مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۲ شماره ۳/ سال ۱۴۰۱/ صفحات ۹۳ تا ۱۱۰
DOI: 10.22034/FR.2022.43943.1783

تأثیر شیره بروکلی و سرکه بالزامیک بر تردی و پایداری اکسایشی استیک گوساله مارینادشده در طول دوره نگه‌داری

فاطمه میرحاج[۱]، هما بقایی*[۲]، بهاره عمادزاده[۳] و اشکال جبلی جوان[۴]

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۲/۲ تاریخ پذیرش: ۴۰۰/۱۰/۲۵

[۱] دانشجوی دکترای علوم و صنایع غذایی، گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران
[۲] استادیار 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
[۴] دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران
* مسئول مکاتبه: Email: H.baghaei@damghaniau.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: در سال‌های اخیر توجه ویژه بخش صنعت به استفاده از روش‌های غیرحرارتی و اقتصادی جهت نگه‌داری مواد غذایی و افزایش عمر ماندگاری آنها معطوف شده است. از جمله این روش‌ها می‌توان به کاربرد ضداکسایندهها و ترکیبات ضدمیکروبی با ماهیت طبیعی اشاره کرد. **هدف**: این ترکیبات نه تنها عوارض جانبی ایجاد شده بر سلامت مصرف کنندگان را که ناشی از مصرف نگه‌دارنده‌های شیمیایی در طولانی مدت است مرتفع می‌کنند، بلکه باعث بهبود ویژگی‌های بافتی و حسی ماده غذایی شده و زمان ماندگاری گوشت و فرآورده‌های آن را نیز افزایش می‌دهند. **روش کار**: اثر تیمارهای مختلف روی تردی و پایداری اکسایشی استیک‌های گوساله مارینادشده به مدت ٤٨ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد ارزیابی شد. **نتایج**: بر این اساس، ماریناسیون استیک گوساله با شیره بروکلی و سرکه بالزامیک منجر به کاهش pH و نیروی برشی وارنر-براتزلر و همچنین افزایش ظرفیت نگه‌داری آب، شاخص تجزیه میوفیبریل‌ها، حلالیت پروتئین‌های میوفیبریلی، اندیس پراکسید، شاخص اسید تیوباربیتوریک و عدد اسیدی نمونه‌های مورد بررسی در مقایسه با نمونه شاهد در طول ٤٨ ساعت نگه‌داری در یخچال شد ($P<0/05$). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بهترین ویژگی‌های کیفی و بافتی که منجر به تردی مورد پسند مصرف‌کنندگان شود با اعمال ۲/٦درصد شیره بروکلی به تنهایی و ۲/٦درصد شیره بروکلی+۱۰درصد سرکه بالزامیک قابل حصول می‌باشد. به گونه‌ای که در انتهای دوره نگه‌داری، حداقل نیروی برشی وارنر-براتزلر (۷۰/۸۸ نیوتن) و حداکثر حلالیت پروتئین‌های میوفیبریلی (۱۳٤/۳۰ میلی‌لیتر بر گرم) در تیمار ترکیبی مشاهده شد ($P<0/05$). **نتیجه‌گیری کلی**: از این رو، شیره بروکلی و سرکه بالزامیک می‌توانند به عنوان یک مارینادموثر در بهبود ویژگی‌های کیفی و بافتی استیک گوساله در مقیاس خانگی و صنعتی به کاررفته و از مزایای تغذیه‌ای آنها در پیشگیری از بروز بیماری‌های زمینه‌ای جلوگیری به عمل آید.

واژگان کلیدی: استیک گوساله، اکسایش، تردی، سرکه بالزامیک، شیره بروکلی

مقدمه

امروزه عصاره‌های گیاهی به عنوان منبع ضداکسایشی و ضدمیکروبی شناخته شده‌اند که علاوه بر به تعویق انداختن تغییرات شیمیایی، اکسایشی و میکروبی می‌توانند به عنوان یک عامل موثر در افزایش عمرماندگاری محصولات به شمار روند (محمودی و نصرت‌پور ۲۰۱۳؛ اکبرجعفری و همکاران ۲۰۱٤). علاوه بر محسنات ذکر شده، عصاره‌های گیاهی با داشتن طیف گسترده‌ای از پروتئازها که غالبا متعلق به خانواده سیستئین پروتئازها هستند، نقش مهمی در تجزیه و افزایش حلالیت پروتئین‌های میوفیبریلی (اکتین و میوزین) و استرومایی[1](کلاژن، الاستین و رتیکولین) ایفا کرده و به دنبال آن منجر به ایجاد اصلاحات ساختاری و بهبود تردی گوشت می‌شوند (مظاهری کلهرودی و همکاران ۱٤۰۰). پژوهش‌ها نشان دادند که پروتئازهای تهیه شده از منابع گیاهی در دامنه وسیع pH، دما، حلال‌های آلی و یون‌های فلزی پایدار بوده و قادر به فعالیت می‌باشند (مظاهری کلهرودی و همکاران ۱۳۹۸). به طور معمول در فاصله زمانی که بین ذبح دام و مصرف گوشت وجود دارد و اصطلاحا به آن رسانیدن[2]گفته می‌شود، برخی تغییرات بیوشیمیایی در ماهیچه‌ها رخ می‌دهد که منجر به تبدیل ماهیچه به گوشت و ایجاد تردی مورد پسند مصرف کنندگان می‌شود (بقایی و همکاران ۱۳۹۲). از طرف دیگر در طول دوره نگه‌داری گوشت در سرما ویژگی‌های ارگانولپتیکی، خواص عملکردی[3]و راندمان تولید نیز تحت تاثیر قرار می‌گیرند. اما در این حین، به علت شرایط محیطی ایجاد شده در طول دوره نگه‌داری، فعالیت میکروبی و اکسایش چربی‌ها می‌توانند منجر به فساد و کاهش عمر ماندگاری گوشت و فرآورده‌های گوشتی شوند. فساد اکسیداتیو با ایجاد بوی نامطبوع و تغییرات نامطلوب در طعم و ساختمان مواد مغذی، کاهش ارزش غذایی را به دنبال دارد (رستمانی و همکاران ۲۰۲۱). فساد میکروبی نیز با بروز مخاطرات جدی در سلامت غذایی مصرف کننده به ویژه بروز مسمومیت‌های غذایی و کاهش کیفیت مواد غذایی در ارتباط است. بدین منظور تلاش‌های فراوانی برای یافتن راهکارهایی جهت بهبود همه جانبه ویژگی‌های کیفی و حسی گوشت و فرآورده‌های آن در حال انجام است (مظاهری کلهرودی و همکاران ۲۰۲۱). مارینا‌سیون[4]یا مزه‌دار کردن که به افزودن مواد مایع شامل انواع سرکه، روغن‌ها، عصاره میوه‌ها و سبزیجات مختلف به گوشت، قبل از پخت آن اطلاق می‌شود منجر به پوشاندن طعم بد یا بهبود طعم گوشت شده و ماندگاری را نیز افزایش می‌دهد. از طرف دیگر مارینا‌سیون از مزایای دیگری همچون بهبود راندمان تولید فرآورده‌های گوشتی و به موازات آن بهبود ویژگی‌های تکنولوژیکی و عملکردی محصول نظیر ظرفیت نگه‌داری آب، ظرفیت امولسیون‌کنندگی و افزایش ویسکوزیته امولسیون برخوردار است که می‌تواند در کاهش دوره رسانیدن نیز موثر واقع شود (زاهدی ۱۳۹۸).

کلم بروکلی *(Brassica oleracea var. italica)* به لحاظ حضور ترکیب‌های ضدسرطانی و ضداکسایشی مانند سولفورفان[5] ایندول-۳-کاربینول[6] ویتامین C و غنی بودن از ویتامین K، آهن و پتاسیم از دسته سبزیجات مورد توجه مصرف کنندگان و محققان به شمار می‌رود. سیستئین پروتئازها و آسپارتیک پروتئازها از مهم‌ترین پروتئازهای موجود در کلم بروکلی می‌باشند (وانگ و همکاران ۲۰۰٤). سان و همکاران (۲۰۱٦) گزارش کردند که در شرایط اسیدی، وزن مولکولی پروتئازهای کلم بروکلی ٤٥ و ۷۰ کیلودالتون می‌باشد. همچنین در ادامه این پژوهش آنها اعلام کردند که

[1] Stromal Proteins
[2] Ageing
[3] Functional properties
[4] Marination
[5] Sulforaphane
[6] Indole-3-carbinol

بالاترین فعالیت پروتئازی در pHهای مختلف (۵/۵، ۷/۱۰، ۳)، به ترتیب به اکتینیدین در کیوی (U/g ۲۸/۸)، پروتئازهای موجود در کلم بروکلی (U/g ۱۶/۹) و زنجبیل (U/g ۱۶/۶) تعلق داشت. سرکه بالزامیک نیز دارای میزان بالایی کربوهیدرات نظیر گلوگز و فروکتوز و مقادیر قابل توجهی اسیداستیک و اسیدبنزوئیک، ترکیبات فلاونوئیدی بوده و علاوه بر بهبود عملکرد سیستم ایمنی بدن، برای بیماران قلبی نیز مفید است (ورزلونی و همکاران ۲۰۰۷). در پژوهش‌های مختلف به استفاده از عصاره‌های گیاهی حاوی پروتئازهایی با قابلیت هیدرولیزکنندگی کنترل شده مانند پاپائین، بروملین، اکتینیدین و زینجیباین (حسینی و همکاران ۱۳۹۲؛ هی و همکاران ۲۰۱۵؛ مقصود و همکاران ۲۰۱۸؛ دونوا و همکاران ۲۰۱۸)، آبغوره (سبزی و همکاران ۱۳۹۶)، اسید استیک (ایرجی‌فر و همکاران ۱۳۹۷)، سرکه بالزامیک (زچوسکا کوجاوسکا و همکاران ۲۰۱۷؛ مظاهری کلهرودی و همکاران ۲۰۲۰)، سویا سس (کیم و همکاران ۲۰۱۳) و محلول‌های قلیایی (حسینی و همکاران ۱۳۹۲، ناوینا و همکاران ۲۰۱۱) در بهبود ویژگی‌های ساختاری گوشت قرمز و انواع ماکیان اشاره شده است. علی‌رغم مطالعات متعدد، تاکنون پژوهشی در ارتباط با بررسی تغییرات شاخص‌های تردی و اکسایشی استیک گوساله مارینات شده با شیره بروکلی و سرکه بالزامیک انجام نگرفته است. از این رو، نویسندگان در این مقاله تلاش می‌کنند موضوعات مطروحه را از منظر تغییرات فیزیکوشیمیایی و بافتی مورد ارزیابی قرار دهند.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه: کلم بروکلی تازه (*Brassica oleracea var. italica*) و سرکه بالزامیک (۶ درصد استو بالزامیکو دی مدونا، ایتالیا، pH=۴/۰۱) از بازار محلی در مشهد تهیه شدند. همچنین کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش نیز با درجه خلوص تجزیه‌ای از شرکت‌های مرک و سیگما آلدریچ خریداری گردید.

استخراج شیره بروکلی: کلم بروکلی تازه پس از شستشو، توسط همزن اولتراتوراکس (IKA Ultra-Turrax T25, Germany) به مدت ۲ دقیقه همگن گردید. سپس مواد میکس شده، در درون پارچه توری سه لایه‌ای[1] به صورت فشرده قرار گرفت و شیره[2] آن استخراج گردید. شیره حاصل، به مدت ۵ دقیقه با سرعت g ×۱۶۰۰۰ سانتریفیوژ شده و مایع فوقانی حاصل از سانتریفیوژ[3] (pH=۶/۵۶، بازده استخراج: ۱۰/۵ درصد، فعالیت پروتئازی: U/g ۱۱۷) برای مارینات کردن استیک گوساله، درون شیشه تیره و درب‌دار در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد (ها و همکاران ۲۰۱۳).

آماده سازی نمونه‌های استیک گوساله: بیست و چهار ساعت پس از کشتار، استیک گوشت گوساله (*Top Round* beef steak) از درب کشتارگاه دریافت و در شرایط سرد به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس نمونه‌های استیک عاری از چربی در قطعات مکعبی به ابعاد ۱۰×۱۰×۱۰ سانتی‌متر مکعب به چهار گروه تقسیم شدند. تیمارهای مارینادی که بر اساس فعالیت پروتئازی بروکلی تازه (U/g ۱۲/۳) و فعالیت پروتئولیتیک شیره استخراج شده از بروکلی تازه که پیشتر به آن اشاره شد انتخاب شده بودند، به شرح ذیل در دو تکرار توسط سرنگ‌های ۲۰ میلی‌لیتر به قسمت‌های سطحی و عمقی قطعات گوشت تزریق گردید (ایستراتی و همکاران ۲۰۱۲).

تیمار کنترل: استیک گوشت گوساله که مارینات نشده است (نمونه شاهد)

تیمار A: ۲/۶ گرم شیره بروکلی که به ۱۰۰ گرم استیک گوشت گوساله تزریق شد.

[1] Cheesecloth
[2] Juice
[3] Supernatant

تیمار B: ۱۰ میلی‌لیتر سرکه بالزامیک که به ۱۰۰ گرم استیک گوشت گوساله تزریق شد.

تیمار C: ۲/٦ گرم شیره بروکلی که با ۱۰ میلی‌لیتر سرکه بالزامیک رقیق شد و به ۱۰۰ گرم استیک گوشت گوساله تزریق شد. در انتها جهت توزیع یکنواخت محلول‌های مورد نظر در بافت، نمونه‌ها به صورت ملایم با دست ماساژ داده شده و پس از انتقال به درون کیسه‌های زیپ‌دار پلی‌اتیلنی به مدت ٤٨ ساعت در یخچال نگه‌داری شدند. سپس جهت بررسی تاثیر نوع مارینا‌د، دوره نگه‌داری و اثر متقابل آنها، پارامترهای طراحی شده در زمان‌های معین مورد ارزیابی قرار گرفتند (تاسائی و همکاران ۲۰۱۲).

اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

تعیین pH: ۵ گرم نمونه گوشت همراه با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ٦۰ ثانیه در هموژنایزر (IKA Ultra-Turrax T25, Germany) مخلوط شد. سپس pH گوشت با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتالی (Model Inolab WTW, L2, Germany) ارزیابی شد (کیم و همکاران ۲۰۱۳).

ظرفیت نگه‌داری آب(WHC)[1]: مقدار ۰/۳ گرم نمونه به روی کاغذ صافی واتمن شماره یک منتقل و دو صفحه پلاستیکی در هر دو طرف آن قرار داده شد. وزنه ۲ کیلوگرمی به مدت ۵ دقیقه در مرکز صفحه پلاستیکی بالایی قرار گرفت. درصد WHC از رابطه [۱] که در آن W_1 وزن اولیه گوشت برحسب گرم، W_2 وزن نهایی گوشت برحسب گرم وMC مقدار رطوبت هر گرم از گوشت است، محاسبه شد (سلطانا و همکاران ۲۰۰۸).

رابطه[۱]

$$WHC\ (\%) = ۱-[(W_۱- W_۲) \div (W_۱ \times MC)] \times ۱۰۰$$

ارزیابی شاخص‌های تردی

نیروی برشی وارنر-براتزلر(WBSF)[2]: در این پژوهش، اندازه‌گیری مقدار نیروی برشی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه بافت سنج (TA.XT Plus Texture Analayser, Jepan) صورت گرفت. برای این منظور، قطعات گوشت ۵۰ گرمی در بن‌ماری با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن دمای مرکز گوشت به ۷۵ درجه سانتی‌گراد پخته شدند. با استفاده از قالب مناسب، قطعات گوشت به موازات تارهای عضلانی و به ابعاد ۲×۲ سانتی‌متر برش زده شدند. سپس مقاومت بافت‌های مذکور در برابر برش، از طریق سنجش نیروی برشی وارنر- براتزلر و توسط تیغه V شکل دستگاه بافت سنج که با سرعت ۲۰۰ میلی‌متر بر دقیقه عمل می‌کند، سنجیده شد (لورنس و همکاران ۲۰۰۳).

شاخص تجزیه میوفیبریل‌ها(MFI)[3]: ٤ گرم نمونه با ٤۰ میلی‌لیتر محلول بافر MFI (حاوی کلریدپتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار، فسفات پتاسیم ۲۰ میلی‌مولار (pH=۷) ، EDTA[4] ۱ میلی‌مولار، کلریدمنیزیم ۱ میلی‌مولار و آزیدسدیم ۱ میلی‌مولار) در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد ترکیب و پس از هموژن کردن توسط اولتراتوراکس با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه، سانتریفیوژ شد. ٤۰ میلی‌لیتر بافر MFI به رسوب باقی‌مانده از سانتریفیوژ اضافه و پس از ورتکس، مجدد با شرایط قبلی سانتریفیوژ گردید. رسوب حاصل از این مرحله با ۱۰ میلی‌لیتر بافر MFI مخلوط و پس از ورتکس از توری با مش ۱۸ عبور داده شد (۱۰ میلی‌لیتر دیگر بافر MFI برای شستشوی باقی‌مانده رسوب پشت صافی اضافه شد). پس از تعیین غلظت پروتئین محلول زیر صافی از طریق روش بیورت، ۰/۲۵ میلی‌لیتر از محلول پروتئینی زیر صافی با ۰/۷۵ میلی‌لیتر بافر MFI و ٤ میلی‌لیتر معرف بیورت (۱/۵ گرم سولفات مس پنج آبه و ٦ گرم تارتارات مضاعف سدیم پتاسیم در حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید، سپس ۳۰۰ میلی‌لیتر سود ۱۰ درصد اضافه و به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد) مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در محل

[1] Water Holding Capacity
[2] Warner-Bratzler Shear Force
[3] Myofibrillar Fragmentation Index
[4] Ethylenediaminetetraacetic acid

تاریکی در دمای اتاق قرار گرفت. سپس جذب نمونه‌ها با طیف‌سنج نوری (CECIL UV-VIS Spectophotometer, UK) در طول موج ۵٤۰ نانومتر قرائت و در نهایت مقدار MFI با استفاده از رابطه [۲] به‌دست آمد (هی و همکاران ۲۰۱۵). رابطه [۲] $MFI = A_{٥٤٠} \times ۲۰۰$

حلالیت پروتئین‌های میوفیبریلی(MPS)[1]: ابتدا جهت اندازه‌گیری حلالیت پروتئین‌های سارکوپلاسمی[2]، ۲ گرم نمونه گوشت با ۲۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۲۵ مولار (pH=۷) توسط هموژنایزر (IKA Ultra-Turrax T25, Germany) مخلوط شد. مخلوط حاصل طی ۲٤ ساعت، در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت در ۶۰۰۰×g سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت حاصله با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر گردید. غلظت پروتئین مایع شفاف زیر صافی به روش بیورت برحسب میلی‌لیتر بر گرم تعیین شد. در مرحله بعد، جهت تعیین حلالیت پروتئین کل[3]، ۲ گرم نمونه گوشت با ۲۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (pH=۷) و یدید پتاسیم ۱/۱ مولار توسط هموژنایزر مخلوط شد. مخلوط حاصل طی ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰×g سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت حاصله با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر گردید. غلظت پروتئین مایع شفاف زیرصافی به روش بیورت برحسب میلی‌لیتر بر گرم تعیین شد. در انتها، میزان حلالیت پروتئین‌های میوفیبریلی طبق رابطه [۳] برحسب میلی‌لیتر بر گرم بدست آمد (هی و همکاران ۲۰۱۵). رابطه[۳] حلالیت پروتئین‌های سارکوپلاسمی- حلالیت پروتئین کل=حلالیت پروتئین‌های میوفیبریلی

بررسی پارامترهای اکسیداسیونی

اندیس پراکسید[4](PV): پس از استخراج روغن نمونه مورد بررسی، روغن استخراجی در ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط اسیداستیک-کلروفرم به نسبت ۳: ۲ (حجمی- حجمی) حل شد. سپس به مخلوط حاصل، ۰/۵ میلی‌لیتر یدور پتاسیم اشباع اضافه گردید و به شدت تکان داده شد. پس از افزودن ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و اختلاط کامل، مخلوط با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا ظهور رنگ زرد روشن تیتر شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر معرف نشاسته ۱ درصد به مخلوط اضافه شد و رنگ مخلوط به آبی تیره تبدیل شد و عمل تیتراسیون تا حذف رنگ آبی و ظهور رنگ روشن ادامه داده شد. اندیس پراکسید نمونه‌ها بر حسب میلی‌اکی والان اکسیژن در کیلوگرم نمونه محاسبه شد (مسلمی و همکاران ۱۳۸۹).

شاخص اسید تیوباربیتوریک[5](TBA): ۱۰ گرم نمونه با ۵۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس مخلوط حاصل با ٤۷/۵ میلی لیتر آب مقطر به ارلن‌های تقطیر انتقال داده شد. ۲/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ٤ نرمال به همراه مواد ضد کف و ضد جوش به مخلوط اضافه و ارلن مایر به دستگاه تقطیر وصل شد. مخلوط حرارت داده شد و ۵۰ میلی‌لیتر از ماده تقطیر شده پس از زمان جوش از مخلوط جمع آوری شد. ۵ میلی‌لیتر از ماده تقطیر شده و ۵ میلی‌لیتر معرف TBA به لوله‌های درب‌دار منتقل و پس از تکان دادن کامل به مدت ۳۵ دقیقه در آب جوش قرار داده شدند. نمونه‌ها پس از اینکه ۳۵ دقیقه در حرارت جوش قرار داشتند به مدت ۱۰ دقیقه سرد شده و دانسیته نوری آنها در سل‌های ۱ سانتی‌متری در مقابل شاهد در طول موج ۵۳۸ نانومتر خوانده شد. عدد اسید تیوباربیتوریک بر حسب میلی‌گرم مالون دی آلدئید[6] در کیلوگرم نمونه توسط رابطه [٤]

[1] Myofirillar Protein Solubility
[2] Sarcoplasmic Protein Solubility
[3] Total Protein Solubility
[4] Peroxide Value
[5] Thiobarbituric acid
[6] Malondialdehyde

تعیین شد (مسلمی و همکاران ۱۳۸۹). رابطه [٤] ۷/۸ × دانسیته نوری = اسید تیوباربیتوریک

عدد اسیدی (AV)[1]: پس از استخراج روغن نمونه‌های مورد بررسی، ۲۵ میلی‌لیتر الکل خنثی را به ۵ گرم نمونه مورد بررسی افزوده و اسیدهای چرب آزاد آن را با محلول پتاس ۰/۱ نرمال در حضور ۲-۳ قطره معرف فنل فتالئین تیتر شد تا رنگ صورتی ایجاد شد. به کمک رابطه [٥] عدد اسیدی بر حسب میلی‌گرم پتاس در گرم نمونه تعیین شد. V حجم پتاس مصرفی و W وزن نمونه مصرفی است (مسلمی و همکاران ۱۳۸۹).

رابطه [٥] عدد اسیدی =[V × ۰/۰۲۸۲ × ۱۰۰] ÷ W

تجزیه و تحلیل آماریپس از بررسی وجود پیش فرض‌های لازم، تحلیل داده‌های کمی به روش آنالیز واریانس یک طرفه[2] و اندازه‌گیری مکرر[3] و سپس مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن[4] و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ در سه تکرار انجام شد. سطح اطمینان ۹۵ درصد نیز به لحاظ آماری مبنای قضاوت قرار گرفت. ترسیم نمودارها نیز توسط نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

بررسی نقش ماریناسیون استیک گوساله بر ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی آن در طی دوره نگه‌داری

میانگین pH نمونه‌های مختلف استیک گوساله در طول دوره ترد شدن در جدول ۱ درج شده است. نتایج تحلیل واریانس نشان داد اثر نوع مارینا‌د، زمان ترد شدن و اثر متقابل آنها بر میانگین pH معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). میانگین تغییرات pH در همه نمونه‌های مورد بررسی در بازه زمانی ۱ الی۲٤ ساعت پس از تیمارگذاری، نزولی بود (P<۰/۰۵)، در حالی که با افزایش دوره نگه‌داری این روند معکوس شد (P<۰/۰۵، ٤٨-۲٤ ساعت). بیشترین و کمترین میانگین pH در طول دوره ترد شدن، به ترتیب به نمونه‌های A (٦/۳۲) و B (٤/۳۸) تعلق داشت. لازم به ذکر است که نگه‌داری یخچالی تیمارهای مختلف به مدت ۱ و ۳ ساعت نیز نتوانست تفاوت آماری قابل توجهی در میزان pH ایجاد کند (P>۰/۰۵، ۳-۱ ساعت). عوامل فیزیولوژیکی مانند ذخایر گلیکوژنی، سرعت کاهش pH پس از کشتار و همچنین عوامل حین کشتار و شرایط فرآوری و رسانیدن نیز از جمله عوامل موثر بر pH گوشت می‌باشند (بقایی و همکاران ۱۳۹۲). علاوه بر مواردی که پیشتر به آنها اشاره شد، تغییرات pH نمونه‌های مارینادی می‌تواند تحت تاثیر pH اصلی ترکیبات تشکیل دهنده مارینا‌د از جمله شیره بروکلی و سرکه بالزامیک نیز باشد. از طرف دیگر حضور آنزیم‌های پروتئازی در شیره بروکلی می‌تواند از طریق تغییر یا تجزیه ساختار پروتئین‌های عضلانی سبب تغییر pH شوند. ایرجی‌فر و همکاران (۱۳۹۷) گزارش کردند که که نفوذ محلول اسیداستیک به داخل بافت گوشت شتر از طریق انتشار طی زمان، سبب افزایش حلالیت کلاژن و کاهش قابل ملاحظه نیروی برشی و pH نمونه‌ها شد.

سیر صعودی تغییرات WHC در طول دوره ٤٨ ساعته در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به جدول ۱، WHC به طور شایان توجهی تحت تاثیر نوع مارینا‌د، زمان ترد شدن و اثر متقابل آنها قرار گرفت (P<۰/۰۵). بالاترین میانگین WHC در نمونه‌های A (٤۱/٥۹ درصد) و C (۳۹/۹۰ درصد) مشاهده شد (P<۰/۰۵، ٤٨ ساعت). در حالی که در زمان مشابه، نمونه B (۳۷/۳۹ درصد) پایین‌ترین میانگین WHC را نسبت به نمونه شاهد و سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). در پژوهش‌های مختلف به افزایش ظرفیت نگه‌داری آب نمونه‌های تیمار شده با پروتئازهای گیاهی (گوکوگلو و همکاران ۲۰۱٦؛ دونوا و همکاران ۲۰۱۸) و محلول‌های اسیدی و قلیایی (فرشته سبزی و همکاران ۱۳۹٦؛ ناوینا و همکاران ۲۰۱۱) اشاره

[1] Acidic Value
[2] One-way analysis of variance
[3] Repeated measures
[4] Duncan

شده است. در حالی که برخی محققان به کاهش این ویژگی در گوشت گوساله تیمار شده با سویاسس (کیم و همکاران ۲۰۱۳)، گوشت شتر ترد شده با برومیلین، فیسین و پاپائین (مقصود و همکاران ۲۰۱۸) و گوشت مرغ مارینات شده با شیره آناناس (کادیاوگلو و همکاران ۲۰۱۹) اشاره کردند. با افزایش پروتئولیز پروتئین‌های سیتواسکلتی مسئول جذب آب یعنی اکتین و میوزین در حضور پروتئازها و یا دناتوراسیون پروتئین‌ها تحت شرایط اسیدی ایجاد شده به واسطه گلیکولیز و یا تیمارهای اعمال شده در پژوهش، قابلیت اتصال واحدهای کربوکسیل اسیدهای آمینه به مولکول‌های آب کاهش یافته و به دنبال آن توانایی پروتئین‌ها جهت حفظ و نگه‌داری آب خود گوشت و یا آب جذب شده در طی مزه‌دار شدن کاهش می‌یابد. این تغییرات منجر به خروج آب به صورت خونابه و یا حین پخت می‌شوند. از طرف دیگر افزایش ظرفیت نگه‌داری آب می‌تواند به آب آزاد موجود در لوله‌های موئین که از طریق جذب مارینات بدام افتادند نیز در ارتباط باشد (مظاهری کلهرودی و همکاران ۲۰۲۰).

جدول۱- اثر مارینات استیک گوساله با شیره بروکلی و سرکه بالزامیک بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی طی دوره نگه‌داری

Table 1- Influence of marinating with broccoli juice and balsamic vinegar on physicochemical properties of beefsteak cuts during storage

Parameter	Treatment	Storage (h)			
		1	3	24	48
pH	Control	$5.76\pm0.07^{A,b}$	$5.67\pm0.07^{A,bc}$	$5.59\pm0.03^{A,c}$	$5.88\pm0.08^{B,a}$
	A	$5.74\pm0.04^{A,b}$	$5.70\pm0.02^{A,b}$	$5.58\pm0.07^{A,c}$	$6.32\pm0.07^{A,a}$
	B	$4.52\pm0.05^{C,b}$	$4.50\pm0.09^{C,b}$	$4.47\pm0.1^{C,b}$	$4.83\pm0.08^{D,a}$
	C	$4.80\pm0.05^{B,c}$	$4.72\pm0.04^{B,bc}$	$4.64\pm0.05^{B,b}$	$5.06\pm0.08^{C,a}$
WHC (%)	Control	$32.41\pm0.32^{A,d}$	$33.87\pm0.14^{A,c}$	$34.50\pm0.73^{C,b}$	$38.48\pm0.25^{C,a}$
	A	$32.13\pm0.23^{A,d}$	$33.41\pm0.13^{A,c}$	$37.14\pm0.35^{A,b}$	$41.59\pm0.28^{A,a}$
	B	$32.24\pm0.09^{A,cd}$	$32.69\pm0.48^{B,c}$	$34.12\pm0.16^{C,b}$	$37.39\pm0.54^{D,a}$
	C	$32.47\pm0.25^{A,cd}$	$32.88\pm0.13^{B,c}$	$35.56\pm0.44^{B,b}$	$39.90\pm0.10^{B,a}$

Values are represented as mean ± standard deviation. A-D different letters within marinade variant and a-d different letters within the storage time indicate statistically significant differences at 95% confidence level ($P<0.05$).

بررسی نقش مارینا‌سیون استیک گوساله بر شاخص‌های تردی آن در طی دوره نگه‌داری

نتایج WBSF، MFI و MPS به ترتیب در جدول ۲ آمده است. اثر نوع مارینات، زمان و اثر متقابل آنها بر نیروی لازم جهت برش نمونه‌ها معنی‌دار ارزیابی شد ($P<۰/۰۵$، جدول ۲). با افزایش طول دوره نگه‌داری، میزان نیروی صرف شده جهت رسیدن به نقطه تسلیم و برش تکه‌های استیک گوساله پخته در همه نمونه‌های مارینادی در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یافت به طوری که در طول دوره رسیدن، کمترین میانگینWBSF به ترتیب در نمونه‌های C که حاوی شیره بروکلی+سرکه بالزامیک (۷۰/۸۸ نیوتن) و نمونه A که حاوی شیره بروکلی به تنهایی (۸۱/۳۷ نیوتن) بود گزارش شد. به طوری که در روز دوم نگه‌داری اختلاف قابل توجهی بین میانگین WBSF اعلام شده در این دو تیمار، در سطح آزمون مشاهده شد ($P<۰/۰۵$، ٤٨ ساعت). علت این موضوع را می‌توان به فعالیت سیستئین پروتئازها و آسپارتیک پروتئازهای شیره بروکلی مربوط دانست (سان و همکاران ۲۰۱٦). از آنجا که این پروتئازها بر پروتئین‌های ساختاری بخصوص اکتین و میوزین که در انقباض میوفیبریل‌ها نقش دارند موثر بوده و از طرف دیگر با تخریب پیوندهای هیدروژنی فیبرهای کلاژن و در نتیجه متورم شدن بافت پیوندی از جمله کلاژن در ارتباط هستند (ناوینا و همکاران ۲۰۱۱)، لذا ارتباط بین کاهش نیروی لازم جهت برش با شدت و سرعت تردشدن نمونه‌های گوشت

حاوی شیره بروکلی و سرکه بالزامیک قابل انتظار بود. از طرف دیگر با توجه به این که آنزیم‌های تردکننده شیره بروکلی تحت شرایط اسیدی عملکرد بهتری داشته (سان و همکاران ۲۰۱٦) و با حداکثر فعالیت پروتئازی بر بافت هدف تاثیر می‌گذارند، افزودن سرکه بالزامیک به عنوان کاهش‌دهنده pH محیط می‌تواند شرایط بهینه جهت رهاشدن و به دنبال آن فعالیت آنزیم‌های لیزوزومی به ویژه کاتپسین‌های نوع D و L را علاوه بر فعالیت پروتئازهای شیره بروکلی فراهم کند. از این رو افزودن سرکه بالزامیک می‌تواند منجر به ایجاد اثر سینرژیستی در عملکرد شیره بروکلی و بهبود ویژگی‌های کیفی گوشت شود. این نتایج با نتایج گزارش شده توسط گومز و همکاران (۲۰۱۹) که از شرایط دمایی و زمانی مختلف جهت پخت گوشت گوساله استفاده کردند مشابهت داشت. این پژوهشگران از سس تریاکی تهیه شده از ترکیب سویاسس، سرکه سیب و پودر سیر جهت مارینات استفاده کردند. یافته‌ها بیان‌گر کاهش ۵۰ درصدی نیروی برشی در نمونه‌های مارینات شده بود. همچنین دایتال و وانگانی (۲۰۱۹) نیز به کاهش ۳۵ درصد نیروی برشی در نمونه‌های گوشت گوساله مارینات شده با عصاره پوست انبه در مقایسه با نمونه مارینات نشده اشاره کردند. تفکیک و از هم گسیختگی تارهای عضلانی تحت تاثیر سرین پروتئازهای عصاره پوست انبه علت این پدیده ذکر شد. MFI نشان دهنده تعداد قطعات تارهای عضلانی موجود سارکوپلاسم[1]سلول‌های عضلانی بوده و به عنوان یکی از بهترین روش‌های پیش بینی شدت پروتئولیز گوشت خام در طول دوره رسیدن محسوب می‌شود (کیم و همکاران ۲۰۱۳). هر چند که در ارزیابی این پارامتر، عوامل مختلفی نظیر سن، جنس، گونه، نژاد دام، نسبت آنزیم به بازدارنده‌های پپتیدازی، سرعت گلیکولیز[2]پس از کشتار و همچنین شرایط فرآیند آماده سازی و نگه‌داری نمونه‌ها نیز از اهمیت بسزایی برخوردار است (سلطانی زاده و همکاران ۲۰۰۸). جدول ۲ نشان دهنده روند تغییرات MFI در طول ٤٨ ساعت است. MFI در تیمارهای مختلف مورد بررسی در طول دوره نگه‌داری، به طور قابل توجهی تحت تاثیر نوع مارینات، زمان و اثر متقابل آنها قرار گرفت (P<۰/۰۵، ٤٨-۱ ساعت). همان‌طور که در جدول ۲ ملاحظه می‌گردد، ظرف ۲٤ ساعت اولیه دوره نگه‌داری، میانگین این شاخص در کلیه تیمارهای مارینادی روند صعودی داشت و پس از آن نیز تا روز دوم شاهد افزایش قابل توجه قطعات تارهای عضلانی در سارکوپلاسم هستیم (P<۰/۰۵). این روند افزایشی به خصوص در نمونه‌های حاوی شیره بروکلی+سرکه بالزامیک (C) و شیره بروکلی به تنهایی (A) با شدت بیشتری همراه بود. السوند زرسوند و همکاران (۲۰۱۲) در ارزیابی تردی گوشت گاو اندازه‌گیری تغییرات MFI را از آن جهت سودمند دانستند که نه تنها نشان دهنده شکست میوفیبریل‌ها در ناحیه باند I و از بین رفتن اتصالات میوفیبریلی بوده، بلکه کارایی سیستم پروتئازی را نیز نمایش می‌دهد. یافته‌های گزارش شده در این پژوهش با نتایج گزارش شده توسط کیم و همکاران (۲۰۱۳)، سبزی و همکاران (۱۳۹٦) و همچنین هی و همکاران (۲۰۱۵) که به ترتیب از سویا سس، آبغوره و عصاره زنجبیل جهت ایجاد تردی در گوشت گاو و سینه مرغ استفاده کردند مطابقت داشتند. این محققان اذعان داشتند که با توجه به غلظت عصاره و محلول‌های مارینادی بکار رفته، میزان و سرعت تشکیل پپتیدهای سبک وزن در طول دوره رسیدن متفاوت بود. با این وجود روند تغییرات این شاخص در همه نمونه‌های تیمار شده در مقایسه با نمونه شاهد صعودی بود.

بر اساس نتایج گزارش شده در جدول ۲، MPS در تیمارهای مختلف مارینادی در مقایسه با نمونه شاهد به طور قابل توجهی در سراسر دوره نگه‌داری بالاتر ارزیابی شد (P<۰/۰۵، ٤٨-۱ ساعت). این بدین معنا بود

[1] Sarcoplasm
[2] Glycolysis rate

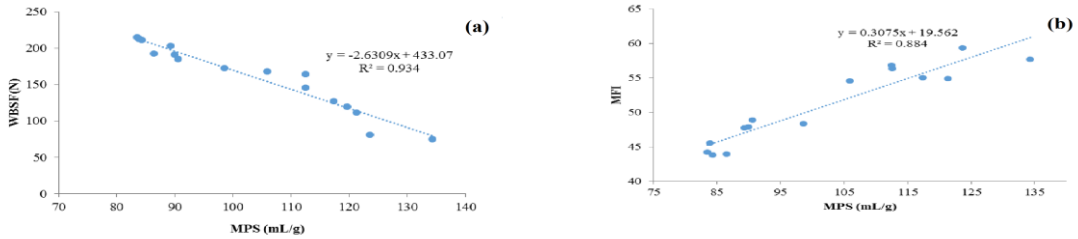
که ظرف ۳ ساعت اول، تفاوت محسوسی بین نمونه شاهد (۸۹/۳۱ میلی‌لیتر بر گرم) و دو تیمار A (۹۰/۵۷ میلی‌لیتر بر گرم) و B (۸۹/۹۵ میلی‌لیتر بر گرم) وجود نداشت (P>۰/۰۵)، اما با ادامه دوره نگه‌داری اختلاف شایان توجهی بین این دو تیمار و نمونه شاهد ملاحظه شد (P<۰/۰۵، ۴۸-۳ ساعت). بالاترین میزان MPS نیز در تیمار C (۱۳۴/۳۰ میلی‌لیتر بر گرم) گزارش شد که در کل دوره نگه‌داری تفاوت معنی‌دار خود را با سایر تیمارها حفظ کرد (P<۰/۰۵، ۴۸ -۱ ساعت). مظاهری کلهرودی و همکاران (۲۰۲۰) اعلام کردند که کاهش ضخامت باندهای پروتئینی و افزایش تعداد پروتئین‌های سبک وزن در محدوده ۲۵-۱۱ کیلودالتون در استیک گوساله مارینات شده با شیره مارچوبه و سرکه بالزامیک با تخریب وسیع پروتئین‌های میوفیبریلی به خصوص زنجیره سنگین میوزین[1] و دسمین[2] در طول دوره رسیدن همراه بود. در ادامه آنها افزایش حلالیت کل پروتئین‌ها شامل مجموع حلالیت پروتئین‌های محلول در آب و نمک را نیز به افزایش نفوذپذیری غشاء سلول تحت شرایط آنزیمی/اسیدی اعمال شده در پژوهش و به دنبال آن افزایش تعداد پروتئین‌های سبک وزن نسبت دادند. مقصود و همکاران (۲۰۱۸) نیز به وجود ارتباط مستقیم بین حلالیت کل پروتئین‌ها با حلالیت پروتئین‌های محلول در آب و نمک اشاره کردند. آنها میزان حلالیت پروتئین‌های محلول در آب را به عنوان شاخصی غیرمستقیم جهت ارزیابی شدت تردی گوشت شتر معرفی کردند اما همچنان به نقش کلیدی حلالیت پروتئین‌های محلول در نمک در ایجاد تردی مطلوب پافشاری داشتند که با نتایج ارائه شده در این پژوهش هم‌راستا بود. ارتباط بین WBSF و MPS (a) و همچنین MFI و MPS (b) استیک گوساله مارینات شده با شیره بروکلی و سرکه بالزامیک در شکل ۱ نمایش داده شده است. افزایش معنی‌دار MPS همراه با کاهش WBSF (R^2=۰/۹۳) و به موازات آن افزایش MFI (R^2=۰/۸۸) تیمارهای مارینادی در مقایسه با نمونه شاهد که بخوبی در ضریب همبستگی آنها منعکس شده است، حاکی از وجود ارتباط قابل توجهی بین این سه پارامتر می‌باشد (شکل ۱). با توجه به R^2 بدست آمده در این پژوهش، رابطه بین پارامترهای MPS، MFI وWBSF نمونه‌های مارینات شده با شیره بروکلی و سرکه بالزامیک، مؤید پروتئولیز بیشتر پروتئین‌های میوفیبریلی از جمله زنجیره سنگین میوزین، تیتین، پروتئین‌هایC و M، تروپومیوزین و تروپونین‌های I و T به واحدهای کوچکتر در صفحات Z و اطراف آن بود (مظاهری کلهرودی و همکاران ۱۴۰۰). در واقع این تکه‌های میوفیبریلی سبک وزن و محلول، تحت تاثیر فعالیت هیدرولازی شیره بروکلی که طی فرآیند ماریناسیون به گوشت تزریق شد و همچنین پروتئازهای طبیعی گوشت (شامل کالپائین‌ها و کاتپسین‌ها) تشکیل گردیدند. در اثر این تغییرات بیوشیمیایی، تعداد واحدهای سارکومری در سلول عضلانی کاهش یافت به طوری که افزایش MFI و MPS و کاهش WBSF در طی دوره رسیدن قابل انتظار بود (هی و همکاران ۲۰۱۵). این نتایج با یافته‌های اعلام شده توسط راجاگوپال و همکاران (۲۰۱۴) همخوانی داشت. آنها به وجود همبستگی بالا بین فاکتورهای متداول ارزیابی تردی نظیر MFI وWBSF در مقایسه با سایر روش‌ها از جمله ارزیابی حسی اشاره کردند. به همین جهت این پژوهشگران، اندازه‌گیری دو پارامتر ذکر شده را برای بررسی سریع میزان تردی گوشت بوفالو جهت عرضه در مقیاس خرده فروشی و همچنین تولید فرآورده‌های گوشتی با ویژگی‌های عملکردی بهتر پیشنهاد کردند.

[1] Myosin heavy chain
[2] Desmin

جدول۲- اثر مارینادِ استیک گوساله با شیره بروکلی و سرکه بالزامیک بر WBSF، MFI و MPS طی دوره نگه‌داری

Table 2- Influence of marinating with broccoli juice and balsamic vinegar on WBSF, MFI and MPS of beefsteak cuts during storage

Parameter	Treatment	Storage (h)			
		1	3	24	48
WBSF (N)	Control	215.22±20.14^{A,a}	203.51±19.76^{A,b}	168.23±16.09^{A,c}	124.62±11.25^{A,d}
	A	211.18±18.33^{A,a}	185.27±18.09^{C,b}	127.46±11.58^{C,c}	81.37±7.43^{C,d}
	B	212.9±19.28^{A,a}	191.60±18.89^{B,b}	145.93±13.22^{B,c}	90.31±8.15^{B,d}
	C	208.8± 20.04^{A,a}	172.58±17.02^{D,b}	111.77±10.87^{D,c}	70.88±6.54^{D,d}
MFI	Control	43.19±3.78^{C,d}	47.34±3.92^{C,c}	53.57±5.33^{D,b}	56.37±5.50^{D,a}
	A	44.82±3.84^{B,d}	49.86±4.34^{A,c}	55.04±4.98^{B,b}	60.38±6.14^{B,a}
	B	43.97±4.46B^{C,d}	47.75±4.42^{C,c}	54.86±5.00^{C,b}	58.71±5.72^{C,a}
	C	45.55±4.25^{A,d}	48.91±4.40^{B,c}	56.80±5.40^{A,b}	64.33±6.23^{A,a}
MPS (mL/g)	Control	83.50±8.00^{C,d}	89.31±8.02^{B,c}	102.89±9.48^{D,b}	110.53±10.38^{D,a}
	A	84.28±8.05^{B,d}	90.57±8.93^{B,c}	117.33±10.76^{B,b}	123.58±11.24^{B,a}
	B	83.83±8.02^{C,d}	89.95±8.09^{B,c}	110.45±10.27^{C,b}	119.60±11.00^{C,a}
	C	85.44±8.03^{A,d}	98.56±8.93^{A,c}	125.32±11.69^{A,b}	134.30±12.28^{A,a}



شکل ۱- ارتباط بین نیروی برشی و حلالیت پروتئین‌های میوفیبریلی(a)و شاخص تجزیه میوفیبریلی و حلالیت پروتئین‌های میوفیبریلی(b) استیک گوساله مارینادشده با شیره بروکلی و سرکه بالزامیک

Figure 1-Correlation between WBSF versus MPS (a) and MFI versus MPS (b) of marinated beefsteak with broccoli juice and balsamic vinegar

Values are represented as mean ± standard deviation. A-D different letters within marinade variant and a-d different letters within the storage time indicate statistically significant differences at 95% confidence level (P<0.05).

بررسی نقش مارینا‌سیون استیک گوساله بر ویژگی‌های اکسایشی آن در طی دوره نگه‌داری

میانگین PV تیمارهای مختلف گوشت طی دوره ترد شدن در جدول ۳ نشان داده شده است. بررسی آنالیز واریانس این شاخص نشان داد که اثر نوع مارینا، زمان ترد شدن و اثر متقابل آنها بر میانگین PV معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). میانگین تغییرات PV در همه نمونه‌های مورد بررسی طی ٤٨ ساعت صعودی بود، به گونه‌ای که سرعت تغییرات تشکیل محصولات اولیه حاصل از اکسایش به ویژه در دو تیمار B (۳/۷٤ میلی‌اکی والان اکسیژن در کیلوگرم) و C (۳/۵۰ میلی‌اکی والان اکسیژن در کیلوگرم) افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت (P<۰/۰۵، ۲٤ الی ٤٨ ساعت). به نظر می‌رسد تفاوت حاصله در سرعت اکسایش نمونه‌های مارینا شده بین دو بازه ابتدایی و انتهای دوره نگه‌داری، به سوبسترای شرکت کننده در واکنش‌های مرتبط با اکسایش خودبخودی[1] به ویژه نوع اسیدهای چرب مقاوم به اکسایش، پتانسیل اکسایش-احیاء، شرایط محیطی از جمله pH نمونه‌ها، رنگدانه میوگلوبین و هسته هم آن وابسته باشد (مسلمی و همکاران ۱۳۸۹). کمترین میزان هیدروپراکسید تولیدی، در نمونه A (۲/۷۰

[1] Auto-oxidation

میلی‌اکی والان اکسیژن در کیلوگرم) مشاهده شد که به لحاظ آماری با نمونه شاهد (۲/۸۱ میلی‌اکی والان اکسیژن در کیلوگرم) اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵، ٤٨ ساعت). علت این پدیده به حضور ترکیبات ضداکسایشی در شیره بروکلی برمی‌گردد که موجب کاهش سرعت واکنش‌های آغازین اتواکسیداسیون شدند. سان و همکاران (۲۰۰۷) در پژوهشی گزارش کردند که فعالیت ضداکسایشی شیره بروکلی به حضور فلاونوئیدها بالاخص کوئرستین[1] و کامپفرول[2] نسبت داده می‌شود و بین محتوای فلاونوئیدها و فعالیت ضداکسایشی آنها رابطه مستقیم وجود دارد. آنها در ادامه به اهمیت نقش نوع حلال و روش استخراج عصاره در محتوای ترکیبات ضداکسایشی و فعالیت آنها نیز اشاره کردند. از طرف دیگر ترکیبات فنولی موجود عصاره‌ها از طریق تغییر در نفوذپذیری غشاء سلول و همچنین دناتوراسیون پروتئین‌ها می‌توانند منجر به افزایش قابلیت هیدرولیز توسط پروتئازها و به دنبال آن تردی بیشتر نمونه‌های مارینات شده شوند (فاطمی ۱۳۸۱) که تاییدی بر نتایج حاصل از این پژوهش بود.

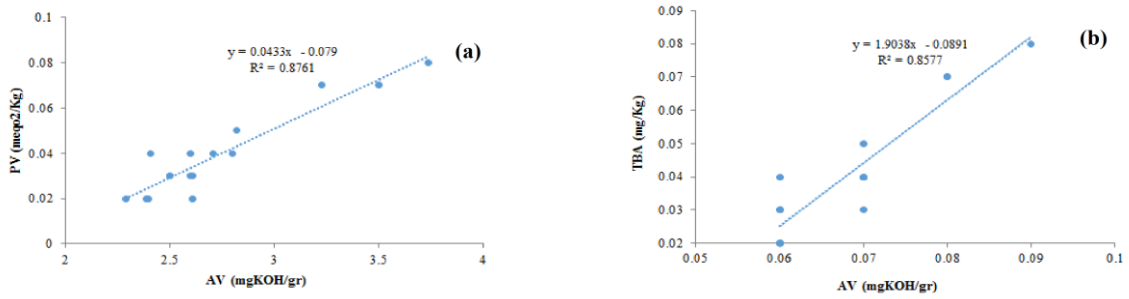
یکی از روش‌های اندازه‌گیری اکسایش چربی‌ها در غذاهای گوشتی تعیین شاخص TBA است. این اندیس حاکی از تولید محصولات ثانویه اکسایش نظیر آلدئیدها، کتون‌ها، هیدروکربن‌ها و الکل‌ها می‌باشد (فاطمی ۱۳۸۱). در مقایسه با هیدروپراکسیدها که فرار و بدون رنگ و بو هستند، محصولات ثانویه اکسایش اغلب پایدار بوده و بوی نافذی تولید می‌کنند (ایرجی‌فر وهمکاران ۱۳۹۷). نتایج حاصل از ارزیابی این شاخص در نمونه‌های مارینات شده در طول دوره تردشدن در جدول ۳ آمده است. نوع مارینات، زمان و اثر متقابل آنها به طور قابل توجهی بر میانگین TBA موثر واقع شد (P<۰/۰۵) به صورتی که سیر صعودی تغییرات TBA در طول ٤٨ ساعت مشهود بود. هر چند که میزان و سرعت این تغییرات در نمونه‌های مختلف، متفاوت ارزیابی شد. سرعت تشکیل محصولات ثانویه حاصل از اکسایش به ویژه در دو تیمار B (۰/۰۹ میلی‌گرم مالون آلدئید در هرکیلوگرم) و C (۰/۰۸ میلی‌گرم مالون آلدئید در هرکیلوگرم) در انتهای دوره نگه‌داری افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت (P<۰/۰۵، ٤٨ ساعت). کمترین میزان تولید TBA در مقایسه با کلیه نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش، در نمونه A (۰/۰٦ میلی‌گرم مالون آلدئید در هرکیلوگرم) مشاهده شد (P<۰/۰۵، ٤٨ ساعت). نتایج پژوهش حاضر با نتایج اعلام شده توسط ایرجی‌فر و همکاران (۱۳۹۷)، تاسائی و همکاران (۲۰۱۲) و حسن‌زاده و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت داشت. ایرجی‌فر و همکاران (۱۳۹۷) به افزایش محتوای TBA طی ۷۲ ساعت نگه‌داری گوشت شتر تیمار شده با اسیداستیک اشاره کرده و علت آن را به کاهش pH نمونه‌ها نسبت دادند. درpH پایین، اکسیژن متصل شده به آهن هسته هم به صورت رادیکال سوپراکسید و هیدروپراکسید آزاد شده و می‌تواند در واکنش اکسایش چربی و پروتئین شرکت کند. از طرف دیگر افزایش حلالیت آهن به همراه کاهش pH نیز می‌تواند سرعت اکسایش خودبخودی چربی‌ها را افزایش دهد. تاسائی و همکاران (۲۰۱۲) نیز افزایش شاخص TBA طی ١٤ روز نگه‌داری نمونه‌های مارینات شده را گزارش کردند. این در حالی بود که در فواصل زمانی ثابت، کاهش این پارامتر در نمونه‌های تیمارشده با عصاره زنجبیل نسبت به نمونه کنترل مشاهده شد. نتایج نشان داد که مارینات گوشت اردک با عصاره زنجبیل نه تنها توانست سرعت اکسایش لیپیدها را کاهش دهد بلکه سبب پروتئولیز بیشتر پروتئین‌های میوفیبریلی نیز گردید. آنها بروز این پدیده را به حضور پلی فنول‌های موجود در عصاره زنجبیل نسبت دادند. کاهش TBA نمونه‌های فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان پوشش داده شده با کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور در مقایسه با تیمار کنترل نیز شاهدی بر این ادعا بود (حسن‌زاده و

[1] Quercetin
[2] Kaempferol

همکاران ۲۰۱۸). از طرف دیگر با افزایش پروتئولیز پروتئین‌های میوفیبریلی توسط پروتئازهای شیره بروکلی در نمونه A (حاوی شیره بروکلی به تنهایی) و تولید ترکیبات ازته غیرپروتئینی همچون اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدها، این ترکیبات نیز علاوه بر فلاونوئیدها می‌توانند در جلوگیری از وقوع اکسایش و یا کاهش سرعت آن شرکت کنند که منجر به کاهش تولید محصولات ثانویه اکسایش در مقایسه با سایر نمونه‌ها شد. از آنجا که فعالیت ضداکسایشی پروتئین‌ها مربوط به اسیدهای آمینه سازنده آنها است، بنابراین نوع اسید آمینه و محل قرارگیری آن در زنجیره پروتئینی نیز اهمیت بالایی در بروز ویژگی‌های ضداکسایشی دارد. فعالیت ضداکسایشی اسیدهای آمینه به توانایی آنها در دادن پروتون به رادیکال‌های آزاد و همچنین شلات کردن یون‌های فلزی بر می‌گردد (سان و همکاران ۲۰۱۶).

AV با ارزیابی میزان اسیدهای چرب آزاد، کیفیت نمونه مورد آزمایش را از لحاظ فساد هیدرولیتیکی[1] و درصد اسیدهای چرب آزاد تولید شده حین دوره نگه‌داری بررسی می‌کند. این احتمال وجود دارد که افزایش اسیدیته در گوشت و فرآورده‌های آن به دلیل فعالیت هیدرولازهایی مانند لیپاز باشد (مسلمی وهمکاران ۱۳۸۹). در نتیجه فساد هیدرولیتیکی و اکسایش چربی‌ها، مولکول تری آسیل گلیسرول به گلیسرول و اسیدهای چرب آزاد تجزیه شده که افزایش AV نمونه‌ها را به همراه خواهد داشت (فاطمی ۱۳۸۱). جدول ۳ نتایج حاصل از ارزیابی AV نمونه‌های مارینادشده در طول دوره نگه‌داری را نشان می‌دهد که به طور معنی‌داری تحت تاثیر اثر متقابل نوع مارینادو زمان قرار گرفت ($P<۰/۰۵$). AV تیمارهای مختلف ظرف سه ساعت اول به طور ثابت اما با سرعت کم افزایش یافت ولی با ادامه دوره نگه‌داری یخچالی، این روند افزایشی، به ویژه در تیمارB (۰/۰۸ میلی‌گرم پتاس در گرم) و تیمارC (۰/۰۷ میلی‌گرم پتاس در گرم) از سرعت بیشتری برخوردار بود (جدول ۳). در واقع تحت شرایط اسیدی ایجاد شده به واسطه حضور سرکه بالزامیک در دو تیمار فوق‌الذکر و شرایط امولسیونی فراهم شده از طریق دناتوراسیون پروتئین‌های میوفیبریلی، دسترسی آنزیم به سوبسترای آن تسهیل شد که به تبع آن اکسایش چربی‌ها نیز افزایش یافت. ارتباط بین PV و AV (a) و همچنین TBA و AV (b) استیک گوساله مارینادشده با شیره بروکلی و سرکه بالزامیک در شکل ۲ نمایش داده شده است. افزایش معنی‌دار AV همراه با افزایشPV ($R^2=۰/۸۷$) و TBA ($R^2=۰/۸۵$) که بخوبی در ضریب همبستگی آنها منعکس شده است، مؤید اکسایش بیشتر چربی‌ها به واسطه ماریناسیون طی ٤٨ ساعت نگه‌داری بود.

[1] Hydrolytic spoiling



شکل ۲- ارتباط بین عدد اسیدی و اندیس پراکسید(a) و عدد اسیدی و عدد اسید تیوباربیتوریک (b) استیک گوساله مارینات شده با شیره بروکلی و سرکه بالزامیک

Figure 2-Correlation between PV versus AV (a) and TBA versus AV (b) of marinated beefsteak with broccoli juice and balsamic vinegar

جدول۳- اثر مارینات استیک گوساله با شیره بروکلی و سرکه بالزامیک بر ویژگی‌های اکسایشی طی دوره نگه‌داری

Table 3- Influence of marinating with broccoli juice and balsamic vinegar on oxidative properties of beefsteak cuts during storage

Parameter	Treatment	Storage (h)			
		1	3	24	48
PV ($meqo_2$/Kg)	Control	$2.39\pm0.08^{C,d}$	$2.50\pm0.24^{B,c}$	$2.61\pm0.08^{C,b}$	$2.81\pm0.04^{C,a}$
	A	$2.29\pm0.07^{C,d}$	$2.50\pm0.07^{B,c}$	$2.60\pm0.09^{C,b}$	$2.70\pm0.06^{D,a}$
	B	$2.60\pm0.09^{A,d}$	$2.82\pm0.08^{A,c}$	$3.23\pm0.06^{A,b}$	$3.74\pm0.05^{A,a}$
	C	$2.40\pm0.08^{B,d}$	$2.65\pm0.10^{C,c}$	$2.87\pm0.06^{B,b}$	$3.50\pm0.09^{B,a}$
TBA value (mg/Kg)	Control	$0.05\pm0.01^{C,c}$	$0.05\pm0.01^{C,c}$	$0.06\pm0.01^{C,b}$	$0.07\pm0.01^{C,a}$
	A	$0.04\pm0.01^{D,c}$	$0.04\pm0.01^{D,c}$	$0.05\pm0.01^{D,b}$	$0.06\pm0.01^{D,a}$
	B	$0.07\pm0.00^{A,c}$	$0.07\pm0.01^{A,c}$	$0.08\pm0.005^{A,b}$	$0.09\pm0.00^{A,a}$
	C	$0.06\pm0.01^{B,c}$	$0.06\pm0.01^{B,c}$	$0.07\pm0.01^{B,b}$	$0.08\pm0.01^{B,a}$
AV (mgKOH/gr)	Control	$0.02\pm0.005^{B,d}$	$0.02\pm0.005^{D,c}$	$0.03\pm0.01^{C,b}$	$0.03\pm0.01^{D,a}$
	A	$0.02\pm0.005^{B,c}$	$0.03\pm0.01^{C,b}$	$0.03\pm0.01^{C,b}$	$0.04\pm0.005^{C,a}$
	B	$0.04\pm0.00^{A,d}$	$0.05\pm0.005^{A,c}$	$0.07\pm0.01^{A,b}$	$0.08\pm0.005^{A,a}$
	C	$0.02\pm0.005^{B,d}$	$0.04\pm0.005^{B,c}$	$0.06\pm0.00^{B,b}$	$0.07\pm0.005^{B,a}$

Values are represented as mean ± standard deviation. A-D different letters within marinade variant and a-d different letters within the storage time indicate statistically significant differences at 95% confidence level ($P<0.05$).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که شیره بروکلی دارای آنزیم‌های پروتئازی و ترکیبات ضداکسایشی است. آنزیم‌های پروتئازی شیره بروکلی در شرایط اسیدی فعالیت بهتری دارند هر چند که این شرایط، زمینه را برای اکسایش چربی‌های گوشت مستعد می‌کند. ماریناسیون استیک گوساله با شیره بروکلی و سرکه بالزامیک منجر به کاهش pH و نیروی برشی وارنر-براتزلر و همچنین افزایش ظرفیت نگه‌داری آب، شاخص تجزیه میوفیبریل‌ها، حلالیت پروتئین‌های میوفیبریلی، اندیس پراکسید، شاخص اسید تیوباربیتوریک و عدد اسیدی نمونه‌های مورد بررسی در طول ۴۸ ساعت نگه‌داری در یخچال شد. از این رو می‌توان از محلول مارینادی حاوی شیره بروکلی و سرکه بالزامیک به عنوان یک چاشنی موثر در بهبود ویژگی‌های کیفی و بافتی استیک گوساله در مقیاس خانگی/صنعتی بهره برد.

تقدیر و سپاسگزاری

از دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند قدردانی می‌گردد. این مقاله از رساله دکترا با کد ۱٤۲٤۸۰۹٤۱۰۲٤۸٤۹۱٦۲۳۲ استخراج شده است.

لازم به ذکر است نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند. همچنین این مقاله در نشریه دیگری تحت بررسی نمی‌باشد و تاکنون در هیچ نشریه دیگری چاپ نشده است.

منابع مورد استفاده

ایرجی‌فر م، وریدی م. ج، وریدی م و زاهدی ی. ۱۳۹۷. ارزیابی اثر مارینادا اسیداستیک و کلرید سدیم بر برخی ویژگی‌های کیفی گوشت شتر یک کوهانه ایرانی. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی. جلد ۲۸، شماره ۱، صفحات ۱٦۰-۱٤۵.

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. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی. جلد ۲، شماره ۱، صفحات ۳٦-۱۷.

حسینی ا، معینی م، رحمن ع و بهمدی ه. ۱۳۹۲. بررسی اثر مارینادکردن آنزیمی و سدیم تری پلی فسفات بر نیروی برش، pH و افت گوشت گاو. مجله نوآوری در علوم و فناوری غذایی. سال پنجم، شماره اول. صفحات ۵۳-٤۷.

زاهدی ی. ۱۳۹۸. مارینادکردن گوشت: مکانیسم عمل، روشها و مزایا. دومین کنفرانس بین المللی و ششمین کنفرانس ملی کشاورزی ارگانیک و مرسوم. دانشگاه محقق اردبیلی. صفحات ۸-۱.

سبزی ف، وریدی م. ج و وریدی م. ۱۳۹٦. مطالعه اثر آبغوره بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و بافتی گوشت گاو. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی. جلد ٦، شماره ۱، صفحات ۷۰-۵۳.

فاطمی، ح. ۱۳۸۱. شیمی مواد غذایی. چاپ سوم، شرکت سهامی انتشار، ص ۱۷۹-۱۷٦.

مسلمی م، حسینی ه، خاکسار ر، تسلیمی الف، کفشدوزان خ و شهراز ف. ۱۳۸۹. تأثیر فرایند حرارتی و مدت نگه‌داری بر ترکیب اسیدهای چرب، ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی در فرآورده‌های حاوی ٤۰ درصد گوشت قرمز تهیه شده از روغن‌های سویا و کانولا. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران. سال پنجم، شماره ۱، صفحات ۳۸-۲۹.

مظاهری کلهرودی م، بقایی ه، عمادزاده ب و بلندی م. ۱۳۹۸. تردسازی گوشت با استفاده از ترکیبات طبیعی موجود در میوه‌ها و سبزیجات. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. شماره ۹۱ ، دوره ۱٦، صفحات ۱۵۵-۱٤۵.

مظاهری کلهرودی م، بقایی ه، عمادزاده ب و بلندی م. ۱٤۰۰ بررسی ارتباط بین ویژگی های فیزیکوشیمیایی و بافتی استیک گوساله مارینادا شده بر اساس معادلات رگرسیونی. نشریه فرآوری و نگه‌داری مواد غذایی. شماره ۱۳، دوره ۲، صفحات ۷۸-٦۱.

Akbar Jafari A, Shohrati M, Mahmoudi R, Haj hoseini R, Nosratpour S, Pajohi-Alamoti M, and Mohamad Latifi R, 2014. Chemical composition and biological activities of *Scrophularia striata* extracts. Minerva Biotecnologica 26(3):183-189.

Alasvand Zarasvand S, Kadivar M, Aminlari M, and Shekarforoush, SS, 2012. A comparative study of physico-chemical and functional properties, and ultrastructure of ostrich meat and beef during aging, CyTA - Journal of Food 10(3):201-209.

Dhital S, and Vangnai K, 2019. Meat tenderisation effect of protease from mango peel crude extract. International Food Research Journal 26(3):991-998.

Doneva M, Nacheva I, Dyankova S, and Metodieva P, 2018. Application of plant proteolytic enzymes for tenderization of rabbit meat. Biotechnology in Animal Husbandry 34(2):229-238.

Gokoglu N, Yerlikaya P, Ucak I, and Yatmaz HA, 2016. Effect of bromelain and papain enzymes addition on physicochemical and textural properties of squid (*Loligo vulgaris*). Journal of Food Measurement and Characterization 11(1):347-353.

Gómez I, Francisco C, Ibañez FC, and Beriain MJ, 2019. Physicochemical and sensory properties of sousvide meat and meat analog products marinated and cooked at different temperature-time combinations. International Journal of Food Properties 22(1):1693-1708.

Ha M, Bekhit Ael D, Carne A, and Hopkins DL, 2013. Characterisation of kiwifruit and asparagus enzyme extracts, and their activities toward meat proteins. Food Chemistry 136(2):989-998.

Hassanzadeh P, Moradi M, Vaezi N, Moosavy MH, and Mahmoudi R, 2018. Effects of chitosan edible coating containing grape seed extract on the shelf-life of refrigerated rainbow trout fillet. Veterinary research forum: an international quarterly journal 9(1):73-79.

He F, Kim HW, Hwang KE, Song DH, Kim YJ, Ham YK, Kim SY, Yeo IJ, Jung TJ, and Kim CJ, 2015. Effect of ginger extract and citric acid on the tenderness of duck breast muscles. Korean Journal Food Science Annual 35(6):721-730.

Istrati D, Vizireanu C, Dima F, and Dinica R, 2012. Effect of marination with proteolytic enzymes on quality of beef muscle, Scientific Study and Research 13(1):081-089.

Kadıog˘lu P, Karakaya M, Unal K, and Babaog˘lu AS, 2019. Technological and textural properties of spent chicken breast, drumstick and thigh meats as affected by marinating with pineapple fruit juice. British Poultry Science 60(4):381-387.

Kim H, Choi Y, Choi JI, Kim Hack LMi, Hwang KO, Song Dong L, and Yun KC, 2013. Tenderization effect of soy sauce on beef M. *biceps femoris*. Food Chemistry 139(1):597-603.

Lawrence T, Dikeman Hunt M, Kastner C, and Johnson D, 2003. Staged injection marination with calcium lactate, phosphate and salt may improve beef water-binding ability and palatability traits. Meat Science 65(3):967-972.

Mahmoudi R, and Nosratpour S, 2013. *Teucrium polium* L. essential oil: Phytochemiacl component and antioxidant properties. International Food Research Journal 20(4):1697-1701.

Maqsood S, Manheem K, Gani A, and 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 55(9):3427-3438.

Mazaheri Kalahrodi M, Baghaei H, Emadzadeh B, and Bolandi M, 2020. The combined effect of asparagus juice and balsamic vinegar on the tenderness, physicochemical and structural attributes of beefsteak. Journal of Food Science and Technology 58:3143-3153.

Mazaheri Kalahrodi M, Baghaei H, Emadzadeh B, and Bolandi M, 2021. Degradation of myofibrillar and sarcoplasmic proteins as a function of marinating time and marinade type and their impact on textural quality and sensory attributes of m. semitendinosus beefsteak. Journal of Food Processing and Preservation 45(22). DOI: 10.1111/jfpp.15691

Naveena BM, Sen AR, Muthukumar M, Babji Y, and Kondaiah N, 2011. Effects of salt and ammonium hydroxide on the quality of ground buffalo meat. Meat Science 87(4):315-320.

Rajagopal K, and Oommen GT, 2014. Myofibril fragmentation index as an immediate postmortem predictor of buffalo meat tenderness. Journal of Food Processing and Preservation 39(6):1166-1171.

Rostamani M, Baghaei H, and Bolandi M, 2021. Prediction of top round beef meat tenderness as a function of marinating time based on commonly evaluated parameters and regression equations. Food Science and Nutrition 9:5006-5015.

Sultana A, Nakanishi A, Roy B, Mizunoya W, Tatsumi R, Ito T, and Ikeuchi Y, 2008. Quality improvement of frozen and chilled beef *biceps femoris* with the application of salt-bicarbonate solution. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 21(6):903-911.

Sun T, Powers JR, and Tang J, 2007. Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. Food Chemistry 105:101-106.

Sun Q, Zhang B, Yan QJ, Zheng-Qiang and Jiang ZQ, 2016. Comparative analysis on the distribution of protease activities among fruits and vegetable resources. Food Chemistry 213:708-713.

Soltanizadeh N, Kadivar M, Keramat J, and Fazilati M, 2008. Comparison of fresh beef and camel meat proteolysis during cold storage. Meat Science 80(3):892-895.

Tsai L-L, Yen N-J, and Chou R-GR, 2012. Changes in muscovy duck breast muscle marinated with ginger extract. Food Chemistry 130(2):316-320.

Verzelloni E, Tagliazucchi D, and Conte A, 2007. Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsamic vinegar. Food Chemistry 105:564-571.

Wang YT, Yang CY, Chen YT, Lin Y, and Shaw JF, 2004. Characterization of senescence-associated proteases in postharvest broccoli florets. Plant Physiology and Biochemistry 42:663-670.

Żochowska-Kujawska J, Kotowicz M, Lachowicz K, and Sobczak M, 2017. Influence of marinades on shear force, structure, and sensory properties of home-style jerky. Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria 16(4):413-420.

Journal of Food Research, 2022,32(3):93-110
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)

DOI: 10.22034/FR.2022.43070.1778

Impact of broccoli juice and balsamic vinegar on the tenderness, and oxidative stability of the marinated beefsteak during storage

F mirhaj[1], H Baghaei[2*], B Emadzadeh[3] and A Jebelli Javan[4]

Received: February 20, 2021 Accepted: January 15, 2022
[1]Ph.D. Student of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran
[2]Assistant Professor of Food Science and technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran
[3]Associate Professor of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran
[4]Associate Professor of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran
*Corresponding author: H.baghaei@damghaniau.ac.ir

Introduction: In recent years, the special attention of food industry has been focused on the use of the non-thermal and economical methods to preserve food and increase its shelf life. Among these methods, the utilization of natural antioxidants and antimicrobial compounds has been mentioned. These compounds not only eliminate the side effects caused by the usage of chemical preservatives in long term, but also improve the textural and sensory properties as well as increase the shelf life of meat and their products (Mazaheri Kalahrodi et al., 2021). Quality, tenderness, and taste of the meat are important factors for the customers. Hence, the absence of satisfaction can be the reason for complaints and reduced meat consumption. Marinating by soaking, injection, and vacuum tumbling is one of the most important and convenient procedures to improve meat quality and tenderness. Mixtures containing water, salt, acidic marinades, vinegar, and fruit juices were generally utilized for marinating the meat. In terms of penetration and saving the ageing time, injection is one of the most well-known and widely utilized techniques for meat marinating (Mazaheri Kalahrodi et al., 2020). Meat tenderization through marinating occurs by two primary mechanisms; the first is through decreasing the pH leading to expanding and dissolving the connective tissues and muscle proteins. The second is by providing appropriate conditions to increase the action of intracellular proteases or proteolytic catalysts extricated from the fruits and vegetables. Adding the salts, such as sodium chloride, calcium salt, and phosphate modifies the quality of meat due to the improved ability to maintain the water (Kim et al., 2013).
Broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) is one of the most significant and abundant vegetables which was considered in terms of its taste, anti-cancer, and antioxidant components i.e., sulfurfan, indole-3-carbinol, and selenium. It was presumed that the metalloprotease, cysteine, serine, and aspartic proteases present in the broccoli juice display proteolytic activity on the myofibrillar proteins and connective tissues. Four cysteine proteases and one aspartic protease were recognized in the broccoli juice, which were similar to papain protease (Wang et al., 2004; Rostamani et al., 2021). The most enzymatic activity of the broccoli juice was observed in low pH conditions. The

proteolytic activity of the broccoli is equal to 16.9 U/g in acidic pH and the density of *Brassica oleracea* proteases is about 45-70 kDa (Sun et al., 2016). Furthermore, traditional balsamic vinegar is a conceivably healthy flavoring with a high level of cancer preventive constituents and is rich in phenolic acids and flavonoids (Verzelloni et al., 2007). Nevertheless, there are limited investigations on the meat-softening strategies with balsamic vinegar (Mazaheri Kalahrodi et al., 2021). Therefore, the role of beefsteak marinating with broccoli juice and balsamic vinegar and their effect on the meat quality attributes during 48 hours of tenderization period were investigated.
Material and methods: Firstly, fresh broccoli was homogenized. Then, the blended material was compacted in a triple-layer cheesecloth, and the juice was extracted and centrifuged at 16,000 × g for 5 min at 4 °C. The resulting supernatant (pH 6.56; extraction efficiency: 10.4%) was poured into the topped microcentrifuge tubes and was kept at -18 °C until further testing. Then, the fat-free beefsteaks with a weight of around 1 kg were cut into cubic pieces (10 cm×10 cm×10 cm). Based on the preliminary studies and minimal adverse organoleptic changes, three marinade solutions containing broccoli juice and balsamic vinegar were prepared and injected into the beefsteak cuts as follows: Control: beefsteak without marinade, A: 2.6 g broccoli juice injected into 100 g beefsteak, B: 10 mL balsamic vinegar injected into 100 g beefsteak, C: 2.6 g broccoli juice + 10 mL balsamic vinegar injected into 100 g beefsteak. For better distribution, the treated samples were gently massaged by hand for about 1 min. Then, all samples were transferred to the polyethylene sacks, and were stored at the refrigerated temperature (4 °C) and evaluate the influence of meat marinating on designed tests consisting the pH, Warner-Bratzler shear force, water holding capacity, myofibril fragmentation index, myofibrillar protein solubility, peroxide value, thiobarbituric acid index and the acidic value at 1, 3, 24, and 48 hours intervals. Different samples were used to carry out the time-dependent analysis.
Results and discussion: At first glance, the effect of marinade variant, tenderization period as well as their interaction on the evaluated parameters was significant ($P<0.05$). Accordingly, marinating beefsteak with broccoli juice and balsamic vinegar significantly ($P<0.05$) reduced the pH and Warner-Bratzler shear force over time. Besides, marination considerably ($P<0.05$) increased water holding capacity, myofibril fragmentation index, myofibrillar protein solubility, peroxide value, thiobarbituric acid index and the acidic value of all samples compared to control during 48 hours of refrigerated storage. The results of this study showed that the best quality and texture characteristics lead to tenderness preferred by consumers can be achieved by applying 2.6% broccoli juice and 2.6% broccoli juice + 10% balsamic vinegar. Apparently, by increasing the duration of cold storage, the beef tenderness increased. Therefore, the minimum Warner-Bratzler shear force (70.88 N) and maximum solubility of myofibrillar proteins (134.30 mL/g) were observed in the combined treatment at the end of storage ($P<0.05$). Besides, correlation between myofibril fragmentation index versus myofibrillar protein solubility ($R^2 = 0.88$), peroxide value versus acidic value ($R^2 = 0.87$), and thiobarbituric acid index versus acidic value ($R^2 = 0.85$) of marinated beefsteak with broccoli juice and balsamic vinegar were direct, while indirect relationship was recognized between Warner-Bratzler shear force and myofibrillar protein solubility ($R^2 = 0.93$).
Conclusion: The effect of different treatments on the tenderness and oxidative stability of marinated beefsteaks indicated that the broccoli juice contains efficient proteases that are better activated under acidic conditions. However, acidic conditions make the samples more susceptible to fats oxidation. Thus, it can be concluded that by optimizing the formulation of the broccoli juice and broccoli juice+balsamic vinegar marinades, they could be used as natural meat additives to improve the physicochemical and structural attributes of the beefsteak. Hence, broccoli juice and balsamic vinegar can be used as an effective marinade on a domestic and/or industrial scales as well as their nutritional benefits in preventing background diseases.

Keywords: Balsamic vinegar, Beefsteak, Broccoli juice, Oxidation, Tenderness