

## ارزیابی اثر جنس و نوع عضله بر الگوی پروتئولیز پروتئین‌های میوفیبریلی گوشت شتر یک کوهانه ایرانی در مدت زمان ترد شدن

یونس زاهدی<sup>۱</sup>، محمد جواد وریدی<sup>۲</sup>، مهدی وریدی<sup>۳\*</sup>

۱- دانش آموخته دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

\*نویسنده مسئول (m.varidi@um.ac.ir)

### چکیده

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۳/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۲/۱۴

### واژه‌های کلیدی

پروتئولیز

دوسر ران

طولیل سینه‌ای

گوشت شتر

SDS-PAGE

در این پژوهش تأثیر جنسیت، نوع عضله (دو سر ران (BF) و طولیل سینه‌ای (LT)) و زمان ۱۴ روز بر الگوی پروتئولیز پروتئین‌های میوفیبریلی گوشت شتر با استفاده از SDS-PAGE بررسی شد. شدت پروتئولیز زنجیره سنگین میوزین (MHC) و اکتین خیلی جزئی و در جنس ماده MHC بیشتر از جنس نر تجزیه شد ( $P < 0.05$ ). پروتئولیز پروتئین C تحت تأثیر زمان، جنسیت و نوع عضله قرار گرفت ( $P < 0.05$ ).  $\alpha$ -اکتینین در هفته دوم پس از کشتار توسط کاتپسین‌ها تخریب و شدت پروتئولیز در عضله LT کمتر از BF بود ( $P < 0.05$ ). قسمت عمده تخریب دسمین در هفته اول نگهداری انجام و در عضله LT بیشتر از عضله BF بود ( $P < 0.05$ ). تروپونین T تا روز پنجم نگهداری حدود ۸۰٪ تجزیه شد و هر دو زمان و نوع عضله تأثیر معنی‌داری بر شدت پروتئولیز ایجاد نمود. باند ۳۰ کیلو-دالتون ۲۴ ساعت پس از کشتار پدیدار شده و شدت باند آن در مدت ۱۴ روز نگهداری افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). نتایج نشان داد زمان مهم‌ترین فاکتور تأثیرگذار بر تجزیه پروتئین‌های میوفیبریلی گوشت در مدت نگهداری بوده و بجز اکتین و میوزین پروتئولیز سایر پروتئین‌ها تحت تأثیر زمان نگهداری قرار گرفت. نوع عضله نیز در تجزیه دسمین و پروتئین‌های تنظیم‌کننده ( $\alpha$ -اکتینین و تروپونین T) نقش معنی‌داری ایفا نمود.

### مقدمه

عادات چرایی خود باعث حفظ تعادل اکولوژیکی و احیای این مراتع می‌گردد (El-Agamy, 2006). گوشت شتر در مقایسه با گوشت گاو یک فراورده ارگانیک محسوب می‌شود که دارای چربی و کلسترول کمتر و اسیدهای چرب چند غیراشباعی بیشتر می‌باشد. مصرف گوشت شتر خطر بیماری‌های قلبی-عروقی را کاهش می‌دهد و برای درمان هایپراسیدیتی<sup>۱</sup>، فشار خون بالا، ذات الریه و بیماری‌های تنفسی مفید است (Kadim et al., 2006 & )

مشکل گرم شدن کره زمین و پیامدهای ناگوار ناشی از آن به خصوص در زمینه تأمین مواد غذایی برای جمعیت رو به رشد زمین از دغدغه‌های اصلی قرن حاضر می‌باشد که پژوهش‌ها را به سمت استفاده از منابع غذایی حاشیه‌ای به خصوص منابع موجود در مناطق خشک و نیمه خشک سوق داده است. شتر مهم‌ترین دامی است که به علت دارا بودن خصوصیات بی‌نظیر آناتومیکی، فیزیولوژیکی و رفتاری در مراتع خیلی فقیر توان زیست و تولید داشته و با توجه به

1-Hyperacidity

وسترن بلاتینگ<sup>۳</sup> استفاده می‌شود و تجزیه پس از کشتار پروتئین‌هایی همانند تروپونین T، نبولین، تیتین و دسمین با استفاده از این روش‌ها ثابت شده است (Lametsch *et al.*, 2003). استفاده از SDS-PAGE در تخمین وزن ملکولی پروتئین‌ها اولین بار در سال ۱۹۶۷ گزارش گردید و توسط Laemmli در سال ۱۹۷۰ به شکل امروزی ارائه شد (Laemmli, 1970).

در زمینه پروتئولیز پس از کشتار گوشت شتر تحقیقات خیلی محدودی صورت گرفته است و در آنها از روش‌های SDS-PAGE، میکروسکوپ الکترونی و اندازه‌گیری تخریب میوفیبریل‌ها برای پی بردن به نحوه پروتئولیز و تغییرات پس از کشتار استفاده شده است. در تحقیقی تخریب میوفیبریل‌های<sup>۴</sup> عضله نیم-غشایی<sup>۵</sup> شتر و گاو (۳ تا ۵ ساله) طی جمود نعشی در مدت نگهداری با استفاده از SDS-PAGE مقایسه گردید (سلطانی‌زاده و همکاران، ۲۰۰۸). قیصری و همکاران (۲۰۰۹) ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکردی گوشت‌های تازه و منجمد شتر و گاو را با هم مقایسه نمودند. با استفاده از SDS-PAGE و اسپکتروفتومتری نقش فصل کشتار بر ویژگی‌های انقباضی و متابولیکی گوشت شتر (عضله طویل پستی) آشکار گردید (Abdelhadi *et al.*, 2012). در ارتباط با نقش جنسیت و نوع عضله روی نحوه پروتئولیز گوشت شتر تاکنون هیچ تحقیقی صورت نگرفته است. لذا هدف از این پژوهش بررسی تاثیر جنس و نوع عضله بر الگوی پروتئولیز پروتئین‌های میوفیبریلی گوشت شتر یک کوهانه ایرانی در مدت ۱۴ روز نگهداری با استفاده از SDS-PAGE بود.

## مواد و روش‌ها

### مواد اولیه

کوماسی برلیانت بلو G250، اسید استیک، سدیم دودسیل سولفات، مرکاپتواتانول، آمونیوم پرسولفات، EDTA، TEMED،  $K_2HPO_4$ ،  $KH_2PO_4$ ، سدیم آزید، بروموفنل بلو، آکرلامید، N-N متیلن بیس آکریل

(2009). ویژگی اصلی و متمایز کننده گوشت شتر در مقایسه با دیگر گوشت‌ها، فقدان مواد هورمونی و آنتی‌بیوتیک در آن است زیرا این حیوان در طبیعت بصورت آزاد و به دور از محیط پرورش صنعتی رشد می‌کند. علاوه بر اینها، وجود مواد طعم دهنده و معطر در گوشت این حیوان موجب تحریک و ترشح غدد بزاقی و شیره معده شده و در نتیجه قدرت جذب را افزایش می‌دهد. بنابراین به دلیل سلامت بخش بودن، تقاضا برای گوشت شتر در حال افزایش می‌باشد (Kadim, 2013).

در بین ویژگی‌های کیفی گوشت، تردی گوشت مهم‌ترین ویژگی از دیدگاه مصرف کننده می‌باشد. تبدیل عضله به گوشت فرایندی سه مرحله‌ای (پیش از جمود، جمود و ترد شدن) است. مرحله سوم فاز ترد شدن است که زمان آن به فاکتورهایی مانند گونه، سن و جنس حیوان، نوع عضله، عوامل آنابولیک<sup>۱</sup>، تحریک الکتریکی، شرایط سرد کردن، دما و زمان نگهداری بستگی دارد (Herrera-Mendez *et al.*, 2006; Sentandreu *et al.*, 2002; Dransfield, 1994). ترد شدن گوشت ناشی از سست شدن ساختمان میوفیبریلی بوسیله عمل سینرژیستیک پپتیدازهای درونی شامل کاتپسین‌ها، کالپاین‌ها و پروتئوزوم‌ها می‌باشد. تا به امروز کالپاین‌ها به عنوان مهم‌ترین سیستم پروتئولیتیک مسئول تردی گوشت شناخته شده‌اند (Herrera-Mendez *et al.*, 2006).

تجزیه پروتئین‌های عضله در دوره پس از کشتار فاکتور مهمی در ترد شدن گوشت می‌باشد که با روش‌های سنجش ازت غیرپروتئینی، تعیین مقدار اسیدهای آمینه آزاد، تکه تکه شدن میوفیبریل‌ها، الکتروفورز و اندازه‌گیری حلالیت پروتئین مورد بررسی قرار گرفته است (Hopkins & Thompson, 2001). برای پایش تغییرات پروتئوم در دوره پس از کشتار چندین دهه است که از روش‌های سدیم دودسیل سولفات پلی‌آکرلامید ژل الکتروفورز یک بعدی<sup>۲</sup> و

۱- عوامل آنابولیک به عواملی اطلاق می‌شود که از طریق افزایش تولید مولکول‌های درشت از مولکول‌های ریز، منجر به حجیم شدن بافت‌ها و اندام‌ها می‌شوند مانند هورمون‌های رشد

2-One-dimensional Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

3- Western-blotting

4- Myofibrillar fragmentation

5- Semitendinosus

## الکتروفورز یک بعدی

## استخراج پروتئین‌های میوفیبریلی

به منظور استخراج پروتئین‌های میوفیبریلی از روش Claey's و همکاران (۱۹۹۵) استفاده شد. ۲/۵ گرم گوشت چرخ شده از هر نمونه با ۲۵ میلی‌لیتر محلول بافر (۳ درجه سانتی‌گراد، pH=۷/۶) حاوی ۰/۲۵ M ساکاروز، ۰/۰۵ M تریس و ۱ mM EDTA توسط هموژنایزر با دور ۱۶۰۰۰ به مدت ۳۰ ثانیه هموزن شد. مخلوط همگن به مدت ۱۰ دقیقه با نیروی ۰/۵ × ۱۰۰۰ سانتریفوژ گردید. پس از دور ریختن محلول، قسمت جامد مجدداً با ۲۵ میلی‌لیتر محلول بافر (۳ درجه سانتی‌گراد، pH=۷/۶) حاوی ۰/۰۵ M تریس و ۱ mM EDTA مخلوط شده و پس از ورتکس به مدت ۱۰ دقیقه با نیروی ۰/۵ × ۱۰۰۰ سانتریفوژ گردید و مایع رویی دور ریخته شد. برای مرتبه سوم استخراج با ۲۵ میلی‌لیتر محلول KCl، ۰/۱۵ M (۳ درجه سانتی‌گراد) انجام شد. رسوب حاصل که در واقع پروتئین‌های میوفیبریلی جدا شده بود، درون ۱۰ میلی‌لیتر بافر MFI<sup>۵</sup> (شامل کلرید پتاسیم ۱۰۰ mM، فسفات پتاسیم (pH=۷) ۲۰ mM، ۱ mM EDTA، ۱ کلرید منیزیم ۱ mM، آزید سدیم ۱ mM) تا زمان الکتروفورز در دمای یخچال نگهداری شد (Culler et al., 1987). تزریق نمونه به چاهک‌های SDS-PAGE با رعایت دو نکته ذیل صورت پذیرفت: (۱) مقدار پروتئین موجود در نمونه ۲۰-۴۰ میکروگرم باشد، (۲) حجم تزریق نمونه حداکثر ۴۴ میکرولیتر بود. به این دلیل مقدار پروتئین هر نمونه بر اساس روش بیورت اندازه‌گیری گردید.

## تعیین غلظت پروتئین‌های میوفیبریلی با روش

## بیورت

در ابتدا محلول استوک آلبومین سرم گاوی با غلظت ۱۰۰ mg/ml تهیه شد سپس به ترتیب جدول ۱ با آب دیونیزه ترکیب شده و رقت‌های مورد نظر تهیه گردید. ۲۵۰ میکرولیتر از رقت‌های تهیه شده BSA با ۷۵۰ میکرولیتر بافر MFI و ۴ میلی‌لیتر از معرف بیورت ترکیب و بعد از ورتکس به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک در دمای اتاق نگهداری شد. بعد از این مدت

آمید، تریس، ساکاروز، اسید کلریدریک، آلبومین سرم گاوی<sup>۱</sup> (BSA) و متانول از شرکت مرک، مارکر (در محدوده وزن مولکولی ۶/۵-۲۰۵ کیلودالتون) از شرکت سیگما، کلرید پتاسیم، کلرید منیزیم و گلیسرول از شرکت آکروس<sup>۲</sup>، تارتارات سدیم-پتاسیم، قرص هیدروکسید سدیم، بوتانول، اوره و گلاسیسین از شرکت پانراک و سولفات مس ۵ آبه از شرکت شارلو خریداری گردید.

در این پژوهش از ۸ نفر شتر از نژاد یک کوهانه ایرانی اکوتایپ بلوچی شامل ۴ نر و ۴ ماده و سن ۶-۴ سال استفاده گردید. شترها قبل از کشتار، توسط دامپزشک‌های مستقر در کشتارگاه مورد بازرسی بهداشتی قرار گرفتند و تا زمان کشتار در شرایط نسبتاً یکسان از نظر تغذیه و آب در سالن انتظار کشتارگاه صنعتی مشهد نگهداری شدند. کشتار به روش اسلامی (نحر کردن) انجام گرفت و پس از خروج خون از ناحیه گردن، سر حیوان جدا گردید. برای خروج کامل خون لاشه‌ها از چنگک‌های مخصوص آویزان شد. پس از خون‌گیری، پوست‌کنی و تخلیه امعاء و احشاء هر لاشه به ۴ شقه تقسیم شده و توسط دامپزشک معاینه شدند. بعد از تائید، از دوش شستشو با آب سرد عبور و به مدت ۲۴ ساعت در سردخانه بالای صفر مجتمع صنعتی گوشت نگهداری شدند. پس از گذشت این زمان، مقدار مورد نیاز از هر کدام از عضلات دوسر ران<sup>۳</sup> (BF) و طویل سینه‌ای<sup>۴</sup> (LT) (بین دنده‌های ۱۰ تا ۱۳) و از نیم لاشه راست هر دام جدا گردید. نمونه عضله‌های جدا شده در داخل کیسه‌های پلی‌اتیلنی قرار داده شد و به همراه یخ خشک به سرعت به آزمایشگاه منتقل و در یخچال (۲±۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. در زمان‌های یک ساعت و روزهای ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۴ پس از کشتار نمونه گوشت به مقدار لازم جدا شده و سریعاً در ازت مایع منجمد و تا زمان الکتروفورز در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Kadim, 2009).

1- Bovine Serum Albumin

2- Acros

3- Biceps femoris

4- Longissimus thoracis

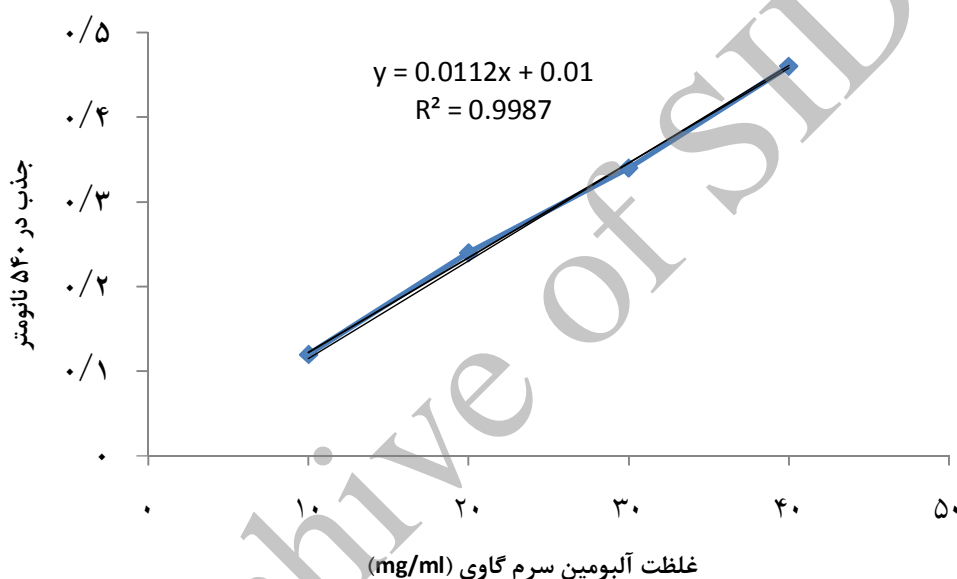
5- Myofibrillar Fragmentation Index

میوفیبریلی آن با ۹ میلی لیتر بافر MFI رقیق شد و بدین ترتیب نمونه ایزوله میوفیبریلی برای تزریق آماده گردید.

جذب نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید و منحنی کالیبراسیون رسم شد (شکل ۱). به منظور کاهش غلظت پروتئین‌های میوفیبریلی در هر نمونه یک میلی لیتر از محلول

جدول ۱- نسبت ترکیب محلول استوک آلبومین سرم گاوی با آب دیونیزه برای ایجاد رقت‌های مورد نظر

۲۰۰۰	۱۵۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۰	مقدار محلول استوک BSA (میکرولیتر)
۳۰۰۰	۳۵۰۰	۴۰۰۰	۴۵۰۰	۵۰۰۰	مقدار آب دیونیزه (میکرولیتر)
۴۰	۳۰	۲۰	۱۰	۰	رقت بدست آمده (میلی گرم بر میلی لیتر)



شکل ۱- منحنی کالیبراسیون غلظت آلبومین سرم گاوی در برابر جذب خوانده شده در ۵۴۰ نانومتر

تریس-اسیدکلریدریک (pH=۶/۸) و برای بافر ژل جدا کننده از محلول ۱/۵ مولار تریس-اسیدکلریدریک (pH=۸/۸) استفاده شد. ۲۰۰ میکرولیتر نمونه حاوی ۵۰ میکرولیتر محلول ایزوله میوفیبریلی با غلظت مشخص و ۱۵۰ میکرولیتر محلول بافر نمونه حاوی مرکاپتواتانول داخل اپندورف با هم مخلوط، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای محیط و ۵ دقیقه در بن‌ماری ۹۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. ۴۰ میکرولیتر از هر نمونه آماده شده به داخل هر چاهک ژل تزریق گردید. الکتروفورز با جریان ثابت ۱۲۰ ولت به مدت حدود ۱/۵ تا ۲ ساعت انجام شد.

#### انجام الکتروفورز یک بعدی

جداسازی اجزاء مختلف پروتئینی نمونه به وسیله ژل الکتروفورز پلی‌آکریلامید در حضور سدیم دودسیل سولفات مشابه روش Laemmli (۱۹۷۰) با استفاده از دستگاه الکتروفورز عمودی (مدل Mini-PROTEAN Tetra Cell، شرکت Bio-Rad، آمریکا) به ابعاد ژل  $10 \times 8 \text{ cm}^2$  انجام شد. غلظت آکریلامید برای ژل متراکم کننده ۴٪ و برای ژل جداکننده ۱۲/۵٪ بود. برای تهیه بافر ژل متراکم کننده از محلول ۰/۵ مولار

- 1- Stacking
- 2- Resolving

## رنگ آمیزی ژل و تصویربرداری

میوزین (MHC) ( $22/8$ ) و اکتین ( $19/16$ ) بود. همچنین تغییرات مربوط به شدت همه باندهای تشکیل شده روی ژل‌های SDS-PAGE در مدت ۱۴ روز نگهداری در جدول ۳ نشان داده شده است.

## (۱) باند ۲۰۸ کیلودالتون (MHC)

میوزین فراوان‌ترین پروتئین عضله بوده و ۳۸ درصد کل پروتئین عضله را به خود اختصاص می‌دهد. به همین جهت نیز بیشترین شدت باند روی ژل‌ها مربوط به زیر واحد این پروتئین (MHC) بود. در عضلات اسکلتی میوزین هگزامری مرکب از ۲ زنجیره سنگین (حدود ۲۲۰ کیلودالتون) و ۴ زنجیره سبک (حدود ۲۰ کیلودالتون) می‌باشد. ایزوفرم ۱ MHC در فیبرهای عضلات اسکلتی کند انقباض و ایزوفرم‌های ۲A، ۲X و ۲B در فیبرهای عضلات اسکلتی تند انقباض بیان می‌شوند (Choi & Kim, 2009). میانگین شدت باند مربوط به MHC از ساعت اول پس از کشتار تا روز چهاردهم کاهش یافت ولی این کاهش معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). به عبارت دیگر، این پروتئین بصورت خیلی جزئی پروتئولیز شده بود (جدول ۳). مشابه این نتیجه توسط پژوهشگران دیگر نیز برای گوشت شتر گزارش شده است (قبصری و همکاران، ۲۰۰۹، سلطانی‌زاده و همکاران، ۲۰۰۸).

نتایج یافته‌های محققان نشان می‌دهد تجزیه میوزین عمدتاً وابسته به دما و pH است (Taylor *et al.*, 1995; Bandman & Zdanis, 1988; Goll *et al.*, 1983). Yates و همکاران (۱۹۸۳) به این نتیجه رسیدند که میوزین در دماهای بالا و pH پایین تجزیه می‌شود؛ ولی در تجزیه میوزین pH بیشتر از دما تأثیر می‌گذارد. Bandman و Zdanis (۱۹۸۸) گزارش کردند شدت باند MHC در مدت رسیدن گوشت گاو در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تغییری نکرده و پروتئولیز میوزین نقشی در افزایش تردی در مدت جمود و رسیدن گوشت ندارد. نتایج همچنین نشان داد تجزیه میوزین شدیداً وابسته به دماست؛ MHC در دوره نگهداری پس از کشتار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تجزیه و شدت باندهای موجود در دامنه وزن مولکولی ۱۸۰-۱۶۰ و ۹۵-۵۰ کیلودالتون افزایش

پس از پایان الکتروفورز، باندهای پروتئینی به مدت ۲۴ ساعت توسط محلول کوماسی برلیانت بلو G250 (حاوی ۴۰۰ میلی‌لیتر اتانول، ۵۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه، ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید استیک و ۱/۲۵ گرم کوماسی برلیانت بلو G250) رنگ‌آمیزی گردید. رنگ-بری ژل‌ها توسط محلول اسید استیک ۱٪ به مدت ۴۸ ساعت روی شیکر انجام شد. با استفاده از اسکنر (مدل CanoScan 8400F، ژاپن) تصویر ژل‌ها با رزولوشن ۳۰۰ dpi تهیه و با کمک نرم‌افزار TotalLab TL120 (ویرایش ۲۰۰۹، Nonlinear Dynamics Ltd، انگلیس) مشخصات باندها (شامل مساحت باند، درصد باند، Rf و وزن مولکولی) تعیین گردید.

## تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل انجام شد. جنس شتر (نر و ماده)، نوع عضله (BF و LT) و زمان فاکتورهای مورد بررسی بود. تحلیل اختلاف‌های موجود در داده‌های حاصل از نرم‌افزار TotalLab با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها بوسیله آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

## نتایج و بحث

بررسی تصاویر ژل‌های SDS-PAGE بدست آمده از عضلات BF و LT دو جنس نر و ماده نشان داد که از ساعت اول پس از کشتار تا روز چهاردهم به طور متوسط ۱۴ باند روی ژل‌ها آشکار شد که برخی از این باندها مربوط به پروتئین‌های مشخصی بوده و برخی نیز در نتیجه پروتئولیز پروتئین‌ها بویژه پروتئین‌های درشت همانند تیتین و میوزین تولید شده‌اند (شکل ۲). مشخصات (وزن مولکولی، Rf، شدت و مساحت) باندهای آشکار شده روی ژل‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. با نگاهی به جدول مشخص می‌شود که میانگین بیشترین شدت باند، که نشان دهنده بیشترین مقدار حضور پروتئین میوفیبریلی طی ۱۴ روز نگهداری است، به ترتیب مربوط به دو پروتئین زنجیره سنگین

هیستوشیمیایی نشان می‌دهد در مدت نگهداری گوشت، غشای لیزوزوم‌ها به تدریج پاره شده و در روز چهاردهم این عمل تکمیل می‌شود. بدین ترتیب کاتپسین‌ها وارد سیتوپلاسم شده و در مجاورت میوفیبریل‌ها قرار می‌گیرند. با توجه به کاهش pH گوشت به حدود ۵/۵-۵/۸ در زمان پس از کشتار در اکثر گونه‌های دارای گوشت قرمز، برخی از کاتپسین‌ها مانند B و L که pH بهینه فعالیت آنها ۵/۵-۶/۵ است، پس از رها شدن از لیزوزوم‌ها قادر به فعالیت خواهند بود؛ ولی از فاکتورهای محدود کننده اصلی دما می‌باشد (Kemp et al., 2010; Sentandreu et al., 2002).

یافت (Bandman & Zdanis, 1988). ولی Goll و همکاران (۱۹۸۳) بیان نمودند که MHC در دمای ۴-۰ درجه سانتی‌گراد تجزیه نشده و در دمای ۴۰ یا ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مقدار خیلی جزئی تجزیه می‌گردد. Taylor و همکاران (۱۹۹۵) گزارش کردند اکتین و میوزین در زمان نگهداری گوشت در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد در ۷۲ ساعت اول پس از کشتار بصورت خیلی جزئی تخریب شدند.

میوزین توسط آنزیم‌های کاتپسین و در شرایط اسیدی تجزیه می‌شود. کاتپسین‌ها درون لیزوزوم بوده و عمدتاً در pH اسیدی (pH بهینه فعالیت ۶/۸-۳)، نظیر محیط داخلی لیزوزوم، فعال هستند. مطالعات

جدول ۲- جایگاه و ویژگی باندهای تشکیل شده رویژل SDS-PAGE حاصل از پروتئولیز پروتئین‌های میوفیبریلی عضلات دو سر ران و طویل سینه‌ای شتر در مدت ۱۴ روز نگهداری\*

شماره باند	نام پروتئین	وزن مولکولی (کیلودالتون)	R <sub>f</sub>	مساحت باند	حداقل درصد باند	حداکثر درصد باند
۱	زنجیره سنگین میوزین	۲۰۸±۸/۳	۰/۰۳۸±۰/۰۰۶	۷۳۶۹±۱۰۷۵	۱۸/۰۷	۲۲/۸۰
۲	پروتئین C	۱۴۵±۵/۳	۰/۰۶۷±۰/۰۰۵	۳۸۹۷±۶۲۰	۳/۸۶	۱۰/۵۱
۳	α-اکتینین	۹۸±۲/۵	۰/۱۲۲±۰/۰۰۵	۴۱۴۰±۹۸۶	۳/۹۶	۶/۴۹
۴	باند ۶۸ کیلودالتون	۶۸±۱/۵	۰/۱۹۰±۰/۰۰۵	۵۶۱۴±۱۰۸۶	۴/۵۴	۸/۱۱
۵	دسمین	۵۶±۱/۷	۰/۲۷۳±۰/۰۰۹	۵۲۳۲±۱۰۲۱	۲/۷۶	۶/۶۸
۶	اکتین	۴۴±۰/۷	۰/۳۶۵±۰/۰۰۷	۸۰۵۱±۱۰۶۰	۱۴/۱۶	۱۷/۰۶
۷	تروپونین T	۳۹±۱/۲	۰/۴۲۰±۰/۰۱۱	۳۸۱۱±۸۴۰	۰/۱۷±۰/۰۰۵	۴/۸۰
۸	تروپومیوزین ۱	۳۷±۵/۰	۰/۴۲۴±۰/۰۰۷	۴۳۸۵±۱۴۸۵	۳/۹۹	۸/۰۸
۹	تروپومیوزین ۲	۳۶±۰/۴	۰/۴۵۵±۰/۰۰۹	۵۰۶۷±۱۱۵۹	۴/۹۴	۸/۰۱
۱۰	پپتید ۳۰ کیلودالتونی	۳۰±۰/۳	۰/۵۲۰±۰/۰۰۹	۵۶۴۸±۱۰۴۹	۴/۵۷	۸/۰۹
۱۱	زنجیره میوزین سبک ۱	۲۵±۰/۵	۰/۶۲۵±۰/۰۱۲	۶۷۷۰±۱۷۰۵	۶/۱۳	۱۰/۹۴
۱۲	تروپونین I	۲۱±۰/۳	۰/۶۹۳±۰/۰۱۲	۵۶۶۵±۹۴۰	۳/۸۱	۵/۹۶
۱۳	تروپونین C	۱۸±۰/۲	۰/۷۸۶±۰/۰۱۴	۵۷۲۹±۱۰۹۹	۴/۴۳	۷/۱۵
۱۴	زنجیره میوزین سبک ۲	۱۷±۰/۲	۰/۸۲۴±۰/۰۱۶	۵۳۳۸±۹۸۲	۴/۱۴	۷/۴۸

\* داده‌ها، میانگین ۴۸ عدد ± انحراف معیار می‌باشد.

می‌یابد و در دوره نگهداری نیز در این دما و یا به صورت منجمد نگهداری می‌شود لذا این آنزیم‌ها نمی‌

با توجه به اینکه پس از کشتار، گوشت به سردخانه منتقل شده و دمای آن تا ۴ درجه سانتی‌گراد کاهش

میوفیبریلی تیمار شده در pH معادل ۵/۴ و یا دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با pH معادل ۷ یا دمای ۴ درجه سانتی‌گراد شدت باند MHC بطور معنی‌داری کاهش و بطور همزمان شدت باندهای پروتئین M و C و باندهای ۹۵-۵۰ کیلودالتون افزایش یافت. آنها نتیجه گرفتند با توجه به وزن مولکولی بالاتر MHC، افزایش شدت این باندها ناشی از تجزیه این پروتئین است (تقریباً ۲۴ ساعت پس از کشتار). Sentandreu و همکاران (۲۰۰۲) پپتیدهای با وزن مولکولی ۱۵۰ کیلودالتون را ناشی از تخریب MHC دانستند. Bandman و Zdanis (۱۹۸۸) مشاهده نمودند MHC در دوره نگهداری پس از کشتار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تجزیه و پروتئین‌های با وزن مولکولی ۱۸۰-۱۶۰ و ۹۵-۵۰ کیلودالتون افزایش یافت. Goll و همکاران (۱۹۸۳) گزارش کردند در pH ۵/۲ کاتپسین میوزین را به پپتید ۱۵۰ کیلودالتونی تجزیه می‌کند و این پپتید در ادامه به سختی تجزیه می‌شود. بررسی با ایمونو بلات و MS نشان داد پروتئولیز MHC در لحظات اولیه پس از کشتار که لاشه هنوز نسبتاً گرم بوده و فعالیت آنزیم‌های کاتپسین بالاست وجود داشته و در نتیجه تجزیه MHC باندهای ۱۴۹ و ۱۵۳ کیلودالتون تولید شدند. همچنین مقدار پروتئولیز MHC در مدت ۳۶ ساعت پس از کشتار در گوشت‌های تردتر بیشتر از انواع دارای تردی کم بود و پروتئولیز فیلامنت‌های ضخیم بطور معنی‌داری با تردی گوشت گاو مرتبط بود (Sawdy *et al.*, 2004).

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد گذشت زمان تاثیر معنی‌داری روی افزایش شدت باند ۱۴۵ کیلودالتونی داشت و شدت باند بطور پیوسته افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). شدت باند ۱۴۵ کیلودالتونی از روز سوم به بعد در نتیجه افزایش فعالیت کاتپسین‌ها و افزایش تجزیه MHC افزایش زیادی داشته و در روز هفتم تقریباً دو برابر روز اول بود ولی افزایش شدت باند تا روز ۱۴ نگهداری چشم‌گیر نبود (جدول ۳). با توجه به اینکه این باند در ساعت اول پس از کشتار روی ژل‌ها ظاهر شده و در ادامه نیز بر شدت آن افزوده شده است می‌توان این باند را مربوط به پروتئین C دانست که پپتیدهای حاصل از تجزیه

توانند تاثیر چندانی روی تجزیه میوزین و در نتیجه تردی گوشت داشته باشند. در این پژوهش نیز به نظر می‌رسد دما نقش مهم‌تری از pH دارد زیرا با این که pH نهایی عضله BF ۵/۷۴ و LT ۵/۶۳ بود (در دامنه pH بهینه فعالیت کاتپسین‌های B و L) و در مدت نگهداری نیز pH بطور جزئی افزایش یافت ولی چون نگهداری در یخچال انجام شد، کاتپسین‌ها نتوانستند فعالیت چندانی داشته و تغییر معنی‌داری در شدت باند MHC ایجاد نمایند. همچنین مشابه زمان نگهداری، نوع عضله نیز تاثیر معنی‌داری روی پروتئولیز MHC ایجاد نکرد. میانگین شدت باند MHC در جنس نر بطور معنی‌داری بیشتر از جنس ماده بود که احتمالاً ناشی از فعالیت بیشتر کاتپسین‌ها در جنس ماده می‌باشد.

## ۲) باند ۱۴۵ کیلودالتون (پروتئین C)

این باند می‌تواند مربوط به پروتئین C و به احتمال ضعیف پپتیدهای حاصل از تجزیه MHC باشد. الف) پروتئین C: پروتئین C جزئی از فیلامنت ضخیم بوده و به قسمت دم میوزین متصل شده و روی پیکربندی میوزین تاثیر می‌گذارد. همچنین، این پروتئین به F اکتین و در حضور یون کلسیم به ناحیه I میوفیبریل متصل می‌شود. وزن مولکولی این پروتئین در منابع ۱۴۳-۱۴۰ کیلودالتون ذکر شده است (Yamamoto, 1986). Claeyss و همکاران (۱۹۹۵) دومین باند ظاهر شده روی ژل SDS-PAGE را متعلق به پروتئین C دانستند که در نمونه‌های تهیه شده (۰، ۱، ۶ و ۱۲ روز پس از کشتار) از لحظه کشتار تا روز ۱۲ روی ژل ظاهر شده و در روزهای ۶ و ۱۲ از شدت آن کاسته شد. Salm و همکاران (۱۹۸۳) باند ۱۵۵ کیلودالتونی ظاهر شده روی ژل (حاصل از فراکسیون میوفیبریلی گوشت گاو در مرحله پیش از جمود) را متعلق به پروتئین C دانستند و بیان کردند شدت باند این پروتئین در مدت ۵ روز نگهداری در دمای ۳-۱ درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌داری کاهش یافت. این پروتئین توسط کالپاین تجزیه می‌شود (Salm *et al.*, 1983; Goll *et al.*, 1983).

ب) پپتیدهای حاصل از تجزیه MHC: Yates و همکاران (۱۹۸۳) مشاهده نمودند در فراکسیون

۷۲ ساعت اول پس از کشتار بصورت خیلی جزئی تخریب می‌شود (Hwan & Bandman, 1989). شروع تجزیه  $\alpha$ -اکتینین از ۷ تا ۱۰ روز پس از کشتار و توسط کاتپسین‌های B، D و L می‌باشد ولی شدت تجزیه ضعیف بوده به طوری که  $\alpha$ -اکتینین بعد از ۱۳ روز نگهداری گوشت در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد دچار تغییر محسوسی نشده و از عضلات اسکلتی ایزوله شد (Taylor et al., 1995; Hwan & Bandman, 1989). قیصری و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند  $\alpha$ -اکتینین در مدت رسیدن گوشت تخریب نمی‌شود. بر خلاف این یافته، Yates و همکاران (۱۹۸۳) گزارش کردند در فراکسیون میوفیبریلی تیمار شده در pH ۵/۴ و یا دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با pH ۷ یا دمای ۴ درجه سانتی‌گراد شدت باند متعلق به  $\alpha$ -اکتینین بطور معنی‌داری بیشتر بود و دلیلی برای این تغییرات ذکر نکردند.

در این پژوهش گذشت زمان بر پروتئولیز  $\alpha$ -اکتینین بطور معنی‌داری تاثیر گذاشت ( $P < 0/05$ ). شدت باند تا روز پنجم پس از کشتار دچار تغییر محسوسی نشد ولی در روزهای ۷ و ۱۴ نگهداری به طور معنی‌داری کمتر بود که ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتپسین در هفته دوم پس از کشتار و تجزیه این پروتئین بود. مشابه این نتیجه، توسط بقایی و همکاران (۱۳۹۲) در گوشت شترمرغ مشاهده شد. اثر جنسیت بر پروتئولیز این پروتئین بی‌معنی بود ( $P > 0/05$ ). ولی شدت پروتئولیز در عضله LT (میانگین شدت باند  $5/53$ ) بطور معنی‌داری کمتر از BF بود (میانگین شدت باند  $5/24$ ) ( $P < 0/05$ ). همچنان که ذکر شد pH بهینه فعالیت کاتپسین‌های B و L  $5/5-6/5$  می‌باشد. تفاوت کمی که در شدت پروتئولیز در بین این دو عضله وجود دارد می‌تواند ناشی از پایین بودن جزئی pH در عضله LT نسبت به BF باشد که سبب دورتر شدن از pH بهینه فعالیت آنزیمی می‌شود. علاوه بر این، مقدار و فعالیت آنزیم‌ها و بازدارنده‌های آنزیمی در عضلات مختلف متفاوت بوده و می‌تواند منشأ اختلاف در پروتئولیز بین دو عضله باشد. احتمالاً غلظت آنزیم‌های کاتپسین در عضله BF اندکی بیشتر از LT بوده است.

جزئی MHC نیز در ادامه نگهداری گوشت در این محدوده انباشته و بر شدت باند اضافه شده است. همچنین با اینکه این پروتئین توسط کالپاین‌ها تجزیه می‌شود چون در هیچ منبعی اشاره‌ای به نقش این پروتئین در ترد شدن گوشت نشده است انتظار نمی‌رود در ۳ روز اول پس از کشتار که فعالیت کالپاین‌ها بیشترین است کاهش معنی‌داری در پروتئین C اتفاق بیفتد. شدت باندها در طول زمان بطور معنی‌داری تحت تاثیر جنسیت و نوع عضله نیز قرار گرفت ( $P < 0/05$ ). در جنس نر میانگین شدت باند کمتر از جنس ماده بود که می‌تواند مربوط به فعالیت آنزیمی بیشتر کالپاین‌ها در جنس نر یا بازدارندگی بیشتر کالپستاتین در جنس ماده باشد. Morgan و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند فعالیت بازدارندگی بیشتر کالپستاتین در گاوهای نر در مدت ۷ روز سبب کاهش فعالیت کالپاین  $\mu$  و ایجاد گوشت‌های سفت‌تر شد. محققان دیگر، تخریب کمتر پروتئین‌های درشت (تیتین و نیولین) در گاوهای نر در مقایسه با نر اخته را مربوط به کاهش فعالیت کالپاین‌ها و افزایش فعالیت بازدارندگی کالپستاتین دانستند (Huff Lonergan et al., 1995). شدت باند در عضله BF به طور معنی‌داری بیشتر از LT بود که نشان دهنده شدت پروتئولیز کمتر در این عضله است. بررسی سرعت تجزیه برخی از پروتئین‌های درشت (نیولین و وینکولین) در عضلات BF و نیم‌غشایی نشان داد سرعت پروتئولیز متأثر از نوع عضله بوده و در عضله BF کمتر از نیم‌غشایی بود (Taylor et al., 1995).

### ۳) باند ۹۸ کیلودالتون ( $\alpha$ -اکتینین)

$\alpha$ -اکتینین با وزن مولکولی ۹۷ کیلودالتون یکی از مهم‌ترین اجزای سازنده دیسک Z و جزء خانواده دایستروفین<sup>۱</sup> است.  $2/5-2/2$  پروتئین‌های میوفیبریلی مربوط به این پروتئین است. فیلامنت‌های اکتین و تیتین دو سارکومر مجاور از طریق این پروتئین به دیسک Z متصل می‌شوند (Knoll et al., 2002). آنالیز با روش وسترن بلائینگ نشان داد  $\alpha$ -اکتینین در زمان نگهداری گوشت در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد در

1- Dystrophin



**(۴) باند ۶۸ کیلودالتون**

خاطر تخریب آنها ساختمان عضله را به صورت چشمگیری تضعیف می‌کند. دسمین از پروتئین‌های اصلی فیلامنت‌های بینابینی<sup>۱</sup> بوده و پیرامون دیسک Z را فرا گرفته است. این پروتئین با متصل نمودن دیسک‌های Z به همدیگر فیلامنت‌های مجاور را به هم متصل می‌کند ( Taylor et al., 1997; Ho et al., 1995). تجزیه دسمین منجر به از دست رفتن یکپارچگی دیسک Z شده یا اتصالات بین دیسک Z و باند I از بین می‌رود (Goll et al., 1983). در نتیجه، تخریب دسمین بطور قابل ملاحظه‌ای با تردی ارتباط دارد ( Huff Lonergan et al., 2010; Koochmaraie, 1996). یافته‌های پژوهشگران نشان می‌دهد تجزیه دسمین از روز اول پس از کشتار شروع می‌شود ولی در مورد شدت پروتئولیز اختلاف نظرهایی وجود دارد. Taylor و همکاران (۱۹۹۵) بیان نمودند تخریب دسمین با فاصله کوتاهی بعد از کشتار شروع شده و به مدت ۴ تا ۶ روز ادامه می‌یابد و به طور پیوسته باعث افزایش تردی می‌شود. وسترن بلاتینگ نشان داد دسمین در مدت ۷۲ ساعت پس از کشتار و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تقریباً به طور کامل تخریب شد (Taylor et al., 1995).

نتایج نشان داد زمان تأثیر معنی‌داری بر پروتئولیز دسمین داشت ( $P < 0.05$ ). پروتئولیز دسمین از همان ساعات اول پس از کشتار شروع شده و در مدت ۱۴ روز نگهداری شدت باند آن پیوسته کاهش یافت. دانسیته باند تا روز هفتم نگهداری به نصف کاهش یافت و از روز ۷ تا ۱۴ با اینکه کاهش شدت باند معنی‌دار بود ولی قابل توجه نبود چرا که دسمین توسط کالپاین‌ها تخریب می‌شود و این آنزیم‌ها در ۷۲ ساعت اولیه پس از کشتار بیشترین فعالیت را دارند ( Huff Lonergan et al., 2010; Taylor et al., 1995). Kristensen و Purslow (۲۰۰۱) گزارش کردند در ۲۴ ساعت اولیه پس از کشتار دسمین اصلاً تخریب نشد و دانسیته دسمین پس از ۱۰ روز از کشتار ۷۰٪ کاهش می‌یابد.

جنسیت تأثیر معنی‌داری روی تجزیه دسمین نداشت ( $P > 0.05$ ) ولی نوع عضله به طور معنی‌داری

تغییرات این پروتئین نیز به طور معنی‌داری تحت تأثیر زمان نگهداری قرار گرفت هر چند این تغییرات دارای روند منظمی نبود ( $P < 0.05$ ). شدت باند تا روز سوم پس از کشتار افزایش یافت که می‌توان به انباشته شدن پپتیدهای حاصل از تجزیه پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا نظیر میوزین، نبولین و تیتین مربوط دانست. نبولین و تیتین سوپسترای کالپاین‌ها بوده و چون این آنزیم‌ها ۷۲ ساعت اول پس از کشتار دارای بیشترین فعالیت هستند، افزایش شدت این باند غیرطبیعی نیست. در روزهای ۵ و ۷ شدت باند به طور معنی‌داری کاهش یافت که می‌تواند ناشی از شکستن این پپتیدها و به پپتیدهای کوچک‌تر باشد. در ادامه نگهداری با این که شدت باند در روز ۱۴ بیشتر شد ولی معنی‌دار نبود. مشابه روز سوم افزایش شدت باند احتمالاً ناشی از تجمع پپتیدهای حاصل از شکست پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا که سوپسترای کاتپسین‌ها (نظیر میوزین) هستند، باشد. Bandman و Zdanis (۱۹۸۸) افزایش شدت باندهای ناحیه ۹۵-۵۰ کیلودالتون برای گوشت‌های نگهداری شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد را ناشی از تجزیه MHC دانستند. Yates و همکاران (۱۹۸۳) بیان کردند مقدار مواد موجود در دامنه ۹۵-۵۰ کیلودالتون در شرایطی که فراکسیون میوفیبریلی در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد یا pH ۵/۴ قرار گرفت خیلی بیشتر از زمانی بود که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و یا pH ۷ قرار گرفت و چون افزایش شدت باندهای این ناحیه مصادف با کاهش شدت باند MHC بود نتیجه گرفتند که از تجزیه میوزین تولید شده‌اند. جنسیت و نوع عضله تأثیر معنی‌داری بر شدت این باند نداشتند ( $P > 0.05$ ).

**(۵) باند ۵۶ کیلودالتون (دسمین)**

دسمین جزء پروتئین‌های کوستامر<sup>۱</sup> می‌باشد و با وزن مولکولی ۵۵ کیلودالتون کمتر از یک درصد پروتئین‌های میوفیبریلی را به خود اختصاص می‌دهد. کوستامرها برخلاف ظاهر ظریفشان خیلی قوی بوده و عامل انتقال نیرو به میوفیبریل‌ها هستند. به همین

2- Intermediate filaments

1- Costamere

کردند. در پژوهش دیگری روی گوشت شتر پروتئولیز جزئی این پروتئین در مدت ۷ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید (سلطانی‌زاده و همکاران، ۲۰۰۸). اکتین در زمان نگهداری گوشت در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد در ۷۲ ساعت اول پس از کشتار بصورت خیلی جزئی تخریب می‌شود (Taylor *et al.*, 1995). پروتئولیز جزئی اکتین، اکتومیوزین تشکیل شده در مرحله جمود را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Huff Lonergan *et al.*, 2010)؛ با این وجود پل‌های عرضی تشکیل شده بین اکتین و میوزین در مدت رسیدن گوشت نیز برقرار می‌مانند (Bandman & Zdanis, 1988) و اکتومیوزین بعد از نگهداری ۱۳ روزه گوشت در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد از عضلات اسکلتی ایزوله شده است (Taylor *et al.*, 1995). Sawdy و همکاران (۲۰۰۴) بیان نمودند اکتین تحت شرایط نرمال پس از کشتار تجزیه نمی‌شود. جنسیت و نوع عضله تاثیر معنی‌داری بر تجزیه این پروتئین ایجاد نکردند ( $P > 0.05$ ).

**(۷) باندهای ۳۹ و ۳۰ کیلودالتون (تروپونین T و پپتید ۳۰ کیلودالتونی)**  
تروپونین T در ناحیه ۴۰-۳۷ کیلودالتون و به صورت یک یا دو باند ظاهر می‌شود (Claeys *et al.*, 1995). در گوشت گاو تروپونین T بصورت دو باند با وزن مولکولی ۳۷ و ۳۹ کیلودالتون ظاهر شد که به فیبرهای تند و کند تروپونین T مربوط بود (Salm *et al.*, 1983). Briggs و همکاران (۱۹۸۴) دو باند مربوط به تروپونین T را در گوشت خرگوش مشاهده نمودند. در پروتئین‌های میوفیبریلی اساسی‌ترین و عمده‌ترین تغییر تجزیه‌ای قابل مشاهده روی SDS-PAGE ناپدید شدن تروپونین T (Koohmaraie, 1983; Goll *et al.*, 1990; Ouali, 1994) و پدیدار شدن پپتید ۳۰ کیلودالتون است. غالباً در نتیجه پروتئولیز تروپونین T بیش از یک پپتید در محدوده ۳۲-۲۸ کیلودالتون تولید می‌شود. برخی از پژوهشگران مشاهده نمودند با سپری شدن زمان دو باند اصلی ۲۸ و ۳۰ کیلودالتونی روی ژل ظاهر می‌شود (Huff Lonergan *et al.*, 2010; Koohmaraie, 1994). چون تروپونین T به عنوان پروتئین تنظیم

روی پروتئولیز (شدت باند) تاثیر گذاشت ( $P < 0.05$ ). شدت باند در عضله BF در ۱۴ روز نگهداری در هر دو جنس نر و ماده بیشتر از عضله LT بود که می‌تواند ناشی از فعالیت بیشتر کالپاین‌ها در عضله LT باشد. نتایج مشابهی توسط پژوهشگران دیگر نیز مشاهده شده است. تجزیه دسمین تحت تاثیر نوع عضله قرار گرفته و به ترتیب در عضلات طویل، نیم‌غشایی، BF، سه سر بازو و نیم وتری بیشترین بود (Wheeler *et al.*, 2000). علاوه بر این، Taylor و همکاران (۱۹۹۵) گزارش نمودند در عضلات BF و نیم‌غشایی پس از ۶ روز نگهداری، دسمین به ترتیب ۱۰ و ۷۵٪ تجزیه شد. نوع عضله کیفیت گوشت و مقدار کالپاین و کالپستاتین را شدیداً تحت تاثیر قرار می‌دهد (Dransfield, 1994). Koohmaraie و همکاران (۱۹۸۸) گزارش کردند فعالیت کالپاین‌های m و  $\mu$  در عضله طویل بیشتر از BF و تردی این عضله نیز بیشتر از BF بود.

#### (۶) باند ۴۴ کیلودالتونی (اکتین)

اکتین از لحاظ فراوانی دومین پروتئین است که ۲۲٪ پروتئین‌های میوفیبریلی را تشکیل و اساس فیلامنت‌های نازک را شکل می‌دهد. به همین دلیل شدت باند مربوط به این پروتئین نیز بعد از میوزین بیشترین بود. مشابه اکثر پروتئین‌ها، پروتئولیز این پروتئین نیز به طور معنی‌داری تحت تاثیر زمان نگهداری قرار گرفت ( $P < 0.05$ ). تغییرات ایجاد شده تا روز هفتم جزئی بوده ولی از روز ۷ تا ۱۴ نگهداری، شدت باند هر چند کم ولی به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۳) زیرا تخریب اکتین ۷ الی ۱۰ روز بعد از کشتار شروع می‌شود (Sentandreu *et al.*, 2002). Goll و همکاران (۱۹۸۳) هر دوی کاتپسین‌های D و B را عامل پروتئولیز اکتین دانستند. ثابت شده است تخریب این پروتئین علاوه بر کاتپسین‌ها توسط پروتئوزوم‌ها نیز انجام می‌شود (Kemp *et al.*, 2010; Lamare *et al.*, 2002). مشابه این پژوهش، عدم تجزیه یا تجزیه خیلی جزئی اکتین در پژوهش‌های مختلفی که تاکنون روی گوشت شتر و سایر گوشت‌ها انجام گرفته است، گزارش شده است. قیصری و همکاران (۲۰۰۸) عدم تجزیه اکتین در مدت رسیدن گوشت شتر را گزارش

بیشتر کالپاین‌های  $m$  و  $\mu$  در این عضله باشد (Koochmaraie *et al.*, 1988).

باند ۳۰ کیلودالتون در ساعت اول پس از کشتار قابل مشاهده نبود. با گذشت زمان و کاهش pH عضله و فعال شدن کالپاین  $\mu$ ، تروپونین T پروتئولیز و باند ۳۰ کیلودالتون تولید شد. شدت باند آن در مدت ۱۴ روز نگهداری افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). افزایش شدت باند تا روز پنجم قابل ملاحظه بود ولی از روز ۵ تا ۷ نگهداری افزایش شدت باند معنی‌دار نبود. افزایش شدت باند تا روز ۱۴ نگهداری نسبتاً زیاد بوده و بخشی از آن می‌تواند مربوط به تجزیه تروپونین T و بخشی دیگر احتمالاً در نتیجه شکستن پروتئین‌ها و پپتیدهای با وزن مولکولی بالاتر باشد. تولید پپتید ۳۰ کیلودالتون نیز به طور معنی‌داری تحت تاثیر نوع عضله قرار گرفت ( $P < 0.05$ ) و میانگین شدت باند مربوط به عضله LT در مدت نگهداری بیشتر از BF بود. با توجه به تجزیه بیشتر تروپونین T در عضله LT بالاتر بودن شدت باند ۳۰ کیلودالتون در این عضله منطقی به نظر می‌رسد.

در گوشت گاو دو باند مربوط به تروپونین T از لحظه کشتار تا روز ششم حضور داشتند و در روز ۱۲ به طور کامل ناپدید و باند ۳۰ کیلودالتون از روز ششم مشاهده شد (Claeys *et al.*, 1995). قیصری و همکاران (۲۰۰۸) گزارش نمودند در گوشت شتر مهم‌ترین تغییر تجزیه‌ای مشاهده شده در مدت نگهداری تجزیه تروپونین T بود و ارتباطی بین تجزیه تروپونین T و تردی گوشت مشاهده نشد. به طور مشابه، سلطانی‌زاده و همکاران (۲۰۰۸) نیز ناپدید شدن تدریجی تروپونین T و ظهور پپتید ۳۰ کیلودالتونی را به عنوان عمده‌ترین تغییر در مدت هفت روز نگهداری گزارش کردند. آنها همچنین ابراز داشتند در گوشت گاو تا روز سوم پپتید ۳۰ کیلودالتونی ظاهر نشد ولی در گوشت شتر در روز سوم پدیدار گردید که نشان دهنده فعالیت آنزیمی بالاتر در این گوشت است.

۸ باندهای ۳۶ و ۳۷ کیلودالتون (ایزوفرم‌های ۱ و ۲ تروپومیوزین)

کننده روی فیلامنت نازک قرار گرفته و در تشکیل اکتومیوزین مداخله می‌کند از همین رو تجزیه آن می‌تواند منجر به ایجاد تغییراتی در تعامل بین فیلامنت‌های نازک و ضخیم گردد (Huff Lonergan *et al.*, 2010). Taylor و همکاران (۱۹۹۵) بیان کردند تخریب تروپونین T فیلامنت‌های نازک را تضعیف کرده و مستقیماً در تردی پس از کشتار دخیل است. در بسیاری از منابع تجزیه تروپونین T و ظهور پلی پپتید ۳۰ کیلودالتونی با نیروی برشی در ارتباط بوده و بعنوان شاخص خوبی از فعالیت پروتئازی و پروتئولیز پس از کشتار (و در نتیجه تردی) در نظر گرفته می‌شود (Kemp *et al.*, 2010; Huff Lonergan *et al.*, 2010; Koochmaraie, 1996 & Ouali, 1990; Yates *et al.*, 1983; Goll *et al.*, 1983). ولی هنوز با توجه به این که این پروتئین تنظیم کننده نقش ساختاری نداشته و در پایداری میوفیبریل‌ها عامل کلیدی نیست (Mohrhauser *et al.*, 2014; Ouali, 1990; Goll *et al.*, 1983) ابهام وجود دارد که آیا تجزیه این پروتئین سبب بهبود تردی می‌شود یا خیر؟ در اکثر منابع ذکر شده است که پروتئولیز تروپونین T توسط کالپاین‌ها صورت می‌گیرد (Huff Lonergan *et al.*, 2010; Koochmaraie, 1992; Ouali, 1990; Yates *et al.*, 1983; Goll *et al.*, 1983). ولی در گوشت‌های گاو، جوجه و خرگوش هیدرولیز این پروتئین توسط کاتپسین L نیز گزارش شده است (Kemp *et al.*, 2010).

در این پژوهش، تروپونین T بصورت یک باند در ناحیه ۳۹ کیلودالتون ظاهر شد. گذشت زمان پروتئولیز تروپونین T را بطور معنی‌داری تحت تاثیر قرار داد ( $P < 0.05$ ) و شدت باند روند کاهشی داشت البته اختلاف بین ساعت اول و ۲۴ پس از کشتار معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). با توجه به این که پروتئولیز توسط کالپاین‌ها صورت می‌گیرد و این آنزیم‌ها در روزهای اول پس از کشتار بیشترین فعالیت را دارند بیشترین کاهش شدت باند تا روز پنجم اتفاق افتاد و شدت باند به ۲۰٪ مقدار اولیه رسید. بر خلاف جنس، نوع عضله تأثیر معنی‌داری روی شدت پروتئولیز ایجاد نمود ( $P < 0.05$ ) مقدار تجزیه این پروتئین در عضله LT بیشتر از BF بود که می‌تواند به دلیل فعالیت

ژل ظاهر شده و تا روز ۱۶ (روز آخر نگهداری) بدون تغییر معنی‌داری حضور داشتند. Sawdy و همکاران (۲۰۰۴) اظهار کردند تروپومیوزین در تردی نقشی نداشت.

#### ۹) باندهای ۱۷ و ۲۵ کیلودالتون (زنجیره‌های سبک ۱ و ۲ میوزین (MLC))<sup>۱</sup>

هر مولکول میوزین حاوی ۴ زنجیره سبک می‌باشد که وزن مولکولی آنها ۱۶-۲۵ کیلودالتون است (قیصری و همکاران، ۲۰۰۹). بسیاری از پژوهشگران موفق به شناسایی دو زنجیره (زنجیره سبک ۱ و ۲) از ۴ زنجیره سبک شده‌اند (قیصری و همکاران، ۲۰۰۹; Yates et al., 1983; Claey's et al., 1995; Salm et al., 1983). Salm و همکاران (۱۹۸۳) دو باند ۱۷ و ۲۴ کیلودالتونی را متعلق به این دو فراکسیون دانست. ولی Ouali (۱۹۹۰) هر ۴ زنجیره سبک میوزین (MLC 1 سریع، MLC 2 کند، MLC 2 سریع، MLC 3) را روی ژل‌ها مشاهده نمود. در این پژوهش نیز مشابه بیشتر مطالعات صورت گرفته فقط دو باند متعلق به MLC شناسایی شد که با عنوان MLC 1 و MLC 2 از آنها یاد می‌شود. جنسیت و نوع عضله تأثیر معنی‌داری روی تجزیه MLC نداشتند. حتی زمان نیز بر تجزیه MLC 1 تأثیر معنی‌داری نداشت. شدت باند MLC 1 تا روز پنجم کاهش و در روز هفتم افزایش و دوباره در روز چهاردهم کاهش یافت. پروتئولیز MLC 1 و ۲ توسط پروتئوزوم‌ها انجام می‌شود (Koohmaraie, 1994). کاهش شدت باند می‌تواند به علت پروتئولیز جزئی انجام شده توسط پروتئوزوم‌ها باشد. با گذشت زمان شدت باند مربوط به MLC 2 به طور معنی‌داری تأثیر پذیرفت و افزایش یافت. افزایش شدت باند می‌تواند ناشی از انباشته شدن پپتیدهای حاصل از تجزیه پروتئین‌های بزرگ باشد. مشابه این پژوهش، Claey's و همکاران (۱۹۹۵) مشاهده کردند از لحظه کشتار تا ۱۲ روز پس از آن شدت باندهای مربوط به MLC 1 و ۲ افزایش یافت. Yates و همکاران (۱۹۸۳) بیان کردند با افزایش دما به ۳۷ درجه سانتی‌گراد شدت باند متعلق به MLC 1

تروپومیوزین ۱۰-۸٪ پروتئین‌های میوفیبریلی را به خود اختصاص می‌دهد. این پروتئین دارای ساختار زنجیری بوده و هر کدام از این زنجیرها روی یک فیلامنت اکتین قرار می‌گیرد. وظیفه این پروتئین تنظیم برهمکنش بین اکتین و میوزین بوده و نقشی اساسی در انقباض منظم عضلات دارد. در این مطالعه، تجزیه هر دوی ایزوفرم‌های ۱ و ۲ تروپومیوزین به طور معنی‌داری تحت تأثیر زمان نگهداری قرار گرفت ( $P < 0.05$ ). مقدار تجزیه قابل توجه نبوده و قسمت عمده آن در سه روز اول پس از کشتار اتفاق افتاد. پژوهش‌ها نشان داد پروتئوزوم و کاتپسین L می‌توانند تروپومیوزین را پروتئولیز کنند (Kemp et al., 2010). البته تجزیه این پروتئین توسط کالپاین نیز انجام می‌شود (Goll et al., 1983). در پژوهش ما نیز چون قسمت عمده پروتئولیز در ۳ روز اول اتفاق افتاده لذا می‌توان گفت در ابتدا تروپومیوزین توسط کالپاین‌ها و در ادامه احتمالاً توسط کاتپسین‌ها به صورت جزئی تجزیه شده است. چون این پروتئین نیز جزء پروتئین‌های تنظیم کننده است، به نظر نمی‌رسد پروتئولیز آن نقشی در تردی گوشت داشته باشد بخصوص که پروتئولیز به صورت محدود انجام می‌شود. نوع عضله تأثیر معنی‌داری بر تجزیه این پروتئین در مدت زمان نگهداری ایجاد نکرد ( $P > 0.05$ ). ولی تجزیه ایزوفرم ۲ تروپومیوزین در شترهای نر به طور معنی‌داری بیشتر از ماده بود ( $P < 0.05$ ). Koohmaraie (۱۹۹۴) و Dransfield (۱۹۹۴) بیان نمودند جنسیت یکی از فاکتورهای مؤثر بر پروتئولیز پس از کشتار و تردی گوشت می‌باشد.

یافته‌های پژوهشگران مختلف نشان می‌دهد تروپومیوزین در دوره نگهداری گوشت دچار تخریب چندانی نمی‌شود. حتی تجزیه آن تحت تأثیر pH و دما و نیز تحریک الکتریکی قرار نگرفت (Yates et al., 1983; Salm et al., 1983). Salm و همکاران (۱۹۸۳) گزارش کردند باندهای با وزن مولکولی ۳۳ و ۳۵ به ترتیب متعلق به آلفا و بتا تروپومیوزین بودند و مقایسه ژل‌های بدست آمده در روزهای اول و پنجم پس از کشتار حاکی از عدم تغییر معنی‌داری در شدت این باندها بود. Ouali (۱۹۹۰) مشاهده کرد از ساعت اول پس از کشتار دو باند متعلق به تروپومیوزین روی

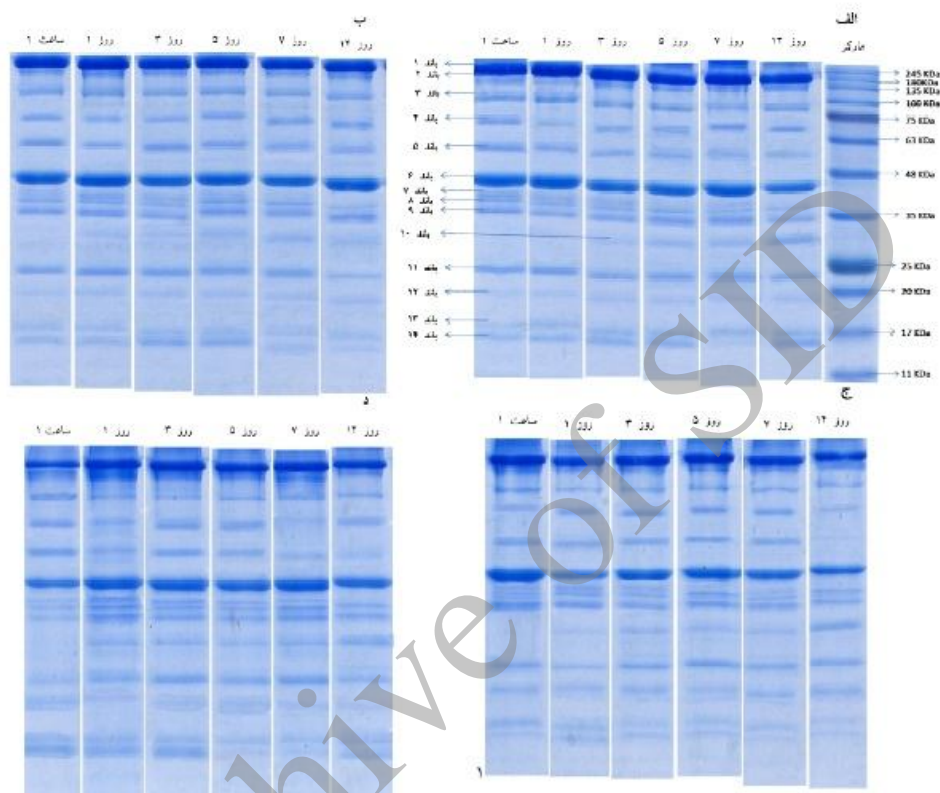
پدیدار شوند (قیصری و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج بیشتر مطالعات نشان می‌دهد باندهای مربوط به تروپونین C (۱۹ کیلودالتون) و I (۲۲ کیلودالتون) بین باندهای زنجیره‌های سبک ۱ و ۲ ظاهر می‌شوند (Claeys *et al.*, 1995; Yates *et al.*, 1983; Salm *et al.*, 1983).

از بین فاکتورهای جنس، نوع عضله و زمان، تنها زمان پروتئولیز تروپونین‌های C و I را به طور معنی‌دار تحت تاثیر قرار داد ( $P < 0.05$ ). شدت باند مربوط به تروپونین‌های C و I ۲۴ ساعت پس از کشتار در مقایسه با ساعت اول افزایش یافت که احتمالاً بدلیل انباشته شدن پپتیدهای کوچک تولید شده از پروتئین‌های سوبسترای کالپاین می‌باشد. در ادامه نگهداری، شدت باندهای تروپونین I هر چند جزئی ولی به طور منظم کاهش یافت. ولی شدت باند مربوط به تروپونین C از روز اول به بعد دارای روند افزایشی-کاهشی بود. روی ژل‌های تهیه شده از پروتئین‌های میوفیبریلی گوشت گاو، تنها تروپونین‌های I و T شناسایی شد و در مدت ۱۶ روز نگهداری تروپونین I خیلی آهسته تجزیه شد (Ouali, 1990). تروپونین‌ها نیز جزء پروتئین‌های تنظیم‌کننده‌ای هستند که به طور جزئی پروتئولیز شده و به نظر نمی‌رسد در تردی گوشت نقش حائز اهمیتی داشته باشند.

افزایش یافت که احتمالاً ناشی از تجمع محصولات تجزیه‌ای پروتئین‌های بزرگ‌تر است. تغییرات ایجاد شده در میوزین و اجزاء آن (زنجیره‌های سنگین و سبک) در دوره نگهداری پس از کشتار بخصوص زمانی که با روش کلاسیک SDS-PAGE تحت شرایط احیاء بررسی می‌شوند، چشم‌گیر نیست (Huff *et al.*, 2010). Lonergan *et al.*, 2010). Lonergan *et al.*, 2010) بیان کردند MLC توسط کالپاین  $\mu$  پروتئولیز شده و تجزیه آن تأثیر کمی روی تشکیل یا یکپارچگی اکتومیوزین می‌گذارد. با توجه به اینکه پروتئولیز MLC به صورت جزئی اتفاق می‌افتد و تأثیری در تردی گوشت ندارد در پژوهش‌های انجام شده روی این فراکسیون بحث زیادی انجام نشده است.

#### ۱۰ باندهای ۱۸ و ۲۱ کیلودالتون (تروپونین‌های C و I)

تروپونین ۱۰-۸٪ پروتئین‌های میوفیبریلی را تشکیل داده و روی فیلامنت اکتین قرار دارد. تروپونین از ۳ زیرواحد I، C و T تشکیل شده است. تروپونین T محل اتصال تروپونین به تروپومیوزین و تروپونین C محل جذب یون کلسیم است. تروپونین I در حالت انبساط مانع از اتصال فیلامنت‌های اکتین و میوزین به همدیگر می‌شود. انتظار می‌رود باندهای مربوط به تروپونین‌های C، I و T به ترتیب در محدوده وزن مولکولی ۱۸-۱۷، ۲۴-۲۰ و ۴۰-۳۷ کیلودالتون



شکل ۲- تغییرات الگوی الکتروفورزی (SDS-PAGE ۱۲/۵٪) پروتئین‌های میوفیبریلی گوشت شتر در مدت زمان‌های یک ساعت، ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۴ روز نگهداری (الف: عضله طویل سینه‌ای شتر نر، ب: عضله طویل سینه‌ای شتر ماده، ج: عضله دو سر ران شتر نر، د: عضله دو سر ران شتر ماده). باندهای شماره گذاری شده در سمت چپ شکل الف عبارتست از: ۱:  $208 \text{ KDa}$ ؛ ۲:  $145 \text{ KDa}$ ؛ ۳:  $98 \text{ KDa}$ ؛ ۴:  $68 \text{ KDa}$ ؛ ۵:  $56 \text{ KDa}$ ؛ ۶:  $44 \text{ KDa}$ ؛ ۷:  $39 \text{ KDa}$ ؛ ۸:  $37 \text{ KDa}$ ؛ ۹:  $36 \text{ KDa}$ ؛ ۱۰:  $30 \text{ KDa}$ ؛ ۱۱:  $25 \text{ KDa}$ ؛ ۱۲:  $21 \text{ KDa}$ ؛ ۱۳:  $18 \text{ KDa}$  و ۱۴:  $17 \text{ KDa}$ .

جدول ۳- تغییرات شدت باندهای پروتئینی روی ژل SDS-PAGE ۱۲/۵٪ در مدت ۱۴ روز پروتئولیز پروتئین‌های میوفیبریلی عضلات دو سر ران و طویل سینه‌ای شتر\*

باند/پروتئین	نوع عضله	جنس	زمان پس از کشتار(روز)					
			۱ ساعت	۱	۳	۵	۷	۱۴
باند ۱ (زنجیره سنگین میوزین)	دو سر ران	نر	۲۲/۸±۰/۵۷	۲۱/۶۸±۰/۰۷	۲۰/۳۴±۰/۲۲	۱۹/۸۰±۰/۲۲	۲۰/۴۸±۰/۶۵	۱۹/۸۰±۰/۴۲
	دو سر ران	ماده	۲۰/۲۵±۰/۰۸	۲۰/۵۹±۰/۰۸	۲۰/۵۷±۰/۰۷	۲۰/۷۱±۰/۰۳	۱۹/۵۲±۰/۰۳	۱۸/۲۴±۰/۳۴
	طویل سینه‌ای	نر	۲۰/۶۶±۰/۶۸	۱۹/۲۴±۱/۲۵	۱۹/۱۴±۰/۴۹	۱۹/۸۶±۰/۲۴	۱۹/۲۰±۰/۰۵	۱۹/۶۹±۲/۳۶
	طویل سینه‌ای	ماده	۲۱/۴۳±۱/۵۲	۲۰/۱۲±۰/۲۴	۲۰/۱۵±۰/۰۳	۱۹/۸۱±۲/۳۶	۱۹/۹۵±۳/۹۳	۱۸/۰۷±۰/۰۴
		P		جنس	عضله	زمان		
			۰/۰۱۱	۰/۸۲۹	۰/۱۸۹			
باند ۲ (پروتئین C)	دو سر ران	نر	۴/۶±۰/۰۷	۵/۰۹±۰/۰۱	۶/۱۷±۰/۰۷	۷/۹۲±۰/۱۰	۹/۷۵±۰/۲۴	۱۰/۲۷±۰/۱۰
	دو سر ران	ماده	۵/۹۹±۰/۵۹	۳/۸۶±۰/۱۹	۵/۱۷±۰/۰۷	۸/۱۸±۰/۰۵	۸/۰۵±۰/۰۷	۱۰/۳۶±۰/۰۵
	طویل سینه‌ای	نر	۴/۳۱±۰/۴۳	۶/۴۵±۰/۹۳	۸/۹۷±۱/۰۸	۷/۹۰±۱/۲۰	۱۰/۳۲±۰/۰۳	۱۰/۰۶±۰/۲۴
	طویل سینه‌ای	ماده	۵/۲۲±۰/۱۷	۵/۳۳±۰/۳۳	۵/۶۰±۰/۲۱	۸/۹۴±۰/۸۲	۱۰/۵۱±۰/۸۶	۸/۹۲±۰/۱۰
		P		جنس	عضله	زمان		
			۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰			
باند ۳ (α-اکتینین)	دو سر ران	نر	۵/۵۲±۰/۰۲	۶/۴۹±۰/۰۵	۵/۶۳±۰/۰۴	۵/۷۲±۰/۰۲	۴/۹۲±۰/۱۱	۳/۹۷±۰/۱۷
	دو سر ران	ماده	۶/۳۴±۰/۰۹	۵/۵۲±۰/۰۳	۵/۷۱±۰/۰۲	۵/۷۹±۰/۰۱	۵/۰۲±۰/۰۳	۳/۹۶±۰/۰۱
	طویل سینه‌ای	نر	۵/۹۳±۰/۴۷	۶/۰۱±۰/۵۶	۵/۶۷±۰/۰۵	۵/۷۶±۰/۰۴	۴/۹۷±۰/۰۸	۳/۹۶±۰/۱۰
	طویل سینه‌ای	ماده	۵/۵۲±۰/۴۷	۵/۸۹±۰/۲۲	۴/۸۴±۰/۰۷	۵/۷۱±۰/۰۸	۴/۳۰±۰/۳۰	۴/۴۴±۰/۹۳
		P		جنس	عضله	زمان		
			۰/۹۴۲	۰/۰۳۴	۰/۰۰۰			
باند ۴ (۶۸ کیلودالتون)	دو سر ران	نر	۵/۵۱±۰/۵۱	۵/۵۳±۱/۰۴	۸/۱۱±۰/۸۶	۷/۱۷±۰/۳۴	۵/۵۲±۰/۲۵	۵/۷۲±۰/۱۷
	دو سر ران	ماده	۴/۷۳±۰/۵۶	۶/۴۸±۰/۰۳	۵/۵۴±۰/۰۱	۶/۳۷±۰/۰۳	۴/۷۸±۰/۰۴	۴/۸۷±۰/۰۳
	طویل سینه‌ای	نر	۶/۱۷±۰/۴۱	۵/۰۹±۰/۵۷	۶/۴۴±۱/۱۶	۵/۴۸±۰/۱۲	۴/۵۴±۰/۴۲	۶/۱۳±۰/۶۰
	طویل سینه‌ای	ماده	۵/۸۱±۰/۴۰	۵/۶۸±۰/۱۳	۶/۵۲±۰/۴۲	۵/۴۹±۰/۱۵	۷/۶۱±۰/۰۷	۶/۶۳±۰/۰۵
		P		جنس	عضله	زمان		
			۰/۳۵۷	۰/۵۰۸	۰/۰۰۰			
باند ۵ (دسمین)	دو سر ران	نر	۷/۶۸±۰/۲۲	۶/۴۷±۰/۰۴	۵/۶۷±۰/۰۴	۵/۳۳±۰/۰۴	۴/۴۷±۰/۰۳	۳/۸۵±۰/۱۴
	دو سر ران	ماده	۷/۰۹±۰/۲۵	۶/۰۳±۰/۰۵	۵/۸۷±۰/۰۳	۵/۷۲±۰/۰۳	۴/۷۸±۰/۰۵	۳/۷۶±۰/۰۱
	طویل سینه‌ای	نر	۵/۷۱±۰/۲۹	۵/۶۱±۰/۹۴	۵/۱۴±۰/۰۱	۵/۲۹±۰/۰۵	۳/۰۲±۰/۷۳	۲/۹±۰/۰۵
	طویل سینه‌ای	ماده	۵/۶۷±۰/۳۶	۴/۹۴±۰/۱۷	۴/۳۸±۰/۱۰	۴/۵±۰/۹۰	۳/۹۲±۰/۱۱	۳/۰۵±۰/۰۷
		P		جنس	عضله	زمان		
			۰/۳۸۶	۰/۰۲۳	۰/۰۰۰			

(ادامه جدول ۳)

زمان پس از کشتار (روز)						جنس	نوع عضله	باند/پروتئین
۱۴	۷	۵	۳	۱	۱ ساعت			
۱۵/۷۵±۰/۳۵	۱۶/۱۰±۰/۰۳	۱۵/۹۷±۰/۰۳	۱۴/۹۰±۰/۱۳	۱۶/۰۹±۰/۱۳	۱۶/۱۵±۰/۱۳	نر	دو سر ران	باند ۶
۱۵/۶۳±۰/۱۸	۱۵/۲۱±۱/۱۱	۱۵/۹۲±۰/۱۰	۱۵/۷۲±۰/۰۳	۱۵/۴۶±۳/۵۹	۱۷/۰۶±۰/۵۸	ماده		(اکتین)
۱۴/۹۸±۲/۱۱	۱۵/۷۹±۰/۷۵	۱۵/۷۳±۰/۰۲	۱۵/۹۱±۰/۶۲	۱۵/۱۹±۰/۰۳	۱۴/۶۴±۱/۰۲	نر	طویل سینه‌ای	
۱۴/۱۶±۰/۲۳	۱۵/۹۵±۰/۰۶	۱۶/۱۳±۱/۸۳	۱۵/۷۸±۰/۰۴	۱۵/۶۵±۰/۴۵	۱۵/۸۴±۱/۱۲	ماده		
		زمان	عضله	جنس		P		
		۰/۲۳	۰/۷۱۸	۰/۱۲۱				
۰/۴۰±۰/۰۳	۱/۲۳±۰/۰۸	۱/۷۰±۰/۴۱	۳/۱۷±۰/۲۵	۴/۵۷±۰/۳۷	۴/۸±۰/۳۵	نر	دو سر ران	باند ۷
۰/۲۴±۰/۱۱	۱/۰۴±۰/۱۵	۰/۹۴±۰/۱۲	۲/۲۶±۰/۴۸	۴/۸۸±۰/۷۴	۴/۷۳±۰/۲۲	ماده		(تروپومیزین T)
۰/۱۷±۰/۰۵	۰/۹۲±۰/۴۰	۱/۰۳±۰/۲۴	۲/۳۹±۰/۷۲	۴/۱۸±۰/۱۹	۳/۹۵±۰/۳۱	نر	طویل سینه‌ای	
۰/۳۶±۰/۱۴	۰/۷۵±۰/۰۷	۰/۸۶±۰/۰۹	۳/۰۱±۰/۳۷	۳/۸۶±۰/۶۴	۴/۱۶±۰/۴۲	ماده		
		زمان کشتار	نوع عضله	جنس		P		
		۰/۰۰۰	۰/۰۴۶	۰/۶۱۸				
۴/۱۵±۰/۰۷	۴/۴۸±۰/۰۳	۴/۰۲±۰/۰۳	۴/۱۷±۰/۴۶	۵/۴۳±۰/۰۹	۷/۸±۱/۵۵	نر	دو سر ران	باند ۸
۴/۳۸±۰/۰۴	۵/۸۳±۰/۰۴	۴/۶۸±۰/۰۲	۵/۵۳±۰/۰۵	۴/۹۹±۱/۴۲	۸/۰۸±۰/۵۷	ماده		(تروپومیزین ۱)
۵/۳۵±۱/۰۹	۴/۹۷±۰/۹۵	۴/۲۲±۰/۱۲	۵/۹۷±۱/۵۳	۵/۴۹±۰/۲۴	۶/۴۵±۱/۴۷	نر	طویل سینه‌ای	
۴/۶۵±۰/۱۳	۵/۷۷±۱/۶۴	۳/۹۹±۰/۱۵	۴/۸۷±۰/۵۶	۶/۱۳±۰/۷۱	۶/۳۸±۰/۳۸	ماده		
		زمان کشتار	نوع عضله	جنس		P		
		۰/۰۰۰	۰/۳۴۵	۰/۸۲۸				
۵/۳۵±۰/۲۱	۵/۹۹±۰/۰۱	۵/۴۳±۰/۰۹	۶/۲۴±۰/۰۷	۵/۹۲±۰/۱۱	۷/۶۶±۰/۷۵	نر	دو سر ران	باند ۹
۴/۹۴±۰/۰۸	۵/۷۷±۰/۰۳	۶/۳۹±۰/۰۴	۵/۵۲±۰/۰۴	۷/۱۸±۰/۰۵	۶/۵۴±۰/۸۶	ماده		(تروپومیزین ۲)
۶/۹۱±۰/۳۴	۵/۶۰±۰/۱۷	۵/۹۲±۰/۷۰	۶/۶۶±۰/۷۴	۶/۸۸±۰/۹۲	۶/۴۳±۰/۳۱	نر	طویل سینه‌ای	
۶/۱۶±۰/۰۲	۸/۰۱±۰/۷۱	۶/۹۶±۱/۸۶	۷/۷۵±۰/۱۶	۶/۷۹±۰/۵۳	۷/۲۰±۱/۲۸	ماده		
		زمان کشتار	نوع عضله	جنس		P		
		۰/۰۲۳	۰/۰۷۱	۰/۰۰۱				
۷/۵۰±۰/۶۳	۵/۲۴±۰/۱۲	۴/۷۰±۰/۰۶	۲/۴۸±۰/۰۹	۱/۲۸±۰/۰۹	-	نر	دو سر ران	باند ۱۰
۶/۲۱±۰/۰۵	۴/۳۹±۰/۱۵	۴/۵۷±۰/۰۸	۲/۵۰±۰/۰۷	۱/۳۸±۰/۲۵	-	ماده		(۳۰ کیلو دالتون)
۸/۰۹±۰/۷۵	۶/۲۸±۰/۳۳	۵/۱۴±۰/۰۴	۲/۷۰±۰/۵۳	۱/۰۱±۰/۱۹	-	نر	طویل سینه‌ای	
۵/۳۹±۰/۰۷	۵/۵۸±۰/۱۶	۴/۷۹±۰/۹۸	۲/۸۲±۰/۶۳	۱/۴۷±۰/۰۵	-	ماده		
		زمان کشتار	نوع عضله	جنس		P		
		۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۹۱۴				



(ادامه جدول ۳)

باند/پروتئین	نوع عضله	جنس	زمان پس از کشتار (روز)			
			۱	۳	۵	۷
باند ۱۱ (زنجیره سبک ۱)	دو سر ران	نر	۷/۲۲±۰/۰۴	۷/۸۷±۰/۱۰	۷/۱۳±۰/۰۴	۸/۸۸±۰/۰۲
	ماده	۶/۹۵±۰/۳۸	۱۰/۲۸±۰/۰۴	۷/۳۴±۰/۰۸	۷/۲۰±۰/۰۵	۸/۴۷±۰/۰۴
	طول سینه‌ای	نر	۷/۱۸±۰/۰۷	۶/۶۱±۰/۰۶۲	۶/۹۰±۰/۰۹۸	۱۰/۹۴±۰/۰۷۷
	ماده	۹/۲۸±۰/۳۵	۶/۱۳±۰/۰۷۹	۹/۰۶±۰/۰۶۸	۸/۴۲±۰/۰۸۲	۸/۹۴±۰/۰۰۶
		p	۰/۶۶۵	۰/۹۲۰	۰/۰۶۸	
باند ۱۲ (تروپونین I)	دو سر ران	نر	۴/۰۷±۰/۰۲۷	۵/۶۹±۰/۰۱۳	۴/۵۹±۰/۰۰۴	۴/۲۸±۰/۰۰۵
	ماده	۴/۲۱±۰/۰۱۱	۵/۷۴±۰/۰۰۶	۴/۹۱±۰/۰۰۸	۴/۱۶±۰/۰۰۱	۴/۵۸±۰/۰۰۵
	طول سینه‌ای	نر	۵/۵۱±۰/۰۵۵	۴/۰۳±۰/۰۱۶	۴/۲۶±۰/۰۳۹	۴/۱۴±۰/۰۰۴
	ماده	۴/۷۹±۰/۰۹۴	۵/۵۰±۰/۰۲۶	۴/۷۹±۰/۰۷۵	۳/۸۱±۰/۰۷۳	۳/۹۰±۰/۰۰۷
		p	۰/۲۲۳	۰/۶۳۰	۰/۰۰۰	
باند ۱۳ (تروپونین C)	دو سر ران	نر	۵/۰۴±۰/۰۷۱	۵/۸۷±۰/۰۰۷	۵/۹۵±۰/۰۱۱	۴/۴۷±۰/۰۰۸
	ماده	۴/۴۴±۰/۰۲۳	۵/۸۱±۰/۰۰۳	۶/۹۴±۰/۰۱۴	۵/۲۱±۰/۰۰۹	۵/۵۶±۰/۰۰۵
	طول سینه‌ای	نر	۵/۹۱±۰/۰۹۵	۵/۷۹±۰/۰۰۵	۴/۴۳±۰/۰۰۶	۴/۸۵±۰/۰۰۹
	ماده	۵/۳۵±۰/۰۱۱	۶/۴۶±۰/۰۱۲	۵/۶۹±۰/۰۲۸	۵/۰۲±۰/۰۲۲	۶/۲۸±۰/۰۲۳
		p	۰/۳۵۶	۰/۰۹۶	۰/۰۰۰	
باند ۱۴ (زنجیره سبک ۲)	دو سر ران	نر	۴/۳۵±۰/۰۴۰	۵/۰۲±۰/۰۶۷	۴/۶۰±۰/۰۰۲	۴/۴۱±۰/۰۰۷
	ماده	۴/۸۲±۰/۰۱۱	۵/۹۷±۰/۰۱۱	۵/۳۹±۰/۰۲۱	۴/۵۳±۰/۰۳۰	۴/۷۸±۰/۰۰۹
	طول سینه‌ای	نر	۵/۳۸±۰/۰۵۹	۵/۶۵±۰/۰۳۷	۴/۱۴±۰/۰۲۴	۵/۲۲±۰/۰۶۷
	ماده	۴/۲۸±۰/۰۵۶	۵/۸۳±۰/۰۰۷	۴/۶۸±۰/۰۴۸	۴/۶۳±۰/۰۹۷	۵/۳۵±۰/۰۲۱
		p	۰/۷۴۹	۰/۷۵۱	۰/۰۲۸	

\* داده‌ها، میانگین ۲ عدد  $\pm$  انحراف معیار می‌باشد.

## نتیجه‌گیری

در دوره نگهداری تجزیه پروتئین‌های اصلی اکتین و میوزین به صورت جزئی انجام گرفت. در بین پروتئین‌های ساختاری (سیتواسکتی) تنها دسمین روی ژل شناسایی شد و بعد از تروپونین T، دچار بیشترین تخریب شد. در بین پروتئین‌های تنظیم کننده تروپونین T،  $\alpha$ -اکتینین و تروپومیوزین دچار بیشترین تخریب شدند ولی با توجه به وظیفه آنها و عدم شرکت در اسکلت سلولی به نظر نمی‌رسد نقش مهمی در تردی گوشت بازی کنند. پروتئولیز تروپونین T عمده‌ترین و مهم‌ترین تغییر مشاهده شده روی ژل بود.

بجز اکتین و میوزین پروتئولیز سایر پروتئین‌ها تحت تاثیر زمان نگهداری قرار گرفت و زمان مهم‌ترین فاکتور تاثیرگذار بر تجزیه پروتئین‌های میوفیبریلی گوشت در مدت ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بود. نوع عضله نیز در تجزیه پروتئین ساختاری دسمین و برخی پروتئین‌های تنظیم کننده ( $\alpha$ -اکتینین، پروتئین C و تروپونین T) نقش معنی‌داری ایفا نمود. ولی جنسیت فقط در تجزیه MHC، پروتئین C و تروپومیوزین ۲، که جزء پروتئین‌های ساختاری نیستند، تاثیر معنی‌داری داشت.

## منابع

- ۱- بقایی، ه.، وریدی، م.ج.، وریدی، م. و اسحاقی، ز. ۱۳۹۲. بررسی اثر جنس و شرایط کشتار بر چگونگی کاهش pH و پروتئولیز گوشت شترمرغ طی زمان تردشدن با استفاده از SDS-PAGE. فصلنامه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۲(۱): ۱۷-۳۶.
- 2- Abdelhadi, O.M.A., Babiker, S.A., Picard, B., Jurie, C., Jailler, R., Hocquette, J.F., & Faye, B. 2012. Effect of season on contractile and metabolic properties of desert camel muscle (*Camelus dromedarius*). Meat Science, 90: 139-144.
- 3- Bandman, E., & Zdanis, D. 1988. An immunological method to assess protein degradation in post-mortem muscle. Meat Science, 22: 1-19.
- 4- Briggs, M., Klevit, R., & Schachat, F. 1984. Heterogeneity of contractile proteins. Purification and characterization of two species of troponin T from rabbit fast skeletal muscle. Journal of Biological Chemistry, 259: 10369-10375.
- 5- Choi, Y.M., & Kim, B.C. 2009. Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. Livestock Science, 122: 105-118.
- 6- Claeys, E., Uytterhaegen, L., Buts, B., & Demeyer, D. 1995. Quantification of beef myofibrillar proteins by SDS-PAGE. Meat Science, 39: 177-193.
- 7- Culler, R.D., Parrish Jr, F.C., Smith, G.C., & Cross, H.R. 1978. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. Journal of Food Science, 43: 1177-1180.
- 8- Dransfield, E. 1994. Optimisation of tenderisation, ageing and tenderness. Meat Science, 36: 105-121.
- 9- El-Agamy, E.S.I. 2006. Camel Milk. P. 297-299 In Y.W. Park & G.F.W. Haenlein (eds) Handbook of milk of non-bovine mammals. John Wiley
- 10- 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.
- 11- Herrera-Mendez, C.H., Becila, S., Boudjellal, A., & Ouali, A. 2006. Meat ageing: Reconsideration of the current concept. Trends in Food Science & Technology, 17: 394-405.
- 12- Ho, C.Y., Stromer, M.H., Rouse, G., & 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. Journal of Animal Science, 75: 366-376.
- 13- Hopkins, D.L., & Thompson, J.M. 2001. The relationship between tenderness, proteolysis, muscle contraction and dissociation of actomyosin. Meat Science, 57: 1-12.
- 14- Huff Lonergan, E., Zhang, W., & Lonergan, S.M. 2010. Biochemistry of postmortem muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization. Meat Science, 86: 184-195.
- 15- Huff-Lonergan, E., Parrish, F.C., & Robson, R.M. 1995. Effects of postmortem aging time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine longissimus muscle. Journal of Animal Science, 73: 1064-1073.
- 16- Hwan, S., & Bandman, E. 1989. Studies of Desmin and  $\alpha$ -Actinin Degradation in Bovine Semitendinosus Muscle. Journal of Food Science, 54: 1426-1430.
- 17- Kadim, I.T. 2013. Camel meat and meat products. CABI.
- 18- Kadim, I.T., Al-Hosni, Y., Mahgoub, O., Al-Marzooqi, W., Khalaf, S.K., Al-Maqbaly, R.S., Al-Sinawi, S.S.H., & Al-Amri, I.S. 2009. Effect of low voltage electrical stimulation on biochemical and quality characteristics of Longissimus thoracis muscle from one-humped camel (*Camelus dromedaries*). Meat Science, 82: 77-85.
- 19- Kadim, I.T., Mahgoub, O., Al-Marzooqi, W., Al-Zadjali, S., Annamalai, K., & Mansour, M.H. 2006. Effects of age on composition and quality of muscle Longissimus thoracis of the Omani Arabian camel (*Camelus dromedaries*). Meat Science, 73: 619-625.
- 20- Kemp, C.M., Sensky, P.L., Bardsley, R.G., Buttery, P.J., & Parr, T. 2010. Tenderness: An enzymatic view. Meat Science, 84: 248-256.
- 21- Knoll, R., Hoshijima, M., & Chien, K. 2002. Z-line proteins: implications for additional functions. European Heart Journal Supplements, 4: I13-I17.

- 22- Koohmaraie, M. 1992. Ovine skeletal muscle multicatalytic proteinase complex (proteasome): purification, characterization, and comparison of its effects on myofibrils with mu-calpains. *Journal of Animal Science*, 70: 3697-3708.
- 23- Koohmaraie, M. 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science*, 36: 93-104.
- 24- Koohmaraie, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Science*, 43, Supplement 1: 193-201.
- 25- Koohmaraie, M., Seideman, S.C., Schollmeyer, J.E., Dutson, T.R., & Babiker, A.S. 1988. Factors associated with the tenderness of three bovine muscles. *Journal of Food Science*, 53: 407-410.
- 26- Kristensen, L., & Purslow, P.P. 2001. The effect of ageing on the water-holding capacity of pork: role of cytoskeletal proteins. *Meat Science*, 58: 17-23.
- 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- Lametsch, R., Karlsson, A., Rosenvold, K., Andersen, H.J.r., Roepstorff, P., & Bendixen, E.k. 2003. Postmortem proteome changes of porcine muscle related to tenderness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6992-6997.
- 30- Mohrhauser, D.A., Lonergan, S.M., Huff-Lonergan, E., Underwood, K.R., & Weaver, A.D. 2014. Calpain-1 activity in bovine muscle is primarily influenced by temperature, not pH decline. *Journal of Animal Science*, 92: 1261-1270.
- 31- Morgan, J.B., Wheeler, T.L., Koohmaraie, M., Savell, J.W., & Crouse, J.D. 1993. Meat tenderness and the calpain proteolytic system in longissimus muscle of young bulls and steers. *Journal of Animal Science*, 71: 1471-1476.
- 32- Ouali, A. 1990. Meat tenderization: possible causes and mechanisms: a review. *Journal of Muscle Foods*, 1: 129-165.
- 33- 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.
- 34- Sawdy, J.C., Kaiser, S.A., St-Pierre, N.R., & Wick, M.P. 2004. Myofibrillar 1-D fingerprints and myosin heavy chain MS analyses of beef loin at 36 h postmortem correlate with tenderness at 7 days. *Meat Science*, 67: 421-426.
- 35- Sentandreu, M.A., Coulis, G., & Ouali, A. 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in Food Science & Technology*, 13: 400-421.
- 36- Soltanzadeh, N., Kadivar, M., Keramat, J., & Fazilati, M. 2008. Comparison of fresh beef and camel meat proteolysis during cold storage. *Meat Science*, 80: 892-895.
- 37- 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*, 73: 1351-1367.
- 38- Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., & Koohmaraie, M. 2000. Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. *Journal of Animal Science*, 78: 958-965.
- 39- Yamamoto, K. 1986. The binding of skeletal muscle C-protein to regulated actin. *FEBS letters*, 208: 123-127.
- 40- Yates, L.D., Dutson, T.R., Caldwell, J., & Carpenter, Z.L. 1983. Effect of temperature and pH on the post-mortem degradation of myofibrillar proteins. *Meat Science*, 9: 157-179.

## Effect of gender and muscle type on the proteolytic pattern of myofibrillar proteins in Iranian one-humped camel meat during storage

Younes Zahedi<sup>1</sup>, Mohammad Javad Varidi<sup>2</sup>, Mehdi Varidi<sup>3</sup>

1- Graduated PhD. Student, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

\*Corresponding autor (m.varidi@um.ac.ir)

### Abstract

In this study, effect of gender, muscle type (*biceps femoris* (BF) and *longissimus thoracis* (LT)) and storage time (14 days) on the proteolytic pattern of camel meat myofibrillar proteins was investigated using SDS-PAGE. Heavy chain myosin (MHC) and actin changed little during postmortem aging of muscles. Proteolysis intensity of MHC in female camels was significantly more than male ones ( $p < 0.05$ ). Degradation of C-protein was influenced by storage time, gender and muscle type ( $p < 0.05$ ).  $\alpha$ -actinin was proteolyzed by cathepsins at the second week of aging, and its breakdown was more pronounced in BF than LT muscle ( $p < 0.05$ ). Principal degradation of desmin occurred at the first week of storage. Troponin-T was proteolyzed by about 80% up to 5 days of storage, and muscle type and aging time significantly affected its proteolysis. The 30 kDa polypeptides as a main product of Troponin-T degradation began to appear 24 h postmortem, and its band intensity increased significantly during 14 days of storage ( $p < 0.05$ ). In conclusion, storage time was the most important factor affecting degradation of myofibrillar proteins during storage at 4°C. Also, muscle type was a main factor at proteolysis of desmin cytoskeletal protein and some regulating proteins ( $\alpha$ -actinin and Troponin-T).

**Keywords:** Biceps femoris, Camel meat, *Longissimus thoracis*, Proteolysis, SDS-PAGE