

## تردسازی گوشت با استفاده از ترکیبات طبیعی موجود در میوه‌ها و سبزیجات

مونا مظاهری کله‌رودی<sup>۱</sup>، هما بقایی<sup>۲\*</sup>، بهاره عمادزاده<sup>۳</sup>، مرضیه بلندی<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

۲- به ترتیب استادیار و دانشیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

۳- دانشیار گروه نانو فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۰۲)

### چکیده

علی‌رغم موفقیت نسبی ترکیبات شیمیایی مختلف در بهبود تردی گوشت، اثرات نامطلوب ایجاد شده در اثر استفاده این ترکیبات بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی گوشت، منجر به ایجاد محدودیت‌هایی در استفاده از آنها در مقیاس صنعتی شده است. بنابراین جهت جلوگیری از ایجاد این اثرات نامطلوب شیمیایی، استفاده از برخی تردکننده‌های طبیعی مورد توجه قرار گرفته‌اند. تردکننده‌های طبیعی گوشت، ترکیبات موجود در آن دسته از میوه‌ها و سبزیجاتی هستند که دارای آنزیم‌های پروتئولیتیک بوده و شامل سیستمین پروتئازها، سرین پروتئازها، متالوپروتئازها و آسپارتیک پروتئازها می‌باشند. در این مقاله، تغییرات اساسی ایجاد شده از منظر بیوشیمیایی که منجر به ایجاد تردی در گوشت می‌شوند و همچنین منابع گیاهی مناسب برای استفاده در فرایند تردسازی بافت گوشت مورد مطالعه و معرفی قرار گرفته است.

**کلید واژگان:** پروتئاز، تردکننده طبیعی، سبزیجات، گوشت، میوه‌ها

\*مسئول مکاتبات: baghaei.homa@yahoo.com

## ۱- مقدمه

تردی و بافت گوشت از دیرباز بعنوان یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های موثر بر میزان پذیرش و مقبولیت گوشت توسط مصرف‌کننده مطرح بوده است. رسیدن به محصولاتی با تردی استاندارد که موردنظر مصرف‌کننده است، بعنوان چالشی برای پژوهشگران و مدیران صنعت گوشت محسوب می‌شود. اطلاع از جزئیات فرایندهایی که تردی را تحت تاثیر قرار می‌دهند جهت حل این مساله لازم است [۱]. در پژوهش‌های مختلف استفاده از انواع آنزیم‌ها (گیاهی و میکروبی)، املاح قلیایی (ترکیبات فسفات و هیدروکسید آمونیوم)، نمک‌ها (کلرید سدیم و کلرید کلسیم) و اسیدهای آلی (سیتریک، لاکتیک و استیک) نتایج مطلوبی در تردکردن گوشت داشته است [۲ و ۳]. افزودن آنزیم‌های پروتئازی به گوشت و تردکردن آن می‌تواند از طریق افزایش حلالیت پروتئین‌ها، منجر به افزایش ظرفیت نگهداری آب و بهبود خواص عملکردی<sup>۱</sup> از جمله ظرفیت امولسیون‌کنندگی، افزایش ویسکوزیته امولسیون و پایداری آن شود. بهبود کیفیت تکنولوژیک گوشت، تولید محصولات گوشتی با بافت یکنواخت و بهبود کیفیت تاخوردن و برش پذیری بهتر را بدنبال خواهد داشت [۴]. امروزه آنزیم‌های پروتئازی بدست آمده از منابع گیاهی، بدلیل فعالیت بالا، پایداری در محدوده وسیعی از دما، pH، پایداری در برابر یون‌های فلزی مختلف، مهارکننده‌ها و حلال‌های آلی مورد توجه قرار گرفته است. از طرف دیگر تولید مقادیر نسبتاً زیاد میوه و سبزی و عمر ماندگاری کوتاه آنها سبب تولید ضایعات بالا در این دسته از محصولات شده است. بنابراین بکاربردن میوه‌های بسیار رسیده برای تولید پروتئازهای تردکننده گوشت با هدف اصلاح بافت در صنعت غذا باید مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد [۵]. Koak و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند طی دو هفته نگهداری، فعالیت پروتئازی کیوی، انگور، سیب و گلابی که بیش از حد رسیده بودند حدود ۱۶/۹ درصد افزایش یافت [۵]. فعالیت پروتئازی هر میوه متفاوت بوده و کاربرد یک آنزیم، اغلب منجر به تخریب بافت گوشت، بعلت تجزیه بیش از حد آن می‌شود. Kim و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که تجزیه بیش از حد بافت تحت تاثیر استفاده از پروتئازهای بدست آمده از آناناس و کیوی با افزودن پروتئاز گلابی بهبود یافت [۶]. این مقاله با توجه به ظرفیت‌های مناسب میوه‌ها و سبزیجات در تردکردن

گوشت، سعی کرده انواع میوه‌ها و سبزیجات قابل استفاده بعنوان تردکننده‌های طبیعی گوشت را مرور کرده و به توضیح مطالب ذیل بپردازد.

## ۱-۱- تعریف تردی گوشت

تردی گوشت عبارت است از نرم کردن گوشت با استفاده از روش‌های شیمیایی یا فیزیکی؛ که بصورت یک سری واکنش‌های آنزیمی و فیزیکوشیمیایی در نظر گرفته می‌شود. آنزیم‌های پروتئازی نقش اصلی را در تردی گوشت ایفا می‌کنند [۷]. انجمن بین‌المللی بیوشیمی، پروتئازها را براساس مکانیسم عملکرد به ۶ دسته تقسیم می‌کند که شامل سیستمین پروتئازها، سرین پروتئازها، آسپارتیک پروتئازها، متالوپروتئازها، ترئونین پروتئازها و پروتئازهای ناشناخته می‌باشند. پروتئازها از جمله آنزیم‌های هیدرولیزکننده هستند که با توجه به محل اثر به دو گروه اگزوپیتیداز و اندوپیتیداز دسته‌بندی می‌شوند و هر گروه نیز با توجه به جایگاه فعال به زیرگروه‌هایی تقسیم می‌شوند [۸]. امروزه به اثبات رسیده است که پروتئولیز پروتئین‌های میوفیبریلی و پروتئین‌های وابسته به آن، پس از مرگ دام، مسئول تردی گوشت است [۲ و ۹]. در طول دوره رسیدن گوشت<sup>۲</sup> دو مفهوم که براساس فرایندهای آنزیماتیکی تعریف می‌شوند، تردی گوشت را توضیح می‌دهند. اول، برخی پژوهشگران تردی گوشت را بطور اصلی یا به تنهایی به فعالیت  $\mu$ -کالپاین<sup>۳</sup> نسبت داده‌اند.  $\mu$ -کالپاین پروتئیناز مسئول تخریب پروتئین‌های میوفیبریلی است [۱]. دوم، برخی نیز بر این باور هستند که تردی یک فرایند چندآنزیمی است و با مکانیسم‌های مربوط به مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی یا آپوپتوزیس<sup>۴</sup> ارتباط دارد. زمانی که سلول تحت تاثیر عوامل مختلف درونی یا محیطی آسیب‌زا قرار می‌گیرد با تغییر در برخی مسیرهای متابولیکی و بیوشیمیایی داخل سلول، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی صورت می‌گیرد [۷]. مرگ سلولی توسط گروه ویژه‌ای از سیستمین پپتیدازها بنام کاسپازها<sup>۵</sup> رخ می‌دهد [۱۰]. بدون شک کاسپازها اولین پپتیدازهای فعال در ساعات ابتدایی پس از ذبح دام و خونریزی هستند که دارای نقش ضروری در ایجاد تردی مطلوب می‌باشند. در بین این گروه از آنزیم‌ها، کاسپازهایی که درگیر آغاز مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی هستند کاسپازهای ۸-۱۰ هستند. پس از آن، کاسپازهای ۳، ۶ و ۷ در تخریب سلول

2. Ageing or tenderization period

3. Calpain

4. Programmed cell death or apoptosis

5. Caspase

1. Functional properties

به کاهش میزان و سرعت پروتئولیز در ماهیچه‌ها می‌شود [۱۴]. در واقع، فرایند تردی حاصل عملکرد سینرژیستی مجموعه متعددی از آنزیم‌های درون سلولی و پپتیدازهایی است که حتی هنوز شناخته نشده‌اند [۱۵ و ۱۶].

### ۳-۱- عوامل موثر بر تردی گوشت

تردی گوشت تحت تاثیر عوامل قبل و بعد از کشتار دام می‌باشد که بطور مستقیم و غیرمستقیم آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند. شاخص‌های غیرمستقیم موثر بر تردی گوشت شامل گونه، نژاد، سن، جنس دام، رژیم غذایی، شیوه پرورش دام، میزان استرس دام قبل کشتار، نوع عضله و محل آن است. شاخص‌های مستقیم موثر بر تردی عبارتند از طول سارکومر، ویژگی تارهای عضلانی (نوع، قطر و تعداد تارها)، نوع و میزان حلالیت بافت پیوندی (اپی‌میزیوم<sup>۱۳</sup>، پری‌میزیوم<sup>۱۴</sup>، اندومیزیوم<sup>۱۵</sup>) و مقدار پروتئین‌های پیوندی شامل کلاژن، الاستین و تیکولین. همچنین pH، درجه حرارت، میزان فعالیت پروتئازی کاتپسین و کالپائین، شاخص تجزیه میوفیبریل‌ها<sup>۱۶</sup>، میزان چربی گوشت و نوع آن (بین عضله‌ای، زیرپوستی و ماربلینگ<sup>۱۷</sup>) نیز از جمله موارد قابل ذکر می‌باشند. در بین عوامل موثر بر تردی گوشت قبل از کشتار دام، گونه و جنس بعنوان مهم‌ترین عوامل شناخته شده‌اند [۲]. سه عاملی که تردی گوشت را تعیین می‌کنند عبارتند از سفتی زمینه‌ای<sup>۱۸</sup> بافت، مرحله سفت شدن و مرحله تردی که مراحل سفت شدن و تردی طی دوره نگهداری پس از مرگ رخ می‌دهد در حالی که سفتی زمینه‌ای بافت در زمان کشتار دام وجود داشته و در طول دوره نگهداری تغییر نمی‌کند [۹]. سفتی زمینه‌ای بافت گوشت ناشی از مقاومت تارهای عضلانی کوتاه نشده در برابر برش است. تفاوت در میزان سفتی زمینه‌ای، بعلت ترکیبات بافت پیوندی ماهیچه‌ها است. سفتی گوشت در حیوانات مسن مربوط به پروتئین‌های بافت پیوندی بوده که سفتی زمینه‌ای نام دارد. از آنجا که ارتباط کلی بین میزان تردی و پری‌میزیوم ماهیچه‌های گوشت قرمز و سفید یافت شده است، بنظر می‌رسد که پری‌میزیوم سفتی زمینه‌ای را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۱۷].

### ۴-۱ ارزیابی میزان تردی گوشت

13. Epimysium
14. Perimysium
15. Endomysium
16. Myofibrillar Fragmentation Index (MFI)
17. Marbling
18. Background toughness

موثر می‌باشند [۱۱]. کالپائین‌ها و سایر آنزیم‌هایی که عملکردشان کمتر مشخص شده (نظیر پروتازوم‌ها<sup>۱</sup>) نیز در ایجاد تردی آنزیمی نقش مهمی ایفا می‌کنند. ۲۰S پروتازوم از طریق تجزیه باند I و پروتئین‌های خط Z در تردی گوشت نقش دارد [۱۲].

### ۲-۱ مکانیسم تردی گوشت

در اثر فعالیت سیستم‌های پروتئولیز آنزیمی، شکست پروتئین‌های میوفیبریلی و سیتواسکلتی رخ می‌دهد. این شکست شامل تخریب پروتئین‌های تروپونین<sup>۱</sup>، تروپونین<sup>۲</sup>، دسمن<sup>۳</sup>، وینکولین<sup>۴</sup>، متا-وینکولین، دیستروفین<sup>۵</sup>، نبولین<sup>۶</sup> و تیتین<sup>۷</sup> می‌شود. سه ساختار سیتواسکلتی اصلی که در طول ترد شدن گوشت تخریب می‌شوند شامل اتصالات خطوط Z-Z توسط فیلامنت‌های حدواسط، اتصالات خطوط Z و M توسط پروتئین‌های کوستامریک<sup>۸</sup> به سارکولما و پروتئین تیتین فیلامنت‌های الاستیک می‌باشند. سیستم کالپائین، کاتپسین‌های لیزوزومی<sup>۹</sup> و کمپلکس پروتئینازی چندکاتالیزوری<sup>۱۰</sup> که سیستم اصلی پروتئولیتیک خارج لیزوزومی است، سه سیستم پروتئولیتیک موجود در ماهیچه‌ها هستند که در پروتئولیز و تردی پس از مرگ نقش دارند [۹]. کاتپسین‌ها اولین سیستم آنزیماتیکی بودند که در پژوهش‌های متمرکز روی مکانیسم تردی گوشت به آنها پرداخته شد. پس از آن کالپائین‌ها بعلت توانایی در تغییر دانسیته خطوط Z<sup>۱۱</sup> که اغلب پس از مرگ مشاهده می‌شود بصورت عمده مورد توجه قرار گرفتند [۱۳]. کالپائین‌ها، پروتئین‌های فعال شده با یون‌های Ca<sup>+۲</sup> هستند که حداقل شامل سه نوع پروتئاز بنام‌های m-کالپائین، μ-کالپائین (کالپائین مختص ماهیچه اسکلتی) و کالپائین ۳ یا p94 و همچنین بازدارنده m و μ-کالپائین که کالپاستاتین<sup>۱۲</sup> نام دارد هستند [۹]. تزریق یون‌های Ca<sup>+۲</sup> منجر به افزایش پروتئولیز و بهبود فرایند تردی می‌شود در حالی که تزریق کالپاستاتین منجر

1. Proteasome
2. Troponin
3. Desmin
4. Vinculin
5. Dystrophin
6. Nebulin
7. Titin
8. Costameric proteins
9. The lysosomal cathepsins
10. The multicatalytic proteinase complex (MCP)

1.1. تارهای عضلانی از واحدهای ساختمانی یکسانی بنام سارکومر تشکیل شده‌اند که

در محور طولی میوفیبریل‌ها قرار گرفته و توسط خطوط Z از یکدیگر جدا

می‌شوند [۱۳].

- 12 Calpastatin

نگهداری گوشت به مدت ۲ الی ۶ هفته در دمای بالای صفر درجه سانتی‌گراد منجر به افزایش تردی گوشت می‌شود که به این پدیده مشروط کردن یا رسیدن سنتی<sup>۹</sup> می‌گویند [۲۰ و ۱۹]. در اثر فعل و انفعالات و تغییرات ساختاری در طی این مدت، حالت سنتی ناشی از جمود نعشی به تدریج از بین رفته و رنگ قرمز روشن و کمی متمایل به قهوه‌ای در گوشت ایجاد می‌گردد. همچنین ظرفیت نگهداری آب<sup>۱۰</sup> توسط تارهای عضلانی افزایش می‌یابد که در نهایت منجر به افزایش کیفیت خوراکی گوشت می‌شود [۱۹]. محققین از سال ۱۹۹۱ با کمک روش غوطه‌وری به بررسی تاثیر آنزیم‌های گیاهی بر بافت گوشت پرداختند و مشخص شد که پروتئازهای گیاهی موجود در میوه‌هایی نظیر آناناس، زنجبیل، کیوی، انجیر و پاپایا با تأثیر بر پروتئین‌های میوفیبریلی و بافت پیوندی و تجزیه اکتومیوزین و تا حدی کلاژن و الاستین سبب افزایش تردی گوشت و بهبود عطر و طعم محصول می‌شوند [۲۲-۲۰]. این آنزیم‌ها، پروتئازهای سیستمین یا سولفیدریل می‌باشند که پیوندهای پپتیدی، استری و آمیدی را هیدرولیز می‌کنند. عمل کاتالیزوری این آنزیم‌ها در دو مرحله صورت می‌گیرد. مرحله اول آسیله شدن است که طی آن یک ترکیب حدواسط آنزیم-آسیل تولید می‌گردد. مرحله دوم، عمل جدا شدن قسمت حاوی آسیل از آنزیم است که با هیدرولیز ترکیب حدواسط و تولید محصول همراه می‌باشد [۲۳]. بطور سنتی، برای رسیدن به این هدف، از پروتئازهای بدست آمده از سبزیجات و میوه‌ها بعنوان تردکننده‌های طبیعی گوشت استفاده می‌شود که در ادامه به آنها پرداخته می‌شود.

#### ۱-۵-۱- کیوی (*Actinidia chinensis*)

اکتینیدین، پروتئاز اصلی کیوی، یک سیستمین پروتئاز آنیونی است که در میوه، دانه و برگ‌های کیوی به وفور یافت می‌شود. وزن مولکولی اکتینیدین موجود در میوه کیوی ۳۰ کیلودالتون بوده و نقطه ایزوالکتریک آن ۳/۵-۴ می‌باشد [۲۴]. در کیوی پروتئازهایی با وزن مولکولی مختلف شامل ۲۱، ۲۳ و ۲۹ کیلودالتون در pH اسیدی و پروتئازهایی با وزن مولکولی ۲۸ کیلودالتون در pH خنثی وجود دارد [۲۵]. مقدار اکتینیدین و میزان فعالیت پروتئولیتیکی آن در گونه‌های مختلف نیز با یکدیگر متفاوت است [۲۶]. کیوی دارای بالاترین فعالیت پروتئازی (unit ۹۲۱/۰۸) در بین میوه‌ها است که بسته به گونه،

جهت ارزیابی میزان تردی گوشت، روش‌های فیزیکی و شیمیایی مختلفی وجود دارد. از جمله روش‌های فیزیکی، اندازه‌گیری میزان نیروی لازم جهت برش، کشش و فشردگی بافت [۲] و از روش‌های شیمیایی می‌توان به تعیین میزان هیدرولیز آنزیمی، مقدار بافت پیوندی و میزان حلالیت آن اشاره کرد. نیروی برشی وارن-براتزلر<sup>۱</sup> میزان نیروی لازم برای برش تارهای عضلانی بوده و از بهترین و مرسوم‌ترین روش‌ها برای ارزیابی بافت است. هر چه نیروی لازم برای برش بافت کمتر باشد میزان تردی گوشت بیشتر است. واحد اندازه‌گیری آن، کیلوگرم نیروی مورد نیاز برای برش یک سانتی‌متر مکعب از نمونه است [۲]. شاخص تجزیه میوفیبریل‌ها، اندازه‌گیری مقدار هیدروکسی پرولین، سنجش قابلیت رسانایی<sup>۲</sup> و بررسی میکروساختار فیبرها<sup>۳</sup> از جمله روش‌های پیشرفته تعیین میزان تردی گوشت محسوب می‌شوند [۳ و ۲].

#### ۱-۵- روش‌های تردسازی گوشت

در حال حاضر روش‌های مختلفی برای تقسیم‌بندی تردی گوشت وجود دارد که شامل دو روش تکنولوژیکی و طبیعی می‌باشند. این روش‌ها شامل تیمارهایی هستند که قبل و یا بعد از کشتار مورد استفاده قرار می‌گیرند. از جمله روش‌های قبل کشتار می‌توان به تغذیه دام با الکترولیت‌ها و استفاده از آنزیم‌ها اشاره کرد در حالی‌که ماریناد کردن<sup>۴</sup> و تحریک الکتریکی<sup>۵</sup> از جمله تیمارهای بعد کشتار هستند [۱۸ و ۳]. روش‌های تکنولوژیکی تردسازی گوشت شامل استفاده از تجهیزات مکانیکی (تردکننده تیغه‌ای<sup>۶</sup>)، ترکیبات اسیدی، آنزیم‌های پروتئازی سنتزی، تیمار حرارتی، تحریک الکتریکی، فشار هیدرواستاتیک بالا<sup>۷</sup>، امواج فراصوت<sup>۸</sup>، استفاده از پرتوهای یون‌ساز در دوزهای استریلیزاسیون (۵ مگاراد و بالاتر) می‌باشد [۳]. کاربرد روش‌های تکنولوژیکی، منجر به سست شدن ساختار عضلات، شکستن سلول‌ها، افزایش نفوذپذیری غشاها و افزایش سیالیت پروتئین‌ها به سمت سطح ماهیچه‌ها شده که در نهایت با افزایش تردی گوشت همراه است [۱۸]. روش‌های طبیعی تردسازی گوشت، تردی آن را بعد کشتار و طی دوره رسیدن لاشه فراهم می‌کند. پژوهش‌ها نشان دادند که

1. Warner-Bratzler Shear Force (WBSF)
2. Conductivity measurement
3. Scan Electron Microscopy (SEM)
4. Marination
5. Electrical stimulation
6. Blade tenderizer
7. High hydrostatic pressure processing (HPP)
8. Ultrasound

9. Conditioning or traditional aging  
10. Water Holding Capacity (WHC)

است. همچنین در پژوهش‌های مختلف گزارش شده فیسین دارای فعالیت پروتئازی موثری بر کمپلکس اکتومیوزین و کلاژن می‌باشد که منجر به افزایش حلالیت پروتئین‌های گوشت تیمار شده با فیسین می‌گردد [۳۷]. با افزایش میزان و مدت زمان اثر فیسین، میزان حلالیت پروتئین‌های گوشت گاو و گوسفند افزایش می‌یابد. بررسی الگوی الکتروفوریتیک پروتئین‌های محلول نشان داده است با افزایش مقدار واحد آنزیم، اکثر باندهای پروتئینی محو یا کاهش ضخامت پیدا می‌کنند [۳۷]. در پژوهش‌های مختلف به اثرات پروتئولیتیکی انجیر در گوشت شتر [۳۶]، گاو و گوسفند [۳۷ و ۳۸] اشاره شده است.

#### ۱-۵-۴- پاپایا (*Carica papaya*)

پاپایا حاوی پروتئینازها و نیز ترکیبات فنولی و کاروتنوئیدها است. شیرابه این درخت، حاوی پاپائین با وزن مولکولی ۲۳/۴ کیلودالتون بوده و pH بهینه آن ۵/۵-۷ می‌باشد. این آنزیم در pH خنثی و درجه حرارت‌های بالا بسیار پایدار است. پاپائین حاوی ۶ گروه سولفیدریل و یک سیستئین آزاد است که در جایگاه فعال آنزیم قرار دارند. هفت جایگاه فعال برای شناسایی انتهای آزاد سوبسترای اسید آمینه‌ای در پاپائین وجود دارد که در تعیین مشخصات سوبسترا نقش دارند. این آنزیم پیوندهای آمیدی موجود در آرژنین و لیزین را به سهولت هیدرولیز می‌کند اما هیدرولیز پیوندهای آمیدی در گلوتامین، هیستیدین، گلايسين و تیروزین را با سرعت پایین انجام می‌دهد. در کنار پاپائین، شیرابه پاپایا حاوی کیموپاپائین و پپتیداز پاپایا نوع A نیز می‌باشد که امروزه با نام کاریکین<sup>۸</sup> شناخته می‌شود. همه این سه نوع اندوپپتیداز از نظر ساختمان اولیه متفاوت هستند اما دارای سوبسترای بسیار مشابه هستند. پاپائین از طریق حمله به پروتئین‌های میوفیبریلی، بافت‌های پیوندی و افزایش میزان اسیدهای آمینه آزاد به خصوص هیدروکسی پرولین باعث افزایش تردی بافت و بهبود ویژگی‌های عملکردی گوشت می‌شود. در پژوهش‌های مختلف به اثر منفی پاپائین بر آبداری و طعم اشاره شده است [۳۲ و ۳۹]. توصیه می‌شود جهت جلوگیری از تلخی و نرمی بیش از حد بافت از غلظت‌های پایین پاپائین استفاده شود [۳۲]. در پژوهش‌های مختلف به اثرات پروتئولیتیکی پاپایا اشاره شده است [۳۶، ۳۸ و ۳۹].

8. Caricain

این فعالیت در محدوده دمایی ۵۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد ظاهر شده و تا دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نیز حفظ می‌شود [۵]. فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک کیوی بعلت وجود گروه سولفیدریل در ساختمان خود در حضور ترکیبات احیاکننده<sup>۱</sup> مانند سیستئین و یا ترکیبات شلاته‌کننده<sup>۲</sup> نظیر EDTA افزایش می‌یابد [۲۷]. اثرات پروتئولیتیکی کیوی روی پروتئین‌های میوفیبریلی و بافت پیوندی در پژوهش‌های مختلف گزارش شده است [۲۷ و ۳۰].

#### ۱-۵-۲- آناناس (*Ananas comosus*)

میوه خام و رسیده آناناس حاوی آنزیم پروتئولیتیکی بنام بروملین<sup>۳</sup> یا بروملائین است. دمای بهینه فعالیت آن ۵۰-۸۰ درجه سانتی‌گراد است [۳]. این آنزیم از ساقه و میوه این گیاه بدست می‌آید و به ترتیب بروملین ساقه و بروملین میوه نامیده می‌شود که این آنزیم‌ها پروتئین‌های متمایزی بوده و نماینده دو شکل از یک آنزیم واحد می‌باشند. آناناس حاوی حداقل چهار اندوپپتیداز قابل تشخیص است که شامل بروملین ساقه و میوه، سیستئین اندوپپتیدازها، آنانی<sup>۴</sup> و کاموزین<sup>۵</sup> می‌باشد. هیدرولیز محدود پروتئین‌ها در حضور پاپائین و بروملین منجر به از دست رفتن یکپارچگی فیزیکی ماهیچه‌ها و بافت‌های پیوندی می‌شود. همچنین، در حضور آنزیم‌های فوق‌الذکر، حلالیت پروتئین‌های ساختاری نظیر کلاژن افزایش یافته که منجر به بهبود تردی گوشت گوساله می‌گردد [۳۱]. افزودن بروملین و پاپائین، سیر و سایر ادویه‌ها به گوشت علاوه بر بهبود ویژگی‌های کیفی و افزایش تردی گوشت گوساله، بعلت دارابودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی در این ترکیبات باعث کاهش تولید آمین‌های چندحلقه‌ای<sup>۶</sup> طی پخت می‌شود [۳۲]. در پژوهش‌های مختلف به اثرات پروتئولیتیکی آناناس در گوشت گوساله، شتر و مرغ اشاره شده است [۳۱-۳۶].

#### ۱-۵-۳- انجیر (*Ficus carica*)

فیسین<sup>۷</sup> بدست آمده از انجیر یک سیستئین پروتئاز گیاهی است که بعنوان تردکننده طبیعی محسوب می‌شود. همه آنزیم‌های آن وزن مولکولی ۲۶-۲۵ کیلودالتون داشته که در انتهای آمین آنها اسید آمینه لوسین وجود دارد. بافت هدف فیسین تارهای الاستین

1. Reducing compound  
2. Chelating agent  
3. Bromelin  
4. Ananain  
5. Comosain  
6. Heterocyclic amines  
7. Ficin

### ۱-۵-۵- مارچوبه (*Asparagus officinalis*)

در عصاره مارچوبه آنزیم‌های مختلفی وجود دارد که پراکسیدازها، لیپوکسیژنازها و سیستین پروتازها از آن جمله هستند. پروتاز مارچوبه یک اندوپپتیداز از نوع سیستین پروتاز است. وزن مولکولی پروتین‌های مارچوبه ۷۵-۵ کیلودالتون و وزن مولکولی پروتاز آن حدود ۲۸ کیلودالتون است. pH بهینه فعالیت آن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، برابر ۷ است. از طریق تعیین توالی اسیدهای آمینه، شباهت ۸ اسیدآمینه از ۱۲ اسیدآمینه موجود در انتهای N زنجیره پروتاز مارچوبه با پاپائین مشخص شده است [۴۰]. محتوای پروتئینی و فعالیت پروتازی *Asparagus racemosus* را به ترتیب mg/ml ۰/۴۱ و ۴۴۶۸ U/ml گزارش کرده‌اند [۴۱]. فعالیت پروتازی مارچوبه در pH اسیدی ۵ U/g و در pH خنثی ۱۴/۱ U/g بدست آمده است [۲۵]. فعالیت آنزیماتیکی مارچوبه در حضور دی‌ایزو پروپیل فلوروفسفات<sup>۱</sup> به میزان ۳۰ درصد کاهش یافته و در حضور اسید مونویدوآستیک<sup>۲</sup> هم به شدت مهار شده است. بررسی صورت گرفته نشان داده است که حداکثر فعالیت آمینوپپتیدازی و هیدرولیزکنندگی کازئین توسط مارچوبه در قسمت بالای ساقه می‌باشد [۲۷]. بافت هدف پروتاز مارچوبه به طور عمده، زنجیره سنگین میوزین<sup>۳</sup> است. با این وجود بررسی انجام شده توسط ما و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که افزایش طول دوره گرمخانه‌گذاری تا مدت ۲۴ ساعت باعث هیدرولیز کامل کلاژن و نیز تخریب همه پروتئین‌های میوفیبریلی بجز تروپونین C می‌گردد [۲۸]. این پروتاز در برابر اعمال حرارت مقاوم است [۳]. مطالعه صورت گرفته بر روی اثر آب کیوی و آب مارچوبه، نشان داد که ترکیبات فرار عامل طعم، بخصوص بنزآلدئید، در نمونه‌های تیمار شده افزایش قابل توجهی یافت. در واقع افزایش ترکیبات فرار عامل طعم طی واکنش میلارد، ناشی از افزایش تجزیه پروتئین‌های گوشت و تولید اسیدهای آمینه آزاد طی دوره نگهداری است [۴۲]. میزان پروتئین در میوه‌ها و سبزیجات تحت تاثیر شرایط کشت، دوره رسیدن و شرایط نگهداری آنها می‌باشد. بطور کلی دوره نگهداری طولانی‌تر منجر به افزایش میزان پروتئین عصاره بدست آمده از میوه‌ها می‌شود که این امر ناشی از تبخیر آب است. هیچ ارتباطی بین محتوای پروتئینی و فعالیت پروتازی گونه‌های

مختلف گیاهی بررسی شده در پژوهش‌ها یافت نشده است [۴۰].

### ۱-۵-۶- کوکومیس (*Cucumis melo*)

این میوه حاوی آنزیم پروتئولیتیک بنام کوکومین<sup>۴</sup> است که به صورت سنتی، از پودر حاصل از میوه خشک شده آن جهت تردسازی گوشت استفاده می‌شود. دمای بهینه فعالیت آن ۵۰-۸۰ درجه سانتی‌گراد است، به طوری که در طی پخت نیز پایدار باقی می‌ماند [۳]. بررسی انجام شده توسط ناوینا و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد که کوکومیس می‌تواند جایگزین بهتری برای تردکردن گوشت بوفالو در مقایسه با پاپائین باشد [۴۳]. بررسی تاثیر فشار پخت بر ویژگی‌های بافتی و حسی گوشت بز در حضور پودر کوکومیس و اسیدسیتریک حاکی از بهبود معنی‌دار ویژگی‌های بافتی و حسی نمونه در حضور ماریناد آنزیمی و سپس ماریناد اسیدی در مقایسه با نمونه شاهد بود [۴۴]. اثرات پروتئولیتیکی کوکومیس در گوشت بوفالو [۴۳] و بز [۴۴] گزارش شده است.

### ۱-۵-۷- زنجبیل (*Zingiber officinale*)

زنجبیلین<sup>۵</sup> بدست آمده از ساقه زیرزمینی زنجبیل دارای خاصیت پروتئولیتیکی قوی در گوشت و فرآورده‌های گوشتی است. این پروتاز در برابر اعمال حرارت مقاوم است [۴۳]. در زنجبیل پروتازهایی با وزن مولکولی ۲۳ و ۳۲ کیلودالتون در pH اسیدی وجود دارد [۲۵]. فعالیت پروتازی زنجبیل بر کلاژن چند برابر اکتومیوزین است. در غلظت‌های بالاتر از ۱ درصد عصاره زنجبیل، بافت گوشت بیش از اندازه نرم و غیرقابل پذیرش می‌شود که این امر ناشی از تخریب گسترده میوفیبریل‌ها است و این تخریب از باندها I هر سارکومر شروع و به سمت خط M ادامه می‌یابد [۴۳]. ما و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی اثر تزریق پروتازهای گیاهی و میکروبی، قبل از جمود نعشی، بر ترکیبات فرار گوشت گوساله پخته شده طی ۲۱ روز نگهداری پس از کشتار، را توسط کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی<sup>۶</sup> بررسی کردند. پروتازهای مورد استفاده شامل پاپائین، برومیلین، اکتینیدین، آب کیوی، زنجبیلین، پروتاز مارچوبه، پروتازهای باکتریایی و قارچی بودند. براساس نتایج حاصل، در مجموع ۵۶ ترکیب فعال کلیدی در گوشت گوساله پخته شده یافت شد که شامل ۲۳ آلدئید، ۵ کتون، ۳ فوران، ۸

4. Cucumin

5. Zingibain

6. Gas chromatography mass spectroscopy

1. Di-isopropylfluorophosphate

2. Monoiodoacetic acid

3. Myosin Heavy Chain (MHC)

نشان داد که میزان این فعالیت در تره فرنگی بیشتر بوده و ۵۷ درصد فعالیت پروتئازی پاپائین خالص می‌باشد [۴۸].

#### ۱-۵-۱۰- فلفل قرمز (*Capsicum annuum*)

وزن مولکولی پروتئاز فلفل قرمز ۸۰ کیلودالتون بوده و ساختمان آن شبیه کاتپسین B است [۴۹]. در pH خشی، فعالیت پروتئازی فلفل قرمز ۱۵/۲ U/g گزارش شده است. پروتئاز فلفل قرمز توسط هیچ کدام از بازدارنده‌های متداول سرین پروتئازها نظیر فنیل‌متیل‌سولفونیل فلورید و بازدارنده‌های فعالیت سیستئین پروتئازها مانند یدواستامید مهار نمی‌شود و می‌تواند کاندیدای مناسبی برای تولید پروتئازهای تجاری مشتق شده از آن باشد [۲۵].

#### ۲- کاربردهای عملی ترسازگی گوشت

##### با استفاده از ترکیبات طبیعی در صنعت

کاربرد پروتئازهای بدست آمده از منابع طبیعی با هدف اصلاحات ساختاری و عملکردی در بافت گوشت روشی سریع، ایمن، مقرون به صرفه، غیرحرارتی و از دسته فن‌آوری‌های سبز بوده که دارای بهره‌وری انرژی بالایی هستند [۳]. بنظر می‌رسد که مشکل اصلی استفاده از آنزیم‌های تردکننده در گوشت، عدم توزیع یکنواخت آنها در بافت باشد [۳۸]. از طرف دیگر، پروتئازهای گیاهی، دارای عملکرد اختصاصی نیستند بنابراین، نه تنها بافت را ترد می‌کنند بلکه باعث تخریب بافت گوشت می‌شوند که اغلب منجر به تردی بیش از حد و ایجاد اثرات نامطلوب نظیر خمیری شدن بافت، ایجاد طعم تلخی و افزایش رنگبری بافت می‌گردند بنابراین شناسایی ترکیبات گیاهی با خاصیت هیدرولیزکنندگی کنترل شده که بتواند اثرات مطلوبی روی ساختار میوفیبریل‌ها و به موازات آن بافت پیوندی داشته باشد ضروری است. همچنین وجود محدودیت در استفاده از این آنزیم‌ها، ضرورت استفاده از تکنیک‌های پیشرفته تردکنندگی را نشان می‌دهد [۵].

#### ۳- نتیجه‌گیری

ترسازگی از جمله فرایندهای مهم در صنعت گوشت می‌باشد. این فرایند معمولاً تحت تأثیر عوامل طبیعی و یا تکنولوژیکی صورت می‌گیرد. در میان روش‌های ترسازگی، استفاده از ترکیباتی با ماهیت طبیعی از اهمیت ویژه برخوردار است.

نیترژن و ترکیبات سولفوردار، ۴ آلکان، ۷ الکل و ۶ ترین بودند. همچنین ۱۱ نوع ترکیبات فرار دیگر با طعم زنجبیل فقط در نمونه‌های تیمار شده با زینجیباین تعیین شدند. افزایش طول دوره نگهداری منجر به افزایش اکثر ترکیبات فرار شد که ناشی از افزایش اسیدهای آمینه آزاد در گوشت‌های رسیده است [۴۲]. زنجبیل پتانسیل تردکنندگی گوشت گوساله، بز، گوسفند و مرغ را دارد اما میزان تزریق عصاره آن بعلاوه ایجاد اثر منفی روی طعم محدود است. این طعم نامطلوب ممکن است بعلاوه روغن‌های ضروری<sup>۱</sup> زنجبیل باشد. تزریق ۳ درصد عصاره زنجبیل برای بهبود ویژگی‌های بافتی و حسی گوشت مطلوب ارزیابی شده است [۳۸]. در پژوهش‌های مختلف به اثرات پروتئولیتیکی زنجبیل در گوشت اشاره شده است [۴۶ و ۴۵، ۴۳، ۳۸، ۳۵].

#### ۱-۵-۸- کلم بروکلی (*Brassica oleracea*)

پروتئازهایی که در فرایند پیری گل‌های کوچک کلم بروکلی، پس از برداشت نقش دارند از خانواده‌های مختلف پروتئازی هستند و شامل سیستئین پروتئازها، سرین پروتئازها، آسپارتیک پروتئازها و متالوپروتئازها می‌باشند [۲۵]. در بین پروتئازهای ذکر شده، فقط سیستئین پروتئازها و آسپارتیک پروتئازها در کل دوره پیری کلم بروکلی دارای فعالیت پروتئازی هستند [۴۷]. وزن مولکولی پروتئازهای کلم بروکلی در pH اسیدی ۴۵ و ۷۰ کیلودالتون گزارش شده است [۲۵]. بین ۹۰ منبع گیاهی مختلف، بالاترین فعالیت پروتئازی با استفاده از سوبسترای کازئین، در pHهای مختلف (۳، ۷/۱۰، ۵/۵)، مربوط به اکتینیدین در کیوی (۲۸/۸ U/g)، کلم بروکلی (۱۶۹ U/g) و زنجبیل (۱۶۶ U/g) گزارش شده است. در حضور EDTA فعالیت پروتئازی کلم بروکلی، به میزان ۴۴ درصد کاهش یافت که نشان دهنده اهمیت نوع یون‌ها جهت پایداری و فعالیت پروتئاز کلم بروکلی می‌باشد [۲۵].

#### ۱-۵-۹- تره فرنگی (*Allium tuberosum*)

در pH قلیایی، فعالیت پروتئازی تره فرنگی ۳۲/۷ U/g گزارش شده است. در تره فرنگی پروتئازهایی با وزن مولکولی ۷۰ کیلودالتون در pH خشی و پروتئازهای قلیایی با وزن مولکولی ۴۴ و ۵۵ کیلودالتون وجود دارند. در تره فرنگی وجود سیستئین پروتئازها و سرین پروتئازها گزارش شده است [۲۵]. مقایسه فعالیت پروتئازی در تره فرنگی، شبلر و کلم بروکلی

1. Essential oil

- African Journal of Biotechnology*, 6(9):1077-1086.
- [9] Koohmaraie, M., and 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.
- [10] Green, D.R. 2005. Apoptotic pathways: ten minutes to dead. *Cell*, 121:671-674.
- [11] Fuentes-Prior, P. and Salvesen, G.S. 2004. The protein structures that shape caspase-activity, specificity, activation, and inhibition. *Journal of Biochemistry*, 384:201-232.
- [12] Kemp, C.M., Bardsley, R.G., and Parr, T. 2006. Changes in caspase activity during the postmortem conditioning period and its relationship to shear force in porcine *longissimus* muscle. *Journal of Animal Science*, 84: 2841-2846.
- [13] Taylor, R.G., Geesink, G.H., Thompson, V.F., Koohmaraie M., and Goll, D.E. 1995. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? *Journal of Animal Science*, 21:1351-1367.
- [14] Geesink, G.H., Kuchay, S., Chishti, A.H., and Koohmaraie, M. 2006. Micro-calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins. *Journal Animal Science*, 84:2834-2840.
- [15] Lamare, M., Taylor, R.G., Farouta, L., Briand, Y., and Briand, M. 2002. Changes in proteasome activity during postmortem aging of bovine muscle. *Meat Science*, 61:199-204.
- [16] Thomas, A.R., H. Gondoza, L.C. Hoffman, V. Oosthuizen, J. Ryno and A. Naude. 2004. The roles of the proteasome and cathepsins B, L, H and D, in ostrich meat tenderisation. *Meat Science*, 67: 113-120.
- [17] Singh, R.P., Panda, B. 1984. Preparation and storage stability of quail pickle. *Indian Journal of Poultry Science*, 19: 203-206.
- [18] Coleby, B., Shepherd, H.J., Ingram M. 1961. Treatment of meats with ionizing radiations. Changes in quality during storage of sterilized raw beef and pork. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 12 (5):417-424.
- [19] White, A. A. O'Sullivan, D.J. Troy, E.E. O'Neill. 2006. Manipulation of the pre-rigor glycolytic behavior of bovine *M. longissimus dorsi* in order to identify causes of inconsistencies in tenderness. *Meat Science*, 73: 151-156.

میوه‌ها و سبزیجات به دلیل میزان تولید بالای خود می‌توانند به عنوان یکی از مهم‌ترین گزینه‌ها در این زمینه مورد توجه قرار گیرند. در بین منابع گیاهی مختلف، کیوی، کلم بروکلی، زنجبیل، تره‌فرنگی و فلفل قرمز دارای بالاترین فعالیت پروتئازی هستند که این امر نشان‌دهنده وجود پتانسیل کافی برای استفاده از این منابع گیاهی در صنعت گوشت و فرآورده‌های گوشتی می‌باشد. عصاره حاصل از این منابع طبیعی می‌تواند در فرمولاسیون چاشنی‌ها، سس‌ها و طعم‌دهنده‌ها استفاده شود.

## ۴- منابع

- [1] Koohmaraie, M., Kent, M.P., Shackelford, S.D., Veiseth, E., and Wheeler, T.L. 2002. Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship. *Meat Science*, 62:345-352.
- [2] Lawrie, R.A. 1999. *Meat Science*. 5th ed., Pergamon Press Oxford.
- [3] Bhat, Z.F., Morton, J.M., Susan L. Mason, L.M., and Bekhit, A.E.D. 2018. Applied and Emerging Methods for Meat Tenderization: A Comparative Perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17:481-485. DOI: 10.1111/1541-4337.12356.
- [4] Ramezani, R., Aminlari, M., and Fallahi, H. 2003. Effect of Chemically Modified Soy Proteins and Ficin tenderized Meat on the Quality Attributes of Sausage. *Journal of Food Science*, 68(1): 85-88.
- [5] Koak, J.H., Kim, H.S., Choi, Y.J., Baik, M.Y., and Kim, B.Y. 2011. Characterization of a Protease from Over-matured Fruits and Development of a Tenderizer Using an Optimization Technique. *Food Science and Biotechnology*, 20(2):485-490.
- [6] Kim, EM, Choe, IS, Hwang, SG. 2003. Effects of singular manner or mixed type treatment of proteases isolated from pear, pineapple and kiwifruit on actomyosin degradation. *Korean Journal Food Science Annual*, 23:193-199.
- [7] Herrera-Mendez, C.H., Becila, S., Boudjellal, A., Ouali, A. 2006. Meat Aging: Reconsideration of the current concept. *Trends in Food Science and Technology*, 17:394-405.
- [8] Dubey, V.K., Pande, M., Singh, B.K., and Jagannadham, M.V. 2007. Papain-like proteases: Applications of their inhibitors.



- kiwifruit juice improves lamb tenderness. *Meat Science*, 82:324–330.
- [31] Ionescu, A., Aprodu, I., Pascaru, G. 2008. Effect of Papain and Bromelain on Muscle and Collagen Proteins in beef meat. The Annals of the University *Dunarea de Jos of Galati, Food Technology*, New Series, p: 9-16.
- [32] Istrati, D., Vizireanu, C., Dima, F., Dinică, R. 2012. Effect of marination with proteolytic enzymes on quality of beef muscle. *The International Conference of Applied Sciences, Chemistry and Chemical Engineering*, 13(1):081- 089.
- [33] Doneva, M., Miteva, D., Dyankova, S., Nacheva, I., Metodieva, P., Dimov, K. 2015. Efficiency of plant proteases bromelain and papain on turkey meat tenderness. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 31(3): 407–413.
- [34] Gokoglu, N., Yerlikaya, P., Ucak, I., Yatmaz, H.A. 2016. Effect of bromelain and papain enzymes addition on physicochemical and textural properties of squid (*Loligo vulgaris*). *Journal of Food Measurement and Characteristic*, 11(1), 347–353. DOI: 10.1007/s11694-016-9403-3.
- [35] Żochowska-Kujawska, J., Kotowicz, M., Lachowicz, K. Sobczak, M. 2017. Influence of marinades on shear force, structure and sensory properties of home-style jerky. *Journal Food Sciences and Nutrition Acta Scientiarum Polonorum*, 16(4): 413–420.
- [36] Maqsood, S., Manheem, K., Gani, A., Abushelaibi, A. 2018. Degradation of myofibrillar, sarcoplasmic and connective tissue proteins by plant proteolytic enzymes and their impact on camel meat tenderness. *Journal of Food Science Technology*. DOI: 10.1007/s13197-018-3251-6.
- [37] Shekarforoush, S., Aminlari, M., Sabbagh, N. 2009. Comparative studies on the effect of the enzyme ficin on the solubility and electrophoretic pattern of ovine and bovin meat proteins. *Journal of Veterinary Research*, 64(1):1-6 [In Persian].
- [38] Sullivan, G.A., and Calkins, C.R. 2010. Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low-connective tissue. *Meat Science*, 85(4):730-734.
- [39] Ashie, I.N.A., Sorensen, T.L., and Nielsen, P.M. 2002. Effects of papain and a microbial enzyme on meat proteins and beef tenderness. *Journal of food science*, 67:2138-2142.
- [20] Toohey, E.S., Kerr, M.J., Ven, R. van de and Hopkins, D.L. 2011. The effect of a kiwi fruit based solution on meat traits in beef M. *Semimembranosus* (topside). *Meat Science*, 88:468–471.
- [21] Czaplewski, C., Grazonka, Z., Jaskolski, M., Kasprzykowski, F., Kozak, M., Politowska, E., and Ciarkowski, J. 1999. Binding modes of a new epoxysuccinyl-peptide inhibitor of cysteine proteases. Where and how do cysteine proteases express their selectivity? *Biochimica et Biophysica Acta*, 1431(2): 290-305.
- [22] Lawrie, R. A. and Ledward, D. 2006. *Lawrie's Meat Science*. CRC Press, USA, 442 p.
- [23] Polaina, J.P. and MacCabe, A.P. 2007. *Industrial Enzymes, Structure, Function and Applications*. Springer, 641 p.
- [24] Miraghaee, S., Mostafaie, A., Kiani, S., and Kahrizi, D. Investigation on Protein Pattern in Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). 2011. *World Applied Sciences Journal*, 15 (10):1398-1402.
- [25] Sun, Q., Zhang, B., Yan, Q.J., Zheng-Qiang Jiang, Z.Q. 2016. Comparative analysis on the distribution of protease activities among fruits and vegetable resources. *Food Chemistry*, 213:708–713.
- [26] Vazques-Lara, I., Tello-solis, SR., Gomez-ruiz, L., Garcia-Garbibay, M. and Rodriguez, S.G. 2003. Degradation of  $\alpha$ -Lactalbumin and  $\beta$ -Lactoglobulin by actinidin. *Food Biotechnology*, 17(2): 117-128.
- [27] Yamaguchi, T., Yamashita, Y., Takeda, I., and Kiso, Hi. 1982. Proteolytic Enzymes in Green Asparagus, Kiwi Fruit and Miut: Occurrence and Partial Characterization. *Journal of Agricultural and Biological Chemistry*, 46(8): 1983-1986.
- [28] Ha, M., Bekhit A.E.D, Carne A., Hopkins D.L. 2013 Characterization of kiwifruit and asparagus enzyme extracts and their activities toward meat proteins. *Food Chemistry*, 136:989–998.
- [29] Lee, E-J., Oh, S-W., Lee, N-H., Kim, Y-H., Lee, D-U., Yamamoto, K., and Kim, Y-J. 2009 Application of a kiwifruit (*Actinidia chinensis*) to improve the textural quality on Beef Bulgogi treated with hydrostatic pressure. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 29(3): 317-324.
- [30] Han, J., Morton, J.D., Bekhit, A.E.D., Sedcole, J.R. 2009. Pre-rigor infusion with

- [45] He, F., Kim, H.W., Hwang, K.E., Song, D.H., Kim, Y.J., Ham, Y.K., Kim, S.Y., Yeo, I.J., Jung, T.J., Kim, C.J. 2015. Effect of Ginger Extract and Citric Acid on the Tenderness of Duck Breast Muscles. *Food Science of Animal Resources*, 35(6): 721-730. DOI: 10.5851/kosfa.2015.35.6.721.
- [46] Tsai, L-L. Yen, N-J., Chou, R-G. R. 2012. Changes in Muscovy duck breast muscle marinated with ginger extract. *Food Chemistry*, 130: 316-320.
- [47] Wang, Y.T., Yang, C.Y., Chen, Y.T, Lin, Y., Shaw, J.F. 2004. Characterization of senescence-associated proteases in postharvest broccoli florets. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42:663-670.
- [48] Rawski, R.I., Sanecki, P.T., Dżugan, M., Kijowska, K. 2018. The evidence of proteases in sprouted seeds and their application for animal protein digestion. *Chemical Papers*, 72:1213-1221.
- [49] Sanjog T. Thul, Feroz Khan, Suman P. S. Khanuja. 2011. Cathepsin B-like protease from chili pepper revealed by in silico approach. *Plant Omics Journal*, 4(3):120-125.
- [40] Yonezawa, H., Kneda, M., Uchikoba, T. 1997. A cysteine protease from young stems of Asparagus: Isolation, Properties, and Specificity. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 62(1):28-33.
- [41] Chinnadurai, G.H., Krishnan S., Perumal, P. 2018. Studies on detection and analysis of proteases in leaf extract of medicinally important plants. *Phytomedicine*, 40:176-188.
- [42] Ma, Q.L., Hamid, N., Bekhit, A.E.D., Robertson, J., Law, T.F. 2012. Evaluation of pre-rigor injection of beef with proteases on cooked meat volatile profile after 1 day and 21 days post-mortem storage. *Meat Science*, 92:430-439.
- [43] Naveena, B.M., Mendiratta, S.K., Anjaneyulu, A.S.R. 2004. Tenderization of buffalo meat using plant proteases from *Cucumis trigonus Roxb* (Kachri) and *Zingiber officinale roscoe* (Ginger rhizome). *Meat Science*, 68 (3):363-369.
- [44] Narayan, R., Mendiratta, S. K., and Mane, B. G. 2015. Effects of citric acid, cucumis powder and pressure cooking on quality attributes of goat meat curry. *Journal of Food Science and Technology*, 52(3):1772-1777.

## Meat tenderization using natural compounds from fruits and vegetables

Mazaheri Kalahrodi, M. <sup>1</sup>, Baghaei, H. <sup>2\*</sup>, Emadzadeh, B. <sup>3</sup>, Bolandi, M. <sup>2</sup>

1. Ph.D. Student of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
2. Respectively Assistant Professor & Associate Professor of Food Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
3. Associate Professor, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran.

(Received: 2019/01/07 Accepted:2019/10/07)

Despite the relative success of different chemical compounds to improve meat tenderness, adverse effects caused by the use of these compounds on the physicochemical and sensory characteristics of meat, have led to restrictions on their usage in an industrial scale. Therefore, in order to prevent these undesirable chemical effects, the application of some natural tenderizers has been considered. Natural meat tenderizers, are substances in those fruits and vegetables containing proteolytic enzymes such as cysteine protease, serine protease, metalloprotease and aspartic proteases. In this paper major biochemical changes that have led to meat tenderness, as well as proper plant sources used in tenderizing process have been reviewed.

**Key words:** Fruits, Meat, Natural tenderizer, Protease, Vegetables

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: baghaei.homa@yahoo.com