

35. Todd E. C. D.: J. Fd Protec. 41, 559, 1978.
 36. Todd E. C. D.: J. Fd Protec. 43, 129, 1980.
 37. Vassiliadis P., Trichopoulos D., Patera E., Papaiconomu N.: Zbl. Bakt. I orig. B. 166, 81, 1978.
 38. Zaleski S. J.: Mikrobiologia żywności zwierzęcego pochodzenia. WNT, Warszawa, 1985.
 39. Zaleski S. J., Ławik B., Janiszewski A.: Post. Mikrob. 19, 299, 1980.
 40. Zaleski S. J., Ławik B.: Mat. XIX Zjazdu PTM, Szczecin 1979, s. 351.

Adres autora: dr Bogumił Ławik, ul. Canaletta 2a/5, 51-650 Wrocław

Лавик Б., Залеский С. Я. — Обнаруживание палочек *Salmonella* в размельченной свинине, предназначенной к изготовлению копченостей

Цель исследований состояла в определении частотности и густоты появления палочек *Salmonella* в размельченной свинине, предназначенной к изготовлению копченостей.

В исследованиях отметили, что 30% проб этого мяса показывает наличие палочек *Salmonella*. Появление этих бактерий неравномерно, а густота их появления в положительных пробах колеблется от

не больше одной палочки *Salmonella* в 6,6 г до одной в 4,8—6,0 г и до больше одной в 3 г. Наибольшую частотность изоляции палочек *Salmonella* показали, применяя регенерацию проб в течение 1—48 ч. в 1% буферированной пептоновой воды, проводя размножение на среде DSE, а изоляцию — из среды BGA.

Ławik B., Zaleski S. J. — The presence of *Salmonella* in minced pork destined for meat products

The purpose of the work was to determine the frequency and the number of *Salmonella* sp. in minced pork destined for meat products. It was found that *Salmonella* strains could be found in 30% of samples under study. The number of the strains ranged very much: from not more than one in 6.6 g to one in 4.8—6.0 g; sometimes one could find even more than 1 bacterium in 3 g of meat. The highest frequency of isolation of *Salmonella* was found in case of samples regeneration for 1—48 hours in a 1% sol. of peptone and growth on DSE medium and isolation on BGA medium.

MARIA SADOWSKA

Rola kolagenu w twardości mięsa

Zakład Technologii Utrwalania Żywności i Mikrobiologii Technicznej
 Instytutu Chemii i Technologii Organicznej oraz Żywnościowej Politechniki Gdańskiej,
 ul. Majakowskiego 11/12, 80-952 Gdańsk

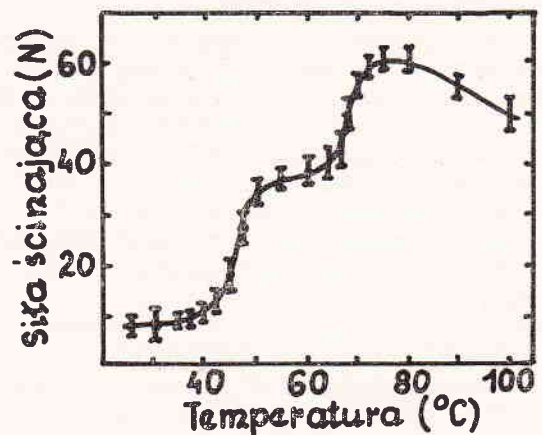
Jednym z wyróżników jakości gotowanego mięsa, szczególnie bydlęcego, jest twardość. Jest ona wynikiem naprężeń w mięsie wywołanych zmianami białek, głównie miofibrylarnych i tkanki łącznej. Można by wątpić, czy kolagen, którego zawartość w mięśniach stanowi średnio 5% pozostałych białek mięśniowych może w istotnym stopniu wpływać na twardość mięsa. W rozważaniach tych należy jednakże uwzględnić rozmieszczenie tkanki łącznej w mięśniu i jej oddziaływanie na włókna mięśniowe.

Podczas ogrzewania mięsa zachodzą zmiany w jego strukturze prowadzące do wzrostu twardości odczuwanej sensorycznie lub mierzonej siłą cięcia. Wzrost ten, jak wykazali Davey i Gilbert (5), zachodzi dwustopniowo (ryc. 1).

Pierwsze zwiększenie twardości pojawia się w zakresie temperatur od 40 do 50°C i spowodowane jest denaturacją kompleksu aktomiozynowego, przejawiającą się utratą rozpuszczalności białek miofibrylarnych, skurczeniem włókien mięśniowych i ubytkiem wody. Jak wykazali Bendall i Resttall (4) w zakresie temperatur 40—50°C włókna kurczą się w kierunku poprzecznym. Zdaniem Offera wyciek cieplny z mięsa wywołany jest ciśnieniem napiętej sieci nie zmienionego kolagenu *endomysium* otaczającej skurczone włókna mięśniowe (cyt. za 2).

Druga faza szybkiego wzrostu twardości mięsa zachodzi w zakresie temperatur od 60 do 75°C i jest wywołana cieplnym skurczeniem

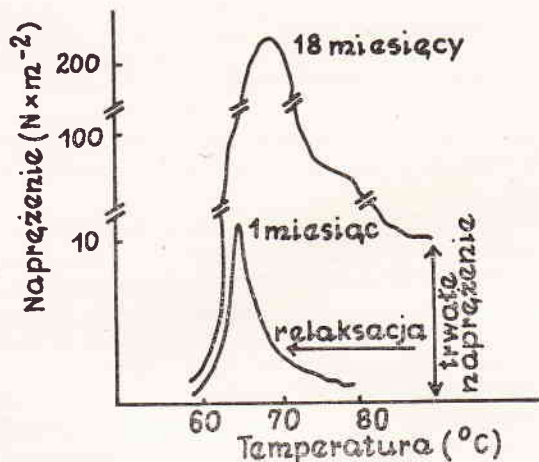
kolagenu. Przy tych temperaturach włókna mięśniowe ulegają niemal wyłącznie wzdłużnemu skurczeniu (5), co zdaniem Baileya (2) trudne jest obecnie do wytłumaczenia. Końcowym efektem naprężeń wywieranych przez kurczące się błony łącznotkankowe na zdenaturowane włókna mięśniowe jest poprzeczny i wzdłużny skurcz mięśnia oraz wyciek cieplny. Według Lockera (3), Marsha i Leeta (14) oraz Herringa i wsp. (7) twardość mięsa zależy od skrócenia sarkomerów wskutek zmian pośmiertnych oraz obróbki cieplnej. Wielkość tego skrócenia zależy nie tylko od stanu biochemicznego mięsa i jego pH, ale także od naprężeń wynikających ze skurczu błon łączno-



Ryc. 1. Wpływ temperatury na twardość ogrzewanego mięsa (wg 5)

tkankowych i zdenaturowanych włókien kolagenowych.

Wielkość naprężenia wytworzonego podczas skurczu kolagenu i naprężenie żelatynizowanych włókien oraz temperatura przy której one powstają, wzrasta proporcjonalnie do liczby termicznie stabilnych wiązań kowalencyjnych. Włókno kolagenowe stabilizowane wiązaniami aldiminowymi wykazuje małe naprężenie wynikające z denaturacji, ponieważ wiązania te są nietrwałe w podwyższonej temperaturze. Dalsze długotrwałe ogrzewanie niszczy wszystkie wiązania sieciujące czyniąc włókno rozpuszczalnym (ryc. 2). Zmniejszenie się liczby labilnych aldiminowych wiązań sieciujących podczas dojrzewania zwierząt i wzrost termicznie stabilnych wiązań keto-iminowych są przyczynami większej twardości mięśni starych zwierząt niż mięśni młodych osobników. Zatem twardość mięsa zależy bardziej od usieciowania niż od zawartości kolagenu.



Ryc. 2. Powstawanie i relaksacja naprężeń w ogrzewanych ścięgnach zwierząt w różnym wieku (wg 2)

Zmiana jakości usieciowania kolagenu, zachodząca podczas starzenia się zwierząt (tab. 1), udokumentowana wynikami licznych prac jest odpowiedzialna za wzrost twardości mięśni starszego bydła. Natomiast nie wiadomo nadal jaki jest udział kolagenu w zróżnicowanej kruchości różnych mięśni tego samego zwierzęcia.

Mięśnie bardzo aktywne ruchowo zawierają więcej kolagenu, na ogół bardziej usieciowanego trwałymi wiązaniami, niż mięśnie spoczynkowe (tab. 2) i zwykle oceniane są jako twardsze (20). Jednakże Kopp (9) stwierdził, że naprężenia powstające w 4 mięśniach bydłych wskutek ogrzewania są proporcjonalne do zawartości kolagenu (współczynnik korelacji $r = 0,98$). Podobnego zdania są inni autorzy (6, 8, 12), chociaż Rozier i Jouve (19) sugerują wykładniczy charakter tej zależności. Natomiast niektórzy znaleźli istotną korelację tylko ze stopniem cieplnej hydrolizy kolagenu (16, 18), który nie zależy od jego zawartości w

Tab. 1. Wpływ wieku bydła na jakość usieciowania kolagenu mięśnia *extensor carpi radialis* (20)

Wiek	Względna zawartość redukujących się wiązań sieciujących ¹⁾ (rozp./min $\times 10^{-2}$)				
	HL	HH	DHLNL	HLNL	HHM
Płód	2	2	10	9	3
1 rok	7	5	30	27	15
3 lata	8	7	12	5	5
6 lat	9	8	5	4	5
10 lat	10	10	4	3	3
15 lat	20	16	3	2	2

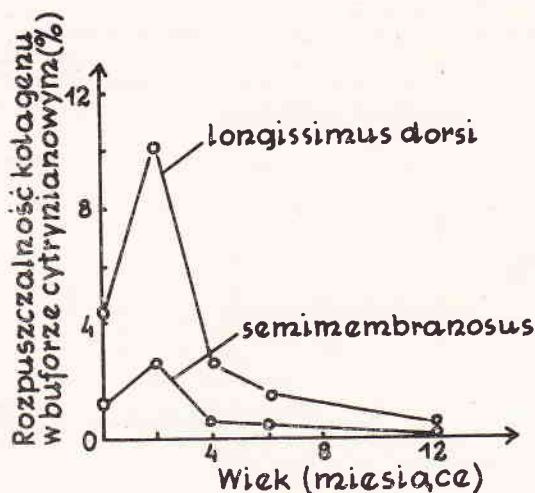
Objaśnienia: ¹⁾ HL — heksozylo-lizyna, HH — heksozylo-hydroksylizyna, DHLNL — dihydroksylizynonorleucyna, HLNL — hydroksylizynonorleucyna, HHM — histydynohydroksymerodesmozana.

Tab. 2. Zawartość kolagenu w różnych mięśniach bydłych (6)

Mięsień	Zawartość kolagenu w suchej masie beztłuszczowej (%)	Rozpuszczalność cieplna kolagenu (%)
<i>Psoas major</i>	2,2	15,4
<i>Longissimus dorsi</i>	2,8	16,9
<i>Gastrocnemius</i>	3,1	18,1
<i>Rectus femoris</i>	3,1	23,1
<i>Triceps brachii</i>	3,4	14,5
<i>Gluteus medius</i>	3,6	12,2
<i>Infraspinatus</i>	3,8	16,5
<i>Rectus abdominis</i>	3,8	16,0
<i>Semimembranosus</i>	4,1	13,7
<i>Semitendinosus</i>	4,8	12,6
<i>Seratus ventralis</i>	4,9	12,2
<i>Pectoralis profundus</i>	4,9	12,3
<i>Latissimus dorsi</i>	5,0	13,3
<i>Biceps brachii</i>	5,1	14,0
<i>Biceps femoris</i>	5,1	11,6
<i>Supraspinatus</i>	5,1	13,2
<i>Extensor carpi radialis</i>	5,2	20,5
<i>Complexus</i>	5,6	12,6

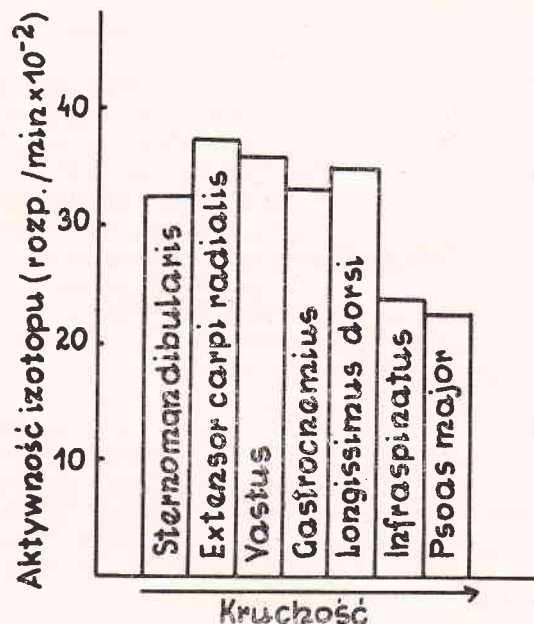
mięsie (tab. 2), zaś inni z ilością pozostałego nie rozpuszczalnego kolagenu (1). Rozbieżność tych poglądów wynika z tego, że w różnych doświadczeniach badano rolę w wybranych mięśniach, w różnym zakresie jego udziału, mięśniach pochodzących od zwierząt w innym wieku, czasie *post mortem* i ogrzewanych przy zmiennych parametrach obróbki cieplnej (szybkość przepływu ciepła, końcowa temperatura, czas termostatowania).

Wykazano znaczne różnice budowy histologicznej poszczególnych rodzajów mięśniowej tkanki łącznej oraz chemicznych i fizycznych właściwości kolagenu wyizolowanego z różnych mięśni tego samego zwierzęcia (17). Kruggel i Field (10) na podstawie oznaczeń rozpuszczalności kolagenu w chlorowodoru guanidyny, lepkości roztworów, zawartości heksoz i wewnątrzcząstkowego usieciowania sugerują, że praca aktywnych mięśni inhibuje powstawanie wiązań sieciujących. Sugestii tych autorów



Ryc. 3. Rozpuszczalność kolagenu świńskich mięśni w zależności od wieku zwierzęcia (wg 15)

nie potwierdzają wyniki badań Mc Claina (15), który stwierdził wyższą rozpuszczalność w rozcieńczonym kwasie octowym kolagenu mięśnia *longissimus dorsi*, niż bardziej fizjologicznie aktywnego mięśnia *semimembranosus* i zauważył, że różnica w rozpuszczalności malała z wiekiem zwierzęcia (ryc. 3). Świadczy to o większej stabilizacji struktury włókien kolagenowych w aktywnych mięśniach. Różnica w rozpuszczalności kolagenu niektórych mięśni wynikać może z innej ilości i proporcji labilnych oraz termicznie stabilnych wiązań sieciujących, które nie ulegają zniszczeniu nawet w warunkach kwaśnej hydrolizy białka. Przeważający udział wiązań dehydro-di-hydroksylizy-nonorleucyny jest przyczyną nierozpuszczalności kolagenu kości i chrząstek. Prawie dwukrotnie więcej tych wiązań zawiera kolagen mięśnia *extensor carpi radialis*, niż *psoas major*, które określane są odpowiednio jako twarde i kruche (ryc. 4). Trudno jest jeszcze na obecnym etapie badań wyjaśnić przyczyny zróżnicowanej twardości innych mięśni, których kolagen zawiera podobną ilość termicznie stabilnych wiązań sieciujących. W tych rozważaniach trzeba bowiem również uwzględnić pozostałe 2 czynniki wpływające na twardość mięsa tzn. wyjściowy stan skrócenia sarkomerów oraz rolę konektyny. Bailey (2) rozważa możliwość wpływu różnej budowy histologicznej *perimysium* i *endomysium* mogącej wpływać na wielkość naprężeń wywieranych przez te błony na miofibryle. W pewnych mięśniach *perimysium* utworzona jest z kilku warstw równoległych włókien kolagenowych ułożonych pod różnym kątem w stosunku do siebie. Powstające w tych mięśniach naprężenia mogą się różnić od wywieranych przez równoległe ułożone włókna tak jak w ścięgnach. Ponadto pewną rolę w wielkości skurczu włókien mięśniowych i wrażeniu twardości odgrywa grubość *perimysium*, a także udział w niej gru-



Ryc. 4. Względna zawartość w kolagencie zredukowanych aldiminowych wiązań sieciujących znacznym NaBH₄ a kruchość mięśni (wg 20). Mięśnie uszeregowano w kolejności wzrastającej kruchości

bych włókien kolagenowych typu III i cienkich typu I, różniących się jakością usieciowania (3).

Dotychczasowe wyniki badań jednoznacznie wykazują współdziałanie kolagenu w kształtowaniu reologicznych właściwości gotowanego mięsa. Wiadomo też, że tkanka łączna różnych mięśni różni się może zawartością i jakością kolagenu, organizacją włókien kolagenowych, składem chemicznym kolagenu, elastyny, mukopolisacharydów, grubością, udziałem poszczególnych typów genetycznych kolagenu. Nie jest natomiast znany wpływ zróżnicowania tkanki łącznej na wielkość naprężeń powstających w ogrzewanym mięsie, determinujących jego twardość. Ustalenie, która z wymienionych cech tkanki łącznej ma zasadniczy i jaki udział w zróżnicowanej twardości różnych mięśni tego samego zwierzęcia może przyczynić się poprzez zastosowanie odpowiednich zabiegów technologicznych do poprawy jakości przetworów mięsnych.

Piśmiennictwo

- Alexander A. S., Fox J. D.: J. Anim. Sci. 41, 284, 1975.
- Bailey A. J.: The chemistry of intramolecular collagen, w: Recent Advances in the Chemistry of Meat, red. A. J. Bailey ARR.C. Meat Research Institute. The Royal Society of Chemistry Burlington House, London W IV OBN 1983.
- Bailey A. J., Sims T. J.: J. Sci. Fd Agric. 28, 565, 1977.
- Bendall J. R., Restall D. J.: Meat Sci. 8, 93, 1983.
- Davey G. L., Gilbert K. V.: J. Sci. Fd Agric. 25, 931, 1974.
- Transfield E.: J. Sci. Fd Agric. 28, 833, 1977.
- Herring H. K., Cassens R. G., Suess G. G., Brungardt V. H., Briskey E. J.: J. Fd Sci. 32, 317, 1967.
- Jeremiah L. E., Martin A. H.: Can. J. Anim. Sci. 61, 53, 1981.
- Koop J.: Proc. XXIII Europ. Congress Meat Res. Workers, Moskwa 1977, s. 8.
- Kruggel W. G., Field R. E.: Proc. Am. Soc. Anim. Sci. Western Section 25, 120, 1974.
- Kruggel W. G., Field R. A.: J. Fd Sci. 36, 1114, 1971.
- Lawrie R. A.: Meat Science. Oxford, Pergamon Press, 1974.

13. Locker R. H.: Fd Res. 25, 304, 1960.
14. Marsh B. B., Leet N. G.: J. Fd Sci. 31, 450, 1966.
15. Mc Clain P. E.: Chemistry of collagen crosslinking: relationship to aging and nutrition, w: Advances Experimental Medicine and Biology, t. 86, red. Friedman, Plenum Press, New York 1977.
16. Nakamura R., Sekoguchi S., Sato Y.: Poultry Sci. 54, 1604, 1976.
17. Paul P. C., Mandigo R. W., Arthaud V. H.: J. Fd Sci. 35, 505, 1970.
18. Pfeiffer N. E., Field R. A., Varnell T. P., Krugell W. G., Kaiser I. I.: Fd Sci. 37, 897, 1972.
19. Rozier J., Jouve J. L.: Indust. Alim. Argic. 95, 371, 1978.
20. Shimokomaki M., Elsdon D. F., Bailey A. J.: J. Fd Sci. 37, 892, 1972.

Adres autora: dr inż. Maria Sadowska, ul. Kręta 36, 80-217 Gdańsk

PATOLOGIA I TERAPIA

MAREK LESIAK, ANNA KŁOSSOWSKA, KRZYSZTOF JANIĄK, MARIA DROZDZYŃSKA

Aktywność N-acetyl-B-D-glukozaminidazy w mleku jako wskaźnik występowania mastitis u krów

Zakład Higieny Zwierząt Instytutu Weterynarii Oddział w Bydgoszczy,
ul. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Obecne metody diagnostyki *mastitis* oparte są na badaniach zawartości komórek somatycznych w mleku (Terenowy Odczyn Komórkowy, liczniki elektroniczne). Wymagają one dla określenia formy zapalenia — również badań bakteriologicznych bardzo pracochłonnych i kosztownych. Bez tych badań nie ma możliwości wykrycia zapaleń podklinicznych, które stanowią około 70% ogółu zapaleń wymion. W celu ograniczenia ilości badań bakteriologicznych podejmuje się próby opracowania innych metod diagnostycznych opartych na zmieniającym się składzie chemicznym mleka (np. laktoza, chloroki, sól, potas) i enzymatycznym (wzrost aktywności katalazy, dehydrogenazy mleczanowej (LDH) i N-acetylo-B-D-glukozaminidazy (NAGaza)) przy powstającym i toczącym się procesie zapalnym. Szczególnie przydatne do zastosowania w praktyce wydaje się oznaczenie aktywności tego ostatniego enzymu. NAGaza jest enzymem lizosomalnym uwalnianym z uszkodzonych komórek. Stwierdzono, że aktywność tego enzymu wzrasta wraz z nasileniem się procesu zapalnego wymienia (1). Do opracowania szybkiej metody oznaczania aktywności NAGazy wykorzystano fluorometrię (5). Metodę tę zastosowano do wykrywania stanów zapalnych gruczołu mlecznego krów w fermach ppgr i w gospodarstwach indywidualnych na terenie woj. bydgoskiego.

Materiał i metody

Do badań pobierano mleko z poszczególnych ćwiartek wymienia od krów rasy ncb przebywających w kilku różnych oborach na terenie województwa bydgoskiego. Łącznie przebadano 969 prób mleka pobieranych około 4 godziny po doju porannym. Przy wykrywaniu stanów zapalnych wymienia stosowano następujące testy: zawartość komórek somatycznych w mleku, oznaczanie bakterii patogennych w mleku, określanie aktywności NAGazy w mleku.

Zawartość komórek somatycznych w mleku określano testem oborowym z płynem Mastirapid (TOK) oraz metodą zalecaną przez Międzynarodową Federa-

cję Mleczarską (IDF) opracowaną dla elektronicznego liczenia komórek somatycznych w mleku, do której zastosowano aparat Laborscale Analyser typ PSL-1, PSA-1 produkcji węgierskiej. Badanie bakteriologiczne prób mleka wykonywano standardowymi metodami obowiązującymi w Polsce.

Aktywność NAGazy określano testem „Eflab Milk NAGaza Test” proponowanym przez fińską firmę Lab-systems. Test ten został zmodyfikowany przez Mattilę (5) i dostosowany do techniki mikromiareczkowania na płytkach przy użyciu fluorescencji, w oparciu o metodę opracowaną przez Leaback i Walker (4) i Kitchen (2) z użyciem 4 metyloumbelliferylu-N-acetylo-B-D-glukozaminidazy (MUAG) jako substratu. Na płytkach do mikromiareczkowania mieszano 10 µl mleka z 50 µl roztworu substratu (2,25 mM MUAG w 0,25 M buforu cytrynianowego) przy pH 4,6. Po 15 min. inkubacji w temp. 25°C zatrzymywano reakcję katalizowaną przez NAGazę mleka, dodając do próby 100 µl 0,2 M buforu (glizyna — NaOH) w celu zmiany pH do 10,5. Następnie dokonywano pomiarów fluorescencji uwolnionego w reakcji 4 metyloumbelliferonu aparatem Fluorocan firmy Labsystems połączonym z mikrokomputerem, co pozwoliło po zastosowaniu odpowiedniego programu na magazynowanie i przetwarzanie danych łącznie z interpretacją wyników. Przeprowadzono analizę otrzymanych wyników. Porównywano procentową zgodność wyników testów komórkowych z aktywnością NAGazy. Badano wzrost aktywności tego enzymu w mleku przy zapaleniach podklinicznych i zapaleniach utajonych wymienia wywołanych przez różne patogeny. Istotność różnic w aktywności tego enzymu w ćwiartkach zakażonych i niezakażonych obliczano testem t-Studenta.

Badanie bakteriologiczne prób mleka prowadzono rutynowymi metodami (Instrukcja Nr 48 Dep. Wet. Min. Rol. z dnia 22 września 1978 r.).

Wyniki i omówienie

Dane zawarte w tab. 1 przedstawiają wyniki badań tych samych prób mleka ćwiartkowe-go trzema testami diagnostycznymi. Procentowy rozkład wyników w poszczególnych przedziałach zawartości komórek jest zbliżony dla wszystkich testów. Jedynie w przypadku TOK zauważa się mniejszą czułość tego testu w przedziale II, co spowodowało wzrost liczby wyników w przedziale I. Jednakże w żadnym z