

HIGIENA ŻYWNOSCI ZWIERZĘCEGO POCHODZENIA

TADEUSZ KOŁCZAK, BARBARA MAGNOWSKA, MAŁGORZATA STOCHMAL

Długość sarkomerów oraz poziom nukleotydów w mięśniu półbłoniastym świń podczas stężenia pośmiertnego

Zakład Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych Wydziału Rolniczego AR,
ul. Podlužna 3, 30-239 Kraków

Poubojowy rozkład nukleotydów adeninowych (ATP, ADP, AMP) do jednofosforanu inozyny oraz inozyny i hipoksantyny w mięśniach szkieletowych o normalnych właściwościach jakościowych zachodzi u zwierząt rzeźnych w ciągu pierwszych 12—24 godzin (4). Stopień dezaminacji nukleotydów adeninowych może być określony na podstawie pomiaru tzw. wartości R (6). Wartość R wyraża stosunek absorpcji kwasowego ekstraktu z mięśnia przy długości fali 250 i 260 nm oraz określa w sposób pośredni udział nukleotydów inozynowych w ogólnych nukleotydach tkanki.

Konsekwencją spadku ATP w mięśniu jest rozwój stężenia pośmiertnego — *rigor mortis* (1). Intensywność skurczu różnych mięśni w tuszy zwierzęcej podczas rozwoju stężenia pośmiertnego zależy od ograniczeń kostych (sposobu podwieszenia tuszy), intensywności i szybkości schładzania oraz innych czynników mogących oddziaływać na kurczliwość mięśnia. Stężenie pośmiertne występuje w krótkim okresie po uboju w mięśniach świń różniących się skrajnie właściwościami jakościowymi. Zarówno w mięsie wodnistym — PSE (pale, soft, exudative), jak i w mięsie ciemnym, twardym i suchym — DFD (dark, firm, dry) stężenie pośmiertne występuje w pierwszych 60 minutach po wykrwawieniu (3, 9). Rozwój stężenia pośmiertnego zachodzi w mięśniach PSE przy bardzo niskim pH (niższym od 6,0), natomiast w mięśniach DFD przy wysokim pH (wyższym od 6,8). Intensywność skurczu mięśnia wchodzącego w stan *rigor* w tak skrajnych wartościach pH nie była badana. Dezaminacja nukleotydów adeninowych zachodząca wraz z rozkładem ATP i rozwojem stężenia pośmiertnego jest znacznie szybsza w mięśniach PSE i DFD niż w mięśniach o powolnej poubojowej glikolizie, wolniejszym rozwoju *rigor* i normalnych właściwościach jakościowych (6). Przyczyny istniejących różnic nie są znane.

Celem pracy było określenie rozmiaru skurczu oraz ogólnego poziomu nukleotydów w mięśniu w stadium stężenia pośmiertnego, którego

rozwój wystąpił w warunkach niskiego i wysokiego pH w okresie do 1 godz. po uboju.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na próbkach mięśnia półbłoniastego świń pobranych z tusz o masie 65—80 kg w okresie jesienno-zimowym. Materiał doświadczalny wyselekcjonowano z 5780 tusz w ZM Kraków na podstawie pomiarów twardości i pH (wartość pH_I) mięśnia przeprowadzanych w 45—60 min. po uboju. Pomiar twardości stosowano jako wskaźnik rozwoju stężenia pośmiertnego. Twardość mierzono na powierzchni mięśnia półbłoniastego przy użyciu rigorometru własnej konstrukcji (7). Pomiaru pH dokonywano po homogenizacji próbki mięśnia w 0,01 M roztworze jodocetanu sodu. Przeprowadzono pomiary długości sarkomerów, ogólnego poziomu nukleotydów oraz dezaminacji nukleotydów adeninowych — wartości R w 100 mięśniach znajdujących się w stadium *rigor* (twardość > 6,00 mm), których pH było mniejsze od 6,0 (grupa I) lub większe od 6,8 (grupa III), oraz w 20 mięśniach przed stężeniem pośmiertnym (twardość < 3,00 mm) o wartości pH w zakresie 6,3—6,7 (grupa II — kontrolna). Średnie wartości dla twardości i pH_I badanych mięśni w poszczególnych grupach wynosiły odpowiednio: grupa I — 7,4 ± 0,1 mm i 5,80 ± 0,02; grupa II — 2,8 ± 0,3 mm i 6,44 ± 0,04; grupa III — 7,1 ± 0,1 mm i 6,94 ± 0,02 mm.

Próbkę mięśnia przeznaczoną do pomiaru długości sarkomerów utrwalano w 5% roztworze formaliny (pH 7,0). Po homogenizacji próbki w 3% roztworze formaliny (pH 7,0) wykonywano preparaty mikroskopowe i mierzono długość sarkomerów w 20 fragmentach miofibryli przy 1200-krotnym powiększeniu. Pomiaru dokonywano przy użyciu mikroskopu Biolar SK z urządzeniem fazowym. W każdym mięśniu zmierzono długość około 300 sarkomerów, z których obliczano średnią długość sarkomeru.

Poziom nukleotydów oraz wartość R oznaczano w kwasowych ekstraktach mięśnia. Próbkę mięśnia homogenizowano w 5 objętościach 1 M roztworu kwasu nadchlorowego. Homogenat wirowano i 0,1 ml ekstraktu rozcieńczano 50-krotnie przy użyciu 0,1 M buforu fosforanów potasu (pH 7,0) oraz dokonywano pomiaru absorpcji przy długościach fali 250, 258, 260 i 265 nm. Wartość R stanowił stosunek E₂₅₀/E₂₅₀ (6). Poziom nukleotydów w ekstrakcie określano z wartości E₂₅₈ oraz molarnego udziału nukleotydów adeninowych obliczanego zgodnie z metodą podaną przez Bendalla i Daveye (2). Istotność różnicy między średnimi określano testem rozstępu Duncana.

Tab. 1. Długość sarkomerów, ogólny poziom nukleotydów oraz wartość R mięśnia półbloniastrgo świń w zależności od rozwoju stężenia pośmiertnego i pH w 45–60 min po uboju

Badane parametry	Grupa					
	I twardość > 6,0 mm pH ₁ < 6,0		II twardość < 3,0 mm pH ₁ = 6,3–6,7		III twardość > 6,0 mm pH ₁ > 6,8	
	n	\bar{x}	n	\bar{x}	n	\bar{x}
Długość sarkomerów (μm)	50	1,29 ^a ± 0,02	20	1,77 ^b ± 0,05	50	1,26 ^a ± 0,03
Poziom nukleotydów (μM/g)	50	9,60 ^a ± 0,16	20	10,98 ^b ± 0,20	50	9,30 ^a ± 0,19
Wartość R	50	1,00 ^a ± 0,02		1,04 ^b ± 0,02		1,19 ^c ± 0,02

Objaśnienie: a, b, c — średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P < 0,01$.

Wyniki i omówienie

Długość sarkomerów mięśni w fazie stężenia pośmiertnego (*rigor*) była istotnie mniejsza niż mięśni nie wykazujących objawów stwardnienia. Nie stwierdzono istotnej różnicy w długości sarkomerów mięśni, w których rozwój *rigor* nastąpił w warunkach niskiego pH (grupa I) i wysokiego pH (grupa III). Długość sarkomerów mięśni w okresie rozkurczu wynosi ponad 2 μm , a podczas skurczu około 1,5 μm (5). Wyniki wskazują, że podczas szybkiego rozwoju stężenia pośmiertnego miofibryle mięśnia półbloniastrgo w tuszy świńskiej ulegają intensywnemu skurczowi. Intensywność skurczu podczas „kwasowego” i „alkalicznego” *rigor* jest podobna.

Ogólne stężenie nukleotydów w mięśniu nie będącym w stanie stężenia pośmiertnego było istotnie większe niż w mięśniach w stadium *rigor*. Zawartość nukleotydów w mięśniach różniących się skrajnie wartościami pH w okresie stężenia była podobna. Wyniki uzyskane z pomiaru wartości R wskazują, że dezaminacja nukleotydów adeninowych zachodzi najwolniej w mięśniach o powolnym rozwoju stężenia pośmiertnego i normalnym przebiegu poubojowej glikolizy. Są one zgodne z danymi Honikel i Fischer (6). Szybkość dezaminacji nukleotydów adeninowych w mięśniach wchodzących szybko w stan stężenia przy dużej szybkości poubojowej glikolizy (grupa I) była jednak istotnie większa niż w mięśniach wchodzących w stan *rigor* w warunkach wysokiego pH (grupa III). Przyczyn mniejszego poziomu nukleotydów w mięśniach wykazujących objawy stwardnienia w 1 godzinie po uboju może być wiele. Nukleotydy (adeninowe i inozynowe) mogą ulegać szybkiemu rozkładowi do związków nie wykazujących absorpcji przy długości fali 258 nm. Szybki rozwój stężenia pośmiertnego występuje w mięśniach zwierząt nieodpornych na stres (3, 8). W zależności od intensywności i czasu oddziaływania stresu przedubojowego szybki rozwój stężenia pośmiertnego występuje w warunkach niskiego lub wysokiego pH (2, 7). Jed-

nym z objawów braku odporności na stres jest zwiększona przepuszczalność błon komórkowych w okresie obciążenia stresowego (10). W okresie przedubojowym u zwierząt nieodpornych na stres może zachodzić zwiększona dyfuzja składników wewnątrzkomórkowych (w tym nukleotydów) do układów pozamięśniowych. Szybka dezaminacja nukleotydów adeninowych w mięśniach PSE i DFD może wynikać zarówno z wyższej aktywności dezaminazy AMP, jak i jej aktywacji przez wzrastające stężenie AMP. Problemy te są przedmiotem dalszych badań.

Wnioski

1. Podczas szybkiego rozwoju stężenia pośmiertnego m. półbloniastry świń ulega intensywnemu skurczowi; intensywność skurczu podczas „kwasowego” i „alkalicznego” stężenia jest podobna.
2. Ogólny poziom nukleotydów w mięśniach będących w stadium stężenia pośmiertnego w 1 godzinie po uboju jest mniejszy niż w mięśniach o powolnym rozwoju stężenia pośmiertnego i normalnym przebiegu poubojowej glikolizy.
3. Szybkość dezaminacji nukleotydów adeninowych podczas rozwoju „kwasowego” stężenia pośmiertnego jest większa niż podczas rozwoju stężenia „alkalicznego”.

Piśmiennictwo

1. Bendall J. R.: Postmortem changes in muscle. W „The structure and Function of Muscle”, wyd. Bourne P. D., Academic Press, N. Y., 1973.
2. Bendall J. R., Davey C. L.: *Biochim Biophys. Acta* 26, 93, 1957.
3. Briskey E. J.: *Adv. Fd Res.* 13, 89, 1964.
4. Davidek J., Vejšek J.: *Fleischwirtschaft* 53, 1285, 1973.
5. Hamm R.: *Fleischwirtschaft* 59, 393, 1979.
6. Honikel K. O., Fischer C.: *J. Fd Sci.* 42, 1633, 1977.
7. Kaczmarszk J., Kołczak T., Radecka B., Schwarz T.: *Rocz. Inst. Przem. Mięsnego i Tłuszczowego* 15, 61, 1979.
8. Kołczak T.: Reakcja świń w warunkach krótkotrwałego stresu oraz jej związek z szybkością poubojowej glikolizy w mięśniach i jakością mięsa. Praca hab., Inst. Zootech., Kraków 1978.
9. Marlin A. H., Freden H. T.: *Can. J. Anim. Sci.* 55, 527, 1975.
10. Mitchell G., Heffron J. J. A.: *Adv. Fd Res.* 28, 167, 1982.

Adres autora: doc. dr hab. Tadeusz Kołczak, ul. Nad Sudolem 12/36, 31-228 Kraków

Колчак Т., Магновская Б., Стохмаль М. — Длина саркомеров и уровень нуклеотидов в полуперепончатой мышце свиней во время трупного окоченения

Определили длину саркомеров, общий уровень нуклеотидов и степень дезаминации адениновых нуклеотидов (величина R) в мышцах свиней, в которых развитие трупного окоченения (ригор) отмечилось при низком (< 6,0) и высоким (> 6,8) pH в период до часа после забоя. Длина саркомеров, а также уровень нуклеотидов в период „кислотного” и „щелочного” ригора были похожи, но существенно меньше чем в мышцах с медленным развитием трупного окоченения и нормальным ходом послеубойного гликолиза (pH₁ 6,3—6,7). Скорость дезаминации адениновых нуклеотидов в мышцах, в которых развитие ригора отмечилось при низких величинах pH, была больше чем в условиях высокого pH.

Kolczak T., Magnowska B., Stochmal M. — Length of sarcomers and level of nucleotides in the semi-membranaceous muscle in pigs during postmortal rigor

The length of sarcomers, total level of nucleotides and level of desamination of adenine nucleotides (R value) in muscles of pigs in which postmortal rigor developed at low (< 6.0) and high (> 6.0) pH during 1 h after slaughter was determined. The length of sarcomers and level of nucleotides in the „acid” and „alkalic” period of rigor were similar, however, they were significantly lower in muscles of a slow developing postmortal rigor and normal course of post slaughter glycolysis (pH₁ from 6.3 to 6.7). Speed of desamination of adenine nucleotides in muscles in which postmortal rigor appeared a lower values of pH was higher than that at high pH.

PRAKTYKA LABORATORYJNA

WANDA SAIKO, JAN KISZA, PIOTR PRZYBYŁOWSKI

Zastosowanie dehydrogenazy mleczanowej z serca wołu do oznaczania zawartości pirogronianu w mleku

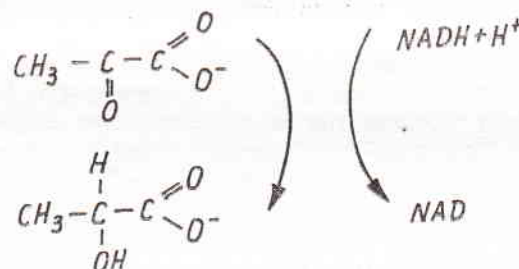
Institut Technologii Mleczarskiej AR-T, 10-057 Olsztyn-Kortowo, blok 35

Warunki rutynowej analizy mleka nie zawsze pozwalają na prowadzenie klasycznych, pracochłonnych badań mikrobiologicznych. Stosowane od dawna próby reduktazowe mają również ograniczoną przydatność, a to ze względu na zróżnicowaną zdolność redukcji barwików przez mikroflorę. Podejmowane są zatem poszukiwania nowych kryteriów oceny mleka.

Oznaczanie zawartości pirogronianu wymaga jednak stosowania metody analitycznej o dużej precyzji i dokładności. Rozpowszechnienie jej w praktyce mleczarskiej uwarunkowane jest również prostą techniką laboratoryjną i możliwością jej automatyzowania, skuteczną konserwacją próbek, niewielkimi kosztami analizy itp. Powszechnie uważa się, że wymaganiom tym odpowiada enzymatyczna metoda oznaczania zawartości pirogronianu w mleku. W krajowych warunkach nie bez znaczenia pozostaje również źródło zaopatrzenia w niezbędne odczynniki i możliwość wyeliminowania lub ograniczenia chemikaliów importowanych.

Zasada oznaczania zawartości pirogronianu w mleku polega na pomiarze ubytku zredukowanej formy dwunukleotydu nikotynoamido-adeninowego (NADH₂), utlenianej podczas redukcji pirogronianu do kwasu mlekowego w obecności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) (8).

Celem niniejszej pracy była ocena możliwości



zastąpienia w metodzie pirogronianowej importowanego preparatu dehydrogenazy mleczanowej z mięśni królika, produkowaną w kraju dehydrogenazą mleczanową z serca wołu.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 20 próbek mleka surowego o zróżnicowanej jakości higienicznej. W każdej z próbek oznaczono zawartość pirogronianu w 10 powtórzeniach oryginalną metodą enzymatyczną podaną przez Suhrena i wsp. (8) oraz metodą zmodyfikowaną przez zastosowanie dehydrogenazy z serca wołu zamiast dehydrogenazy mleczanowej z mięśni królika. Dla uzyskanych szeregów wyników wyliczono precyzję i dokładność metody według wzorów podanych przez Volka (12).

Dla obu wersji metody określono również dokładność metodą dodatków. W tym celu do podzielonej na 11 części próbki mleka surowego dodawano pirogronian sodu w ilościach od 0 do 70 μmol/dm³. W tak przygotowanych próbkach oznaczano zawartość tego związku i wyliczono odsetek „odzyskiwanego” anali-