



مقایسه میزان تردی عضله سمی‌تندینوسوس گوساله و شتر با بررسی میزان تجزیه

میوفیبریل‌ها

* نفیسه سلطانی زاده^۱، مهدی کدیور^۲، جواد کرامت^۳، محمد فضیلتی^۴

چکیده:

تردی مهمترین ویژگی حسی تاثیرگذار بر پذیرش مصرف کننده است. تردی گوشت که طی انبارداری در دماهای بالای انجماد رخ می دهد، معمولاً حاصل تغییر در ترکیبات فیبری عضله است. با وجود این که معمولاً گوشت شترهای جوان (زیر سه سال) در مزه و بافت با گوشت گوساله یکسان است اما سهم گوشت این حیوان در سرانه گوشت مصرفی مردم جهان اندک است. هدف این تحقیق تعیین اختلاف تردی گوشت شتر و گوساله طی دوره رسیدن پس از ذبح با استفاده از بررسی چگونگی تجزیه میوفیبریل هاست. به این منظور ماهیچه سمی تندینوسوس، پس از ذبح از ۲۰ لاشه شتر و ۲۰ لاشه گوساله جداسازی شد و pH آن ها در ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از ذبح و هم چنین ضریب تجزیه میوفیبریلی در ۱، ۳، ۵ و ۷ روز پس از ذبح تعیین شد. در طی این زمان ها پروتئین های میوفیبریلی و سارکوپلاسمیک از عضله سمی تندینوسوس استخراج شده و تغییرات آن ها به وسیله SDS-PAGE مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که زمان ($p < 0.01$) و نوع دام ($p < 0.01$) اثر معنی داری بر ضریب تجزیه میوفیبریلی داشت به گونه ای که پس از هفت روز انبارداری گوشت، اختلاف زیادی در تجزیه میوفیبریلی گوشت شتر و گوساله مشاهده شد. تجزیه سریع تر تروپونین T و ظهور ترکیب ۳۰ کیلودالتونی در گوشت شتر گواهی بر نتایج حاصل بود. اما پروتئین های سارکوپلاسمیک طی دوران رسیدن شاهد هیچ گونه تغییری نبودند. افت pH گوشت شتر به میزان قابل توجهی آهسته تر از گوشت گوساله بود که به نظر می رسد بر روی فعالیت پروتئازها مؤثر باشد. این تحقیق پیشنهاد می کند که تردی گوشت شتر بیشتر از گوشت گوساله است که ممکن است به دلیل افت pH متفاوت و اثر آن بر روی فعالیت پروتئاز باشد.

کلمات کلیدی: تجزیه میوفیبریلی، پروتئاز، تروپونین T، گوشت شتر، عضله سمی تندینوسوس

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان. N_soltanizadeh@ag.iut.ac.ir

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان mak120@mail.usask.ca

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان

۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

شتر به خانواده *Camelidae* و دو جنس لاما^۱ و کملوس^۲ تعلق دارد. در مقایسه با دیگر دام ها، شتر به دلیل توانایی استثنایی برای زنده ماندن و رشد تحت شرایط آب و هوایی نامطلوب مثل حرارت بالای محیط، بارش کم و کمبود غذایی منحصر به فرد است. بنابراین به عنوان یک حیوان ایده آل برای محصولات حیوانی در نواحی خشک و نیمه خشک جهان پیشنهاد می شود. شتر منبع خوب گوشت در نواحی است که آب و هوا اثر نامطلوب بر روی راندمان محصولات دیگر حیوانات دارد (کدیم و همکاران، ۲۰۰۶). برخلاف پتانسیل های این حیوان، سهم گوشت شتر در مصرف سرانه گوشت در جهان قابل توجه نیست (الجاسم و الکانحال، ۱۹۹۲). خصوصیات لاشه ای شتر با دیگر گونه های حیوانات تولیدکننده گوشت قرمز قابل مقایسه است. معمولاً گوشت شترهای جوان (زیر سه سال) در مزه و بافت با گوشت گوساله یکسان است (داوود، ۱۹۹۵). هرچند، تلقی همگانی این است که، گوشت شتر سفت تر و با کیفیت پایین تر از گوساله می باشد اما این گوشت نزد مردمی که در نواحی خشک و نیمه خشک زندگی می کنند از مقبولیت بالایی برخوردار بوده و مصرف می شود.

تردی مهمترین ویژگی حسی تاثیرگذار بر پذیرش مصرف کننده است (ویپل و همکاران، ۱۹۹۰). فاکتورهای بسیاری از جمله مقدار و حلالیت کلاژن، کوتاه شدن میوفیبریل های ماهیچه در اثر سرما^۳ و پروتئولیز پروتئین های میوفیبریلی طی نگهداری پس از ذبح در تردی گوشت شرکت دارند (کروس و همکاران، ۱۹۹۱). تردی گوشت که طی انبارداری در دماهای بالای انجماد رخ می دهد، معمولاً حاصل تغییر در ترکیبات فیبری عضله است (دیوی و گیلبرت، ۱۹۶۸). تجزیه میوفیبریلی (میزان تجزیه میوفیبریلی بواسطه هموزنیاسیون) به شدت با شاخص های تردی گوشت (نیروی برشی و تردی حسی) در ارتباط است (مولر و همکاران، ۱۹۷۳؛ اولسون و همکاران، ۱۹۷۶). دیوی و دیکسون (۱۹۶۸) نشان دادند که کدورت سوسپانسیون میوفیبریلی تهیه شده توسط هموزنیاسیون، طی انبارداری پس از ذبح افزایش می یابد سپس اولسون و همکاران (۱۹۷۶) مقدار کدورت را در یک عدد ثابت ضرب کرده و آن را ضریب تجزیه میوفیبریلی (MFI^۴) نامیدند. MFI شاخص مفیدی در تردی گوشت است، به خصوص برای عضلاتی که به اندازه کافی بزرگ نیستند تا با استفاده از نیروی برشی یا تردی حسی این فاکتور در آن ها اندازه گیری شود (ویست و همکاران، ۲۰۰۱). طی ارزیابی های صورت گرفته ضریب تجزیه میوفیبریلی بیانگر ۵۰٪ تغییرات در تردی عضله لانگیسیموس دورسی بوده است (کولر و همکاران، ۱۹۷۸).

افزایش تردی گوشت که طی انبارداری گوشت در دماهای پایین پس از ذبح رخ می دهد و حاصل تجزیه ساختار داخل و خارج سلولی فیبرهای عضلانی است (ناگارج و همکاران، ۲۰۰۵). تحقیقات قبلی تجمع ترکیب ۳۰ کیلودالتونی را به موازات تغییر در تردی گوشت طی دوران رسیدن تأیید کرده اند (کوالی، ۱۹۸۴). فاروک و همکاران (۱۹۹۲) پیشنهاد کردند که ظهور ترکیب ۳۰ کیلودالتونی تنها به عنوان شاخص سرعت پروتئولیز و نه به عنوان تردی می تواند استفاده شود. اما هو و همکاران (۱۹۹۴) تجزیه تروپونین T و ظهور ترکیب ۳۰ کیلودالتونی را نه تنها به عنوان شاخص پروتئولیز پس از ذبح بلکه بیانگر تجزیه صفحات Z عضلات پس از ذبح دانستند.

۱- Lama

۲- Camelus

۳- Cold shortening

۴- Myofibril fragmentation index

هدف تحقیق حاضر مقایسه میزان تردی گوشت شتر و گوساله به وسیله ارزیابی میزان تجزیه میوفیبریلی است. سپس سعی شده است تا اختلاف در تردی با بررسی پروتئین های میوفیبریلی و سارکوپلاسمیک به وسیله SDS-PAGE مقایسه گردد. هم چنین مقدار کلاژن به عنوان یک فاکتور تاثیرگذار بر تردی اندازه گیری شده است.

مواد و روش ها

انتخاب و آماده سازی نمونه های مورد آزمایش

۲۰ نمونه گوساله و ۲۰ نمونه شتر با سن کمتر از ۵ سال از کشتارگاه نجفآباد تهیه شد. نمونه ها از عضله سمی تندینوسوس و به میزان ۵۰۰ گرم تهیه شده و به آزمایشگاه انتقال یافت. به منظور جلوگیری از افزایش بار میکروبی نمونه ها شست و شو داده شد و پس از جدا کردن چربی و بافت پیوندی، در کیسه های پلی اتیلنی به مدت ۱۲ ساعت در دمای محیط نگهداری گردید تا از کوتاه شدن میوفیبریل ها در اثر سرما^۱ جلوگیری شود و پس از این مدت به یخچال ۴ درجه سانتی گراد انتقال یافت. از گوشت تازه به صورت تصادفی نمونه برداری و پس از چرخ کردن برای انجام آزمایشات استفاده شد. نمونه برداری در روزهای ۳، ۵ و ۷ انبارداری تکرار شد.

pH

pH گوشت در فواصل زمانی ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به وسیله pH متر دستی و به صورت مستقیم تعیین شد.

اندازه گیری MFI

MFI مطابق روش کولر و پریش (۱۹۷۸) تعیین شد. ۴ گرم از گوشت چرخ شده عاری از چربی و بافت پیوندی با دقت ۰/۰۱ توزین شده و در مخلوط کن ریخته شد. ۴ میلی لیتر بافر MFI ۴ درجه سانتی گراد به آن افزوده و به مدت ۶۰ ثانیه هموژنیزه گردید. سپس هموژنات به لوله های سانتریفیوژ منتقل و در ۱۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از جدا کردن سوپرناتانت، رسوب حاصل با ۴۰ میلی لیتر بافر ۴ درجه سانتی گراد توسط میله شیشه ای مخلوط گردیده و سانتریفیوژ تکرار گردید. سوپرناتانت حاصل دور ریخته شده و رسوب حاصل با ۱۰ میلی لیتر بافر توسط ورتکس به خوبی مخلوط گردید. نمونه به وسیله صافی پلی اتیلن با مش ۱۸ صاف شده و رسوبات حاصل روی صافی با ۱۰ میلی لیتر بافر شست و شو داده شد.

۰/۲۵ میلی لیتر از سوسپانسیون حاصل به لوله آزمایش انتقال یافته و به آن ۰/۷۵ میلی لیتر بافر MFI افزوده گردید. سپس ۴ میلی لیتر معرف بیوره به آن اضافه شده و پس از نیم ساعت نگهداری در محل تاریک، سانتریفیوژ شد تا ذرات معلق جدا شود. جذب سوپرناتانت در ۵۴۰ نانومتر قرائت شد.

برای به دست آوردن میزان پروتئین به منحنی استاندارد نیاز است که با استفاده از سرم آلبومین گاوی رسم گردید. غلظت های ۰، ۲/۰، ۴/۰، ۶/۰ و ۸/۰ میلی گرم بر میلی لیتر از سرم آلبومین گاوی تهیه شد. ۰/۲۵ میلی لیتر از هر کدام با ۰/۷۵ میلی لیتر آب مقطر رقیق گردید و پس از افزودن ۴ میلی لیتر معرف بیوره و نگهداری در محل تاریک به مدت ۳۰ دقیقه، جذب در ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید.

با استفاده از غلظت ها و جذب حاصل منحنی استاندارد رسم شد. پس از رسم منحنی استاندارد و به دست آوردن معادله خط مقدار پروتئین سوسپانسیون میوفیبریلی با قراردادن میزان جذب آن در معادله خط محاسبه شد. سپس سوسپانسیون میوفیبریلی تا غلظت 0.05 ± 0.05 میلی گرم بر میلی لیتر رقیق گردید. برای حصول اطمینان از به دست آوردن غلظت پروتئینی مورد نیاز مقدار

غلظت پروتئین سوسپانسیون میوفیبریلی رقیق شده با استفاده از روش بیوره اندازه‌گیری شد. سوسپانسیون حاصل پس از این که به خوبی مخلوط شد به سل اسپکتروفتومتر انتقال یافته و جذب آن بلافاصله در ۵۴۰ نانومتر قرائت شد. با ضرب کردن جذب حاصل در ۲۰۰ میزان MFI به دست آمد.

برای تهیه بافر MFI، محلول ۱۰۰ میلی‌مول کلریدپتاسیم، ۲۰ میلی‌مول فسفات‌پتاسیم، ۱ میلی‌مول EDTA، ۱ میلی‌مول کلریدمنیزیم و ۱ میلی‌مول سدیم آزاید در آب مقطر تهیه شده و pH روی ۷ تنظیم گردید. معرف بیوره با حل کردن ۱/۵ گرم سولفات مس پنج آب و ۶ گرم تارتارات مضاعف سدیم پتاسیم در حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و سپس افزودن ۳۰۰ میلی‌لیتر سود ۱۰٪ و رساندن به حجم ۱۰۰۰ تهیه شد. باید توجه داشت که این معرف باید در محیط تاریک نگهداری شود.

SDS-PAGE

الکتروفورز به روش ناگراج و همکاران (۲۰۰۵) انجام گرفت. آزمایش شامل سه مرحله، تهیه پروتئین‌های میوفیبریلی و سارکوپلاسمیک، آماده‌سازی ژل، Run کردن و رنگ‌آمیزی نمونه است.

برای استخراج پروتئین‌های میوفیبریلی و سارکوپلاسمیک از روش چن و وانگ (۲۰۰۲) استفاده گردید. ۳ گرم گوشت با ۹ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH ۷/۵ به مدت ۱ دقیقه هموژنیزه شد. هموژنات در g ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سوپرناتانت آن جدا گردید. رسوبات مجدداً به همان روش استخراج شده و سوپرناتانت حاصل با سوپرناتانت قبلی مخلوط گردید. این بخش پروتئین‌های سارکوپلاسمیک را تشکیل می‌دهد. برای جداسازی پروتئین‌های میوفیبریلی رسوبات حاصل با ۹ میلی‌لیتر بافر فسفات-کلریدپتاسیم ۰/۴۵ مولار با قدرت یونی ۰/۵ و pH ۷/۵ هموژنیزه شد. سوپرناتانت با سانتریفیوژ در g ۱۰۰۰۰ جدا شده و با سوپرناتانت حاصل از تکرار این عمل مخلوط گردید. این بخش پروتئین‌های میوفیبریلی را تشکیل می‌دهد.

اندازه‌گیری هیدروکسی پرولاین و کلاژن

۴ گرم گوشت چرخ شده با دقت میلی‌گرم در یک بالن ته‌گرد ۲۵۰ میلی‌لیتری توزین شد. مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول کلرورقلع دو ظرفیتی ۰/۷۵٪ در اسیدکلریدریک ۶ مول و مقداری سنگ جوش اضافه گردید و تا نقطه جوش حرارت داده و به مدت ۱۶ ساعت به آرامی تقطیر شد.

پس از صاف کردن محلول داغ در یک بالن حجمی ۲۰۰ میلی‌لیتری با استفاده از صافی پشم، بالن تقطیر و صافی، سه بار و هر بار با ۲۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۶ مولار شست‌وشو داده شد. محتوی بالن تا درجه حرارت اتاق سرد شده و با آب مقطر به حجم رسید.

۱۰ میلی‌لیتر از محلول هیدرولیز شده رقیق به یک بشر منتقل شده و با افزودن ۵۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکسید سدیم ۲ مولار، pH روی ۸ تنظیم گردید. این محلول در یک بالن حجمی ۲۵۰ میلی‌لیتری با استفاده از واتمن شماره ۴ صاف شده و پس از شست و شوی بالن و صافی، عصاره حاصل به حجم رسیده و مخلوط شد.

۴ میلی‌لیتر از محلول حاصل را در لوله آزمایش ریخته و توسط بورت دقیقاً مقدار ۲ میلی‌لیتر محلول تازه کلرآمین T اضافه گردید. برای تهیه کلرآمین T مقدار ۱/۴۱ گرم نمک سدیم ان-کلرو-پاراتولون سولفان‌آمید در ۱۰ میلی‌لیتر آب حل شده و به آن ۱۰ میلی‌لیتر پروپان-۱-ال و ۶۰ میلی‌لیتر بافر با pH ۶ که حاوی ۲۰ درصد حجمی-حجمی پروپان-۱-ال می‌باشد، اضافه شد. پس از اختلاط توسط ورتکس، به مدت ۲۰ دقیقه آرام گذاشته و سپس از بورت مقدار ۲ میلی‌لیتر ترکیب رنگی اضافه گردید. ترکیب رنگی شامل ۱۰ گرم پارا-دی متیل‌آمین‌بنزآلدهید حل شده در ۳۰ میلی‌لیتر محلول ۶۰٪ وزنی-وزنی اسیدپرکلریک است که به آن ۶۵ میلی‌لیتر پروپان-۲-ال اضافه شده است. پس از آن با مخلوط‌کن ورتکس به خوبی مخلوط گردید.

درب لوله‌های آزمایش بسته شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از آن تحت جریان آب سرد گردید.

برای تهیه استاندارد مقدار ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌لیتر از محلول استاندارد اندازه‌گیری هیدروکسی‌پروولین با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در لوله‌های آزمایش ریخته و همه مراحل بالا در مورد آن‌ها انجام شد.

جذب استانداردها و نمونه‌ها در ۵۵۸ نانومتر اندازه‌گیری شد. تفاضل متوسط جذب برای اندازه‌گیری‌های شاهد به طور جداگانه از جذب‌های محلول‌های استاندارد و محلول‌های خنثی شده رقیق و هیدرولیز شده به دست آمد. منحنی کالیبراسیون هریک از جذب‌های محلول‌های استاندارد در برابر میکروگرم هیدروکسی‌پروولین در ۵ میلی‌لیتر محلول آزمایش رسم گردید.

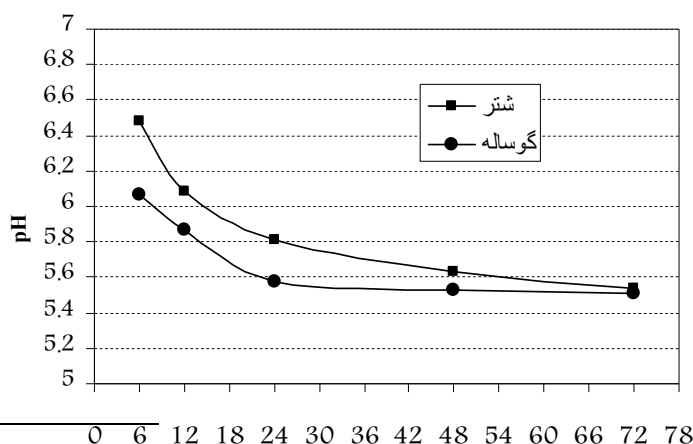
طرح آماری مورد استفاده و روش آنالیز نتایج

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از دو طرح، (۱) طرح کاملاً تصادفی و (۲) آزمون اسپلیت‌پلات در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت. به منظور آنالیز داده‌ها از نرم افزار SAS استفاده گردید.

بحث و نتیجه گیری

pH

افت pH برای گوشت شتر و گوساله در شکل ۱ نشان داده شده است. تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد نوع دام تاثیر معنی داری بر این خصوصیت داشته است. اختلاف pH در همه زمان‌ها معنی دار بود اما بین زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت و ۴۸ و ۷۲ ساعت اختلاف معنی داری مشاهده نشد. افت pH برای گوشت شتر آهسته‌تر از گوساله بود به گونه‌ای که در ۶ ساعت پس از ذبح pH گوشت شتر (۶/۵) به میزان قابل توجهی بالاتر از گوشت گوساله (۶/۱) بود. گرچه افت pH در دو دام متفاوت بود اما هر دو دارای pH نهایی ۵/۵ بودند. نرخ کاهش pH برای گوساله تا ۲۴ ساعت و برای شتر تا ۴۸ ساعت پس از ذبح نزولی بود اما پس از آن به یک مقدار ثابت رسید. افت pH گوشت با مقدار گلیکوژن در زمان ذبح در ارتباط است (ایمونن و پولان، ۲۰۰۰). کاهش pH در اثر تجزیه بی‌هوازی گلیکوژن، تولید اسیدلاکتیک و تجمع آن در بافت است. به نظر می‌رسد شتر توانایی منحصر به فردی برای کنترل سرعت گلوکونوژنز^۱ به منظور جلوگیری یا تعویق شکل‌گیری کتوزها را دارد (ونسورت و همکاران، ۲۰۰۴). به این دلیل گلیکوژن در این حیوان با سرعت کمتری شکسته شده و به اسیدلاکتیک تبدیل می‌شود و کاهش سرعت افت pH مورد انتظار است.



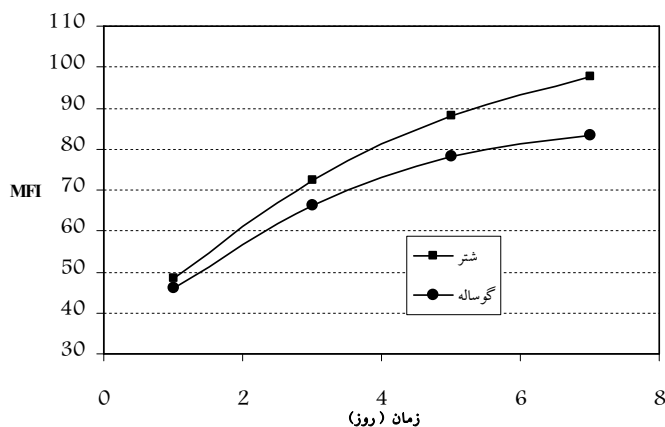
^۱-Gluconeogenesis

شکل ۱- تاثیر تغییرات پس از کشتار بر pH عضله سمی تندینوسوس دام های شتر و گوساله

دیگر عامل مؤثر بر افت pH نوع فیبر عضلانی است. گفته می شود عضلات قرمز slow-twitch توانایی انقباض و سرعت گلیکولیز کمتر نسبت به ماهیچه های سفید fast-twitch دارند (کوآلی و تالمنت، ۱۹۹۰). در ارتباط با رابطه بین نوع ماهیچه و pH، ویپل و همکاران (۱۹۹۰) نشان دادند که عضلات با فیبرهای اکسیداتیو، pH بالاتری در ۳ و ۱۲ ساعت پس از ذبح دارند. بنابراین می توان گفت گوشت شتر فیبرهای اکسیداتیو بیشتری دارد.

MFI

بررسی نتایج حاصل از میزان تردی گوشت های شتر و گوساله نشان می دهد علاوه بر نوع دام (p<۰/۰۱)، زمان (p<۰/۰۱) نیز اثر معنی داری بر روی تجزیه میوفیبریلی دارد. سرعت تجزیه میوفیبریلی در گوشت گوساله از زمان ذبح تا روز پنجم روند افزایشی نشان می دهد اما پس از آن از سرعت تجزیه کاسته شده و با سرعت کمی افزایش می یابد. در مورد گوشت شتر میزان تجزیه میوفیبریلی با همان روند تا روز هفتم ادامه می یابد (شکل ۲). با وجود این که هر دو دام در ابتدای ذبح تجزیه میوفیبریلی یکسانی دارند اما با گذشت زمان این پدیده در گوشت شتر سرعت گرفته و بعد از ۷ روز انبارداری در ۴ درجه سانتی گراد اختلاف MFI در دو گوشت به حدود ۱۴ می رسد.



شکل ۲- تاثیر تغییرات پس از کشتار بر MFI عضله سمی تندینوسوس دام های شتر و گوساله

یکی از دلایل این اختلافات، تفاوت در میزان آنزیم و به احتمال بیشتر تفاوت در نسبت آنزیم/بازدارنده است که نشان دهنده کارایی یک سیستم پروتئولیتیکی است. فرایند پروتئولیتیکی پس از ذبح در میان گونه ها و عضلات مختلف متفاوت است (کابالرو و همکاران، ۲۰۰۷). به این دلیل سرعت و میزان پروتئولیز پس از ذبح پروتئین های میوفیبریلی کلیدی مهم ترین علت تغییر در تردی بوده (کوهمره ای، ۱۹۹۶) و مسئول اختلاف در سرعت تردی مشاهده شده بین گونه ها یا ژنوتیپ های مختلف

است (کامپو و همکاران، ۲۰۰۰؛ مونسون، ۲۰۰۴). تجزیه میوفیبریل ها طی انبارداری پس از ذبح ماهیچه در ۴ درجه سانتی گراد و افزایش قابل توجه آن با گذشت زمان نشان دهنده آغاز فعالیت فاکتور فعال کننده کلسیم (CAF)^۱ طی مراحل اولیه پس از ذبح روی پروتئین های میوفیبریلی است. CAF یک پروتئاز خنثی داخل سلولی است که در ماهیچه پس از ذبح فعال است و مسئول تجزیه میوفیبریلی طی مسن کردن پس از ذبح است (اولسون و پریش، ۱۹۷۷). اولسون و همکاران (۱۹۷۷) در بررسی خود روی سه عضله سمی تندینوسوس، لانگیسموس دورسی و پسواس مجور نشان دادند فعالیت CAF در این سه ماهیچه متفاوت است و در نتیجه میزان تجزیه میوفیبریلی متفاوتی در این سه ماهیچه مشاهده می شود. با توجه به این که فعالیت این آنزیم در سه ماهیچه متفاوت است شاید بتوان پذیرفت که فعالیت آنزیمی در دو دام نیز متفاوت بوده و ماحصل آن میزان تجزیه میوفیبریلی متفاوت خواهد بود. هم چنین pH بر روی میزان فعالیت CAF مؤثر خواهد بود. pH بهینه این آنزیم نزدیک به ۷ است و همانگونه که در نمودار مشاهده می شود گوشت شتر مدت زمان بیشتری pH بهینه برای فعالیت این آنزیم را دارد. CAF دسمین، کانکتین، پروتئین خط M، تروپونین T و تروپومیوزین را تجزیه می کند اما اثری بر روی اکتین و میوزین ندارد (بلیتز و گروش، ۱۹۹۹). آنزیم های لیزوزومی نیز در پروتئولیز شرکت دارند اما آن ها باید ابتدا از لیزوزوم ها آزاد شوند. در صورتی که سرعت شکسته شدن لیزوزوم ها در گونه های مختلف متفاوت باشد آنزیم های لیزوزومی در گونه های متفاوت در زمان های مختلف آزاد شده و در نتیجه اثرات آن ها بر روی پروتئین های میوفیبریلی متفاوت خواهد بود و شاید بتوان یکی از دلایل تفاوت در تجزیه میوفیبریلی در گوشت شتر و گوساله را اختلاف در تجزیه لیزوزومی بشمار آورد.

بازدارنده های پپتیداز نقش مهمی در میزان تردی داشته و میزان بازدارنده ها بهترین پیش بینی کننده تردی گوشت است (سنتاندرو و همکاران، ۲۰۰۲). این بازدارنده ها شامل کالپاستاتین^۲ به عنوان بازدارنده کالپین^۳ و سیستاتین^۴ از گروه بازدارنده های سیستین پپتیداز^۵ است (کوالی و تالمنت، ۱۹۹۰). چرت و همکاران (۲۰۰۷) دریافتند که میزان کالپین در عضلات ماهی و گوساله مشابه است اما مقدار کالپاستاتین در عضلات مورد مطالعه متفاوت است. کوالی و تالمنت (۱۹۹۰) نیز گزارش کردند که میزان کالپاستاتین در خانواده پستانداران یکسان نیست.

از دیگر فاکتورهایی که طی ۴۸ ساعت اولیه پس از ذبح در تردی گوشت شرکت می کند شامل کاهش pH و اثر آن روی فعالیت پروتئازی ماهیچه است (نیث و همکاران، ۲۰۰۷). تحقیقات بیان می کند که یک افت pH متوسط برای فعالیت کالپین بهینه است، مانند pH ۶ در ۱/۵ ساعت پس از ذبح که توسط وانگ و تامسون (۲۰۰۱) پیشنهاد شده است. کلیز و همکاران (۲۰۰۱) در مطالعه ای بر روی خوک نشان دادند که ضریب همبستگی بالایی بین فعالیت چندین آنزیم و مقدار pH در یک ساعت پس از ذبح وجود دارد، در نتیجه افت pH سریع تر پس از ذبح منجر به فعالیت کمتر کالپین به دلیل دناتوراسیون بیشتر آن می شود. مدوک و همکاران (۲۰۰۵) دریافتند که فعالیت کالپین در pH ۶/۵ حداکثر است و بازدارندگی p۱-کالپین توسط کالپاستاتین با pH تحت تاثیر قرار نمی گیرد و این آنزیم با سرعت کم به پروتئولیز خود ادامه می دهد و به آرامی اتولیز می شود. کاهش سریع تر pH ممکن است p۱-کالپین را غیرفعال کرده و سبب کاهش پروتئولیز پروتئین های میوفیبریلی و در نتیجه کاهش روند افزایشی تردی با گذشت زمان شود. مارش و همکاران (۱۹۸۷) گزارش کردند که زمانی که مقدار pH در ۳ ساعت پس از ذبح به زیر ۶/۱ کاهش می یابد، تردی گوشت کاهش می یابد که احتمالاً کاهش در این مقدار با مدت زمان کوتاهی که پروتئازهای مهم فعال هستند مربوط می شود. همانگونه که بیان شد افت pH طی ۲۴ ساعت اولیه پس از ذبح در گوساله نسبت به شتر سریع تر بود. بنابراین، این احتمال وجود دارد که تجزیه میوفیبریلی بیشتر که در گوشت شتر در مقایسه با گوشت گوساله مشاهده می شود به دلیل بالاتر

۲-Calcium Activated Factor

۱-Calpastatin

۲- Calpain

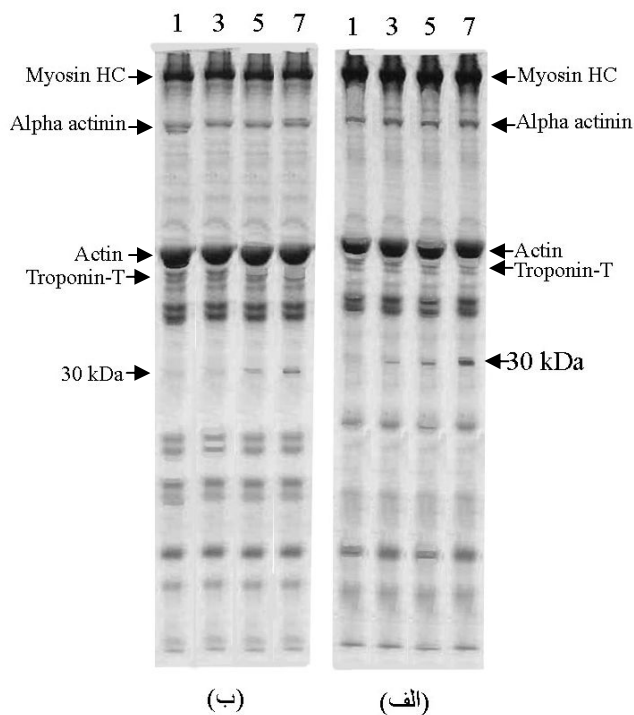
۳- Cystatins

۴- Cysteine peptidase inhibitors

گوشت شتر در ۴۸ ساعت اولیه پس از ذبح باشد که منجر به شرایط بهینه تر برای فعالیت پروتئازی بیشتر و در نتیجه پروتئولیز بیشتر می شود.

SDS-PAGE

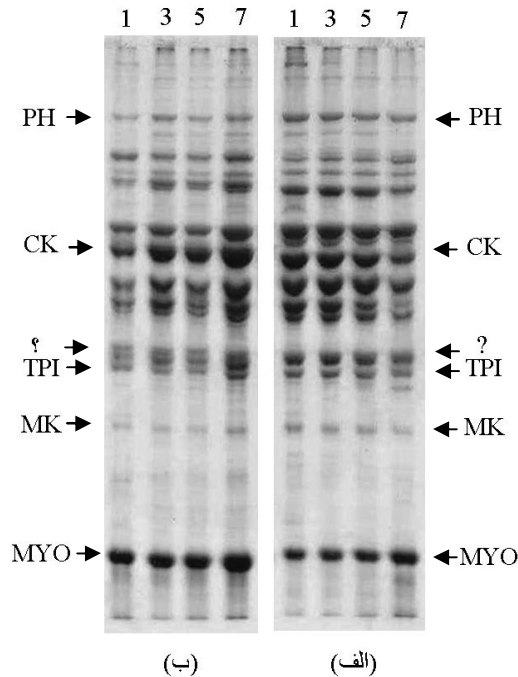
ژل پلی آکریل آمید با ۱۳٪ SDS که از پروتئین های میوفیبریلی عضله سمی تندینوسوس گوساله و شتر در روزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ پس از ذبح تهیه شده است تغییرات به وقوع پیوسته در پروتئین های میوفیبریلی را نشان می دهد (شکل ۳)، که شامل ناپدید شدن تدریجی تروپونین T و ظهور باند ۳۰ کیلودالتونی طی انبارداری پس از ذبح است و هیچ تغییر مهم دیگری در دیگر پروتئین های میوفیبریلی رخ نمی دهد. این نتایج میزان پروتئولیز در عضله را توسط پدید آمدن باند ۳۰ کیلودالتونی نشان می دهد. در گوشت گوساله ترکیب ۳۰ کیلودالتونی تا روز سوم انبارداری وجود ندارد اما از روز پنجم شروع به ظاهر شدن می کند اما در گوشت شتر این ترکیب در روز پنجم انبارداری به خوبی قابل رؤیت است و به صورت یک باند بسیار ضعیف خود را نشان می دهد. در شکل ۳ تجزیه تروپونین T در طی زمان در گوشت شتر و گوساله مشاهده می شود. تجزیه تروپونین T طی انبارداری پس از ذبح و در نتیجه ظهور ترکیب ۳۰ کیلودالتونی به عنوان شاخص تردی گوشت پیشنهاد شده است (ناگراج و همکاران، ۲۰۰۵). آنالیز توسط SDS-PAGE رابطه ای بین تردی و تجزیه میوفیبریلی نشان می دهد. عضلات با تردی کمتر، باند تروپونین T قوی تر و باند ۳۰ کیلودالتونی ضعیف تر نشان می دهند.



شکل ۳- SDS-PAGE (۱۳٪) پروتئین های میوفیبریلی جداسازی شده از (الف) عضله سمی تندینوسوس گوساله و (ب) عضله سمی تندینوسوس شتر پس از ۱، ۳، ۵ و ۷ روز انبارداری در ۴ درجه سانتی گراد.

به منظور بررسی میزان تغییرات در پروتئین های سارکوپلاسمیک طی دوران رسیدن، الگوی الکتروفورز این پروتئین ها طی یک دوره ۷ روزه بررسی شد. نتایج در شکل ۴ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می شود طی دوران رسیدن هیچ تغییر

قابل توجهی در پروتئین های سارکوپلاسمیک رخ نمی دهد. با این حال باندهای موجود بررسی شده و از بین آن ها، پنج باند شناسایی شد که به ترتیب عبارتند از فسفریلاز (۹۰۰۰Da)، کراتین کیناز (۴۰۰۰Da)، فسفوگلیسرات موتاز یا فسفوگلیسرات کیناز (؟) (۳۰۰۰-۳۳۰۰Da)، تیوزفسفات ایزومراز (۲۶۰۰Da)، میوکیناز (۲۱۰۰Da) و میوگلوبین (۱۷۰۰Da) (جو و همکاران، ۱۹۹۹). با وجود این که زمان اثری بر روی پروتئین های سارکوپلاسمیک ندارد اما نوع دام بر مقدار این پروتئین ها اثر دارد به گونه ای که در گوشت شتر باند می



شکل ۴- SDS-PAGE (۱۳٪) پروتئین های سارکوپلاسمیک جداسازی شده از (الف) عضله سمی تندینوسوس گوساله و (ب) عضله سمی تندینوسوس شتر پس از ۱، ۳، ۵ و ۷ روز انبارداری در ۴ درجه سانتی گراد. PH فسفریلاز، CK کراتین کیناز، ؟ فسفوگلیسرات موتاز یا فسفوگلیسرات کیناز، TPI تیوزفسفات ایزومراز، MK میوکیناز و MYO میوگلوبین.

هیدروکسی پرولاین و کلاژن

نتایج تجزیه واریانس میزان هیدروکسی پرولاین و کلاژن (جدول ۱) نشان می دهد اختلاف معنی داری بین گوشت شتر و گوساله وجود دارد ($P < 0.01$). گوشت شتر مقدار هیدروکسی پرولاین و کلاژن کمتری در مقایسه با گوشت گوساله دارد. کلاژن مهمترین پروتئین از دسته پروتئین های استروماست. پروتئین های استروما برای تکنولوژیست های غذایی با اهمیت هستند زیرا چهار اثر مستقیم بر روی کیفیت گوشت دارند: (۱) پروتئین های استروما، به خصوص بافت پیوندی، تردی گوشت را کاهش می دهند که مقدار تاثیر آن ها بر این خصوصیت به مقدار پیوند عرضی بین پروتئین های بافت پیوندی بستگی دارد. (۲) پروتئین های استروما، به دلیل طبیعت غیرمحلوشان، ظرفیت امولسیون کنندگی را کاهش می دهند. (۳) به خاطر مقدار کم اسیدآمینو های باردار هیدروفیل، پروتئین های استروما ظرفیت نگهداری آب را کاهش می دهند. (۴) پروتئین های استروما حاوی مقدار کم اسیدآمینو های ضروری هستند، در نتیجه با افزایش مقدار آن ها در گوشت، ارزش غذایی آن کاهش می یابد (گل و رابسون، ۱۹۷۷).

جدول ۱- مقایسه میانگین میزان هیدروکسی پرولاین و کلاژن موجود در عضله سمی تندینوسوس گوشت شتر و گوساله

گوشت شتر	گوشت گوساله	
۱۰۳۴/۵۸ ± ۹۵/۷۲	۱۵۱۵/۰۲ ± ۳۵۷/۸۱	هیدروکسی پرولاین (μg/g)
۰/۷۵۰۱ ± ۰/۰۷	۱/۰۹۸۴ ± ۰/۲۶	کلاژن (%)

شریعتمداری و همکاران (۲۰۰۶) با اندازه گیری میزان تردی گوشت شتر و گوساله توسط نیروی برشی وارنر-برتزلر کاهش مقدار نیروی برشی را در گوشت شتر و گوساله با گذشت زمان گزارش کردند به گونه ای که کاهش مقدار نیروی برشی در گوشت شتر بیشتر از گوشت گوساله بود. این امر نشان دهنده تردی بیشتر گوشت شتر نسبت به گوشت گوساله است که نه تنها به میزان تجزیه میوفیبریلی متفاوت بین دو دام بستگی دارد بلکه مقدار کمتر کلاژن در گوشت شتر می تواند دلیلی بر پدیده مشاهده شده باشد.

منابع

- [1] Bandman, E. and D. Zdanis. 1988. An immunological method to assess protein degradation in *post-mortem* muscle. *Meat Sci.* 22:1-19.
- [2] Belitz H. D. and W. Grosch. 1999. *Meat In: Food Chemistry*. Second(eds). Springer. New York. 527-578.
- [3] Caballero, B., V. Sierra, M. Oliven, I. Vega-Naredo, C. Tomas-Zapico, O. Alvarez-Garcia, D. Tolivia, R. Hardeland, M. J. Rodriguez-Colunga and A. Coto-Montes. 2007. Activity of cathepsins during beef aging related to mutations in the myostatin gene. *J. Sci. Food Agric.* 87: 192-199.
- [4] Campo, M. M., P. Santolaria, C. Sanudo, J. Lepetit, J. L. Olleta, B. Panea. 2000. Assessment of breed type and ageing time effects on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Sci.* 55: 371-378.
- [5] Cheret R., C. Delbarre-Ladrat, M. Lamballerie-Anton and V. Verrez-Bagnis. 2007. Calpain and cathepsin activities in *post mortem* fish and meat muscles. *Food Chem.* 101: 1474-1479.
- [6] Claeys, E., S. De.Smet, D. Demeyer, R. Geers, and N. Buys. 2001. Effect of rate of pH decline on muscle enzyme activities in two pig lines. *Meat Sci.* 57(3): 257-263.
- [7] Crouse, J. D., M. Koochmaraie and S. D. Seideman. 1991. The relationship of muscle fiber size to tenderness of beef. *Meat Sci.* 30: 295-302.
- [8] Culler, R. D., F. C. Parrish, G. C. Smith and H. R. Cross. 1978. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. *J. Food Sci.* 1177-1180.
- [9] Davey, C. L. and K. V. Dickson, 1969. Studies in tenderness. 7. Changes in the fine structure of meat during aging. *J. Food Sci.* 34: 69-73.
- [10] Davey, C. L. and K. V. Gilbert. 1968. Studies in meat tenderness.4. changes in the extractability of myofibrillar proteins during meat aging. *J. Food Sci.* 33: 2-7.
- [11] Dawood, A. A. 1995. Physical and sensory characteristics of najdi-camel meat. *Meat Sci.* 39: 59-69.
- [12] Elgasim, E. A. and M. A. Alkanhal. 1992. Proximate composition, amino acids and inorganic mineral content of Arabian camel meat. *Food Chem.* 45: 1-4.
- [13] Farouk, M. M., J. F. Price and A. M. Salih. 1992. Post-exsanguinations infusion of ovine carcasses: Effect on tenderness indicators and muscle microstructure. *J. Food Sci.* 57: 1311-1315.
- [14] Goll, D. E., R. M. Robson and M. H. Stromer. 1977. Muscle proteins. PP. 121-175. In: Whitaker, J. R. and S. R. Tannenbaum(Eds), *Food Proteins*. AVI. California.

- [15] Gornall, A. G., C. J. Bardawill, and M. M. David. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177: 751-766.
- [16] Ho, C. Y., M. H. Stromer and R. M. Robson. 1994. Identification of the 30 kDa polypeptide in post-mortem skeletal muscle as a degradation product of troponin-T. *Biochimie.* 76: 369-375.
- [17] Hwang, I. H. and J. M. Thompson. 2001. 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(2): 167-174.
- [18] Immonen, K. and E. Puolanne. 2000. Variation of residual glycogen-glucose concentration at ultimate pH values below 5.75. *Meat Sci.* 55(3): 279-283.
- [19] Joo, S. T., R. G. Kauffman, B. C. Kim, G. B. Park. 1999. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Sci.* 52: 291-297.
- [20] Kadim, I.T., O. Mahgoub, W. Al-Marzooqi, S. Al-Zadjali, K. Annamalai and M. H. Mansour. 2006. Effects of age on composition and quality of muscle *Longissimus thoracis* of the Omani Arabian camel (*Camelus dromedaries*). *Meat Sci.* 73(4): 619-625.
- [21] Koohmaraie M. 1996. Biochemical factors regulating toughening and tenderization processes of meat. *Meat Sci.* 43: 193-201.
- [22] Koohmaraie, M., S. C. Seideman, J. E. Schollmeyer, T. R. Dutson and A. R. Babiker. 1988. Factors associated with the tenderness of three bovine muscles. *J. Food. Sci.* 53:407-410.
- [23] Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227: 680-685.
- [24] Maddock, K. R., E. Huff-Lonergan, L. J. Rowe and S. M. Lonergan. 2005. Effect of pH and ionic strength on μ -calpain and m-calpain inhibition by calpastatin. *J. Animal Sci.* 83: 1370-1376.
- [25] Marsh, B. B., T. P. ringkob, R. L. Russell, D. R. Swarts and L. A. Pagel. 1987. Effects of early-postmortem glycolytic rate on beef tenderness. *Meat Sci.* 21:241-248.
- [26] Moller, A. J., T. Vestergaard and J. Wismer-Pederson. 1973. Myofibril fragmentation in bovine longissimus dorsi as an index of tenderness. *J. Food. Sci.* 38: 824-825.
- [27] Monson, F., C. Sanudo and I. Sierra. 2004. Influence of cattle breed and ageing time on textural meat quality. *Meat Sci.* 68: 595-602.
- [28] Nagaraj, N. S., K. R. Anilakumar and K. Santhanam. 2005. Postmortem changes in myofibrillar protein of goat skeletal muscle. *J. Food. Biochem.* 29: 152-170.
- [29] Neath, K. E., A. N. Del Barrio, R. M. Lapitan, J. R. V. Herrera, L. C. Cruz, T. Fujihara, S. Muroya, K. Chikuni, M. Hirabayashi, Y. Kanai. 2007. Difference in tenderness and pH decline between water buffalo and beef during postmortem aging. *Meat Sci.* 75: 499-505.
- [30] Olson, D. G., F. C. Parrish and M. H. Stromer. 1976. Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during postmortem storage. *J. Food Sci.* 41: 1036-1041.
- [31] Olson, D. G., F. C. Parrish JR. 1977. Relationship of myofibril fragmentation index to measures of beefsteak tenderness. *J. Food Sci.* 42: 506-509.
- [32] Ouali, A. and A. Talmant. 1990. Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. *Meat Sci.* 28(4): 331-348.
- [33] Quali, A. 1984. sensitivity to ionic strength of Mg-Ca enhanced ATPase activity as an index of myofibrillar aging in beef. *Meat Sci.* 11: 79-88.
- [34] Sentandreu M. A., G. Coulis and A. Ouali. 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in Food Sci. and Technol.* 13: 400-421.
- [35] Shariatmadari, R. and M. Kadivar. 2006. Postmortem aging and freezing of camel meat (a comparative study). 52nd International Congress of Meat Science and Technology. 673-675.
- [36] [Veiseth](#), E., S. D. Shackelford, T. L. Wheeler and M. Koohmaraie. 2001. Technical note: Comparison of myofibril fragmentation index from fresh and frozen pork and lamb longissimus. *J. Anim. Sci.* 79: 904-906.

- [37] Wensvoort, J., D. J. Kyle, E. R. Orskov and D. A. Bourke. 2004. Biochemical adaptation of camelids during fasting. *J. Camel Sci.* 1:71-75.
- [38] Whipple, G., M. Koohmaraie, M. E. Dikeman and J. D. Crouse. 1990. Predicting beef-longissimus tenderness from various biochemical and histological muscle traits. *J. Animal Sci.* 68: 4193-4199.
- [39] White, A., A. O'Sullivan, D. J. Troy and E. E. O'Niell. 2006. Manipulation of the pre-rigor glycolytic behaviour of bovine M. longissimus dorsi in order to identify causes of inconsistencies in tenderness. *Meat Sci.* 73(1): 151-156.
- [40] Yates, L. D., T. R. Dutson, J. Caldwell and Z. L. Carpenter. 1983. Effect of temperature and pH on the *post-mortem* degradation of myofibrillar proteins. *Meat Sci.* 9: 157-179.