and lamb meat. *Australian J. Agric. Res.*, **53**, 149-166.
 26. Hwang, I. H. and Thompson, J. M. (2001a) The effect of time and type of electrical stimulation on the calpain system and meat tenderness in beef longissimus dorsi muscle. *Meat Sci.*, **58**, 135-144.
 27. Hwang, I. H. and Thompson, J. M. (2001b) The interaction between pH and temperature decline early postmortem on the calpain system and objective tenderness in electrically stimulated beef longissimus dorsi muscle. *Meat Sci.*, **58**, 167-174.
 28. Hwang, I. H. and Thompson, J. M. (2002a) A technique to quantify the extent of postmortem degradation of meat ultrastructure. *Journal of Asian Australasian Animal Science*, **15**, 111-116.
 29. Hwang, I. H., Devine, C. and Hopkins, D. (2002b) The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness-a review. *Meat Sci.*, In press.
 30. Marsh, B. B. (1985) Electrical stimulation research: Present concepts and future directions. In A. M. Pearson, and Dutson, T. R. (Eds.), *Advances in Meat Research-Electrical stimulation*. New York: Van Nostrand Reinhold Company. pp. 277-301.
 31. Marsh, B. B., Leet, N. G. and Dickson, M. R. (1974) The ultrastructure and tenderness of highly cold-shortened muscle. *J. Food Tech.*, **9**, 141-147.
 32. O'Halloran, J. M., Ferguson, D. M., Egan, A. F. and Hwang, I. H. (1999) Effects of electrical stimulation and chilling rate on lysosomal enzyme activities in beef. In Proceedings 45th International Congress of Meat Science and Technology, Yokohama, Japan. pp. 292-293.
 33. Olson, D. G., Parrish, F. C. Jr., Dayton, W. R. and Goll, D. E. (1977) Effect of postmortem storage and calcium activated factor on myofibrillar proteins of bovine skeletal muscle. *J. Food Sci.*, **42**, 117-124.
 34. Olson, D. G., Parrish, Jr F. C. and Stromer, M. H. (1976) Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during postmortem storage. *J. Food Sci.*, **41**, 1036-1041.
 35. Pommier, S. A., Postes, L. M. and Butler, G. (1987) Effect of low voltage electrical stimulation on the distribution of Cathepsin D and the palatability of the Longissimus dorsi from Holstein veal calves fed a corn or barley diet. *Meat Sci.*, **21**, 203-218.
 36. Purslow, P. P. (1985) The physical basis of meat texture: observations on the fracture behaviour of cooked bovine. *Meat Sci.*, **12**, 39-60.
 37. Rentschler, H. C. (1951) Apparatus and Method for the Tenderisation of Meat, U. S. Pat. 2,544,724.
 38. Rhee, M. S. and Kim, B. C. (2001) Effect of low voltage electrical stimulation and temperature conditioning on postmortem changes in glycolysis and calpains activities of Korean native cattle (hanwoo). *Meat Sci.*, **58**, 231-237.
 39. Rhee, M. S., Ryu, Y. C., Imm, J. Y. and Kim, B. C. (2000) Combination of low voltage electrical stimulation and early postmortem temperature conditioning on degradation of myofibrillar proteins in Korean native cattle (Hanwoo). *Meat Sci.*, **55**, 391-396.
 40. Savell, J. W., Dutson, T. R., Smith, G. C. and Carpenter, Z. L. (1978). Structural changes in electrically stimulated beef muscle. *J. Food Sci.*, **43**, 1606-1609.
 41. Stromer, M. H., Goll, D. E. and Roth, L. E. (1967) Morphology of rigor-shortened bovine muscle and the effect of trypsin on pre- and post rigor myofibrils. *J. Cell Bio.*, **34**, 431-445.
 42. Takahashi, G., Lochner, J. V. and Marsh, B. B. (1984) Effects of low-frequency electrical stimulation on beef tenderness. *Meat Sci.*, **11**, 207-226.
 43. Takahashi, G., Wang, S. M. Lochner, J. V. and Marsh, B. B. (1987) Effects of 2-Hz and 60-Hz stimulation on the microstructure of beef. *Meat Sci.*, **19**, 65-76.
 44. Uytterhaegen, L., Claeys, E. and Demeyer, D. (1992). The effect of electric stimulation on beef tenderness, protease activity and myofibrillar protein fragmentation. *Biochimie.*, **747**, 275-281.
 45. Westerblad, H. and Allen, D. G. (1991) Changes in myoplasmic calcium concentration during fatigue in single mouse muscle fibers. *J. General Physiology.* **98**, 615-635.