

مروری بر آنزیم های بالقوه مورد استفاده در فرآوری و نگهداری محصولات گوشتی

بهرخ ورشوساز^{۱*}، صادق سقا شیرپور^۲

۱- دانشجوی دکتری صنایع غذایی، گرایش شیمی مواد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- دانشجوی دکتری صنایع غذایی، گرایش شیمی مواد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

چکیده

صنعت گوشت به دلیل افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای محصولات با کیفیت در حال تغییر است. تکنیک های مکانیکی و شیمیایی که عمدتاً برای فرآوری محصولات گوشتی استفاده می شوند، سازگار با محیط زیست نیستند، انرژی بیشتری مصرف می کنند و محصولات جانبی تولید می کنند. از این رو، جایگزینی این تکنیک ها با آنزیم ها (بیوکاتالیست ها) می تواند بهترین جایگزین باشد. علاوه بر این، استفاده از آنزیم ها در این صنایع به دلیل سازگاری با محیط زیست، مصرف انرژی کمتر و همچنین به دست آوردن محصولات با کیفیت خوب و بازدهی بهتر در حال افزایش است. آنزیم ها می توانند فرآیند واکنش را در دما و pH ملایم کاتالیز کنند و نسبت به مولکول های سوبسترا بسیار خاص هستند. آنزیم هایی مانند پروتئازها، لیپازها، ترانس گلوتامینازها با منشا گیاهی، حیوانی و میکروبی مناسب هستند و به طور گسترده برای فرآوری محصولات گوشتی مورد مطالعه قرار گرفته اند. این مقاله با روش کتابخانه ای و از طریق پیمایش در متون و منابع موجود به مطالعه ی آنزیم های بالقوه مورد استفاده در فرآوری و نگهداری محصولات گوشتی می پردازد.

کلید واژه ها: فرآوری آنزیمی، آنزیم های نو ترکیب، فرآوری گوشت، مکانیسم عملکرد آنزیم

مقدمه

آنزیم ها برای مدت طولانی حتی قبل از تاریخ مستند استفاده شده اند. سال هاست که محصولات غذایی سنتی مانند نان، پنیر و شراب با آنزیم ها پردازش می شوند. از این رو آنزیم ها در بسیاری از فرآیندهای غذایی مختلف به کار گرفته شده اند و این عمل در فناوری مدرن مواد غذایی، اما با دقت بیشتری ادامه دارد. استفاده کنترل شده از آنزیم ها در صنایع غذایی برای توسعه محصولات غذایی با کیفیت به کار گرفته شده است (Rastogi and Bhatia, 2019).

صنعت گوشت در حال گذر از انقلابی است که در آن کیفیت دغدغه اصلی است، زیرا مصرف کنندگان آگاه به کیفیت هستند. کیفیت و مقرون به صرفه بودن فرآورده های گوشتی جذابیت اصلی آن بوده است. مشکل عمده فرآورده های گوشتی تغییرات پس از مرگ در ماهیچه است که بر نرمی و خواص بافتی تأثیر می گذارد و نقش آنزیم ها نقش مهمی ایفا می کند (Nahar, Mizan et al., 2018).

گوشت از لحاظ تغذیه ای یکی از مهم ترین منابع تأمین انرژی و مواد مغذی محسوب می شود که مصرف به اندازه آن در سلامت انسان تأثیر فراوانی دارد. غنی بودن گوشت از پروتئین های با ارزش بیولوژیکی بالا اسیدهای چرب آهن ویتامینها و سایر مواد معدنی ارزش و اهمیت این ماده غذایی را در تغذیه انسان نشان میدهد. حضور این ترکیبات منحصر به فرد گوشت و فرآورده های آن، آن را به یکی از کامل ترین و پر مصرف ترین مواد غذایی در رژیم غذایی انسان تبدیل کرده است. با توجه به این که گوشت در بسیاری از محصولات غذایی برای برآورده کردن نیاز انسان استفاده می شود، بنابر این خواص فیزیکیوشیمیایی گوشت تازه و فرآورده های حاصل از آن از اهمیت ویژه ای برخوردار است (Lantto, Kruus et al., 2009). بخش عمده ای از خصوصیات فیزیکیوشیمیایی گوشت به ویژگیهای مولکولی و بیوشیمیایی پروتئین های تشکیل دهنده عضله بستگی دارد که بر رفتار محصولات غذایی در طول دوره فرآوری نگهداری و مصرف تأثیر میگذارد. این خصوصیات در اثر برهم کنش پروتئینها با ترکیبات دیگر نظیر آب یونها، حلال و سایر مولکولهای زیست فعال نظیر لیپیدها، ساکاریدها و یا پروتئین های دیگر ظاهر می شود. خصوصیات فیزیکیوشیمیایی ظاهر، رنگ، عطر و طعم آبدار بودن، احساس دهانی، بافت و

تردی را تغییر میدهد و کیفیت و ویژگیهای ارگانولپتیکی محصولات فرآوری شده را تحت تأثیر قرار می دهد. به علاوه این خصوصیات بر بسیاری از فرآیندهای مورد استفاده در طی فرآوری نظیر برش زنی چرخ کردن مخلوط کردن امولسیون کردن شکل دهی و انتقال محصول اثر می گذارند (Cazarin, Lima et al., 2015).

به این ترتیب با بهبود و تغییر خصوصیات فیزیکوشیمیایی گوشت امکان تولید محصولات جدید، اصلاح ویژگیهای محصولات موجود در بازار، کاهش ضایعات و صرفه جویی در انرژی مورد استفاده در طی فرآوری وجود دارد. از سوی دیگر مصرف کنندگان همواره محصولات غذایی با کیفیت و ویژگی های ظاهری مناسب تر را بر محصولات با کیفیت پایین ارجحیت میدهند در کشور ما به ویژه در سال های اخیر صنایع گوشت به طور چشمگیری رشد داشته است ولی متأسفانه کیفیت نامناسب گوشت و فرآورده های تولیدی آن و عدم پذیرش آنها توسط مصرف کننده صاحبان این صنایع را با مشکلات جبران ناپذیری مواجه کرده است (Cao, Xiao et al., 2021). بنابراین تولید کنندگان و پژوهشگران حوزه علم و فناوری گوشت تمایل زیادی برای تولید گوشت تازه و محصولات گوشتی با خصوصیات فیزیکوشیمیایی مناسب تر جهت بهبود شرایط فرآوری محصول با در نظر گرفتن خصوصیات مدنظر مصرف کنندگان دارند. با بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی کیفیت گوشت خام و محصولات حاصل از فرآوری آن نیز افزایش می یابد. البته تعریف کیفیت گوشت از نقطه نظر مصرف کننده با تولید کننده متفاوت است. به همین دلیل در این زمینه تعریف استاندارد و مشخصی برای گوشت با کیفیت بالا وجود ندارد. اما در یک تعریف ساده میتوان کیفیت را به عنوان مجموعه ای از ویژگیهای شاخص که باعث پذیرش محصول از دید صنعت با در نظر گرفتن رضایت مندی مشتری میشود تعریف کرد (Tantamacharik, Carne et al., 2018). البته رضایت مندی از نظر مصرف کننده نیز متفاوت بوده و به عوامل درونی مانند جنس، نژاد، سن و فعالیت مصرف کننده و عوامل بیرونی نظیر شرایط اقتصادی، محیط عادات غذایی و روش پخت محصول توسط مصرف کننده بستگی دارد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی موثر بر کیفیت گوشت به طور کلی به دو دسته خصوصیات کیفی و ساختاری و خصوصیات عملکردی تقسیم میشوند. خصوصیات کیفی و ساختاری گوشت نظیر رنگ، عطر و طعم، بافت و تردی و ظرفیت نگهداری آب مهمترین ویژگیهای موثر بر پذیرش

محصول از دید مصرف کننده هستند (Bekhit, Hopkins et al., 2014). در صنعت گوشت به عنوان ماده اولیه به صورت قطعات (بزرگ) و یا چرخ شده ریز و درشت بسته به نوع فرآورده تولیدی استفاده میشود. در این محصولات ویژگی های عملکردی شامل افت پخت امولسیون کنندگی پایداری امولسیون و قابلیت تشکیل ژل مهمترین ویژگی های مدنظر تولید کنندگان میباشد. البته مطلوبیت این خصوصیات نیز از دید صاحبان صنایع مختلف تولید و فرآوری متفاوت بوده و به نوع محصول نوع و بخش گوشت استفاده شده مقدار ترکیبات افزودنی غیر گوشتی و تجهیزات مورد استفاده برای فرآوری بستگی دارد. برای مثال تردی، ظرفیت نگهداری آب، افت پخت و تشکیل ژل در محصولات گوشتی پخته شده بافت قابلیت تشکیل ژل و تشکیل و پایداری امولسیون در محصولات امولسیونی نظیر سوسیس ها مهمترین ویژگیهای مدنظر صنایع فرآوری این محصولات می باشند (Toldrá and Reig, 2015).

بافت و تردی

تردی یکی از مهم ترین خصوصیات کیفی و خوراکی گوشت است که تعیین کننده رضایت مندی مصرف کننده و موفقیت محصول نهایی میباشد. علاوه بر این تردی یکی از عوامل موثر در ایجاد نرمی و آبدار بودن گوشت است. طی ساعات اولیه پس از ذبح بر اثر یک مجموعه تغییرات بیوشیمیایی عضلات منقبض میشوند و پدیده ای به نام صلابت یا جمود نعشی رخ می دهد. جمود نعشی با کاهش میزان آدنوزین تری فسفات (ATP) به میزان ۸۰ مقدار اولیه شروع خواهد شد. به طور خلاصه در اثر توقف جریان خون و تنفس توانایی سنتز ATP از بین میرود. عدم وجود ATP موجب می شود که اکتین با میوزین ترکیب شده و اکتومیوزین را تشکیل دهند که سبب سفت شدن ماهیچه می شود. در عضلات دام زنده گلیکولیز به دو صورت هوازی و بی هوازی انجام می پذیرد. زمانی که در بافت عضلانی اکسیژن به اندازه کافی برای فعالیت میتوکندری وجود ندارد متابولیسم هوازی عضله بتدریج به متابولیسم بی هوازی تبدیل میشود. توقف سنتز هوازی ATP باعث سنتز ATP به صورت بی هوازی به وسیله فسفر دار شدن گلیکولیتیک شده و به این ترتیب تا مدتی کوتاه میزان ATP پایین نمی آید. در اثر تجزیه گلیکوژن به صورت بی هوازی اسید پیرویک تبدیل به اسید لاکتیک شده و به علت عدم حمل آن توسط جریان

خون اسید در عضلات باقی میماند. در نتیجه تجمع اسید لاکتیک موجب افت pH از حدود ۷ به ۵/۶ در گوشت میشود. این افت pH زمینه ساز شروع واسرشتی پروتئین ها، فعال شدن کاتپسین ها و در نهایت تکمیل فرآیند جمود نعشی است. با رو به اتمام گذاشتن ذخایر گلیکوژنی و کراتین فسفات سنتز ATP کمتر شده و سپس متوقف میشود. همزمان با آن اثر نرم کنندگی ATP نیز از بین خواهد رفت و ماهیچه سفت میشود. درجه حرارت نگهداری یکی از عوامل تأثیر گذار بر تردی گوشت پس از جمود نعشی است. با افزایش درجه حرارت محیط سرعت تردی گوشت نیز افزایش می یابد. به همین دلیل جهت ایجاد کیفیت و تردی مطلوب بایستی گوشت در سردخانه نگهداری شود که این شرایط باعث انجام فعل و انفعالات شیمیایی مانند تجزیه پیوندهای بوجود آمده در طی جمود نعشی توسط آنزیم های پروتئازی شده و گوشت رسیده یا به اصطلاح ترد میشود. البته در صورت نگهداری در دماهای بالا و یا نگهداری طولانی مدت احتمال آلودگی به فساد میکروبی افزایش می یابد (Tantamacharik, Carne et al., 2018).

روش آنزیمی ترد کردن گوشت

آنزیم های تجزیه کننده پروتئین دارای کاربرد تجاری بوده و در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی در صنعت غذا، داروسازی و مواد شوینده استفاده میشوند مهم ترین کاربرد آنها در صنایع گوشت تر دسازي گوشت و تهیه سوسیس و کالباس است. تلاش برای تر دسازي گوشت به روش آنزیمی پدیده جدیدی نیست. در گذشته بومیان مکزیک و هندی گوشت را در برگهای پاپایا پیچیده و سپس در آب می جوشاندند. در حین جوشاندن عصاره این برگها جذب گوشت شده، در نتیجه تردی و قابلیت برش افزایش می یافت. آنزیمهای مورد استفاده برای تر دسازي آنزیمی می توانند از منابع گیاهی، فارچی و یا باکتریایی به دست آیند آنزیم های گیاهی تاریخچه استفاده طولانی تری دارند در حالی که آنزیم های قارچی و باکتریایی در سالهای اخیر مورد استفاده قرار گرفته اند. پاپائین، بروملین و فیسین مهم ترین اندو پیتیدازهای تجاری با منابع گیاهی هستند (Morton et a., ۲۰۱۹).

آنزیم های گیاهی اقتصادی ترین و پرکاربردترین آنزیمهای مورد استفاده برای تر دسازي گوشت می باشند. پاپائین، بروملین،

فیسین اکتینیدین و زینجیباین همگی آنزیمهای سیستمین دار و مقاوم به حرارت هستند که تحت عنوان تیول پروتئازهای سولفیدریل و پاپائیناز شناخته میشوند. این آنزیم ها عمدتاً روی پروتئین های تارهای عضلانی و بافت پیوندی موثر بوده و باعث تجزیه اکتومیوزین، کلاژن و الاستین موجود در عضله و در نتیجه ترد شدن یافت می شوند (Nowak ۲۰۱۱).

منابع و انواع آنزیم ها

همانطور که در بخش های قبلی توضیح داده شد، آنزیم های مورد استفاده در گوشت ممکن است از گیاهان، حیوانات یا میکروارگانیسم ها باشد. به غیر از آنزیم های برون زا، نقش آنزیم های درون زا نیز برای فرآوری محصولات غذایی بسیار مهم است. آنزیم های منبع میکروبی بیشتر ترجیح داده می شوند زیرا می توان آنها را به راحتی دستکاری کرد و میکروارگانیسم ها را به راحتی کشت داد. علاوه بر این، روند استفاده از آنزیم های میکروارگانیسم های دریایی از چند سال گذشته رو به افزایش بوده است. پروتئازهایی مانند فیسین، بروملین و پاپائین که عمدتاً گیاهی هستند، به طور گسترده در نرم کردن گوشت استفاده می شوند. این پروتئازها دارای یک گروه سولفیدریل در محل های فعال خود هستند تا فعالیت کاتالیزوری خود را انجام دهند. این پروتئازها به غیر از نرم کردن گوشت، در تهیه سس ماهی نیز استفاده شده است. علاوه بر این، از پاپائین در تهیه هیدرولیز پروتئین ماهی نیز استفاده شده است (Fernandes, 2016). بیشتر آنزیم های مورد استفاده در فرآوری محصولات گوشت، ماهی و طیور پروتئاز هستند. علاوه بر پروتئازها، آنزیم های دیگر (لیپازها و ترانس گلوتامینازها) نقش عمده ای در اصلاح طعم، هیدرولیز اسیدهای چرب و سایر روش های فرآیند دارند. آنزیم های مختلف مورد استفاده در فرآوری محصولات گوشتی همچنین منابع آنها در جداول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- پروتئازهای مورد استفاده در ترسدسازی گوشت

منبع آنزیم	نام آنزیم	منبع
گیاهی	Ficin	Fig (<i>Ficus glabrata</i> , <i>Ficus laurifolia</i> , <i>Ficus anthelmintica</i>)
	Papain	Papaya (<i>Carica papaya</i>)

Pineapple (<i>Ananas comosus</i>)	Bromelain	
Kiwi fruit (<i>Actinida deliciosa</i>)	Actinidin	
Kachri fruit (<i>Cucumis pubescens</i> , <i>Cucumis trigonas</i>)	Cucumin	
Ginger (<i>Zingiber officinale</i>)	Zinzibain	
Pork	Porcine pancreatin	حیوانی
<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Penicilium chrysogenum</i> Pg222	Fungal protease	میکروبی
<i>Bacillus subtilis</i>	Alkaline protease	
<i>Bacillus</i> strain E.A.1	Thermophilic enzyme E	
<i>Thermus</i> strain Rt4-1.A	A1 protease	
<i>Thermus</i> strain T-35	4-1 A protease	
<i>Bacillus</i> species EL31410	Caldolysin	
<i>Vibrio</i> B-30	Elastase	
	Collagenase	

آنزیم های برون ریز

آنزیم های پروتئولیتیک طبیعی متعددی با منشاء گیاهی وجود دارند که پتانسیل بهبود لطافت گوشت سفت را دارند. متداول

ترین آنها پاپائین، زین جیباین، کوکومین و فیسین هستند (Bekhit, Hopkins et al., 2014).

پاپائین

پاپائین (FC ۳.۴.۲۲.۲) مجموعه ای از آنزیم های پروتئازی است که از شیرابه حاصل از میوه نارس و رسیده خربزه درختی

(پاپایا) بدست می آید. درخت سرسبز پاپایا در مناطق گرمسیری مناطق آمریکای مرکزی و جنوبی مکزیک و هند رشد میکند

شیرابه از خراش دادن چهار سمت میوه کاملاً رشد یافته ولی نارس بدست آمده و پس از جاری شدن به سرعت به صورت

توده ی سفتی در می آید. برای جلوگیری از اکسید شدن و از دست دادن فعالیت آنزیم توده حاصل خشک می شود. فرآیند

خشک کردن با استفاده از نور خورشید، آون و خشک کن پاششی تا رسیدن به رطوبت ۵ تا ۸ درصد ادامه می یابد. سپس

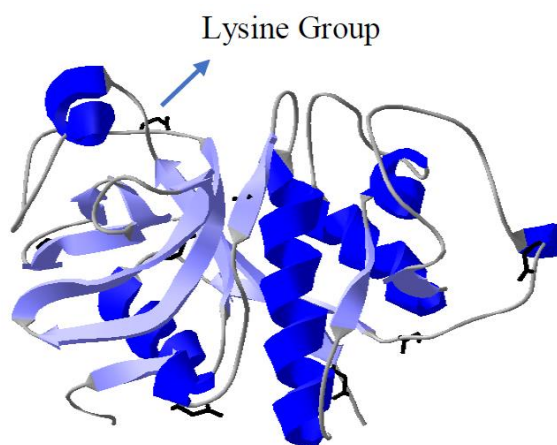
آنزیم در آب حل شده و مرحله خالص سازی فیلتراسیون و ترسیب انجام می گیرد (Tantamacharik et al., ۲۰۱۸). جهت

Diagram illustrating the primary structure of the protein, showing the amino acid sequence from 1 to 210. The sequence is represented by a single continuous line with amino acid abbreviations. Key features include a C-terminal NH₂ group at position 1, a C-terminal HOOC group at position 210, and several disulfide bonds (SS) and a hydrogen bond (SH) indicated by lines connecting specific residues.

صفحه ۸

آنزیم پاپائین در محدوده گسترده ای از دما و pH دارای فعالیت است. بهترین زمان، دما و pH برای حداکثر فعالیت آنزیم زمان ۳۰ دقیقه دمای ۶۰ تا ۸۰ درجه سانتی گراد و pH ۵ تا ۷ است. در pH های بالاتر از ۱۱ و کمتر از ۳ آنزیم به سرعت غیر فعال میشود. این آنزیم در سه حالت پودری، محلول و کریستالی به صورت تجاری وجود دارد که میزان پایداری آن نیز متفاوت است (Barekat and Soltanizadeh ۲۰۱۷).

پاپائین در حالت پودری میتواند فعالیت خود را به مدت ۳ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد حفظ کند. در حالت محلول پس از حرارت دهی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۲/۵ درجه سانتی گراد غیر فعال میشود و در حالت کریستالی در ۳۰ درجه سانتی گراد و pH ۳ تا ۱۲ به مدت ۲ ساعت فعال است (۵۴) پاپائین مناسب ترین و پرکاربردترین آنزیم برای تردسازی گوشت در صنعت است و دارای فعالیت کلاژنولیتیک بسیار شدیدی است. این آنزیم باعث تفکیک تارهای عضلانی، تجزیه سارکولما، فیبرهای عضلانی و بافت پیوندی به ویژه کلاژن شده و تردی گوشت را به صورت محسوسی افزایش می دهد (Fernández-Lucas et al., 2017).



شکل ۲- ساختار آنزیم پاپائین به همراه گروه های لیزین برای اتصال به بستر

مکانیسم عمل پاپائین

پاپائین هیدرولیز پیوندهای پپتیدی را کاتالیز میکند در مرحله ی اول کاتالیز گروه تیول سیستمین ۲۵ در جایگاه فعال آنزیم توسط حلقه ی ایمیدازول آمینواسید هیستیدین ۱۵۹ دپروتونه می شود. آسپاراژین ۱۷۵ با کمک به هدایت حلقه ی ایمیدازول هیستیدین ۱۵۹ دپروتونه شدن را تسهیل می کند. در مرحله بعد گروه سولفور آنیونی سیستمین دپروتونه شده روی کربن

کربونیل زنجیره ی پتیدی حمله ی نوکلئوفیلی انجام میدهد و به دنبال آن یک قطعه از زنجیره ی پتیدی سوستر از انتهای -- ترمینال پتید با یک انتهای آمینی شکسته و جدا میشود و هیستیدین ۱۵۹ نیز به فرم دپروتونه ی اولیه ی خود تبدیل می شود. سپس حد واسط تیواستر به انتهای کربوکسیلی جدید سوستر که توسط سیستم تیول ایجاد شده است متصل میشود. پیوند تیواستری نیز متعاقبا هیدرولیز میشود تا همزمان با احیای آنزیم آزاد، بخش کربوکسیلیک اسید را روی قطعه ی باقی مانده ی سوستر تشکیل دهد شکل (۳۱) ۳ آمینواسید سیستم ۲۵ هیستیدین ۱۵۹ و آسپارژین ۱۷۵ به علت ساختار تاخورده ی آنزیم بسیار نزدیک بهم قرار دارند به همین دلیل این ۳ آمینواسید در جایگاه فعال با هم همکاری می کنند که منجر به عملکرد منحصر به فرد آنزیم پاپائین می شود (Habtu et al., 2020).

مکانیسم عمل پاپائین

همانطور که قبلا اشاره شد آنزیم پاپائین دارای کاربردهای متنوع و فراوانی است. همچنین از این آنزیم میتوان در حلالهای آلی در جهت سنتز پپتیدها بهره گرفت با این حال مشکلی که در استفاده از آنزیم ها در صنعت از جمله پاپائین وجود دارد و پایداری کم آنها برای مصارف صنعتی است. بنابراین جهت استفاده از آنزیم در صنایع مختلف نیاز به پایدار سازی آنها میباشد. روشهای زیادی برای پایدارسازی آنزیم ها وجود دارد که از آنها میتوان به مهندسی پروتئین و تثبیت آنزیم اشاره کرد. تثبیت باعث می شود آنزیم قابل بازیافت باشد. همچنین تثبیت بر روی نانوذرات مغناطیسی باعث استفاده مکرر جداسازی بهتر و آسان تر نسبت به آنزیم آزاد زیاد بودن نسبت سطح به حجم، افزایش پایداری ساختار سه بعدی جلوگیری از غیر فعال شدن آنزیم در شرایط محیطی مانند دما و pH نامتعارف می شود (Gagaoua et al., 2021).

فیسین*

فیسین، آنزیم پروتئولیتیک درختان انجیر (*Ficus sp.*)، یک سولفیدریل پروتئاز است. حدود ده پروتئاز در لاتکس فیسین خام وجود دارد. فیسین هایی که بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته اند فیکوس گلابراتا و فیکوس کاریکا هستند. گزارش شده است که هیدرولیز و حلالیت پروتئین های ماهیچه ای را افزایش می دهد. حلالیت پروتئین گوشت ممکن است توسط فیسین با تجزیه پروتئین ها به واحدهایی با وزن مولکولی کوچکتر افزایش یابد، که وقتی جمع می شوند، یک شبکه سه بعدی را

* Ficin

تشکیل می دهند. محققین گزارش کردند که pH بهینه برای فعالیت آنزیمی برای کلاژن و پروتئین های میوفیبریلار حدود ۷ و برای الاستین حدود ۵.۵-۵.۰ است (Morellon-Sterling, El-Siar et al., 2020).

بروملین*

آنزیم های پروتئولیتیک به نام بروملین در میوه ها، برگ ها و ساقه های خانواده Bromeliaceae وجود دارند که آناناس (*Ananas comosus*) رایج ترین آنزیم مورد استفاده در فرآوری گوشت است. آنزیمی که از ساقه استخراج می شود بروملین ساقه نام دارد و آنزیم استخراج شده از میوه بروملین میوه نامیده می شود. گفته می شود که بروملین میوه فعالیت و ویژگی پروتئولیتیک بالاتری نسبت به بروملین ساقه دارد. این آنزیم، مانند سایر پروتئازها، با تخریب پروتئین های میوفیبریلار و کلاژن منجر به حساسیت بیش از حد می شود. ابتدا حدود ۴۰ درصد از کلاژن را در سارکولم تجزیه می کند و سپس میوزین را در ناحیه میوفیبریلار تجزیه می کند. استفاده از این آنزیم آسان و ارزان است و می توان از آن در مقیاس خانگی و صنعتی برای نرم کردن گوشت سفت استفاده کرد. همچنین جایگزین بهتری برای نرم کننده های شیمیایی است (Nanda, Bahar et al., 2020). بعد از یک ساعت در ۵۰ درجه سلسیوس، ۸۳ درصد از آنزیم فعال باقی می ماند، در حالی که در ۴۰ درجه سلسیوس است، عملاً ۱۰۰٪ فعال باقی می ماند. ۸ دقیقه در ۸۰ درجه سلسیوس برای غیرفعال کردن تقریباً کامل آنزیم کافی است. فعالیت پروتئولیتیک محلول های بروملین غلیظ حداقل به مدت یک هفته در دمای اتاق، با حداقل غیرفعال شدن توسط چرخه های متعدد انجماد و ذوب یا قرار گرفتن در معرض آنزیم گوارشی تریپسین، نسبتاً پایدار می ماند (Sunantha and Saroot, 2011).

کوکومین[†]

کوکومین به دست آمده از کاجری (*Cucumis pubescens*) یک پروتئاز است. در ابتدا، میوه های درشت آسیاب شده C. trigonus Roxb (معروف به کاجری) به طور سنتی به عنوان نرم کننده گوشت در برخی از مناطق هند مورد استفاده قرار می گرفت. کوکومین گوشت را تا حد قابل توجهی نرم می کند و ممکن است به عنوان پایه ای برای مخلوط های تجاری نرم کننده گوشت باشد (Shi, Shahidi et al., 2021).

* Bromelain

† Cucumin

زینگیبین*

پروتئاز Zingibain از گیاه *Zingiber officinale roscoe* (ریزوم زنجبیل) توسط تامپسون و همکاران جدا شد. این تیول پروتئاز فعالیت بهینه را در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد نشان می دهد. عصاره زنجبیل حاوی دو سیستمین پروتئاز با جرم مولکولی ۲۹ و ۳۱ کیلو دالتون است که توسط سو و همکاران گزارش شده است. این آنزیم هنگام گرم شدن دارای فعالیت پروتئولیتیک بیشتری است. فعالیت پروتئولیتیک آن با تجزیه کلاژن و اکتینومايسين گوشت لطیف تری تولید می کند (Naveena & Mendiratta, 2001; Thompson et al., 1973). محققین گزارش کردند که تخریب گسترده پروتئین های میوفیبریلار با غلظت بالایی از عصاره زنجبیل امکان پذیر است: به نظر می رسد که تخریب از باند I هر سارکومر شروع می شود و به سمت خط M پیش می رود. (Bhat, Morton et al., 2018)

اکتینیدین[†]

اکتینیدین یک سیستمین پروتئاز است که از میوه کیوی (*Actinidai deliciosa*) به دست می آید. اکتینیدین در محدوده pH 7-10 پایدار است و در دمای ۶۲-۵۸ درجه سانتیگراد فعالیت بهینه دارد. محدوده pH 5-7 نیز توسط برخی محققین که منعکس کننده تغییرات در رقم و روش مورد استفاده برای تخمین فعالیت پروتئولیتیک است. هم پروتئین های میوفیبریلار و هم پروتئین های بافت همبند توسط این آنزیم هیدرولیز می شوند (Sensky, Parr et al., 2001).

آمینوپپتیدازها

آمینوپپتیدازها آنزیم های اصلی هستند که در ایجاد طعم مشخص در محصولات گوشتی نقش دارند. آنها اسیدهای آمینه را از انتهای N پپتیدها و پروتئین ها در طی فرآوری گوشت هیدرولیز می کنند. این تعداد زیادی آمینو اسید آزاد تولید می کند که طعم و مزه ایجاد می کند. در عضله اسکلتی خوک، آمینوپپتیداز (BBAP)، لوسیل (LAP)، آلانیل (AAP) و پیروگلوتامیل (PGAP) در سیتوزول موضعی شده اند و بر اساس ترجیح اسید آمینه ترمینال N خاص نام گذاری شده اند به جز لوسیل آمینوپپتیداز، همه در pH اسیدی فعال هستند. در سیتوزول عضله اسکلتی، حدود ۸۶ درصد از کل آمینوپپتیداز

* Zingibain

† Actinidin

را آلانیل آمینوپتیداز تشکیل می دهد. آمینوپتیدازها در طول فرآوری ژامبون خشک شده، پایداری خوبی از خود نشان می دهند، با فعالیت هنوز در پایان فرآیند بهبود یافته است (Dhital and Vangnai, 2019).

لیپازها

لیپولیز فرآیند تخریب لیپیدهای گوشت در طی فرآوری است. آنزیم های سلول های چربی و فیبرهای عضلانی و همچنین آنزیم های باکتریایی در لیپولیز نقش دارند. با این حال، مشخص شده است که در سوسیس های تخمیر شده خشک، سهم لیپاز باکتریایی به دلیل تفاوت های زیاد در شرایط متوسط و بهینه ضعیف است. لیپولیز شدید در ماهیچه ها و بافت های چربی در طی خشک شدن گوشت رخ می دهد. بیشتر تولید اسیدهای چرب آزاد در طول ۵ ماه اولیه اتفاق می افتد. آنزیم های لیپولیتیک مهم بافت چربی عبارتند از لیپوپروتئین لیپاز، لیپاز حساس به هورمون و لیپاز مونوآسیل گلیسرول. لیپوپروتئین لیپاز، مخصوص استرهای اولیه، در pH قلیایی ۸.۵ فعال است. لیپاز حساس به هورمون، پیوند استری را در تری گلیسرول ها و دی آسیل گلیسرول ها هیدرولیز می کند. مونوآسیل گلیسرول لیپاز مونوآسیل گلیسرول ها را بدون خاصیت موقعیتی هیدرولیز می کند و در مراحل نمک زدن و پس از نمک زدن فعال است. لیپاز حساس به هورمون به دلیل فعالیت بالای آن در pH خنثی، لیپاز خنثی نیز نامیده می شود. لیپاز عضلانی، لیزوزوم اسید لیپاز، فعال در pH اسیدی، تری، دی و مونوآسیل گلیسرول را هیدرولیز می کند. لیپازها را می توان برای حذف چربی در محصولات گوشتی استفاده کرد. لیپاز تولید شده از لاکتوباسیلوس sp. گوشت را در ۷۲ ساعت تجزیه می کند (Padmapriya, Rajeswari et al., 2011).

پروتئازهای قارچی

یک پروتئاز سرین اگزوزن (EPg222) به دست آمده از *Penicillium chrysogenum* Pg222، یک سویه اتاکسیژنیک، از ژامبون خشک شده جدا شد (Núñez et al., 1996). این پروتئاز فعالیت بهینه را در دمای ۴۵-۵۵ درجه سانتیگراد، pH ۶ و ۰.۲۵ مولار NaCl نشان می دهد (بنیتو و همکاران، ۲۰۰۲). بنیتو و همکاران (۲۰۰۳) گزارش داد که EPg222 پروتئین های کلیدی میوفیبریلار را هیدرولیز می کند و از نرم شدن قطعات کامل گوشت با ۵٪ NaCl پشتیبانی می کند. بافت محصول گوشت خشک شده را می توان با پروتئازهای قارچی بهبود بخشید. معرفی EPg222 در سوسیس های تخمیر شده خشک که با کشت های آغازگر رسیده اند، برای تقویت ویژگی های حسی بسیار جالب است (بنیتو و همکاران، ۲۰۰۴). یک پروتئاز آسپارتیک از *Aspergillus oryzae* فعالیت بهینه را در محدوده pH 2.5-6 نشان می دهد و کمتر از ۲۰٪ از فعالیت

آن پس از پختن در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد باقی می ماند (Ashie et al., 2002). روی کلاژن تاثیر نمی گذارد. اثر آن بر پروتئین های میوفیبریلار در مقایسه با پروتئاز گیاهی، با هیدرولیزهای خود محدود شونده در غلظت های بالاتر، محدود است (Cronlund & Woychik, 1986; Ashie et al., 2002).

الاستاز

الاستاز آنزیمی است که الاستین را در بافت همبند تجزیه می کند. یک الاستاز جدید، یک پروتئاز با فعالیت پروتئولیتیک بالا، از *Bacillus sp* جدا شد. EL31410 توسط چن و او (۲۰۰۲). الاستین و کلاژن که می تواند به سختی گوشت کمک کند، نسبت به سایر پروتئین های میوفیبریلار در pH گوشت، که معمولاً از ۵.۵ تا ۶.۰ متغیر است، ارجحیت مشخصی داشت و بر اساس نتایج، همان اثر نرم کننده ای مانند پاپائین بر روی گوشت گاو دارد.

پروتئاز باکتریایی

بسیاری از گونه های باکتری نقش عمده ای در تخریب پروتئین در گوشت و محصولات ماهی تخمیر شده بازی می کنند. به دلیل فعالیت نسبتاً خاص و دمای غیرفعال پایین، پروتئازهای حاصل از منابع باکتریایی آنها را برای نرم کردن گوشت مفید می سازد. الاستاز قلیایی از *Bacillus sp*. سویه Ya-B فعالیت بهینه را در محدوده pH 5.5-6.0 و محدوده دمایی ۱۰-۵۰ °C نشان می دهد (Takagi et al., 1992; Yeh et al., 2002). در مقایسه با پروتئازهای گیاهی، پروتئازهای باکتریایی فعالیت هیدرولیتیک کمتری نسبت به پروتئین های میوفیبریلار دارند، اما توانایی آنها در تجزیه کلاژن در حد متوسطی بود که در بروملین و پاپائین یافت می شود.

پپتیدهای زیست فعال

پپتیدهای زیست فعال را می توان از پروتئین های گوشت با اثر آنزیم های گوارشی مختلف که برخی خواص عملکردی گزارش شده اند تولید کرد. پپتیدهای بازدارنده ACE (آنزیم مبدل آنژیوتانسین) توسط هضم آزمایشگاهی معده گوشت خوک تولید می شوند، جایی که گروهی از آنزیم ها مانند پپسین و پانکراتین در حال فعالیت هستند. به طور مشابه، یافته دیگری مشاهده کرد که وقتی میوزین B خام توسط آنزیم هایی مانند پپسین هیدرولیز می شود، پپتیدهای ضد فشار خون می توانند از

ماهیهیچه اسکلتی خوک آزاد شوند. در گزارش دیگری، آریهارا و همکاران. (۲۰۰۱) گزارش کردند که هضم ترمولیزین میوزین خوک منجر به تولید پنتاپپتیدهای مهارکننده ACE شد و فعالیت های ضد فشار خون میوپنتاپپتیدها قابل توجه بود. همچنین گزارش شد که اثر پنج پروتئاز یعنی آلکالاز، کیموتریپسین α ، نوتراز، پروناز E و تریپسین بر روی ژلاتین پوست گاو، منجر به آزادسازی پپتیدهای مهارکننده ACE شد. به طور مشابه، هیدرولیزهای کلاژن مرغ تولید شده توسط یک پروتئاز *Aspergillus oryzae* منجر به تولید پپتیدهای مهارکننده ACE شد و هنگامی که مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت، نتایج نشان دهنده کاهش فشار خون پس از تجویز پپتیدها بود. بررسی های بیشتر نشان داد که پپتیدهای به دست آمده از پروتئین های میوفیبریلار گوشت خوک پس از هیدرولیز توسط پروتئازهایی مانند پاپائین و اکتیناز E دارای فعالیت آنتی اکسیدانی هستند (سایگا و همکاران، ۲۰۰۳). پپتید آنتی اکسیدانی QGAR زمانی که ترکیبی از آنزیم هایی مانند پپسین، پاپائین و پروتئازهای لوزالمعده گاو و پروتئازهای باکتریایی استرپتومایسس و باسیلوس پلی میکسا برای هیدرولیز استفاده شد، از کلاژن خوک آزاد شد. هیدرولیزهای پلاسما تحت درمان با آلکالاز به عنوان آنتی اکسیدان موثر مشاهده شد. آنها اکسیداسیون لیپید را مهار کردند، به طور موثر ۱،۱ DPPH-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل) و فلز کلات را از بین بردند.

روشهای توزیع آنزیم

پاشیدن

در این روش آنزیم به صورت پودری بر سطح گوشت پاشیده میشود. تاپل و همکاران در سال ۱۹۵۶ با استفاده از روش پاشش یک لایه نازک از آنزیم را در سطح گوشت ایجاد کردند و سپس گوشت را به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق قرار دادند. در این روش تغییر قابل توجهی در بافت گوشت ایجاد نشد. آن ها همچنین قطعه گوشت را به مدت ۱۰ دقیقه حرارت دادند. در این حالت تنها سارکولما و تارهای عضلانی در بخشهای سطحی تخریب شد ولی بخشهای عمقی بدون تغییر باقی ماند. اگر چه در این روش اعمال حرارت سبب افزایش نفوذ آنزیم شد اما آنزیم قبل از نفوذ به بخش های عمقی در اثر حرارت غیر فعال گردید. به این ترتیب پاشیدن آنزیم به صورت پودری به دلیل نفوذ ناچیز آنزیم به بخشهای عمقی روشی نامناسب بوده و در صنعت از آن استفاده نمی شود (Akpan and Omojola 2015).

غوطه ورسازی

در این روش نمونه درون محلول آنزیمی با غلظت مناسب غوطه ور میشود. مهم ترین ایراد این روش همچون روش پاشیدن نفوذ کم آنزیم است. مطالعات قبلی نیز سرعت نفوذ بسیار پایین آنزیم را نشان می دهند. سرعت نفوذ پائین در صورت غوطه ور کردن گوشت گوساله تازه در محلول آنزیمی بسیار کم و در حدود ۱ میلی متر در ساعت است در صورتی که گوشت قبل از غوطه ورسازی به صورت تصعیدی خشک شود در اثر تصعید دانه های یخ بافت دارای حفرات ریز شده و بافت اسفنجی پیدا میکند به این ترتیب مقدار نفوذ آنزیم در نمونه های خشک شده به روش تصعیدی اندکی افزایش می یابد. نفوذ کم آنزیم باعث عدم تغییر در بافت و تردی در بخشهای عمقی میشود. از طرف دیگر ترد شدن بیش از حد بخشهای سطحی منجر به افزایش تجزیه پروتئینها و ایجاد طعم و بوی نامناسب در گوشت می شود (Akpan and Omojola 2015).

تزریق

این روش شامل تزریق محلول آنزیمی در زمان حیات دام و تزریق محلول آنزیمی پس از ذبح دام می شود. در حالت اول آنزیم ۱ تا ۳۰ دقیقه قبل از ذبح به صورت وریدی به دام زنده تزریق می شود. معمولاً در روش تزریق از محلولهای آنزیمی ۵ تا ۱۰ درصد و به میزان ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دام استفاده می گردد. مهم ترین ایراد این روش تجمع آنزیم در برخی از بافتها نظیر زبان و کبد و متلاشی شدن آنها در طی فرآیند پخت است. در حالت دوم محلول آنزیمی به تنهایی و یا همراه نمک با غلظت مشخص بسته به نوع آنزیم به لاشه تزریق میشود. استفاده از نمک در محلول آنزیمی به دلیل بالاتر بودن انتقال جرم آن میزان نفوذ آنزیم را افزایش میدهد. تزریق در زمان حیات دام باعث توزیع سریع تر و یکنواخت تر آنزیم و تردی مناسب تر میشود. در میان روشهای مطرح روش تزریق کارآمدترین روش برای نفوذ آنزیم به بخشهای عمقی است اما این روش نیز مشکلاتی همچون ایجاد آسیب های یافتی در اثر ورود سوزن و افزایش احتمال آلودگی و فساد باکتریایی را در پی دارد (Arshad et al. 2016).

آنزیم های درون زا

کالپاین*

کالپین ها سیستمین پروتئازهای وابسته به کلسیم هستند که بیشتر در پستانداران یافت می شوند. Calpain 1 (μ calpain) و Calpain 2 (m calpain) و Calpain 3 پروتئازهای اصلی کالپین ماهیچه های اسکلتی هستند. این سیستم کالپین همچنین

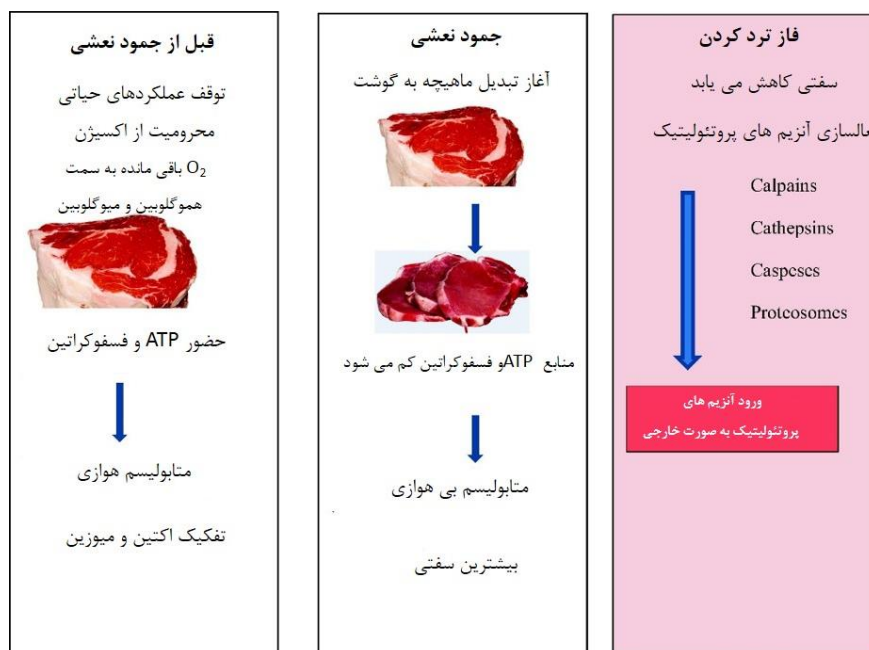
* Calpains

از یک مهارکننده کالپین ۱ و کالپین ۲ به نام کالپاستاتین تشکیل شده است. آنها به ترتیب با غلظت های میکرومولار (۱-۱۰۰) و میلی مولار (۰.۱-۱ میلی مولار) کلسیم فعال می شوند. غلظت کلسیم درون سلولی حداکثر ۱ میکرومتر یا کمتر است. بنابراین، همیشه به عنوان یک پروآنزیم وجود دارد تا زمانی که کلسیم کافی برای فعال سازی وجود داشته باشد. نرمی یکی از جنبه های ضروری کیفیت گوشت است. تخریب پروتئین های میوفیبریلار (تروپونین I، تروپونین I، تروپومیوزین، کانتین، پروتئین C و دسمین) منجر به ضعیف شدن میوفیبرها می شود. تخریب پروتئین های کلیدی میوفیبریلار ناشی از μ -کالپین، علت پروتئولیز پس از مرگ است و این منبع اولیه حساسیت عضلانی است. این را می توان با افزایش غلظت کلسیم یا با کاهش فعالیت کالپاستاتین) به دست آورد. تحریک الکتریکی (ES) همچنین می تواند منجر به افزایش جریان یون های کلسیم به داخل سیتوپلاسم شود و ممکن است منجر به فعال شدن μ -کالپین شود. کالپاستاتین ها کالپین ها را مهار می کنند و در نتیجه حساسیت را کاهش می دهند، اما پس از پختن کالپاستاتین غیرفعال می شود که منجر به افزایش حساسیت می شود.

کاتپسین

در طی فرآوری گوشت، یک سری واکنش های بیوشیمیایی رخ می دهد که عمدتاً توسط آنزیم ها کاتالیز می شوند. این واکنش ها شامل آنزیم هایی است که مسئول گلیکولیز پس از مرگ، پروتئولیز و لیپولیز هستند. کاهش pH به محتوای گلیکوژن بستگی دارد و به طور آنزیمی توسط آنزیم هایی مانند فسفوفروکتوکیناز کنترل می شود. آنزیم های پروتئولیتیک درگیر شامل اندوپپتیدازهای عضلانی اول هستند: کالپین ها (μ -calpain و m-calpain) و کاتپسین ها (B، H، L و D)، سیستم یوبیکوئیتین-پروتازوم و متعاقباً، اگزوپپتیدازها مانند دیپپتیدازها، آمینوپپتیدازها و کربوکسی که پلی پپتیدهای تولید شده توسط اندوپپتیدازها را به پپتیدها و اسیدهای آمینه آزاد تجزیه می کنند. علاوه بر تغییرات پروتئولیتیک، عمل لیپازها باعث واکنش های هیدرولیز تری گلیسیریدها و فسفولیپیدها می شود که به طعم و عطر مشخص گوشت کمک می کند (Morton et al. 2019).

درست پس از مرگ حیوان، فرآیندهای متوالی در تبدیل ماهیچه ها به گوشت در حال انجام است. تبدیل ماهیچه به گوشت که در یک جدول زمانی با فاکتورهای وزن بیان شده است در شکل ۴ نشان داده شده است. فرآیند تبدیل ماهیچه به گوشت در سه مرحله قبل از جمود نعشی، جمود نعشی و تردسازی نشان داده شده است (Chéret et al., 2007).



شکل ۴- نمودار شماتیک تبدیل ماهیچه به گوشت

اخیرا دو سیستم پروتئولیتیکی کالپاین و کاتپسین جهت هیدرولیز پروتئینهای میوفیبریلی در طی ذخیره سازی پس از جمود نعشی ماهیچه گوشت ماهی و گاو موثر شناخته شده اند و حتی به نقش تشدید کنندگی این دو سیستم در کنار یکدیگر اشاره شده است (Kaur et al., 2020)

کاتپسین* گروهی از آنزیمهای پروتئاز هستند که پروتئینها را تجزیه می کنند و در بسیاری از جانداران دیده می شوند. در زبان یونانی باستان kata به معنای نزول یا پائین و heptasein به معنای جوشاندن یا آبپز کردن است. این خانواده آنزیمی چندین عضو دارد که به واسطه ساختار، نحوه عملکرد و ماده هدف، از هم تمیز داده می شوند. بیشتر اعضای این خانواده در شرایط اسیدی (پی اچ پائین) که در لیزوزومها مهیاست، فعال می شوند و در نتیجه، فقط داخل این اندامکها (که چنین شرایط اسیدی دارند) فعالیت دارند. تنها استثنای این قاعده، کاتپسین K است که در فضای خارج سلولی به دنبال ترشح از استئوکلاستها فعالیت می کند. این خانواده آنزیمی نقش مهمی در عملکرد و تغییرات تحول سلولی ایفا می کنند (Santos et al., 2021).

* Cathepsin

کاتپسین یک آنزیم پروتئیناز موجود در لیزوزم است که دارای فعالیت بهینه در pH پایین است و در تعداد زیادی از بافتهای حیوانی و شیر گاوی وجود دارد. این آنزیم بصورت شکل غیر فعال یا زیموژن با عنوان پروکاتپسین است. پروکاتپسین از طریق مسیر اتوپروتئولیتیکی به پزودوکاتپسین تبدیل میشود. کاتپسین از دو زیر واحد غیر مشابه تشکیل شده است که در هر بخش با کلسیم پیوند دارند (Trevisi et al., 2022).

لیزوزیم حاوی ۱۳ نوع کاتپسین به عنوان پروتئاز اسیدی است. در بین این آنزیم ها نوع L, D, B و L like از اهمیت زیادی برخوردار است. از کاتپسین های دیگر می توان به A و C اشاره نمود.

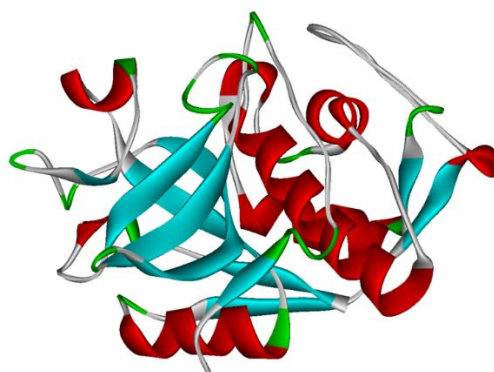
کاتپسین ها در نتیجه کاهش pH در سیتوپلاسم و پاره شدن لیزوزیم پس از مرگ حیوان آزاد می شوند. کاتپسین بر اساس نوع مکان فعال در آنزیم از نظر ماهیت اسیدهای آمینه هایی مانند اسید آسپارتیک، سیستئین، سرین و متالوپروتئاز تقسیم می شوند. متداول ترین سوسترا برای کاتپسین، هموگلوبین است. آنزیم کاتپسین بر روی پیوندهای پپتیدی تاثیر دارند که در زنجیره اشان اسیدهای آمینه غیر قطبی مانند لوسین تیروزین و فنیل آلانین وجود دارد. ترکیبات پنتاپپتیدی و پیستانین A از مهار کننده های فعالیت کانپسین D و پروتئینازهای اسیدی دیگری مانند پیسین و کیموزین است.

کاتپسین E آنزیمی با شماره آنزیمی (EC ۳.۴.۲۳.۵) است که مشابه کاتپسین D است اما برخلاف آنزیم کاتپسین D، آلبومین سرم را در pH معادل ۲/۵ هیدرولیز میکند. فعالیت کاتپسین E در بافت ماهیچه و لوکوسیت های حیوانات گوشتی گزارش شده است. مهار کننده آنزیم پیسین از فعالیت کاتپسین E جلوگیری می کند. اما در کاتپسین D این حالت دیده نمیشود.

کاتپسین B با شماره آنزیمی (EC ۳.۴.۲۲.۱) یک پروتئیناز سیستئینی است که عملکردی مانند کاتپسین L و H را دارد. این گروه از پروتئینازها بصورت متداول توسط عوامل احیا کننده ای مانند EDTA فعال شده و از طریق بدواستات و گلرومی بنزوات مهار میشوند. این پروتئینازها دارای اسید آمینه سیستئین در مکان فعالشان هستند که نیاز به احیا شدن آنها در راستای فعالیت آنزیم است. pH بهینه برای فعالیت این آنزیم ۴ تا ۷ است

کاتپسین L با شماره آنزیمی (EC ۳.۴.۲۲.۵) نیز از طریق ترکیب تیول فعال میشوند از ترکیبات مهار کننده این آنزیم لوپتین و یدواستات است.

کاتپسین H با شماره آنزیمی (EC ۳.۴.۲۲.۱۶) دارای فعالیت آمینو پپتیدازی مشابه اندو پیتیدار است (Fontanesi et al., 2010).



شکل ۳- ساختار آنزیم کاتیپسین K

نتیجه گیری

در حال حاضر صنایع گوشت نقش بسزایی در تامین تقاضای جهانی غذا دارند. فرآوری آنزیمی فرآوری گوشت هنوز در مراحل اولیه است و معرفی تکنیک های جدید در حال پیشرفت است. تکنیک فرآوری آنزیمی پتانسیل این را دارد که تکنیک های شیمیایی و مکانیکی بکار رفته در فرآوری گوشت را از بین ببرد. این به غلبه بر مشکلات زیست محیطی ناشی از تکنیک های فرآورده های شیمیایی و مکانیکی کمک می کند. پیشرفت های تکنولوژیکی توسعه آنزیم های نو ترکیب از میکروارگانیسم ها را برای کاربرد آنها در این صنایع امکان پذیر کرده است. با این حال، آنزیم های نو ترکیب هنوز در صنایع استفاده نمی شوند. بنابراین، آنزیم ها آینده امیدوارکننده ای برای کاربردها در فرآوری گوشت دارند. در حال حاضر، آنزیم های جدید نیز در نتیجه پیشرفت های تکنولوژیکی در حال توسعه هستند. آنزیم های نو ترکیب که از طریق پیشرفت های فنی در بیوتکنولوژی برای کاربردها در فرآوری محصولات گوشتی ایجاد می شوند، می توانند چشم انداز بسیار خوبی باشند.

References

- Akpan I, Omojola A. (2015). Quality attributes of crude papain injected beef. *Journal of Meat Science and Technology*. 3(4):42-46.
- Arshad MS, Kwon J-H, Imran M, Sohaib M, Aslam A, Nawaz I, Amjad Z, Khan U, Javed M. (2016). Plant and bacterial proteases: A key towards improving meat tenderization, a mini review. *Cogent Food & Agriculture*. 2(1):1261780.
- Barekat S, Soltanizadeh N. (2017). Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. *Innovative food science & emerging technologies*. 39:223-229.
- Bekhit, A. A., D. L. Hopkins, G. Geesink, A. A. Bekhit and P. Franks. 2014 Exogenous proteases for meat tenderization. *Critical reviews in food science and nutrition* 54(8): 1012-1031.
- Bhat ZF, Morton JD, Mason SL, Bekhit AEDA. (2018). Applied and emerging methods for meat tenderization: A comparative perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 17(4):841-859.
- Bhat, Z. F., J. D. Morton, S. L. Mason and A. E. D. A. Bekhit. 2018 Applied and emerging methods for meat tenderization: A comparative perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17(4): 841-859.
- Cao, C., Z. Xiao, H. Tong, X. Tao, D. Gu, Y. Wu, Z. Xu and C. Ge. 2021 Effect of ultrasound-assisted enzyme treatment on the quality of chicken breast meat. *Food and Bioprocess Technology* 125: 193-203.
- Cazarin C, Lima G, da Silva J, Marostica M. (2015). Enzymes in meat processing. *Enzymes in food and beverage processing CRC, Boca Raton*. 337-351.
- Cazarin, C., G. Lima, J. da Silva and M. Marostica. 2015 Enzymes in meat processing. *Enzymes in food and beverage processing. CRC, Boca Raton*: 337-351.
- Chéret R, Delbarre-Ladrat C, de Lamballerie-Anton M, Verrez-Bagnis V. (2007). Calpain and cathepsin activities in post mortem fish and meat muscles. *Food Chemistry*. 101(4):1474-1479.
- Dhital, S. and K. Vangnai. 2019 Meat tenderisation effect of protease from mango peel crude extract. *International Food Research Journal* 26(3): 991-998.
- Fernandes, P. 2016 Enzymes in fish and seafood processing. *Frontiers in bioengineering and biotechnology* 4: 59.
- Fernández-Lucas J, Castañeda D, Hormigo D. (2017). New trends for a classical enzyme: Papain, a biotechnological success story in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*. 68:91-101.
- Fontanesi L, Speroni C, Buttazzoni L, Scotti E, Costa LN, Davoli R, Russo V. (2010). Association between cathepsin I (ctsl) and cathepsin S (ctss) polymorphisms and meat production and carcass traits in Italian large white pigs. *Meat Science*. 85(2):331-338.
- Gagaoua M, Dib AL, Lakhdara N, Lamri M, Botineştean C, Lorenzo JM. (2021). Artificial meat tenderization using plant cysteine proteases. *Current Opinion in Food Science*. 38:177-188.

- Habtu E, Mekonnen B, Kiros H, Fesseha H, Getachew B. (2020). Meat tenderization of efficiency of papain, bromelain and zingiber officinale on old aged beef carcass of local zebu cattle. *Trends in Technical and Scientific Research*. 4(1):9-15.
- Ikram A, Ambreen S, Tahseen A, Azhar A, Tariq K, Liaqat T, Zahid MBB, Rahim MA, Khalid W, Nasir N. (2021). Meat tenderization through plant proteases: A mini review. *Int J Biosci*. 18(1):102-112.
- Kaur L, Hui SX, Boland M. (2020). Changes in cathepsin activity during low-temperature storage and sous vide processing of beef brisket. *Food science of animal resources*. 40(3):415.
- Lantto, R., K. Kruus, E. Puolanne, K. Honkapää, K. Roininen and J. Buchert. 2009 Enzymes in meat processing. *Enzymes in food technology*: 264-291.
- Madhusankha G, Thilakarathna R. (2021). Meat tenderization mechanism and the impact of plant exogenous proteases: A review. *Arabian Journal of Chemistry*. 14(2):102967.
- Morellon-Sterling, R., H. El-Siar, O. L. Tavano, Á. Berenguer-Murcia and R. Fernández-Lafuente. 2020 Ficin: A protease extract with relevance in biotechnology and biocatalysis. *International journal of biological macromolecules* 162: 394-404.
- Morton J, Bhat ZF, Bekhit A. (۲۰۱۹). Proteases and meat tenderization.
- Nahar, S., M. F. R. Mizan, A. J. w. Ha and S. D. Ha. 2018 Advances and future prospects of enzyme-based biofilm prevention approaches in the food industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17(6): 1484-1502.
- Nanda, R. F., R. Bahar, D. Syukri, N. N. A. Thu and A. Kasim. 2020 A review: Application of bromelain enzymes in animal food products. *Andalasian International Journal of Agriculture and Natural Sciences (AIJANS)* 1(01): 33-44.
- Nowak D. (2011). Enzymes in tenderization of meat-the system of calpains and other systems-a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 61(4).
- Padmapriya, B., T. Rajeswari, E. Noushida, D. G. Sethupalan and C. K. Venil. 2011 Production of lipase enzyme from *Lactobacillus* spp. and its application in the degradation of meat. *World Appl Sci J* 12(10): 1798-1802.
- Rastogi, H. and S. Bhatia. 2019. Future prospectives for enzyme technologies in the food industry. *Enzymes in food biotechnology*, Elsevier: 845-860.
- Santos MD, Matos G, Pinto CA, Carta AS, Lopes-da-Silva JA, Delgadillo I, Saraiva JA. (2021). Hyperbaric storage effect on enzyme activity and texture characteristics of raw meat. *Food Engineering Reviews*. 13(3):642-650.
- Sensky, P., T. Parr, R. Bardsley and P. Buttery (2001). Meat tenderisation—the role of calpains. *Proceedings of the British Society of Animal Science*, Cambridge University Press.
- Shi, H., F. Shahidi, J. Wang, Y. Huang, Y. Zou, W. Xu and D. Wang. 2021 Techniques for postmortem tenderisation in meat processing: effectiveness, application and possible mechanisms. *Food Production, Processing and Nutrition* 3(1): 1-26.
- Singh PK, Shrivastava N, Ojha B. 2019. Enzymes in the meat industry. *Enzymes in food biotechnology*. Elsevier. p. 111-128.
- Sunantha, K. and R. Saroat. 2011 Application of bromelain extract for muscle foods tenderization. *Food and Nutrition Sciences* 2011.
- Tantamacharik, T., A. Carne, D. Agyei, J. Birch and A. E.-D. A. Bekhit. 2018 Use of plant proteolytic enzymes for meat processing. *Biotechnological applications of plant proteolytic enzymes*: 43-67.

Toldrá, F. and M. Reig.2015. Enzymes in meat and fish. Improving and tailoring enzymes for food quality and functionality, Elsevier: 199-212 .

Trevisi P, Pantano A, Costa LN, Bosi P ,Luise D. (2022). Effect of dietary protein level and fasting length on enzymatic activity of cathepsin b in live muscle and in meat from heavy finishing pigs. Animal-Open Space. 1(1):100013.