www.rifst.ac.ir/jrifst.aspx
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۲، جلد ۲، شماره ۱، صفحات ۳۶-۱۷

JRIFST

بررسی اثر جنس و شرایط کشتار بر چگونگی کاهش pH و پروتئولیز گوشت شترمرغ طی زمان تردشدن با استفاده از SDS-PAGE

هما بقایی[۱]، محمد جواد وریدی[۲]، مهدی وریدی[۳*]، زرین اسحاقی[۴]

۱- دانش آموخته دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲ - دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
* نویسنده مسئول (m.varidi@um.ac.ir)
۴- دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور مشهد

چکیده

بررسی پروتئولیز پس از کشتار عضله یکی از بهترین راه ها در شناسایی چگونگی ترد شدن گوشت می‌باشد. در پژوهش حاضر، pH از لحظه صفر پس از کشتار و تغییرات پروتئین‌های میوفیبریلی عضله *M. Gastrocnemius pars externa* با استفاده از روش الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید- سدیم دودسیل سولفات SDS-PAGE، از روز اول تا چهاردهم در دو جنس نر و ماده شترمرغ که با دو روش مرسوم (بدون بیهوشی) و اعمال شوک الکتریکی (بیهوشی در ۸۰ ولت/ ۵۰۰ میلی آمپر/ ۱۰ ثانیه) کشتار شدند، مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، اعمال بیهوشی پیش از کشتار، به طور معنی داری سبب افزایش سرعت گلیکولیز و کاهش سریع pH تا ۳ ساعت اولیه پس از کشتار شد. همچنین جنس ماده در شترمرغ کاهش pH سریع تری داشت ($p<۰/۰۵$). بررسی پروفایل الکتروفورتیک پروتئین‌های میوفیبریلی نشان داد بیشترین تغییرات مربوط به تجزیه تدریجی تروپونین T تا روز چهاردهم و همزمان ظهور پپتیدهایی با وزن مولکولی ۲۵ تا ۳۲ کیلودالتون بود ($p<۰/۰۵$). میوزین، α-اکتنین و دسمین طی زمان تردشدن دستخوش تجزیه قرار گرفت و همزمان پلی پپتیدهای با وزن مولکولی ۶۰ و ۱۰۰ کیلودالتونی ظهور یافت ($p<۰/۰۵$). بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر جنس و شرایط کشتار به دلیل تسریع نزول pH، در تغییر اغلب پروتئین ها معنی دار ارزیابی شد ($p<۰/۰۵$) زیرا سوبسترای آنزیم های کالپائین بودند.

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۶
تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۴/۱۰

واژه‌های کلیدی
پروتئولیز
تردشدن
شترمرغ
کاهش pH
SDS-PAGE

مقدمه

پرورش صنعتی شترمرغ در ایران از سال ۱۳۷۸ آغاز و با توجه به شرایط اقلیمی و جغرافیایی، اکثر نقاط کشور موقعیتی ایده آل برای پرورش شترمرغ دارند (محمدی، ۱۳۸۵). ارزش تغذیه‌ای گوشت شترمرغ به لحاظ درصد چربی و به ویژه کلسترول کم، کالری پائین، پروتئین بالا (بیش از ۲۰ درصد)، وجود مقادیر زیاد آهن و قابلیت هضم خوب بسیار درخور توجه است (Paleari et al., 1995; Sales & Mellett, 1996).

Archive of SID

www.SID.ir

به طور کلی سه دسته اصلی آنزیم‌ها در پروتئولیز عضله پس از کشتار (دوره ترد شدن یا رسیدن[1]) مؤثرند:

۱- کالپائین ها[2]: در عضلات اسکلتی شامل حداقل سه پروتئاز کالپائین۱ (μ-کالپائین)، کالپائین۲ (m-کالپائین) و کالپائین۳ (p94) می‌باشد. سهم فعالیت μ-کالپائین به m-کالپائین ۱/۸ به ۱ است هرچند که میزان μ-کالپائین به m-کالپائین ۱ به ۱۰ می‌باشد. کالپائین‌ها در ناحیه خط Z قرار گرفته‌اند و قادرند تروپومیوزین، دسمین و خط Z را تغییر دهند.

۲- کاتپسین ها[3]: دارای انواع D، B، H و L بوده و در لیزوزوم سارکوپلاسم قرار گرفته‌اند. کاهش pH پس از کشتار سبب تضعیف دیواره اندام‌ها ازجمله لیزوزوم و در نتیجه آزادسازی کاتپسین‌ها می گردد. نقش این پروتئینازها تجزیه تروپونین T و I، آلفا اکتنین، اکتین، میوزین، تروپومیوزین، تیتین، نبولین و تغییر شکل پیوندهای عرضی کلاژن و برخی موکوپلی ساکاریدهای بافت‌های پیوندی است (Hoff-; Kemp et al., 2010 ;Lonergan et al., 2010 ;Jiang, 1998).

۳- پروتئازوم[4] (ماکروپائین): شروع فعالیت پروتئازوم همزمان با آغاز عمل m- کالپائین و p94 است. پروتئازوم 20S روی باند I قرار گرفته و به طور اختصاصی پروتئین‌های روی حلقه Z و باند I را تجزیه می‌نماید (Thomas et al., 2004; Lamare, 2002).

در ابتدای تغییرات پس از کشتار، با توجه به pH که حدوداً خنثی است، کالپائین ها (ابتدا μ-کالپائین و سپس m-کالپائین) آغازگر واکنش‌های پروتئولیزی هستند. در ادامه تغییرات پس از کشتار با رسیدن pH به کمتر از ۶/۵، کاتپسین ها فعال می‌شوند (Jiang, 1998). نقش کالپائین‌ها در پروتئولیز پس از کشتار بسیار کلیدی تر از کاتپسین‌ها است (Sentandreu, et al., 2002).

الکتروفورز ژل پلی آکریلامید- سدیم دودسیل سولفات[5] یک روش مناسب جداسازی پروتئین ها بر اساس شدت تحرک الکتروفورتیک آنها، وابسته به طول زنجیره پلی پپتیدی و بار الکتریکی آن و یا در واقع نسبت بار الکتریکی به وزن مولکولی پروتئین می‌باشد. از آنجا که بار الکتریکی در این پلی پپتیدها حدوداً مشابه است، جداسازی پروتئین‌ها در الکتروفورز تحت چنین شرایطی به طور کامل وابسته به تفاوت در وزن مولکولی آنها است. به منظور بررسی پروتئین‌ها با بار مختلف با استفاده از SDS-PAGE، معمولاً برای اینکه تفکیک فقط براساس وزن مولکولی انجام شود به بافر، ماده شیمیائی سدیم دو دسیل سولفات (SDS) اضافه می‌شود. SDS مولکول بزرگی با بار منفی است که این ماده باعث واسرشت شدن پروتئین‌ها شده و به آنها متصل می‌شود. به ازای هر دو اسید آمینه، یک مولکول SDS به پروتئین متصل می‌شود که باعث القاء بار منفی متناسب با وزن مولکولی به پروتئین می‌شود. هر چه غلظت پلی اکریل آمید بیشتر باشد قدرت تفکیک ژل بیشتر خواهد بود و مولکول‌های دارای وزن مولکولی نزدیک به هم را بهتر تفکیک می‌نماید. این روش در ابتدا کاربرد کیفی داشت (Dunker & Rreuckert, 1969) اما پژوهش ها نشان داده است که SDS-PAGE در زمینه کمی شناسایی پروتئین ها نیز می‌تواند مؤثر باشد (Claeys, et al., 1995).

بیهوشی دام پیش از کشتار اثرات متفاوتی بر شدت و سرعت پروتئولیز دارد و مطالعات زیادی در زمینه بررسی پروتئولیز گوشت انواع دام‌ها پس از کشتار صورت گرفته است (Ouali, 1990; Koohmaraie, 1994; Taylor et al., 1995; Koohmaraie & Geesink, 2006; Geesink et al., 2006; Kent et al., 2004; Lamare, et al., 2002). اما در این راستا پژوهش‌های بسیار کمی پیرامون گوشت شترمرغ به انجام رسیده است. در پژوهشی تغییرات میوفیبریلی عضله *M. iliofibularis* شترمرغ طی ۱۳ روز مطالعه شد (Van Jaarsveld, 1998). در پژوهش دیگری ویژگی آنزیم‌های پروتئازوم و کاتپسین و همچنین نقش آنها در تردسازی عضلات اسکلتی شترمرغ بررسی شد (Thomas, et al., 2004). در پژوهش‌های موجود تاکنون به تفاوت روند پروتئولیز در دو جنس نر و ماده شترمرغ و همچنین اثر بیهوشی الکتریکی پرداخته نشده است. لذا در پژوهش حاضر،

1- Aging
2- Calpaeins
3- Cathepsins
4- Proteasome
5- Sodium Dodecyl Sulfate- Poly Acrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Archive of SID

www.SID.ir

ضمن توجه به pH پس از کشتار (از لحظه صفر تا روز ۱۴)، اثر جنس (نر و ماده) و شرایط کشتار (با بیهوشی الکتریکی و روش مرسوم) بر چگونگی پروتئولیز و تغییرات پروتئین‌های میوفیبریلی عضله *M. Gastrocnemius pars externa* شترمرغ با استفاده از SDS-PAGE طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این پژوهش از ۱۶ قطعه شترمرغ[1] ۱۰ ماهه نژاد گردن آبی[2] شامل ۸ نر و ۸ ماده با میانگین وزنی به ترتیب ۱۳/۵۱± ۷۴/۶ و ۱۱/۹۱± ۷۷/۴ کیلوگرم استفاده گردید. تمامی شترمرغ‌های مورد آزمایش از یک مزرعه نزدیک مشهد با شرایط تغذیه‌ای و نگهداری کاملاً یکسان انتخاب شدند. پس از انتقال آن‌ها به کشتارگاه و نگهداری در شرایط مشابه قبل از کشتار، توسط تیم دامپزشکی مورد بازرسی بهداشتی قرار گرفتند. ۸ قطعه شترمرغ (۴ نر و ۴ ماده) به صورت مرسوم (بدون اعمال بیهوشی الکتریکی) و ۸ قطعه دیگر شترمرغ (۴ نر و ۴ ماده) پس از بیهوش شدن با انجام شوک الکتریکی (۸۰ ولت/ ۵۰۰ میلی‌آمپر/ ۱۰ ثانیه) به روش ذبح اسلامی کشتار گردیدند. تمامی لاشه پس از معاینه تیم دامپزشکی و عبور از دوش شستشو، به مدت ۲۴ ساعت در سردخانه بالای صفر مجتمع صنعتی گوشت نگهداری شدند. پس از گذشت این زمان، عضله *M.Gastrocnemius pars externa* از قسمت پا از نیم لاشه چپ هر دام جداسازی گردید. نمونه عضله‌های جدا شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به سرعت به آزمایشگاه منتقل و در یخچال (۲±۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

pH عضله توسط pH متر پروبی Testo (۲۳۰، USA) در زمان‌های ۰، ۱، ۳، ۶، ۹ و ۱۸ ساعت و ۱، ۳ ، ۵، ۷ و ۱۴ روز پس از کشتار اندازه گیری شد.

به منظور استخراج پروتئین‌های میوفیبریلی از روش (Claeys et al., 1995) استفاده شد. تمامی محلول‌های شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از شرکت مرک[3]، کشور آلمان تهیه گردید. ۲/۵ گرم گوشت چرخ شده از هر نمونه با ۲۵ میلی‌لیتر محلول بافر (pH=۷/۶ ،۳ ºC) حاوی سوکروز ۰/۲۵ M، تریس ۰/۰۵ Mو ۱ mM EDTA توسط همزن، التراتوراکس (Heidolph RZR 2050) با دور ۱۶۰۰۰ همگن شد. مخلوط همگن به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. پس از دور ریختن محلول، قسمت جامد مجدداً با ۲۵ میلی‌لیتر محلول بافر (pH=۷/۶ ،۳ ºC) حاوی تریس[4] ۰/۰۵ M و EDTA ، ۱ mM توسط همزدن گردابی مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دور rpm ۱۰۰۰ سانتریفوژ گردید. برای مرتبه سوم استخراج با ۲۵ میلی‌لیتر محلول KCl، ۰/۱۵M (۳ ºC) انجام شد. رسوب حاصل که در واقع پروتئین‌های میوفیبریلی جداسازی شده بود درون ۱۰ میلی‌لیتر بافر MFI[5] (شامل کلرید پتاسیم ۱۰۰ mM، ۱۰۰، فسفات پتاسیم (pH=۷) ۲۰mM، EDTA ۱mM، کلرید منیزیم ۱mM، آزید سدیم ۱mM) نگهداری شد (Culler et al., 1987). مقدار پروتئین هر نمونه پروتئین‌های میوفیبریلی بر اساس روش بیورت با پروتئین استاندارد سرم آلبومین گاوی[6] (Sigma Alderich) اندازه‌گیری گردید. برای رقیق سازی نمونه در صورت لزوم از بافر MFI استفاده شد.

جداسازی اجزاء مختلف پروتئینی نمونه به وسیله ژل الکتروفورز پلی آکریلامید در حضور سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) مشابه روش Laemmli (۱۹۷۰) با استفاده از دستگاه الکتروفورز عمودی شرکت بیوراد (مدل PowerPac™ Basic) به ابعاد ژل ۱۰×۸ cm انجام شد. غلظت آکریلامید برای ژل متراکم کننده[7] ۴ درصد و برای ژل جداکننده[8] ۱۲/۵ درصد بود. ۲۰۰ میکرولیتر نمونه حاوی ۱۵ درصد محلول ایزوله میوفیبریلی با غلظت مشخص، ۸۰ درصد محلول بافر نمونه به همراه مرکاپتواتانول و ۵ درصد محلول سرم آلبومین گاوی (به عنوان

1- *Struthio camelus*
2- Blue neck

3- Merck
4- Tris (hydroxymethyl) aminomethane
5- Myofibrillar Fragmentation Index (MFI)
6- Bovine Serum Albumin (BSA)
7- Stacking
8- Resolving

Archive of SID

www.SID.ir

استاندارد داخلی) داخل اپندورف با هم مخلوط، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای محیط و ۵ دقیقه در بن ماری ۹۰ درجه سانتی‌گراد (از پیش گرم شده) نگهداری شد. ۴۰ میکرولیتر از هر نمونه آماده شده به داخل هر چاهک ژل تزریق گردید. الکتروفورز به جریان برق با ۱۶۰ ولت متصل گردید. پس از پایان الکتروفورز، باندهای پروتئینی به مدت ۱۲ ساعت توسط محلول کلوئیدی آبی درخشان کوماسی G_{250} (حاوی ۴۳/۹ درصد متانول، ۴۳/۹ درصد آب دیونیزه، ۱۹/۷۵ درصد اسید استیک و ۰/۲۴۴ درصد کوماسی بلو) رنگ آمیزی و توسط محلول اسید استیک ۱ درصد به مدت ۴۸ ساعت روی شیکر رنگبری شد. مارکر مورد استفاده از شرکت سیگما آلدریچ (M4038) و در محدوده وزن مولکولی ۶/۵-۲۰۵ کیلودالتون تهیه شد.

با استفاده از دستگاه Gel-Doc (EZ System, Bio-Rad) تصویر ژل‌ها برداشته شد و با کمک نرم‌افزار TotalLab TL120 مشخصات باندها (شامل دانسیته باند، درصد باند، Rf و وزن مولکولی) تعیین گردید.

$$\text{درصد باند} = \frac{\text{دانسیته باند موردنظر}}{\text{دانسیته کل باندها در یک ستون}}$$

پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل اجرا شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SPSS 16، مقایسه میانگین‌ها بر اساس دانکن و ترسیم نمودارها در نرم افزار Excel 2007 انجام گرفت.

نتایج و بحث

pH

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر جنس، زمان تردشدن و اثر متقابل شرایط کشتار و زمان بر pH معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). با ملاحظه شکل ۱ می‌توان دریافت گوشت شترمرغ دارای pH_u[1] بالایی می‌باشد (۶/۱۰-۶/۲۰) که در مقایسه با سایر گوشت‌ها طی زمان کوتاهتری بعد از کشتار (۳-۶ ساعت) به این pH می‌رسد. برای مثال مدت زمان لازم در عضله خوک برای رسیدن به pH نهایی، ۶-۱۲ ساعت و در عضله گاو ۱۸-۴۰ ساعت تعیین شده است (Smulders et al., 1992). در پژوهش دیگری پروسه اسیدیفیکاسیون خوک ۴-۸ ساعت، گوسفند ۱۲-۲۴ ساعت و در گاو ۱۵-۳۶ گزارش شد (Dransfield, 1994). به این دلیل گوشت شترمرغ را حد واسط می‌نامند، زیرا pH نهایی آن بیشتر از گوشت‌های طبیعی و کمتر از گوشت‌هایDFD[2] است (Paleari, et al., 1995; Sales & Mellett, 1996).

هر چند تفاوت معنی‌داری بین میانگین pH در دام‌های شوک داده و نداده وجود نداشت ($p>۰/۰۵$) اما سرعت کاهش pH [3] به خصوص در ساعات اولیه پس از کشتار در دام‌های شوک داده سریع تر از انواع شوک نداده بود (جدول ۱). همانطور که در شکل ۱ ملاحظه می‌گردد، میانگین pH در دام‌های شوک داده در ۱ ساعت اول پس از کشتار ۶/۴۶ بود حال آنکه در دام‌های شوک نداده ۶/۶۹ به دست آمد. دلیل این موضوع شاید تحرک دام حین بیهوش شدن باشد که منجر به تولید لاکتات بیشتر شده است (Nowak et al., 2007). پژوهشگران زیادی تایید کرده‌اند که بیهوشی الکتریکی سبب تسریع نزول pH می‌گردد (Channon, et al., 2002; Vergara, et al., 2005; Linares, et al., 2007). در واقع بیهوشی الکتریکی سرعت گلیکولیز پس از مرگ را افزایش می‌دهد و بدین ترتیب دوره جمود نعشی سریع تر آغاز می‌شود (Resenvold & Anderson, 2003).

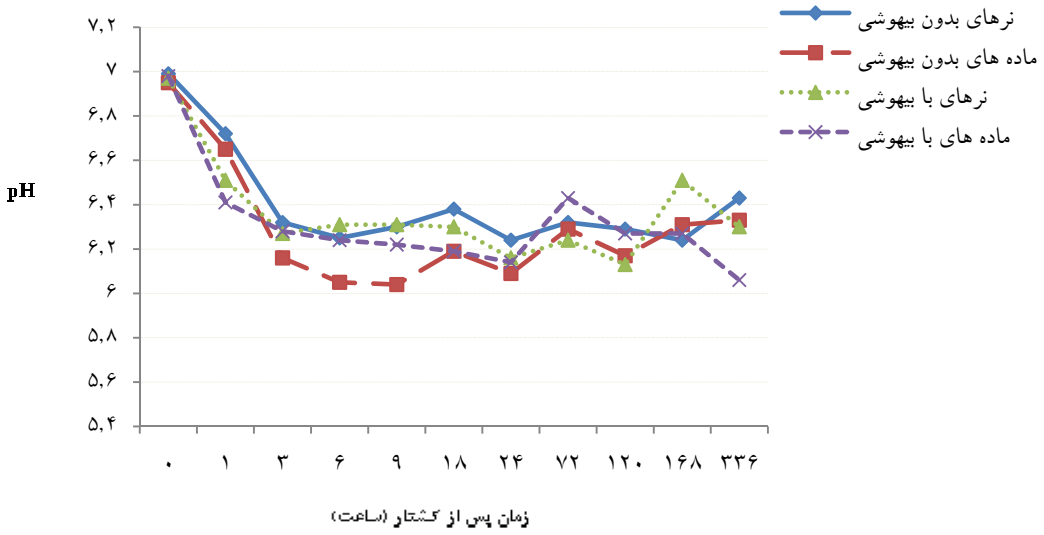
۱- pH Ultimate: کمترین مقدار pH در عضله که در طی ساعات اولیه پس از کشتار و حداکثر تا ۲۴ ساعت به دست می‌آید.

2- Dry Firm Dark (DFD)

3- pH decline

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- تغییرات pH در عضله *M. Gastrocnemius pars externa* تیمارهای مختلف شترمرغ طی ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۴ °C.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد میانگین pH جنس ماده (۶/۲۹) به طور معنی داری از جنس نر (۶/۴۰) کمتر بود ($p<۰/۰۵$) ضمن آنکه روند کاهش pH در آن نیز سریع تر اتفاق افتاد (جدول ۱). این اختلاف نشان می‌دهد شترمرغ‌های ماده استرس بیشتری داشته و به این دلیل ذخایر گلیکوژنی خود را پیش از کشتار بیشتر مصرف کردند (Hoffman, et al., 2007; Kandeepan et al., 2009).

جدول ۱- سرعت نزول pH در عضله *M. Gastrocnemius pars externa* شترمرغ ها طی ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۴ °C

زمان پس از کشتار (ساعت)	بدون بیهوشی		با بیهوشی	
	ماده	نر	ماده	نر
pH ۰-۱	۰/۳۲±۰/۰۸*	۰/۲۷±۰/۰۴	۰/۵۵±۰/۰۶	۰/۴۶±۰/۰۳
pH ۱-۳	۰/۴۹±۰/۱۶	۰/۴۰±۰/۱۷	۰/۱۳±۰/۰۵	۰/۲۴±۰/۰۹
pH ۳-۶	۰/۱۱±۰/۰۳	۰/۰۶±۰/۰۲	۰/۰۳±۰/۰۰	۰/۰۴±۰/۰۲
pH ۶-۲۴	۰/۱۵±۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۱	۰/۰۹±۰/۰۳	۰/۱۵±۰/۰۶
pH ۱-۲۴	۰/۵۵±۰/۱۵	۰/۴۸±۰/۱۱	۰/۲۷±۰/۱۰	۰/۳۵±۰/۱۱
p	جنس ۰/۳۳۳	زمان ۰/۰۰۰	شرایط ۰/۳۷۲	

* داده ها میانگین ۴ عدد± انحراف معیار می‌باشد.

تغییرات پروتئولیز

بر اساس آنالیز تصاویر ژل‌ها (شکل ۲)، طی پروتولیز پس از کشتار گوشت شترمرغ از روز ۱ تا ۱۴، به طور متوسط ۱۹ باند پروتئینی شناسایی شد. در شکل ۲، پروفایل الکتروفورتیک ژل‌های SDS-PAGE طی ۱۴ روز نگهداری عضله *M. Gastrocnemius pars externa* و در جدول ۲، مشخصات کلی تمامی باندها به طور میانگین از دو جنس نر و ماده و با شرایط کشتار متفاوت آورده شده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد میانگین بیشترین شدت باند که نشاندهنده بیشترین مقدار حضور پروتئین است به ترتیب مربوط به سه پروتئین اصلی α-اکتنین (۱۳/۶ درصد)، اکتین (۱۳/۵۴ درصد) و میوزین (۷/۵۸ درصد) و کمترین شدت به ترتیب مربوط به باندهای ۱۹/۵ کیلودالتون (۰/۴۵۶ درصد)، تروپونین T (۱/۸۸ درصد) و باند ۳۰ کیلودالتون (۱/۹۳ درصد) می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

۱) باند ۲۰۰≥ کیلودالتون (زنجیره سنگین میوزین، MHC[1]): میانگین شدت این باند در روز اول پس از کشتار ۸/۹۷ درصد بود که طی زمان ترد شدن به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$) تا در روز چهاردهم به ۵/۹۶ درصد رسید (جدول ۳). برخی مطالعات نشان داد مقدار پروتئین میوزین طی دوره رسیدگی گوشت تغییری نداشت (Gheisari et al., 2009; Gil et al., 2006) و برخی دیگر ثابت کرد زنجیره سنگین میوزین طی ترد شدن دچار تغییر شد اما این تغییر و شکسته شدن نسبت به سایر پروتئین‌ها با سرعت کمتری انجام گرفت (Ouali, 1990). با ملاحظه جدول ۳ و بررسی نتایج تجزیه واریانس در مطالعه حاضر می‌توان دریافت بیشترین کاهش مقدار زنجیره سنگین میوزین از روز سوم به بعد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). نظریه‌ای وجود دارد که بیان می‌کند با شروع دوره جمود نعشی، سر میوزین از طریق اتصال با اکتین خود را از دناتوره شدن محفوظ می‌دارد (Hoff-Lonergan et al., 2010) لذا تجزیه نمی‌گردد. میوزین سوبسترای اصلی آنزیم‌های کاتپسین است. محدوده مناسب pH برای فعالیت انواع مختلف آنزیم‌های کاتپسین ۳-۶/۵ می‌باشد و پس از ۲۴ ساعت اولیه کشتار وارد عمل می‌شوند (Jiang, 1998). با توجه به pH عضله *M.Gastrocnemius pars externa* که تا روز ۱۴ پس از کشتار بین ۶ تا ۶/۴ بود (شکل ۱)، لذا عضله مناسب آنزیم‌های کاتپسین به خصوص نوع B و L می‌باشد که در محدوه pH ۵/۵-۶/۵ فعالیت دارند. بر اساس پژوهش (Thomas, et al., 2004) آنزیم‌های کاتپسین B و L تا ۱۲ روز پس از کشتار به ترتیب ۸۳ و ۷۰ درصد فعالیت خود را در پروتئولیز حفظ نمودند. عدم وجود اختلاف معنی‌دار ($p>۰/۰۵$) در شدت باند میوزین تا روز سوم نشاندهنده فعالیت کاتپسین ها از روز سوم به بعد می‌باشد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر جنس و شرایط کشتار بر شدت پروتئولیز میوزین معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$).

۲) باند ۱۱۰ کیلودالتون (α-اکتنین): بر اساس نتایج تجزیه واریانس، میانگین باند α-اکتنین از روز اول (۱۳/۹۵ درصد) تا هفتم دارای تغییر غیرمعنی دار ($p>۰/۰۵$) و در روز چهاردهم (۱۰/۶۴ درصد) مقدار آن کاهش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). همچنین اثر جنس بر شدت این باند معنی دار ارزیابی شد ($p<۰/۰۵$). α-اکتنین پروتئینی کروی با وزن مولکولی ۱۰۵-۱۱۵ کیلودالتون، پروتئین اصلی خط Z می‌باشد و با همکاری پروتئین دسمین، میوفیبریل‌ها را کنار هم نگه می‌دارد (Hoff-Lonergan et al., 2010). در ساختار میوفیبریل، α-اکتنین غالباً مورد حمله کاتپسین های L و D قرار می‌گیرد که تا ۱۴ روز پس از کشتار فعال هستند (Jiang 1998; Thomas, et al., 2004). با توجه به کاهش مقدار α-اکتنین از روز سوم به بعد (به طور معنی دار در روز چهاردهم) می‌توان مشابه باند میوزین نتیجه گرفت کاتپسین‌های L و D از روز سوم فعالیت خود را شروع کرده و بیشترین اثر خود را در اواخر دوره ترد شدن (روز چهاردهم) داشته اند. Gil و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند α-اکتنین پس از ۲ هفته نگهداری عضله ران خرگوش در $4^{o}C$ مقدار کمی تغییر یافت. نکته دیگر اثر غیرمعنی‌دار ($p>۰/۰۵$) اعمال بیهوشی بر شدت پروتئولیز α-اکتنین بود که نشان داد شوک الکتریکی نتوانست فعالیت کاتپسین‌ها در عضله را افزایش دهد. هر چند Salm و همکاران (۱۹۸۳) نتیجه گرفتند اعمال بیهوشی در عضله گاو می‌تواند سبب افزایش تجزیه آلفا اکتنین گردد.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، میزان پروتئولیز α-اکتنین در جنس ماده (۱۳/۱۷ درصد) به طور معنی داری کمتر از جنس نر (۱۱/۶۲) بود ($p<۰/۰۵$). کالپائین ۱ تا حدی در تجزیه α-اکتنین نقش دارد اما سرعت بالای کاهش pH پس از کشتار، سبب اتولیز این آنزیم می‌شود (Hwang et al., 2003). همانطور که در جدول ۱ ملاحظه می‌گردد، دام های ماده دارای سرعت کاهش pH بیشتری نسبت به نرها بودند ($p<۰/۰۵$). لذا سرعت اتولیز کالپائین ۱ در دام‌های ماده بیشتر و بنابراین شدت پروتئولیز α-اکتنین به طور معنی داری ($p<۰/۰۵$) کمتر شد.

1- Myosin Heavy Chain (MHC)

Archive of SID

www.SID.ir

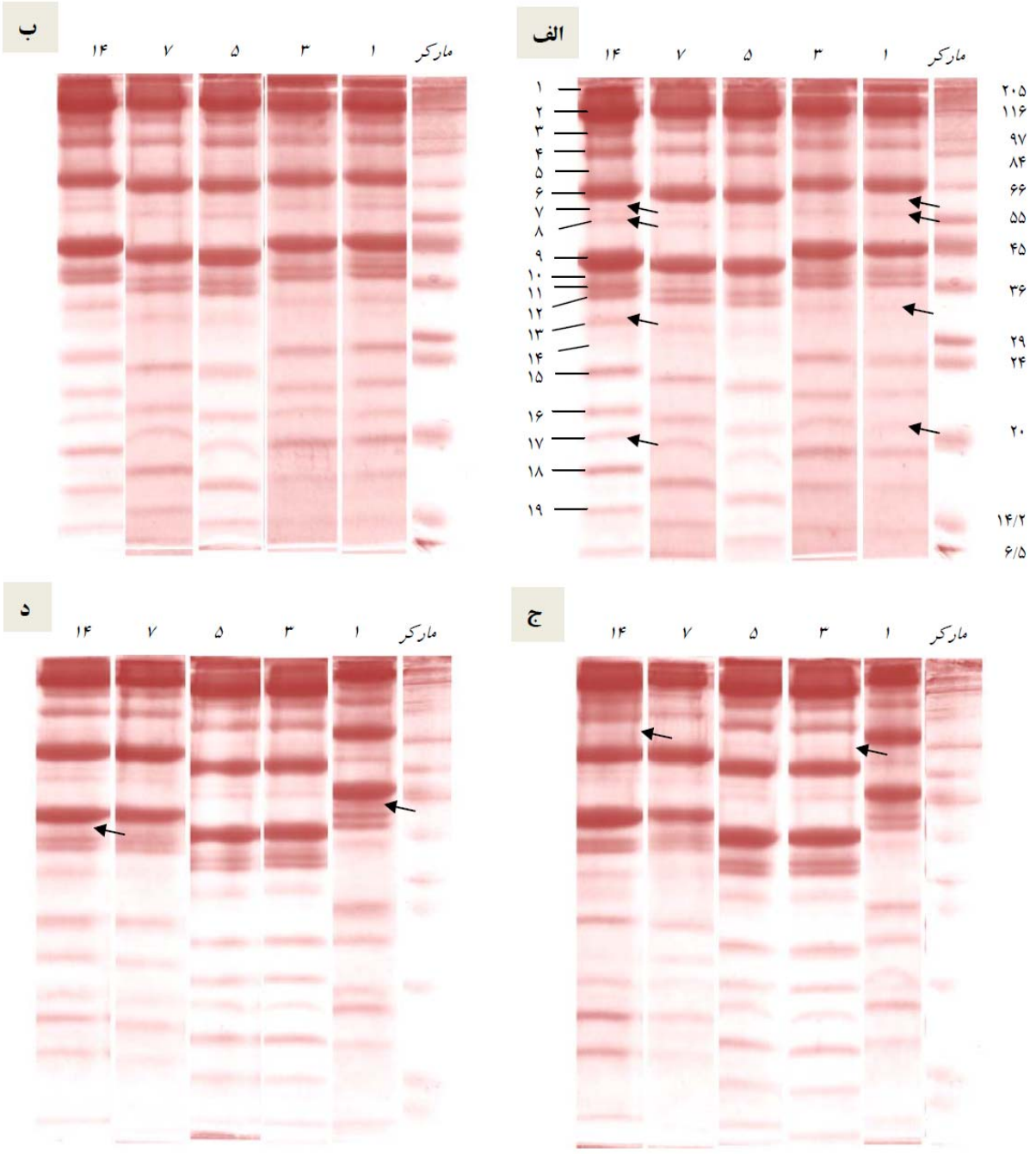
جدول ۲- جایگاه و میانگین ویژگی باندهای تشکیل شده از پروتئین های میوفیبریلی عضله *M. Gastrocnemius pars externa* شترمرغ در ژل ۱۲/۵ درصد آکریلامید SDS-PAGE

شماره باند	نام پروتئین	وزن مولکولی	R_f	مساحت باند	حداکثر درصد باند	حداقل درصد باند
۱	زنجیره میوزین	۲۰ ± ۲۰۰≤ *	*۰/۰۳۰±۰/۰۰۴	۵۶۵۶±۸۹۶	۹/۵۷	۵/۴۷
۲	α- اکتنین	۱۱۰±۸/۵	۰/۰۸۲±۰/۰۰۲	۱۰۲۰۸±۱۲۹۸	۱۶/۴۸	۱۰/۱۸
۳		۱۰۰±۳/۲	۰/۱۲۰±۰/۰۰۵	۶۵۸۷±۷۳۴	۶/۷۱	۳/۴۵
۴		۹۰±۱/۸	۰/۱۵۴±۰/۰۰۴	۸۳۶۲±۴۲۰	۶/۹۹	۵/۵۲
۵		۷۵±۱/۱	۰/۱۹۵±۰/۰۰۴	۴۹۷۵±۱۹۸	۴/۱۰	۱/۵۰
۶	سرم آلبومین گاوی	۶۶±۲/۰	۰/۲۳۵±۰/۰۱۰	۱۲۵۳۵±۱۱۰۰	۱۰/۳۳	۹/۶۵
۷		۶۰±۱/۲	۰/۲۷۹±۰/۰۰۵	۴۸۲۳±۴۳۹	۵/۲۵	۰/۸
۸	دسمین	۵۷±۱/۰	۰/۳۰۰±۰/۰۱۵	۶۳۹۳±۶۵۷	۵/۵۰	۲/۲۰
۹	اکتین	۴۴±۰/۸	۰/۳۷۰±۰/۰۱۲	۱۲۳۴۱±۱۲۴۳	۱۶/۰۹	۱۱/۳۳
۱۰	تروپونین T	۴۰±۱/۵	۰/۴۱۰±۰/۰۲۲	۳۸۷۰±۱۷۶	۳/۴۲	۰/۳۵
۱۱	تروپومیوزین ۱	۳۸±۱/۱	۰/۴۲۵±۰/۰۲۳	۵۱۰۳±۴۵۸	۵/۲۱	۴/۱۶
۱۲	تروپومیوزین ۲	۳۵±۱/۵	۰/۴۴۰±۰/۰۱۷	۶۲۴۴±۶۷۰	۴/۶۳	۳/۷۰
۱۳		۳۲±۱/۰	۰/۴۷۸±۰/۰۲۲	۷۲۰۵±۱۱۱۸	۵/۶۵	۲/۱۸
۱۴		۳۰±۰/۹	۰/۴۹۳±۰/۰۰۹	۶۸۷۰±۸۹۶	۴/۰۹	۰/۷
۱۵		۲۵±۱/۷	۰/۵۵۳±۰/۰۳۱	۱۰۹۰۰±۱۲۹۳	۶/۴۸	۳/۲۴
۱۶	تروپونین I	۲۰±۰/۴	۰/۶۵۰±۰/۰۱۷	۹۸۲۰±۱۴۳۲	۵/۱۰	۲/۱۹
۱۷	زنجیره میوزین سبک	۱۹/۷±۰/۲	۰/۶۹۰±۰/۰۲۶	۱۰۱۲۸±۶۰۱	۶/۴۵	۳/۷۲
۱۸	تروپونین C	۱۹/۵±۰/۲	۰/۷۷۰±۰/۰۳۰	۹۸۴۳±۷۳۹	۵/۷۰	۱/۶۱
۱۹	زنجیره میوزین سبک	۱۷±۰/۵	۰/۸۳۱±۰/۰۱۰	۹۲۳۲±۹۳۱	۵/۴۲	۲/۶۰

* داده ها میانگین ۸۰ عدد ± انحراف معیار می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۲- پروفایل الکتروفورتیک (ژل آکریلامید ۱۲/۵ درصد) پروتئین‌های میوفیبریلی عضله *M.Gastrocnemius pars externa* شترمرغ طی ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۴ روز زمان ترد شدن (الف: نمونه‌های شترمرغ ماده بدون بیهوشی، ب:نمونه‌های شترمرغ ماده با بیهوشی، ج:نمونه‌های شترمرغ نر بدون بیهوشی، د:نمونه‌های شترمرغ نر با بیهوشی). پروتئین‌های مارکر بر اساس وزن مولکولی (کیلودالتون) شامل: ۲۰۵: میوزین، ۱۱۶: بتاگالاکتوزیداز، ۹۷: فسفوریلاز، ۸۴: فروکتوز-۶-فسفات کیناز، ۶۶: آلبومین، ۵۵: گلوتامیک دهیدروژناز، ۴۵: اووآلبومین، ۳۶: گلیسرآلدهید-۳-فسفات دهیدروژناز، ۲۹: کربونیک انهیدراز، ۲۴: تریپسینوژن، ۲۰: تریپسین اینهبیتور، ۱۴/۲: آلفالاتالبومین، ۶/۵: آپروتیتین. باندهای شماره گذاری شده در سمت چپ شکل الف عبارتست از: ۱: ۲۰۰KDa≤ ۲: ۱۱۰ KDa ،۳: ۱۰۰ KDa ،۴: ۹۰ KDa ،۵: ۷۵ KDa ،۶: ۶۶ KDa ،۷: ۶۰ KDa ،۸: ۵۷ KDa ،۹: ۴۴ KDa ،۱۰: ۴۰ KDa ،۱۱: ۳۸ KDa ،۱۲: ۳۵ KDa ،۱۳: ۳۲ KDa ،۱۴: ۳۰ KDa ،۱۵: ۲۵ KDa ،۱۶: ۲۰ KDa ،۱۷: ۱۹/۷ KDa ،۱۸: ۱۹/۵ KDa ،۱۹: ۱۷ KDa.

www.SID.ir

۳) باند ۱۰۰ کیلودالتون: بر اساس نتایج تجزیه واریانس، از روز اول (۴/۰ درصد) در ژل‌های مورد بررسی باندی با وزن ۱۰۰ کیلودالتون دیده شد که در روز سوم به حداکثر مقدار خود (۵/۱۸ درصد) رسید ($p<۰/۰۵$). مقدار این پروتئین از روز سوم به بعد شروع به کاهش نمود اما با توجه به اینکه میانگین شدت باند حتی در روز چهاردهم (۴/۷۸ درصد) بیش از مقدار آن در روز اول بود (جدول ۳) لذا می‌توان نتیجه گرفت در دسته باندهایی است که طی پروتئولیز گوشت شترمرغ ایجاد شده است. Koohmaraie (۱۹۹۴) و Sentandreu و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند از اتفاقات طی پروتئولیز گوشت به وجود آمدن پلی پپتیدهایی با وزن مولکولی ۹۵ کیلودالتون (شاید ناشی از تجزیه میوزین) می‌باشد. احتمال می‌رود این باند حاصل تجزیه شدن پروتئین‌های سنگین‌تر باشد که به صورت یک ترکیب حد واسط حداکثر مقدار خود را در روز سوم تا هفتم داشته و بعد به پروتئین‌های دیگر با وزن مولکولی کمتر شکسته شده و لذا مقدار آن در روز چهاردهم کم شده است.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر شرایط کشتار و همچنین تغییرات جنس نر و ماده در شدت باند ۱۰۰ کیلودالتونی طی زمان معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). مقدار میانگین این باند به طور معنی‌داری در دام های شوک داده (۴/۴۷ درصد) کمتر از شوک نداده (۵/۳۱ درصد) و در دام‌های نر (۴/۵۴ درصد) کمتر از ماده (۵/۲۵ درصد) ارزیابی شد. احتمال می‌رود باند ۱۰۰ کیلودالتونی حاصل تجزیه و تغییر تیتین یا نبولین باشد که توسط کالپائین۲ مورد تجزیه قرار گرفته است، زیرا تغییر معنی‌دار شدت باند ۱۰۰ کیلودالتونی مربوط به روزهای اول تا سوم پس از کشتار می‌باشد. از آنجا که سرعت نزول pH در دام‌های شوک داده بیشتر به دست آمد (جدول ۱)، لذا در این دام ها pH برای فعالیت آنزیم کالپائین ۲ نسبت به ۱ مناسب تر بوده است. در نتیجه امکان پروتئولیز پروتئین‌های بزرگتر نظیر تیتین و نبولین در این دام ها فراهم تر و بنابراین شدت باند ۱۰۰ کیلودالتونی که حاصل تجزیه آن می‌باشد در دام‌های شوک داده بیشتر مشاهده شد.

۴) باند ۹۰ کیلودالتون: بر اساس نتایج تجزیه واریانس، از روز اول پس از کشتار باند ۹۰ کیلودالتونی مشاهده شد که علیرغم افزایش جزئی مقدار آن تا روز هفتم (جدول ۳)، اما تغییرات آن طی زمان در بین هر دو جنس و با شرایط کشتار متفاوت، معنی دار ارزیابی نشد ($p>۰/۰۵$).

۵) باند ۷۵ کیلودالتون: با ملاحظه و مقایسه دقیق ژل‌ها می‌توان باندی خفیف با وزن مولکولی ۷۵ کیلودالتون مشاهده کرد (شکل ۲). میانگین شدت این باند طی زمان ترد شدن به خصوص در روز سوم (۳/۲۲ درصد) و روز چهاردهم (۳/۱۰ درصد) افزایش معنی‌دار نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). احتمال می‌رود مشابه باند ۱۰۰ کیلودالتونی این باند نیز ناشی از تجزیه پروتئین‌های بزرگ تر نظیر تیتین یا نبولین باشد که البته هم توسط کالپائین‌ها (بویژه m-کالپائین) و هم کاتپسین‌ها مورد حمله قرار گرفته است. تیتین و نبولین از جمله پروتئین‌هایی هستند که هر دو گروه آنزیم‌ها قادر به شکستن آن‌ها می‌باشند (Ouali, 1990). افزایش مقدار باند ۷۵ کیلودالتون از روز اول (۲/۳۳ درصد) تا سوم نشان می‌دهد پروتئین بزرگتری تجزیه شده که چون در سه روز ابتدایی پس از کشتار می‌باشد این تجزیه غالباً توسط کالپائین ها صورت گرفته است. پس از آن شدت این باند تا روز هفتم (۲/۶۰ درصد) به طور جزئی کاهش داشت که احتمالاً خود این باند در حال تجزیه شدن به فراگمنت‌های کوچکتر بود. اما با شروع فعالیت کاتپسین‌ها شدت این باند در روز چهاردهم زیاد شد که بیان می‌کند دوباره پروتئین بزرگتر شامل تیتین یا نبولین مورد هدف آنزیم‌های کاتپسین واقع شده و از جمله فراگمنت‌های ایجاد شده آن باند ۷۵ کیلودالتون بود. لازم به ذکر است در مطالعه سایر پژوهشگران بر پروتئولیز گوشت‌های مختلف از حضور این باند اثری دیده نشده است. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، شدت این باند در جنس ماده (۳/۰۲ درصد) به طور معنی‌داری بیشتر از جنس نر (۲/۴۱ درصد) ارزیابی شد ($p<۰/۰۵$). از آنجایی که به دلیل سرعت زیاد نزول pH در دام های ماده امکان فعالیت m-کالپائین بیش از μ-کالپائین است (Hwang, et al., 2003)، لذا شاید بتوان نتیجه گرفت در سه روز اول تغییر، نقش m-کالپائین در تجزیه پروتئین بزرگتر بیشتر بوده است.

۶) باند ۶۰ کیلودالتون: در اثر نگهداری عضله *M.Gastrocnemius pars externa* در یخچال،

Archive of SID

www.SID.ir

میانگین شدت باند ۶۰ کیلودالتون از ۱/۴۷ درصد (روز اول) به ۲/۸۷ درصد (روز هفتم) افزایش ($p<۰/۰۵$) و پس از ۱۴ روز به ۲/۳۴ درصد کاهش یافت که معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). این باند نیز می‌تواند ناشی از تجزیه پروتئین‌های بزرگتر باشد که با توجه به تغییرات معنی‌دار آن در هفته اول پس از کشتار، احتمالاً بیشتر توسط کالپائین‌ها مورد تجزیه قرار گرفته است. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، مقدار میانگین این پروتئین در دام های شوک نداده (۲/۵۲ درصد) به طور معنی‌داری بیش از شوک داده‌ها (۲/۰۵ درصد) ارزیابی شد ($p<۰/۰۵$). از آنجا که در اثر کاهش سریع pH، مقدار فعالیت کالپائین۱ کم می‌شود (Hwang, et al., 2003) لذا این آنزیم در دام‌های شوک داده که کاهش pH سریع داشتند (جدول ۱)، نتوانسته به اندازه کافی فعالیت نماید و در نتیجه شدت باند ۶۰ کیلودالتونی در دام‌های شوک داده و همچنین جنس ماده به خصوص در روز اول کمتر بود (جدول ۳). بر اساس نتایج تجزیه واریانس، شدت باند ۶۰ کیلودالتونی بین جنس نر (۲/۲۴ درصد) و ماده (۲/۳۴ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$).

۷) باند ۵۷ کیلودالتون (دسمین): بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر زمان، شرایط کشتار و اثرات متقابل آن بر شدت پروتئولیز دسمین معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). دسمین مهم‌ترین پروتئین ساختار فیلامنت است که مسئول صف بندی حلقه های Z در فیبر عضله می‌باشد. ناپدید شدن یا کاهش مقدار این پروتئین می‌تواند با نابودی خط Z و بنابراین ترد شدن گوشت همراه باشد. کالپائین‌ها به خصوص کالپائین۲، بطور ویژه دسمین را تجزیه می‌کند. عمده فعالیت این آنزیم از روز اول کشتار به بعد می‌باشد (Ouali 1990; Huff-loneragan et al., 2010). Koohmaraie (۱۹۹۴) تجزیه دسمین را از مهم ترین تغییرات پروتئین‌های اسکلتی لاشه پس از کشتار بیان کرد. یافته‌های محققین نشان داد که دسمین شاخص خوبی در پروتئولیز پس از کشتار و تردی است، به طوری که از ۴۵ دقیقه تا ۶ ساعت پس از کشتار شروع به تجزیه می‌نماید و ۱ تا ۳ روز پس از کشتار میزان آن به ۴۶ درصد میزان اولیه خود در گوشت می‌رسد (Choi & Kim, 2009). همانطور که در جدول ۳ ملاحظه می‌گردد، میانگین مقدار دسمین در روز اول ۵/۱۵ درصد بود که در روز سوم (۳/۰۹ درصد) و هفتم (۳/۱۵ درصد) به کمترین مقدار خود رسید ($p<۰/۰۵$). بیشترین تجزیه دسمین از روز اول تا سوم رخ داد (جدول ۳) و کالپائین۱ همراه کالپائین۲ در تجزیه دسمین نقش داشته زیرا تا سه روز اولیه پس از کشتار کالپائین ۱ فعالیت بیشتری دارد. نظر بر اینکه هرچه پروتئین دسمین بیشتر شکسته شود، تردی گوشت بیشتر خواهد بود (Ouali, 1990) لذا می‌توان نتیجه گرفت که عضله *M. Gastrocnemius pars externa* احتمالاً بیشترین تردی را در روزهای سوم تا هفتم پس از کشتار دارد. نکته دیگر آنکه پروتئین دسمین به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در دام‌های شوک نداده (۳/۴۴ درصد) بیش از شوک داده (۴/۰ درصد) تجزیه شد. دلیل این امر را شاید بتوان به نزول سریع تر pH در ساعات اولیه پس از کشتار در دام‌های شوک داده نسبت داد که امکان فعالیت کالپائین۱ را کم کرده و کالپائین۲ سریع تر وارد عمل شده است (Hwang et al., 2003). چون عمده تغییرات دسمین در روزهای اول و تحت فعالیت کالپائین۱ می‌باشد، لذا شدت پروتئولیز آن در دام‌های شوک نداده بیش از شوک داده مشاهده شد. بر اساس نتایج واریانس، شدت تجزیه دسمین در دام‌های نر (۳/۸۲ درصد) و ماده (۳/۶۲ درصد) تفاوت معنی‌داری با هم نداشت ($p>۰/۰۵$). Ouali (۱۹۹۰) نتیجه گرفتند طی نگهداری عضله گوساله در یخچال باند دسمین دچار تجزیه شدید شد.

۸) باند ۴۴ کیلودالتون (اکتین): بر اساس نتایج تجزیه واریانس، میانگین مقدار باند اکتین از روز اول (۱۴/۱۰ درصد) تا هفتم (۱۴/۰۴ درصد) پس از کشتار تغییر معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$) اما در روز چهاردهم (۱۲/۱۰ درصد) از شدت آن کاسته شد ($p<۰/۰۵$). نتیجه حاضر با پژوهش (Taylor et al., 1995) مطابقت دارد که گزارش کردند اکتین ۷ تا ۱۰ روز پس از کشتار مورد تجزیه قرار گرفت و مسئول آن کاتپسین‌ها بودند. همچنین مقدار این پروتئین اصلی عمل انبساط و انقباض در تمامی روزهای پس از کشتار به غیر از روز چهاردهم، در عضلات ماده (۱۴/۱۷ درصد) بیشتر از نر (۱۲/۹۰ درصد) به دست

Archive of SID

www.SID.ir

آمد ($p<۰/۰۵$)، به این معنا که اکتین در عضلات جنس ماده کمتر تحت تاثیر پروتئولیز قرار گرفت. هر چند اختلاف میانگین شدت باند اکتین در روز چهاردهم و در میان دو جنس نر و ماده به لحاظ آماری معنی‌دار بود اما شاید به لحاظ علمی این کاهش حدوداً ۲ درصدی طی ۷ روز چندان درخور توجه نباشد.Bandman و Zdanis (۱۹۸۸)، Koohmaraie و همکاران (۱۹۹۵)، Gheisari و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند اکتین از مهم‌ترین پروتئین‌های میوفیبریلی است که طی تردشدن تغییری نداشت. اکتین سوبسترای آنزیم‌های کاتپسین است و این آنزیم‌ها بهترین فعالیت خود را در pH های ۵/۵ تا ۶/۵ دارد. بر اساس پژوهش حاضر، اثر آنزیم‌های کاتپسین بر اکتین در جنس ماده کمتر بود. این پدیده شاید با کمتر بودن میانگین pH عضله در دام‌های ماده (۶/۲۹) نسبت به دام‌های نر (۶/۴۰) و یا سرعت بیشتر کاهش pH در دام‌های ماده بعد از کشتار ارتباط داشته باشد. بر اساس نتایج واریانس، اعمال بیهوشی الکتریکی تاثیر معنی‌داری بر شدت باند اکتین نداشت ($p>۰/۰۵$).

جدول ۳- مقدار باندهای (درصد) پروتئین های میوفیبریلی عضله *M. Gastrocnemius pars externa* شترمرغ طی دوره ترد شدن در ژل ۱۲/۵ درصد آکریلامید SDS-PAGE

باند/پروتئین	نوع دام		زمان پس از کشتار (روز)				
			۱	۳	۵	۷	۱۴
زنجیره سنگین میوزین	بدون بیهوشی	ماده	۸/۳۸±۱/۷۴*	۸/۶۲±۰/۷۸	۸/۶۷±۱/۸۵	۷/۴۱±۰/۸۶	۵/۸۳±۰/۵۹
		نر	۸/۷۰±۲/۴۰	۹/۵۷±۴/۰۶	۶/۴۷±۰/۳۲	۵/۹۴±۰/۶۳	۵/۴۷±۰/۵۴
	با بیهوشی	ماده	۹/۴۴±۳/۳۰	۷/۷۷±۱/۳۶	۷/۳۰±۱/۵۰	۸/۰۷±۰/۵۷	۶/۳۹±۰/۶۲
		نر	۹/۳۴±۲/۴۳	۸/۸۶±۱/۶۰	۶/۵۸±۰/۵۹	۶/۵۸±۰/۲۲	۶/۱۵±۰/۴۶
	p		جنس ۰/۲۶۵	زمان ۰/۰۰	شرایط کشتار ۰/۷۰۶		
α- اکتنین	بدون بیهوشی	ماده	۱۴/۶۷±۴/۵۸	۱۶/۴۸±۰/۷۹	۱۵/۱۰±۱/۳۰	۱۳/۷۵±۵/۴۱	۱۱/۰۸±۱/۳۰
		نر	۱۱/۵۲±۱/۴۲	۱۱/۸۳±۳/۱۳	۱۲/۹۳±۰/۶۶	۱۱/۲۰±۳/۱۹	۱۰/۱۸±۰/۹۴
	با بیهوشی	ماده	۱۴/۲۶±۲/۴۷	۱۴/۴۱±۲/۷۲	۱۴/۳۶±۳/۳۰	۱۶/۲۳±۰/۵	۱۰/۷۳±۱/۴۱
		نر	۱۱/۴۴±۱/۹۷	۱۳/۷۶±۱/۹۴	۱۲/۴۷±۱/۷۸	۱۰/۳۷±۲/۶۲	۱۰/۵۷±۰/۷۲
	p		جنس ۰/۰۰	زمان ۰/۰۰۱	شرایط کشتار ۰/۴۸۷		
۱۰۰کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۴/۲۰±۰/۶۵	۶/۶۰±۰/۹۱	۶/۷۱±۲/۰۲	۵/۳۶±۰/۷۷	۵/۱۱±۰/۴۴
		نر	۴/۴۹±۰/۷۴	۴/۳۷±۰/۹۵	۴/۶۹±۰/۴۱	۵/۱۱±۰/۴۷	۴/۶۰±۰/۴۶
	با بیهوشی	ماده	۳/۷۲±۰/۵	۵/۴۶±۰/۹۲	۴/۶۸±۰/۴۱	۴/۹۲±۰/۵۸	۵/۱۰±۰/۷۱
		نر	۳/۴۵±۰/۳۱	۴/۵۳±۰/۴۷	۴/۵۷±۰/۴۳	۴/۶۲±۰/۷۷	۴/۳۲±۰/۳۹
	p		جنس ۰/۰۱۰	زمان ۰/۰۰۱	شرایط کشتار ۰/۰۲۸		
۹۰ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۵/۹۶±۰/۷۲	۵/۵۲±۱/۰۴	۷/۰۷±۱/۳۴	۶/۳۹±۰/۵۴	۵/۹۷±۰/۲۸
		نر	۶/۷۱±۰/۶۷	۶/۵۳±۰/۴۳	۶/۰±۰/۸۷	۶/۵۰±۰/۵۴	۶/۰۴±۰/۶۶
	با بیهوشی	ماده	۶/۹۹±۱/۲۴	۶/۵۶±۰/۶۰	۶/۴۲±۰/۵۴	۶/۵۳±۰/۹۷	۶/۶۰±۰/۴۰
		نر	۵/۶۶±۱/۱۹	۵/۸۷±۰/۶۱	۶/۱۶±۰/۸۱	۶/۷۹±۰/۵۴	۶/۰۱±۰/۷۴
	p		جنس ۰/۳۳۷	زمان ۰/۵۱۰	شرایط کشتار ۰/۶۲۱		
۷۵ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۲/۳۰±۰/۱۰	۳/۱۴±۰/۲۵	۲/۳۶±۱/۱۸	۳/۳۵±۰/۶۱	۴/۱۰±۰/۸۲
		نر	۱/۵۰±۰/۲۲	۳/۱۰±۰/۴۵	۲/۹۴±۰/۶۶	۲/۳۰±۰/۲۱	۳/۱۶±۰/۴۱
	با بیهوشی	ماده	۲/۵۲±۰/۱۲	۳/۵۳±۰/۴۶	۳/۱۴±۰/۵۳	۳/۲۰±۰/۴۴	۲/۶۰±۰/۵۴
		نر	۳/۰±۰/۴۰	۳/۱۰±۰/۴۵	۳/۲۳±۰/۲۵	۲/۵۰±۰/۲۳	۲/۵۰±۰/۸۰
	p		جنس ۰/۰۰	زمان ۰/۰۰	شرایط کشتار ۰/۲۲۹		

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۳

باند/پروتئین	نوع دام		زمان پس از کشتار (روز)				
			۱	۳	۵	۷	۱۴
۶۰ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۱/۲۵±۰/۵۰	۲/۲۷±۰/۴۳	۳/۳۰±۱/۰۶	۲/۲۸±۰/۱۸	۳/۲۴±۰/۴۰
		نر	۱/۹۷±۰/۶۸	۱/۷۳±۱/۰۳	۲/۳۸±۰/۹۸	۵/۲۵±۱/۲۴	۱/۵۸±۰/۹۳
	با بیهوشی	ماده	۰/۸±۰/۱۰	۲/۳۴±۰/۱۳	۲/۸۶±۰/۳۰	۲/۵۴±۰/۰۹	۲/۵۵±۰/۶۰
		نر	۱/۸۷±۰/۲۵	۲/۱۴±۰/۲۵	۲/۴۵±۰/۶۲	۱/۲۸±۰/۲	۲/۰±۰/۵۷
			جنس	زمان	شرایط کشتار		
		p	۰/۴۶۵	۰/۰۰	۰/۰۰۲		
۵۷ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۴/۸۵±۰/۳۱	۲/۸۸±۰/۴۶	۳/۴۰±۰/۰۵	۲/۷۲±۰/۳۴	۳/۴۳±۰/۳۰
		نر	۵/۵۰±۰/۲۷	۳/۰۳±۰/۳۷	۳/۳۵±۰/۶۲	۲/۲۰±۰/۲۴	۴/۰۹±۰/۵۵
	با بیهوشی	ماده	۴/۹۵±۰/۹۴	۳/۳۰±۰/۳۶	۳/۷۰±۰/۳۷	۳/۴۹±۰/۳۴	۳/۵۱±۰/۸۲
		نر	۵/۳۰±۰/۶۳	۳/۱۴±۰/۶۰	۳/۳۳±۰/۵۴	۵/۲۰±۰/۲۳	۴/۱۵±۰/۷۴
			جنس	زمان	شرایط کشتار		
		p	۰/۲۳۹	۰/۰۰	۰/۰۰		
اکتین	بدون بیهوشی	ماده	۱۴/۶۱±۱/۴۷	۱۵/۱۷±۰/۸	۱۴/۹۲±۱/۰۵	۱۵/۶۸±۱/۰۲	۱۱/۷۰±۱/۳۰
		نر	۱۳/۸۹±۲/۱۱	۱۳/۰۱±۲/۱۰	۱۳/۱۵±۰/۵۱	۱۱/۳۶±۱/۶۰	۱۲/۱۶±۰/۵۲
	با بیهوشی	ماده	۱۳/۶۰±۰/۲۹	۱۴/۷۱±۲/۰۳	۱۳/۷۰±۱/۹۳	۱۶/۰۹±۰/۵۹	۱۱/۳۳±۱/۰۱
		نر	۱۴/۳۰±۱/۳۰	۱۲/۸۱±۰/۹۶	۱۲/۴۵±۱/۲۸	۱۳/۲۱±۰/۴۷	۱۳/۱۲±۱/۱۷
			جنس	زمان	شرایط کشتار		
		p	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۷۸۵		
تروپونین T	بدون بیهوشی	ماده	۱/۴۰±۰/۷	۱/۵۳±۰/۸۱	۱/۷۲±۰/۸۷	۱/۷۰±۰/۸۲	۰/۵±۰/۱
		نر	۲/۶۵±۱/۴۰	۱/۶۹±۰/۸۱	۱/۸±۰/۱	۲/۴۷±۱/۵۰	۰/۶۵±۰/۰۸
	با بیهوشی	ماده	۱/۳۵±۰/۷	۱/۳۰±۰/۶۱	۱/۴۷±۰/۵۱	۱/۵۰±۰/۹۱	۰/۵±۰/۱۲
		نر	۱/۹۴±۰/۷	۱/۹۸±۰/۹۷	۳/۴۲±۰/۹۹	۱/۷۲±۰/۶۶	۰/۳۵±۰/۰۵
			جنس	زمان	شرایط کشتار		
		p	۰/۰۴۵	۰/۰۰	۰/۵۴۲		
۳۸ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۵/۰۲±۰/۲۶	۵/۲۱±۰/۹۸	۴/۹۴±۰/۴۹	۴/۵۴±۱/۰۲	۴/۷۱±۰/۲۳
		نر	۵/۰۴±۰/۳۲	۴/۷۶±۱/۰۲	۴/۳۹±۰/۵۱	۴/۸۵±۰/۲۸	۴/۰۸±۰/۶۰
	با بیهوشی	ماده	۴/۲۵±۰/۳۵	۴/۸۰±۰/۷۷	۴/۶۸±۰/۴۶	۴/۸۱±۰/۳۶	۴/۵۴±۰/۳۹
		نر	۴/۶۱±۰/۲۱	۴/۹۶±۱/۳۶	۴/۴۵±۱/۳۳	۴/۷۷±۰/۵۷	۴/۱۶±۰/۷۵
			جنس	زمان	شرایط کشتار		
		p	۰/۳۶۵	۰/۲۶۵	۰/۳۴۵		
۳۵ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۴/۰۴±۰/۶۷	۴/۰۳±۰/۲۲	۴/۱۵±۰/۲۳	۳/۹۷±۰/۲۹	۴/۰۳±۰/۲۲
		نر	۴/۱۸±۰/۶۴	۴/۱۰±۰/۵۴	۴/۱۴±۰/۴۵	۳/۷۰±۰/۱۸	۳/۹۹±۰/۳۸
	با بیهوشی	ماده	۳/۸۰±۰/۸۱	۳/۹۶±۰/۲۶	۴/۲۵±۰/۲۶	۳/۸۱±۰/۷۳	۴/۰۴±۰/۶۶
		نر	۴/۶۳±۰/۶	۳/۹۷±۰/۳۹	۳/۸۳±۰/۴۵	۴/۳۳±۰/۴۵	۴/۳۹±۰/۷۰
			جنس	زمان	شرایط کشتار		
		p	۰/۲۹۳	۰/۷۸۲	۰/۵۳۲		
۳۲ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۲/۲۵±۰/۷۸	۲/۱۸±۰/۴۵	۳/۱۲±۰/۷۵	۲/۹۶±۰/۵۱	۴/۸۴±۰/۲۲
		نر	۳/۱۵±۰/۹۴	۳/۲۴±۰/۷	۴/۳۲±۰/۳۶	۴/۸۰±۱/۱۳	۵/۶۵±۱/۱۵
	با بیهوشی	ماده	۲/۸۹±۰/۶۷	۳/۴۰±۰/۷۳	۳/۴۳±۰/۵۰	۳/۴۶±۰/۱۶	۵/۳۴±۱/۳۱
		نر	۳/۱۷±۱/۱۳	۳/۶۴±۰/۵۸	۴/۳۱±۰/۸۴	۴/۵۵±۰/۷۳	۵/۳۱±۰/۹۰
			جنس	زمان	شرایط کشتار		
		p	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۱۱۸		

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۳

باند/پروتئین	نوع دام		زمان پس از کشتار (روز)				
			۱	۳	۵	۷	۱۴
۳۰ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۱/۲۶±۰/۳۱	۰/۷۲±۰/۲۹	۱/۰۳±۰/۱۱	۰/۹۹±۰/۱۶	۳/۵۰±۰/۰۶
		نر	۰/۷۰±۰/۲۵	۱/۸۹±۰/۳۶	۲/۱۹±۰/۱۵	۲/۶۱±۰/۴۷	۳/۰۱±۰/۷۲
	با بیهوشی	ماده	۱/۸۱±۰/۸۲	۱/۴۱±۰/۸۳	۱/۱±۰/۱۲	۱/۲۰±۰/۱۹	۲/۷۴±۰/۳۹
		نر	۲/۰±۱/۲۲	۳/۳۰±۰/۳۹	۲/۲۲±۰/۱۸	۱/۹۱±۰/۳۱	۴/۰۹±۰/۲۸
	p		جنس ۰/۰۰	زمان ۰/۰۰	شرایط کشتار ۰/۰۱۰		
۲۵ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۴/۴۱±۰/۹۷	۳/۵۱±۰/۴۶	۳/۴۴±۰/۴۰	۳/۲۴±۰/۴۸	۵/۷۸±۰/۵۸
		نر	۴/۷۰±۰/۸۱	۴/۸۲±۰/۹۸	۵/۵۹±۰/۳۶	۶/۰±۰/۶۸	۶/۴۸±۰/۹۰
	با بیهوشی	ماده	۳/۹۸±۰/۳۳	۴/۸۹±۱/۱۴	۴/۳۷±۰/۹۵	۳/۸۵±۰/۴۰	۵/۵۵±۰/۲۶
		نر	۵/۳۳±۱/۲۹	۴/۲۲±۰/۴۵	۵/۴۶±۰/۲۲	۵/۷۹±۱/۲۸	۵/۸۵±۰/۷۳
	p		جنس ۰/۰۰	زمان ۰/۰۰	شرایط کشتار ۰/۴۷۴		
۲۰ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۳/۰±۰/۶۵	۳/۱۹±۱/۱۷	۳/۳۴±۱/۱۱	۲/۵۷±۰/۱۸	۴/۷۲±۰/۶۲
		نر	۳/۲۵±۰/۹۵	۳/۶۲±۰/۶۳	۴/۶۰±۰/۲۷	۴/۹۵±۰/۸۴	۵/۱۰±۰/۶۹
	با بیهوشی	ماده	۴/۱۰±۰/۴۸	۲/۱۹±۰/۲۱	۲/۳۵±۰/۵۶	۳/۴۴±۰/۵۲	۴/۸۷±۰/۵۲
		نر	۴/۸۹±۱/۲۵	۳/۸۳±۰/۷۴	۴/۷۷±۰/۴۰	۴/۹۴±۰/۴۷	۴/۶۴±۱/۳۸
	p		جنس ۰/۶۲۱	زمان ۰/۰۰	شرایط کشتار ۰/۴۰۰		
۱۹/۷ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۵/۲۱±۰/۳۷	۳/۹۸±۰/۲۵	۳/۷۲±۰/۵۳	۳/۷۲±۰/۷۱	۵/۴۶±۰/۴۴
		نر	۴/۰۴±۱/۵۰	۵/۱۰±۱/۱۱	۶/۲۵±۰/۵۲	۵/۴۲±۰/۴۵	۶/۱۸±۱/۱۷
	با بیهوشی	ماده	۵/۱۸±۰/۹۷	۴/۶۴±۰/۶۹	۴/۵۵±۰/۹۸	۳/۹۶±۰/۳۰	۵/۲۸±۰/۷۵
		نر	۵/۵۲±۱/۸۷	۴/۸۴±۰/۴۸	۵/۵۲±۰/۵۷	۵/۹۹±۰/۹۵	۶/۴۵±۰/۶۱
	p		جنس ۰/۰۰	زمان ۰/۰۰	شرایط کشتار ۰/۴۰۰		
۱۹/۵ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۳/۵۷±۰/۳۹	۲/۰۸±۰/۴۸	۲/۰±۰/۷۱	۱/۹۴±۰/۶۲	۴/۳۹±۰/۵۸
		نر	۲/۱۲±۱/۰۹	۳/۷۴±۰/۵۶	۴/۵۳±۰/۷۸	۴/۶۸±۰/۵۲	۵/۳۸±۰/۵۷
	با بیهوشی	ماده	۳/۵۸±۰/۳۲	۲/۸۴±۱/۲۲	۳/۱۴±۱/۹۸	۱/۷۴±۰/۲۷	۴/۵۱±۰/۹۴
		نر	۱/۶۱±۱/۲۱	۳/۴۰±۱/۳۲	۴/۸۹±۰/۳۶	۵/۷۰±۰/۶۴	۵/۰۲±۰/۳۶
	p		جنس ۰/۳۲۹	زمان ۰/۰۰۲	شرایط کشتار ۰/۱۴۷		
۱۷ کیلودالتون	بدون بیهوشی	ماده	۳/۹۰±۰/۴۱	۳/۰±۰/۴۳	۳/۱۴±۰/۶۰	۲/۶۰±۰/۴۰	۴/۶۰±۰/۷۵
		نر	۳/۳۸±۰/۸۲	۴/۲۹±۱/۴۴	۵/۱۳±۰/۱۶	۴/۸۲±۰/۹۹	۵/۴۱±۱/۱۵
	با بیهوشی	ماده	۴/۱۲±۰/۹۰	۳/۳۰±۱/۰۵	۳/۵۵±۰/۴۹	۲/۴۶±۰/۱	۴/۲۰±۰/۱۴
		نر	۴/۲۵±۱/۰۲	۳/۷۶±۰/۳۰	۵/۰۸±۰/۸۶	۴/۱۳±۱/۷۰	۵/۴۲±۰/۷۳
	p		جنس ۰/۰۰	زمان ۰/۰۰	شرایط کشتار ۰/۹۹۷		

* داده ها میانگین ۴ عدد ± انحراف معیار می باشد.

۹) باند ۴۰ کیلودالتون (تروپونین T): بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تغییرات شدت باند تروپونین T طی زمان ترد شدن معنی‌دار بود ($p<۰/۰۰۱$). تروپونین T از مهم ترین پروتئین‌هایی است که طی دوره رسیدن گوشت دچار تجزیه شده، مقدار آن کم و رفته رفته نابود می‌شود (Koohmaraie, 1994; Gil, et al., 2006; Gheisari, et al., 2009). ثابت شده است که تروپونین T طی دوره رسیدن عضله به آسانی به پپتیدهای کوچک ۳۰ و ۲۸ کیلودالتونی تبدیل شده و فراگمنت‌های آن با تردی گوشت و نیروی برشی رابطه

Archive of SID

www.SID.ir

مستقیم دارند (Olson et al., 1977; Buts, et al., 1986). Ouali (۱۹۹۰) نتیجه گرفت با توجه به جایگاه تروپونین T در ساختار میوفیبریل (روی فیلامنت اکتین و در اتصال با تروپومیوزین)، هیچ اثری از تردی ناشی از تجزیه خود تروپونین T نمی‌باشد. به عبارتی دیگر ساختار تروپونین T خود عامل عدم تردی گوشت نیست که با تجزیه آن تردی حاصل شود بلکه تردی حاصل از تجزیه شدن تروپونین T به فراگمنت‌های حاصل از آن برمی‌گردد. پژوهش‌ها نشان داد تجزیه تروپونین T بلافاصله پس از کشتار شروع می‌شود و حاصل آن ابتدا فراگمنت ۳۰ کیلودالتونی است که به دلیل ناپایداری به باند ۱۴ کیلودالتون تبدیل می‌شود (Dayton et al., 1975; Olson et al., 1977).

در مطالعه حاضر میانگین مقدار تروپونین T از روز اول تا هفتم تغییر معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$) اما در روز چهاردهم دچار افت شدید شد ($p<۰/۰۰۱$) و مقدار آن از ۱/۸۷ درصد (روز هفتم) به ۰/۵ درصد (روز چهاردهم) رسید. برخی پژوهش‌ها بیان کرده است که تروپونین T سوبسترای اصلی آنزیم μ-کالپائین می‌باشد (Huff-Lonergan et al., 2010) در حالی که در برخی دیگر عنوان شده تروپونین T توسط هر دو گروه آنزیمی دستخوش تغییر قرار می‌گیرد (Ouali, 1990; Jiang, 1998). عدم تغییر شدت باند تروپونین T از روز اول تا هفتم نشان می‌دهد m-کالپائین نتوانسته به اندازه معنی‌دار تروپونین T را تجزیه نماید زیرا در این زمان غالب فعالیت آنزیم‌های کالپائین مربوط به m-کالپائین است. به نظر می‌رسد قسمت عمده‌ای از تغییرات تروپونین T در ۲۴ ساعت ابتدایی پس از کشتار رخ داد که در پژوهش حاضر مورد مطالعه نبود. به عبارت دیگر احتمالاً μ-کالپائین که بیشترین فعالیت خود را در ۲۴ ساعت اول پس از کشتار دارد در این بازه زمانی اثر خود را گذاشته و تروپونین T را تا شدت ۱/۸۳ درصد (روز اول) تجزیه کرده است. اما کاهش شدت باند از روز هفتم تا چهاردهم حاکی از مورد حمله قرار گرفتن این پروتئین توسط آنزیم های دیگری است که با توجه به بازه زمانی آن می‌توان به کاتپسین‌ها نسبت داد. در پژوهش حاضر نتایج بررسی رگرسیون نشان داد میان از دست رفتن تروپونین T و ایجاد شدن باندهای ۳۲ و ۳۰ کیلودالتون رابطه وجود دارد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تمامی روابط خطی و غیرخطی برازش شده بر مقادیر این دو داده معنی‌دار بود ($p<۰/۰۰۱$) اما بیشترین ضریب هبستگی در معادله لگاریتمی دیده شد. بدین ترتیب ثابت شد شدت باند ۳۲ کیلودالتون (y) از تجزیه شدن تروپونین T (x) با رابطه y = -۰/۴۸ Lnx+۱/۷۳، ضریب همبستگی r=۰/۴۸ و شدت باند ۳۰ کیلودالتون (y) از تجزیه شدن تروپونین T (x) با رابطه y= -۰/۶ Lnx+۲/۰۳، ضریب همبستگی r=۰/۴۴ و تابعیت دارد. Thomas و همکاران (۲۰۰۴) و Van Jaarsveld (۱۹۹۸) از مهم ترین تغییرات پروفایل میوفیبریلی عضله *M. iliofibularis* شترمرغ را به ترتیب طی ۱۲ و ۱۳ روز نگهداری در یخچال، نابودی تدریجی تروپونین T و کاهش شدت باند آن بیان کردند.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اعمال بیهوشی تاثیر معنی داری بر شدت تجزیه تروپونین T نداشت ($p>۰/۰۵$) اما سرعت تجزیه آن را تغییر داد به این مفهوم که اثر متقابل زمان*شرایط کشتار بر تجزیه تروپونین T معنی دار ($p<۰/۰۵$) بود. به طور مشابه Neath و همکاران (۲۰۰۷) نتیجه گرفتند اعمال بیهوشی الکتریکی بر گاو و بوفالو سبب افزایش تجزیه تروپونین T شد. همان طور که در جدول ۳ ملاحظه می‌گردد، در روز اول پس از کشتار میانگین شدت باند تروپونین T در دام‌های بیهوش شده ۱/۶۴ درصد و در دام‌های بدون بیهوشی ۲/۰۲ درصد بود. به عبارت دیگر دام‌های شوک داده طی ۲۴ ساعت اول دچار تجزیه تروپونین T بیشتری شدند. علت این امر تاثیری است که pH پائین در دمای بالا (سرعت نزول pH) بر نسبت کالپائین به کالپاستاتین می‌گذارد (Hwang et al., 2003) به طوری که منجر به افزایش فعالیت μ-کالپائین شد. مشابه این اتفاق برای دام‌های جنس ماده رخ داد (جدول ۳).

۱۰) باند ۳۸ و ۳۵ کیلودالتون: این دو باند احتمالاً مربوط به پروتئین‌های تروپومیوزین است. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، علیرغم کاهش ملایم شدت هر دو باند طی ۱۴ روز پس از کشتار، اثر معنی‌داری از زمان، جنس و شرایط کشتار مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

Archive of SID

www.SID.ir

Van Jaarsveld (۱۹۹۸) نتیجه گرفت طی ۱۳ روز پروتئولیز عضله *M. iliofibularis* شترمرغ، تروپومیوزین به صورت ملایم تجزیه شد. پژوهش دیگری گزارش کرد ساختار ایزوفرم‌های تروپومیوزین می‌تواند بر پیشرفت دوره جمود نعشی تاثیر گذار باشد، اما تاکنون تاثیر ایزوفرم‌های این پروتئین بر کیفیت نهایی گوشت مشخص نشده است (Choi et al., 2010).

۱۱) باند ۳۲ و ۳۰ کیلودالتون: نتایج تجزیه واریانس نشان داد با طی شدن زمان رسیدگی تا روز چهاردهم، به طور معنی داری شدت این دو باند افزایش یافت ($p<۰/۰۰۱$). نکته آن که بیشترین افزایش شدت هر سه باند از روز هفتم تا چهاردهم بوده است. همان طور که پیش تر گفته شد (باند تروپونین T ملاحظه گردد) با توجه به معنی داری رگرسیون، احتمال زیاد می‌رود که باند ۳۲ و ۳۰ کیلودالتون مشاهده شده، حاصل تجزیه تروپونین T باشند. Ouali (۱۹۹۰) در بررسی عضله گوساله، ظهور باند ۳۰ کیلودالتون را طی فرایند پروتئولیز نشانه‌ای از پیشرفت هیدرولیز پروتئین‌های میوفیبریلی دانست. Thomas و همکاران (۲۰۰۴) ظهور باند ۳۲ کیلودالتونی در بررسی عضله *M. iliofibularis* شترمرغ طی ۱۲ روز نگهداری در یخچال را هم رده باند ۳۰ کیلودالتون در گوشت گوساله (Olson et al., 1977; Ho et al., 1994) و باند ۲۷ کیلودالتون در گوشت خرگوش (Ouali, 1992) دانستند که ناشی از فعالیت کالپائین بر تروپونین T بود. Van Jaarsveld (۱۹۹۸) در بررسی عضله *M. iliofibularis* شترمرغ، پدیدار شدن باند ۳۵ کیلودالتون را به عنوان یک باند جدید و ناشی از پروتئولیز سایر پروتئین ها گزارش کرد. Koohmaraie (۱۹۹۴) و Yates و همکاران (۱۹۸۳) ناپدید شدن تروپونین T و ظهور پلی پپتیدهایی با وزن مولکولی ۲۸ تا ۳۲ کیلودالتون را به عنوان مهم ترین تغییر پس از کشتار و نشان دهنده پیشرفت پروتئولیز عنوان کرد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر شرایط کشتار بر میانگین باند ۳۲ کیلودالتون غیرمعنی دار ($p>۰/۰۵$) و بر میانگین شدت باند ۳۰ کیلودالتون معنی دار به دست آمد($p<۰/۰۵$). مقایسه میانگین‌ها نشان داد میانگین باند ۳۰ کیلودالتون در دام‌های بیهوش شده (۲/۰۸ درصد) و در دام‌های بیهوش نشده (۱/۷۹ درصد) بود که اگر این باند ناشی از تجزیه تروپونین T باشد، با نتایج آن مطابقت دارد.

۱۳) باند ۲۰ و ۱۹/۷ کیلودالتون: بر اساس نتایج تجزیه واریانس، میانگین شدت باند ۲۰ و ۱۹/۷ کیلودالتون که احتمالاً به ترتیب مربوط است به تروپونین I و C، در هفت روز اولیه پس از کشتار تغییر معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$) اما در روز چهاردهم افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) نشان داد (جدول ۳). Van Jaarsveld (۱۹۹۸) در بررسی پروتئولیز عضله *M. iliofibularis* شترمرغ نیز نتیجه مشابهی مبنی بر افزایش شدت باند تروپونین I گرفت. پژوهش ها نشان داد تروپونین I اغلب مورد حمله هر دو دسته آنزیم ها (m-کالپائین و کاتپسین ها) قرار می‌گیرد اما تروپونین C توسط آنزیم‌های کاتپسین تجزیه می‌شود (Ouali, 1990; Goll et al., 1983). در برخی پژوهش‌ها اساساً به تجزیه شدن تروپونین C طی زمان ترد شدن اشاره نشده است (Jiang, 1998). بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر شرایط کشتار و جنس بر پروتئولیز تروپونین I و C غیرمعنی دار ارزیابی شد ($p>۰/۰۵$).

۱۴) باند ۲۵، ۱۹/۵ و ۱۷ کیلودالتون (زنجیره سبک میوزین،MLC[1]): به احتمال زیاد این سه باند به ترتیب ترتیب مربوط به MLC_1، MLC_2 و MLC_3 می‌باشد. زنجیره های سبک میوزین به صورت چهار حلقه دور گردن مولکول میوزین جا گرفته‌اند که کار اصلی آن‌ها تنظیم فعالیت آنزیم ATP آز موجود در سر میوزین و برقرار کردن ارتباط با فیلامنت اکتین می‌باشد (Skaara & Regenstien, 1990). بر اساس نتایج تجزیه واریانس، شدت باندهای زنجیره سبک میوزین طی زمان تردشدن افزایش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۰۱$) و هر سه باند بیشترین شدت خود را در روز چهاردهم داشتند. با توجه به اینکه بازه ۱۷ تا ۲۵ کیلودالتون، وزن مولکولی بسیاری از ترکیبات حاصل از تجزیه پروتئین‌های بزرگتر می‌باشد، می‌توان احتمال داد افزایش شدت باندهای زنجیره میوزین سبک مربوط به این محصولات است. O´Shea و همکاران (۱۹۷۹) باندهای ۱۸ و ۳۲ کیلودالتون را

1- Myosin Light Chain

Archive of SID

www.SID.ir

ناشی از تجزیه دسمین دانستند. Dayton و همکاران (۱۹۷۵) نتیجه گرفتند تروپومیوزین در اثر تجزیه به باندهای ۱۵ و ۱۷ کیلودالتون تبدیل می‌شود. به طور مشابه در پژوهشی بر روی عضله شترمرغ افزایش شدت باندهای ۲۰ و ۲۴ کیلودالتون طی ۱۳ روز دوره ترد شدن مشاهده شد (Van Jaarsveld, 1998).

نتیجه گیری

بر اساس پژوهش حاضر، می‌توان نتیجه گرفت اعمال بیهوشی الکتریکی پیش از ذبح سبب افزایش سرعت گلیکولیز به خصوص در ۱ تا ۳ ساعت اولیه پس از کشتار در شترمرغ شد و بدین ترتیب نزول pH را سرعت بخشید ($p<۰/۰۵$). هرچند میانگین pH پس از کشتار در طی دوره رسیدن میان جنس نر و ماده تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$)، اما سرعت کاهش pH در جنس ماده بیشتر بود ($p<۰/۰۵$) که دلالت بر تحمل استرس بیشتر این دام دارد. بررسی پروفایل الکتروفورتیک پروتئین‌های میوفیبریلی با استفاده از SDS-PAGE نشان داد طی ۱۴ روز ترد شدن عضله *M.Gastrocnemius pars externa* در شترمرغ به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$):

۱- پروتئین میوزین و α- اکتنین بیشترین کاهش خود را در روز پنجم و چهاردهم داشتند.

۲- بیشترین تجزیه دسمین در روزهای اول تا سوم پس از کشتار رخ داد.

۳- تروپونین T طی زمان تجزیه شد، به طوری که تا روز چهاردهم به حداقل خود رسید و همزمان باندهای ۳۰ و ۳۲ کیلو دالتون شدت یافتند.

۴- پروتئین اکتین از روز هفتم به بعد دچار تغییر و تجزیه جزئی شد.

۵- طی زمان ترد شدن از روز اول تا چهاردهم پلی پپتیدهای ۶۰ و ۱۰۰ کیلودالتونی ظهور یافتند.

۶- تروپونین I و C با افزایش جزئی شدت باند مواجه شدند.

۷- از روز اول باندهای ۲۵، ۱۹/۵ و ۱۷ کیلودالتونی (زنجیره سبک میوزین) ظهور پیدا کرده و در روز چهاردهم شدت یافتند.

نتایج بررسی‌ها نشان داد در جنس ماده و دام‌های شوک داده به دلیل سرعت بالای نزول pH، کالپائین۱ فعالیت کمتری داشت و پروتئین های سوبسترای این آنزیم (از جمله α- اکتنین) مورد تجزیه کمتری قرار گرفتند. لذا در این دام‌ها بیشتر فعالیت‌های آنزیمی بر عهده کالپائین۲ بود به طوری که پروتئین‌های مورد هدف این آنزیم (نظیر دسمین و تروپونین T) با شدت بیشتری پروتئولیز شدند.

قدردانی

از همکاری صمیمانه و مساعدت همه جانبه مجتمع صنعتی گوشت مشهد به ویژه مدیر عامل محترم در انجام این پژوهش سپاسگزاریم.

منابع

۱- محمدی، ا. ۱۳۸۵. نوپروری شترمرغ در ایران. انتشارات اطلاعات.

2- Bandman, E. & Zdanis, D. 1988. An immunological method to asses protein degradation in postmortem muscle. Meat Science, 22: 1–19.

3- Buts, B., Claeys, E. & Demyer, D. 1986. Relation between concentrations of troponin-T, 30,000-Dalton and titin on SDS–PAGE and tenderness of bull longissimus dorsi. 32nd European Meeting of Meat Research Workers, 24 – 29 August, Ghent, Belgium.

4- Channon, H. A., Payne, A. M. & Warner, R. D. 2002. Comparison of CO2 stunning with manual electrical stunning (50 Hz) of pigs on carcass and meat quality. Meat Science, 60: 63–68.

5- Claeys, E., Uytterhaegen, L., Buts B. & Demeyer, D. 1995. Quantification of beef myofibrillar proteins by SDS-PAGE. Meat Science, 39: 177-193.

Archive of SID

www.SID.ir

6- Choi, Y.M., Lee, S.H., Choe, J.H., Rhee, S.M., Lee, S.K., Joo S.T. & Kim, B.C. 2010. Protein solubility is related to myosin isoforms, muscle fiber types, meat quality traits, and postmortem protein changes in porcine longissimus dorsi muscle. Livestock Science, 127: 183–191.

7- Choi, Y.M. & Kim, B.C. 2009. Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality (review). Livestock Science, 122: 105–118.

8- Culler, R. D., Parrish, F. C., Smith, G. C. & Cross. H. R. 1978. Relationship of myofibril fragmentation Index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissmus muscle. Journal of Food Science, 43: 1177.

9- Dayton, W. R., Goll, D. E., Stromer, M. H., Reville, W. J., Zeece, M. G. & Robson, R. M. 1975. Some properties of a Ca2+ activated protease that may be involved in myofibrillar protein turnover. Cold Spring Harbor Conferences in Cell Proliferation, Volume 2. In: Proteases and biological control (E., Reich, D. B., Rifkin, & E., Shaw, eds). Cold Spring Harbor, New York

10- Dunker, A. K. & Reuckert, R. R. 1969. Journal of Biology Chemical, 244: 5047.

11- Dransfield, E. 1994. Tenderness of meat, poultry, and fish. Chapman and Hall, London, 289-315.

12- Geesink, G.H., Kuchay, S., Chishti A.H. & Koohmaraie, M. 2006. Micro-calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins. Journal of Animal Science, 84: 2834-2840.

13- Gheisari, H. R., Aminlari, M. & Shekarforoush, S.H. 2009. A comparative study of the biochemical and functional properties of camel and cattle meat during frozen storage. Veterinarski Arhive, 79 (1): 51-68.

14- Gil, M. Ramírez J.A., Pla, M., Ariño, B., Hernández, P., Pascual, M., Blasco, A., Guerrero, L., Hajós, G., Szerdahelyi, E.N. & Oliver, M.Á. 2006. Effect of selection for growth rate on the ageing of myofibrils, meat texture properties and the muscle proteolytic potentional of m. longissmus in rabbits. Meat Science, 72: 121-129.

15- Goll, D. E., Otsuka, Y., Nagainis, P. A., Shannon, J. D., Sathe, S. K. & Muguruma, M. 1983. Role of muscle proteinases in maintenance of muscle integrity and mass. Journal of Food Biochemistry, 7: 137-177.

16- Ho, C. Y., Stromer, M. H. & Robson, R. M. 1994. Identification of the 30 kDa polypeptide in postmortem skeletal muscle as a degradation product of troponin-T. Biochimie, 76: 369–375.

17- Hoffman, L. C., Botha, S. C. & Britz, T. J. 2007. Muscle pH and temperature changes in hot- and cold-deboned ostrich Muscularis gastrocnemius, pars intra and Muscularis iliofibularis during the first 23 h post-mortem. Meat Science, 75: 343-349.

18- Huff-Lonergan, E., Zhang W. & Lonergan, M. S. 2010. Biochemistry of postmortem muscle- lessons on mechanisms of meat tenderization (review). Meat Science, 86: 184-195.

19- Hwang, H. I., Devine C. E. & Hopkins, D. L. 2003. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness (review). Meat Science, 65: 677-691.

Archive of SID

www.SID.ir

20- Jiang, S. T. 1998. Contribution of muscle proteinases to meat tenderization (review). Proceedings of the National Science Council, 22 (3): 97-107.

21- Kandeepan, G., Anjaneyyulu, A. S. R., Kondiaiah, N., Mendiratta, S. K. & Lakshmanan, V. 2009. Effect of age and gender on the processing characteristics of buffalo meat. Meat Science, 83: 10-14.

22- Kemp, C. M., Sensky, P. L., Bardsley, R. G., Buttery, P. J. & Parr, T., 2010. Tenderness-an enzymatic view. Meat Science, 84: 284-256.

23- Kent, M.P., Spencer, M.J. & Koohmaraie, M. 2004. Postmortem proteolysis is reduced in transgenic mice over expressing calpastatin. Journal of Animal Science, 82: 794-801.

24- Koohmaraie, M. & Geesink, G. H. 2006. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. Meat Science, 74: 34-43.

25- Koohmaraie, M. 1994. Muscle proteinases and meat aging. Meat Science, 36: 93- 104.

26- Koohmaraie, M., et al.1995. Calpastatin-based methods for predicting meat tenderness. ECCEAMST, USA.

27- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. Nature, 227: 680 – 685.

28- Lamare, M. Taylor, R.G., Farout, L., Briand, Y. & Briand, M. 2002. Changes in proteasome activity during postmortem aging of bovine muscle. Meat Science, 61: 199- 204.

29- Linares, M. B., Bornez, R. & Vergara. H. 2007. Effect of different stunning systems on meat quality of light lamb. Meat Science, 76: 675–681.

30- Neath, K. E., Del Barrio, A.N., Lapitanb, R.M., Herrerab, J.R.V., Cruzb, L.C., Fujiharac, T., Muroyad, S., Chikunid, K., Hirabayashia, M. & Kanai, Y. 2007. Differences in tenderness and pH decline between water buffalo meat and beef during postmortem aging. Meat Science, 75: 299-505.

31- Nowak, B., Mueffling, T. V. & Hartung. J. 2007. Effect of different carbon dioxide concentrations and exposure times in stunning of slaughter pigs: Impact on animal welfare and meat quality. Meat Science, 75: 300–308.

32- Olson, D. G., Parrish, F. C., Dayton, W. R. & Goll. D. E. 1977. Effect of postmortem storage and calcium activated factor on the myofibrilllar proteins of bovine skeletal muscle. Journal of Food Science, 42: 117-123.

33- O'Shea, J. M., Robson, R. M., Huiatt, T. W., Hartzer, M. K. & Stromer, M. H. 1979. Purified desmin from adult mammalian skeletal muscle: a peptide mapping comparison with desmins from adult mammalian and avian smooth muscle. Biochemistry Biophysical Research Communications, 89: 972-980.

34- Ouali, A. 1990. Meat tenderization: possible causes and mechanism (a review). Journal of Muscle Foods, 1: 129-165.

35- Ouali, A. 1992. Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. Biochimie, 74: 251-265.

36- Paleari, M. A., Corsico, P. & Beretta, G. 1995. The ostrich: breeding, reproduction, slaughtering and national value of the meat. Fleischwirtschaft, 75: 1120-1123.

Archive of SID

www.SID.ir

37- Rosenvold, K. & Andersen, H. J. 2003. Factors of significance, for pork quality (review). Meat Science, 64: 219–237.

38- Sales, J. & Mellet, F. D. 1996. Post-mortem pH decline in different ostrich muscles. Meat Science, 42 (2): 235-238.

39- Salm, C. P., Forrest, J. C., Aberle, E. D., Mills, E. W., Snyder, A. C. & Judge. M. D. 1983. Bovine muscle shortening and protein degradation after electrical stimulation, excision and chilling. Meat Science, 8: 163–183.

40- Sentandreu, M. A., Coulis, G. & Ouali, A. 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. Trends in Food Science and Technology, 13: 400–421.

41- Skaara, T. & Regenstein, M. 1990. The structure and properties of myofibrillar proteins in beef, poultry and fish. Journal of Muscle Foods, 1: 269-291.

42- Smulders, F. J. M., Toldra, F., Flores, J. & Prieto, M. 1992. New technologies for meat and meat products (eds). ECCEAMST, Utrecht.

43- Taylor, R.G., Geesink, G.H., Thompson, V.F., Koohmaraie, M. & Goll, D. E. 1995. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? Journal of Animal Science, 21: 1351-1367.

44- Thomas, A. R., Gondoza, H., Hoffman, L. C., Oosthuizen, V. & Naudé, R. J. 2004. Roles of the 20S proteasome, and cathepsins B, L, H and D, in ostrich meat tenderisation. Meat Science, 67: 113-120.

45- Van Jaarsveld, F. P. 1998. The role of calcium-dependent proteases and cathepsins in postmortem proteolysis and tenderness of ostrich meat. PhD thesis, University of Port Elizabeth, Port Elizabeth, South Africa.

46- Vergara, H., Linares, M. B., Berruga, M. I. & Gallego, L. 2005. Meat quality in suckling lambs: Effect of pre-slaughter handling. Meat Science, 69: 473–478.

47- Yates, L. D. Dutson, T. R., Caldwell, J. & Carpenter, Z. L. 1983. Effect of temperature and pH on the postmortem degradation of myofibrillar proteins. Meat Science, 1: 157-179.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of gender and slaughter conditions on pH decline and proteolysis of ostrich meat during ageing by SDS-PAGE

H. Baghaei[1], M. J. Varidi[2], M. Varidi[3], Z. Es´haghi[4]

1- PhD. student, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.
2- Associated professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad
3- Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad
* Corresponding author (m.varidi@um.ac.ir)
4- Associated professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Mashhad

Abstract

Postmortem proteolysis is one of the best ways to study meat tenderizing process. In this research, two groups of ostriches (male and female) were slaughtered by two methods: commercial (without electrical shock) and noncommercial (by electrical shock at 80 v/ 500 mA/ 10 s). pH decline of *M. Gastrocnemius pars externa* muscle was measured at 0, 1, 3, 6, 9, 18 and 24 hours and 3, 5, 7, 14 days during aging. Myofibrillar protein changes were evaluated at 1, 3, 5, 7 and 14 days postmortem by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Results showed that electrical stunning accelerated glycolysis rate especially at 1 to 3 hours postmortem (p<0.05). Female ostriches had faster pH decline (p<0.05). Myofibrillar patterns indicated that major changes was corresponded to the gradual degradation of troponin T from day 1 onwards and simultaneously appearance of 25 to 32 KDa peptides (p<0.05). Myosin Heavy Chain (MHC), α-actinin and desmin were degraded during storage period and polypeptides of 60 and 100 KDa were observed at this time. Because of accelerated pH decline, gender and slaughter conditions had significant effect (p<0.05) on degradation of most proteins that were substrates for calpaein enzymes.

Keywords: Ostriches; pH decline; Proteolysis; SDS-PAGE; Tenderization

Archive of SID

www.SID.ir