

BADANIA NAD ZMIANAMI DOSTĘPNYCH GRUP TIOLOWYCH I POTENCJAŁU OKSYDO-REDUKCYJNEGO W MIĘSIE WODNISTYM

ANDRZEJ PISULA

Katedra Technologii Mięsa, SGGW, Warszawa

Od szeregu lat obserwowano z różną częstotliwością w poszczególnych krajach występowanie mięsa odznaczającego się bardzo jasną barwą, małą zdolnością wiązania wody podczas procesów technologicznych, nieelastyczną miękką konsystencją oraz dużym wyciekami termicznym. Mięso to, nazwane w Polsce „mięsem wodnistym” — jest powodem dużych strat materialnych ze względu na swoją obniżoną przydatność technologiczną.

W okresie ostatnich 20 lat przeprowadzono wiele doświadczeń, których celem było ustalenie przyczyn powodujących powstawanie wodności mięsa, poznanie samego mechanizmu powstawania oraz znalezienie metod zabezpieczających przed występowaniem tego niekorzystnego dla przetwórstwa stanu mięśni. Mimo jednak dużych wysiłków badawczych, zagadnienie w dalszym ciągu pozostaje niejasne, a sposoby zwalczania nieskuteczne.

Celem naszej pracy było wyjaśnienie wąskiego, ale dotychczas nie znanego odcinka wiedzy w tym zakresie, a mianowicie prześledzenie i porównanie poubojowych zmian ilości dostępnych grup —SH w homogenatach i wyciągach z mięśni wodnistych i normalnych oraz zaobserwowanie szybkości zmian potencjału oksydo-redukcyjnego w tych mięśniach.

Wyniki pozostałych pomiarów uwzględnionych w niniejszej pracy (pH_1 , pH, wodochłonności, temperatury oraz ilości azotu w poszczególnych frakcjach), chociaż były jedynie powtórzeniem przeprowadzonych w innych pracach obserwacji, dostarczyły ciekawego materiału porównawczego, a jednocześnie były pomocne przy interpretowaniu zmian ilości dostępnych grup —SH i potencjału redox.

BADANIA WŁASNE

Materiałem doświadczalnym były odcinki mięśni *longissimus dorsi* wycięte z 10 półtuszy między 13 kręgiem piersiowym a 5 kręgiem lędź-

wiowym w około 50 minut po uboju. Podstawą do wybrania materiału doświadczalnego były pomiary pH_1 . Przyjęliśmy, że mięśnie należą do grupy wodnistych, gdy $\text{pH}_1 < 5,9$ lub do grupy normalnych (kontrolnych), gdy $\text{pH}_1 > 6,1$.

Okres czasu związany z przeprowadzeniem czynności poubojowych, pomiaru wartości pH_1 , wycięciem i przewiezieniem próbki do laboratorium oraz przygotowaniem próbki do oznaczeń, wynosił 1,5—2 godzin od momentu klucia. Wypreparowany odcinek mięśnia, owinięty w folię polietylenową (w celu zapobieżenia obsychania powierzchni mięsa), przechowywano w lodówce. Pomiary potencjału oraz pobieranie próbek do pozostałych oznaczeń dokonywano po 2, 4, 6, 12, 18, 26, 36 i 50 godzinach od momentu uboju.

Pomiar potencjału oksydo-redukcyjnego przeprowadzono według Waltersa i Taylora (1961) i Taylora i Waltersa (1964) oraz Barnes i Ingrama (1955). Pomiar wykonano elektrodami platynowymi (sztyletowymi) wobec porównawczej elektrody kalomelowej przy pomocy potencjometru „Ridan” typ PCR-E.

Pomiar wartości pH_1 wykonano na pH-metrze bateryjnym „Radiometer” typ PHM-24 przy użyciu elektrod sztyletowych.

Pozostałe pomiary pH wykonano na pH-metrze bateryjnym „Ridan” typ PCR-E zanurzając elektrody w mieszaninie 5 g zmielonego mięsa i 5 ml wody świeżo redestylowanej.

Temperaturę mięśnia przechowywanego w lodówce oraz temperaturę powietrza w lodówce odczytano z wykresów elektronowego rejestratora temperatury „Ultrakust”.

Wodochłonność oznaczono metodą wirówkową w modyfikacji Wierbickiego i wsp. (1962) stosując przyspieszenie 4500 g.

Grupy —SH oznaczano metodą mikroamperometrycznego miareczkowania wg Benescha i Benescha (1962) w modyfikacji Hamma i Hoffmanna (1966) w homogenatach mięśniowych (grupy —SH „ogólne”) w wyciągach wodnych (grupy —SH „sarkoplazmatyczne + niebiałkowe”) oraz w wyciągach bezbiałkowych (grupy —SH „niebiałkowe”).

W roztworach przygotowywanych do oznaczeń grup —SH oznaczano azot mikrometodą Kjeldahla.

Wyniki oznaczeń ilości dostępnych grup —SH wyrażano w μmol ach w przeliczeniu na 1 mg azotu.

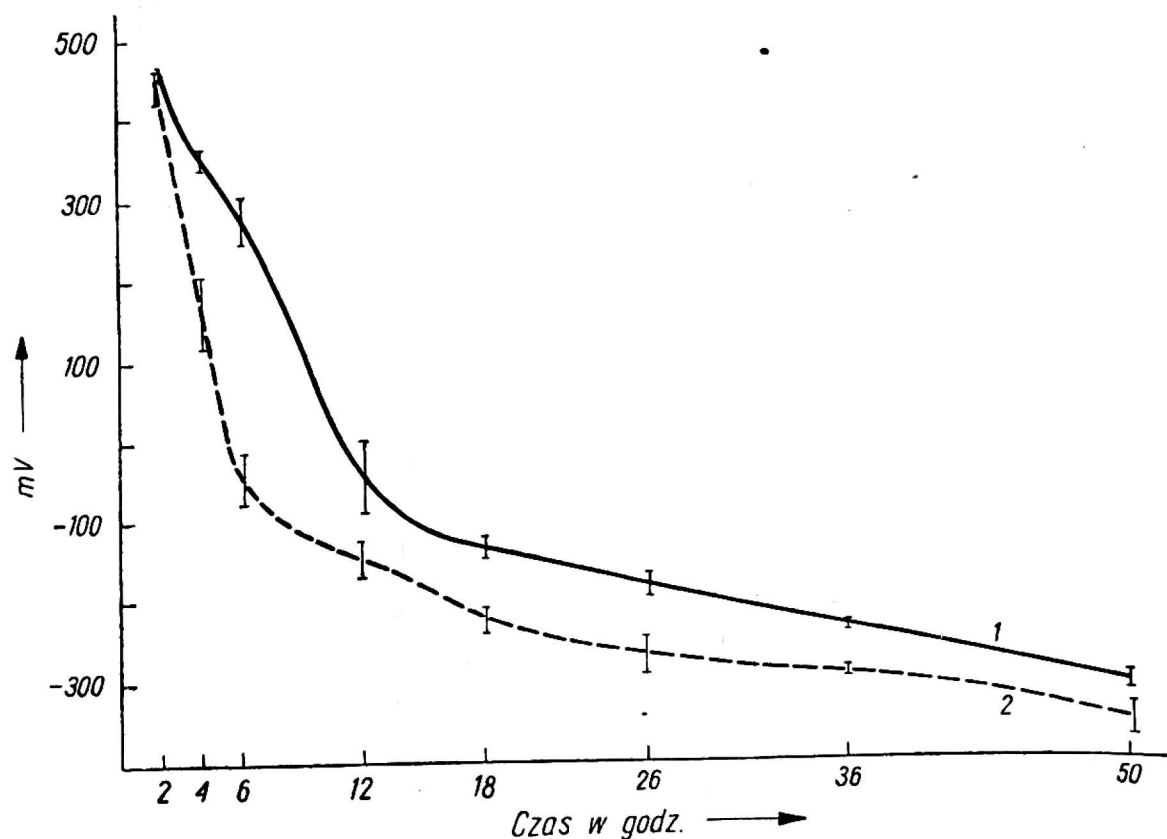
Z uzyskanych danych doświadczalnych wyliczano ilości dostępnych grup —SH we frakcji „sarkoplazmatycznej” i „miofibrylarnej”.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Przeprowadzone obserwacje oraz pomiary pH, wodochłonności i temperatury wykazały, że badane grupy mięśni charakteryzowały się własnościami, które według danych literaturowych można było określić jako

typowe dla mięśni wodnistych i normalnych. Grupa mięśni wodnistych wykazywała bardzo luźną, miękką konsystencję, jasną barwę i wilgotną powierzchnię. Nie stwierdzono w tej grupie mięśni wyraźnych oznak stężenia pośmiertnego, które — sądząc po zmianach wartości pH i wodochłonności — powinno wystąpić szybciej o około 6 godzin w mięsie wodnistym niż w kontrolnym. Niższa o około 10 jednostek (procentowych) wodochłonność mięsa wodnisteo niż kontrolnego wpływa niewątpliwie na mniejszą przydatność technologiczną tego rodzaju mięsa. Kolor mięśni kontrolnych można było określić jako czerwony lub jasnoczerwony. W okresie trwania stężenia pośmiertnego (tzn. około 2—10 godzin po uboju) można było dotykem stwierdzić wyraźne stwardnienie mięśni. Po okresie ustąpienia stężenia mięśnie kontrolne wykazywały dobrą konsystencję oraz miały suchą powierzchnię (Pisula, 1968).

Wyniki poubojowych pomiarów potencjału oksydo-redukcyjnego przedstawiono na ryc. 1. Na podstawie tego wykresu można stwierdzić, że w mięsie wodnistym w okresie pierwszych 12 godzin po uboju spadek potencjału redox jest znacznie szybszy i w pewnym stopniu wyprzedza zmiany zachodzące w mięśniach normalnych. Po okresie około 12 godzin od momentu uboju szybkość spadku potencjału była znacznie mniejsza



Ryc. 1. Zmiany potencjału oksydo-redukcyjnego. 1 — mięso normalne, 2 — mięso wodniste

niż w poprzednim okresie i była podobna w obu rodzajach badanych mięśni. Po okresie około doby od momentu uboju zmiany potencjału obu grup mięśni były nieznaczne, przy czym mięso wodniste wykazywało potencjał stale niższy od kontrolnego o około 80 mV.

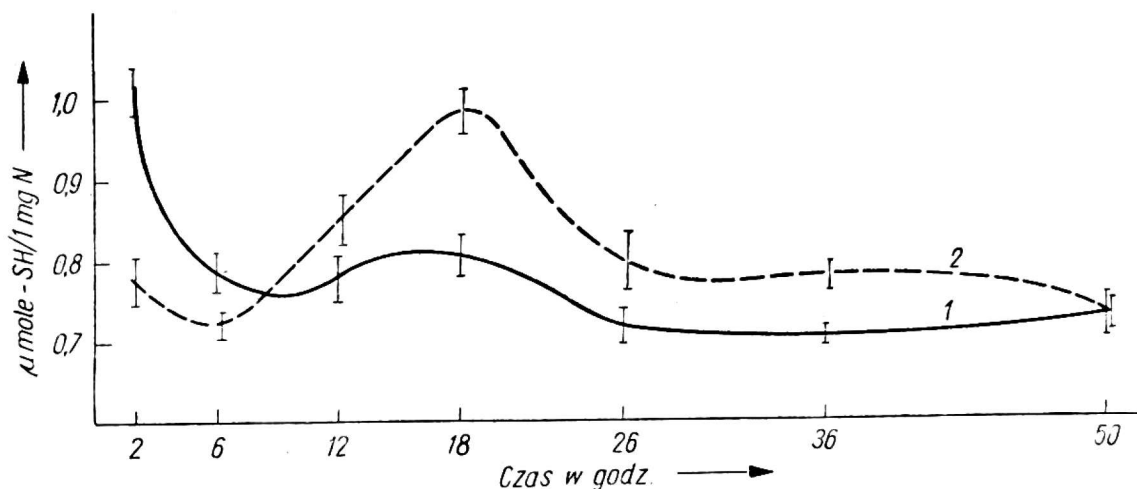
Obserwowany bezpośrednio po uboju gwałtowny spadek potencjału oksydo-redukcyjnego tkanki mięśniowej jest wg Barnes i Ingrama (1955) efektem wyczerpywania się zapasów tlenu. Uzyskane w naszych doświadczeniach wyniki pomiarów potencjału redox wskazują, że zapas tlenu w mięśniach wodnistych został wyczerpany wcześniej niż w mięśniach normalnych. Wydaje się nam, że wcześniejsze wyczerpanie się zapasu tlenu w mięśniach wodnistych może być wynikiem albo intensywniejszego oddychania wewnątrzkomórkowego po uboju, lub też wynika z mniejszej zdolności magazynowania tlenu przez mięśnie uboższe w mioglobinę. Brak tlenu, głównego akceptora elektronów, może w pewnym stopniu tłumaczyć zwolnienie, a nawet zahamowanie przebiegu szeregu reakcji chemicznych i biochemicznych, czego odzwierciedleniem może być obserwowane w naszych doświadczeniach ustalanie się na pewnym stałym poziomie wartości pH, wodochłonności i potencjału.

Utrzymywanie się wartości potencjału na pewnym stałym poziomie po upływie około doby od momentu uboju jest wg Barnes i Ingrama (1955) możliwe przy przechowywaniu tkanki mięśniowej w warunkach zabezpieczających przed rozwojem mikroflory. Opierając się na tym stwierdzeniu możemy przypuszczać, że zaobserwowany w naszych doświadczeniach nieznaczny spadek potencjału w okresie po upływie około doby od momentu uboju jest spowodowany czynnikami egzogennymi. Niższy poziom potencjału redox w mięsie wodnistym po okresie około doby od momentu uboju jest prawdopodobnie wynikiem szybszych i dalej przebiegających procesów biochemicznych, zachodzących przede wszystkim w okresie pierwszych 12 godzin po uboju.

Jeżeli przyjąć za Barnes i Ingramem (1955), że z chwilą ustępowania stężenia pośmiertnego następuje zmniejszenie tempa spadku potencjału redox, to z naszych doświadczeń wynika, że w mięśniach wodnistych objawy stężenia pośmiertnego ustąpiły o około 6 godzin wcześniej niż w mięsie kontrolnym.

Na podstawie wyników amperometrycznego miareczkowania dostępnych grup $-SH$ i oznaczeń ilości azotu w homogenatach i wyciągach mięśniowych stwierdzono, że we frakcji miofibrylarnej znajduje się około 75% dostępnych grup $-SH$ całej tkanki mięśniowej, a tym samym zmiany we frakcji miofibrylarnej decydują o poubojowych zmianach ilości tych grup w całej tkance mięśniowej. Zmiany ilości dostępnych grup $-SH$ w białkach sarkoplazmatycznych i w wyciągach niebiałkowych są stosunkowo małe (mały jest również udział tych frakcji w azocie ogólnym tkanki mięśniowej) i nie mają one większego wpływu na zmiany ilości dostępnych grup $-SH$ całej tkanki. Nie zaobserwowano również większych różnic w przebiegu poubojowych zmian ilości dostępnych grup $-SH$ we frakcji sarkoplazmatycznej i niebiałkowej z obu badanych grup mięśni (Pisula, 1968).

Na rysunku 2 przedstawiono poubojowe zmiany ilości dostępnych grup $-SH$ w białkach miofibrylarnych z mięśni wodnistych i kontrolnych. Na podstawie tego wykresu można stwierdzić, że charakter poubojowych zmian ilości dostępnych grup $-SH$ w białkach miofibrylarnych jest podobny w tendencjach, ale różni się istotnie w zakresie uzyskiwanych wartości.



Ryc. 2. Zmiany ilości dostępnych grup $-SH$ we frakcji białek. 1 — mięso normalne, 2 — mięso wodniste

Obserwując wykres poubojowych zmian ilości dostępnych grup $-SH$ we frakcji miofibrylarniej można stwierdzić, że podobnie jak w przypadku zmian pH, wodochłonności i potencjału redox, największe zmiany zachodzą w okresie pierwszej doby po uboju. Jednocześnie można zaobserwować występowanie trzech faz, które w pewnym stopniu są zsynchronizowane w czasie ze zmianami fizykochemicznymi występującymi w tkance mięśniowej po uboju.

Pierwsza faza obejmuje rozwijanie się stanu stężenia pośmiertnego w obu badanych rodzajach mięśni i charakteryzuje się spadkiem zawartości dostępnych grup $-SH$. Spadek ten jest wyraźny w wypadku mięsa kontrolnego. Obserwując przebieg spadku ilości dostępnych grup $-SH$ w mięsie wodnistym w okresie między 2 a 6 godziną po uboju można odnieść wrażenie, że przebieg tego odcinka krzywej jest końcową fazą spadku ilości dostępnych grup $-SH$ podobnego, jaki wykazywała krzywa dla mięsa kontrolnego. Ze względu na niemożliwość wykonania pierwszego oznaczenia wcześniej niż po 2 godzinach od momentu uboju, nie udało się nam zaobserwować początkowej fazy spadku krzywej dla mięsa wodnistego, jak również uzyskać informacje o początkowej (bepośrednio po uboju) ilości dostępnych grup $-SH$ w obu badanych grupach mięśni.

Opierając się na hipotezach szeregu autorów (Mirsky, 1936; Bailey i Perry, 1947; Weber, 1957; Levy i Koshland, 1959) można przypuszczać, że obserwowany w naszych doświadczeniach poubojowy spadek ilości dostępnych grup $-SH$ we frakcji białek miofibrylarnych jest wynikiem bezpośredniego udziału grup $-SH$ w procesie skurczu pośmiertnego.

Druga faza zmian obejmuje ustępowanie stężenia poubojowego i charakteryzuje się wzrostem (nieznacznym w wypadku mięsa kontrolnego) ilości dostępnych grup $-SH$. Jest prawdopodobne, że wzrost ilości dostępnych grup $-SH$ w mięsie wodnistym oraz pewna tendencja do wzrostu w mięsie kontrolnym jest wynikiem uwalniania się grup $-SH$ w procesie rozkruczu mięśnia. Te uwolnione grupy $-SH$ o dużej reaktywności ulegają prawdopodobnie szybko w mięsie normalnym utlenieniu do grup $-S-S-$ lub biorą udział w innych reakcjach chemicznych, stając się niedostępne dla odczynników. Można przypuszczać, że w mięsie wodnistym, w którym wiele reakcji przebiegało w inny sposób niż w mięsie kontrolnym (w którym środowisko jest słabiej utleniające — niższy wynik potencjału redox), uwolnione grupy $-SH$ są powtórnie utleniane lub wiązane w innych reakcjach chemicznych nieco wolniej lub z pewnym opóźnieniem w stosunku do mięsa kontrolnego.

Trzecia faza zmian obejmuje spadek ilości dostępnych grup $-SH$ i ustabilizowanie się wyników pomiarów na pewnym stałym poziomie po upływie około doby od momentu uboju do końca naszych obserwacji. Podobne utrzymywanie się wyników pomiarów na pewnym stałym poziomie po upływie doby od momentu uboju zauważono w wypadku zmian pH, wodochłonności i potencjału redox, co w sumie może być jeszcze jednym dowodem, że w tkance mięśniowej po okresie gwałtownych zmian nastąpił okres stabilizacji, a wiele reakcji biochemicznych i fizykochemicznych przebiega w znacznie wolniejszym tempie, a w niektórych wypadkach i w innym kierunku niż poprzednio.

Reasumując można stwierdzić, że przedstawiona praca uzupełniła w pewnym stopniu nasze wiadomości o przebiegu niektórych zjawisk w mięsie wodnistym, a jednocześnie jeszcze raz wykazała, że poubojowe procesy dojrzewania w mięsie wodnistym przebiegają szybciej niż w mięsie normalnym. Powoduje to zmiany właściwości fizykochemicznych mięsa wodnisteo, a tym samym obniża jego przydatność użytkową.

LITERATURA

1. Bailey K., S. V. Perry, 1947. *Biochim et Biophys. Acta*, 1:506.
2. Barnes E. M., M. Ingram, 1955. *J. Sci. Food Agric.*, 6:448.
3. Benesch R., R. Benesch, 1962. *Methods of Biochemical Analysis*, 10:43.
4. Hamm R., K. Hofmann, 1966. *Z. Lebensm. Untersuch. u. Forshung*, 130:133.
5. Levy H. M., D. E. Jr. Koshland, 1959. *J. Biol. Chemistry*, 234:1102.
6. Mirsky A. E., 1936. *J. Gen. Physiol.*, 19:571.
7. Pisula A., 1968. Praca doktorska, SGGW, Warszawa.
8. Taylor A. Mc. M., C. L. Walters, 1969. Xth Europ. Meeting of Meat Research Workers, Roskilde.
9. Walters C. L., A. Mc M. Taylor, 1961. VIIth European Meeting of Meat Research Workers, Warsaw.

10. Weber H. H., 1957. Sowremennyye Problemy Biochimi, Izdatelstwo Inostrannoi Literatury, Moskwa, 263, s.
11. Wierbicki E., M. G. Tiede i R. C. Burrell, 1962. Fleischwirtschaft, 14:951.

Анджей Писуля

ИССЛЕДОВАНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ КОЛИЧЕСТВА
ДОСТУПНЫХ СУЛЬФИДРИЛЬНЫХ ГРУПП
И ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА
В ВОДЯНИСТОМ МЯСЕ

Резюме

На 10 свиных мышцах *longissimus dorsi* (5 водянистых и 5 нормальных) проведены были исследования послеубойных изменений pH, окислительно-восстановительного потенциала, водопоглощаемости и температуры, а также изменений количества доступных SH— групп.

Установлено, что в водянистом мясе послеубойное падение окислительно-восстановительного потенциала в водянистом мясе происходит быстрее чем в нормальном. Проведенные исследования показали, что послеубойные изменения общего количества доступных SH— групп мышцы зависят от количественных изменений SH— групп в миофибрилярных велках мышцы.

Тенденция в послеубойных изменениях количества доступных SH— групп в миофибрилярной фракции белков водянистого и нормального мяса сходны по своим стремлениям, но различаются по размерам. Вероятно, что сульфгидрильные группы непосредственно участвуют в процессе послеубойного окоченения.

Полученные результаты подтверждают предположение, что в водянистом мясе ряд послеубойных биохимических и химических реакций происходит своевременно и быстрее, чем в мясе нормальном.

Andrzej Pisula

STUDY ON CHANGES OF THE AMOUNT OF AVAILABLE SULFHYDRYL
GROUPS AND OXIDATION-REDUCTION POTENTIAL IN WATERY (PSE) MEAT

Summary

Oxidation-reduction potential, pH, water-holding capacity and temperature, as well as the amount of available SH-groups in homogenates and extracts, were measured in 10 *longissimus dorsi* muscle (5 PSE and 5 Normal muscles).

On the basis of the results of the investigation it can be seen that in PSE muscles the post mortem drop of oxidation-reduction potential is faster than in normal muscles.

Changes in the amount of available SH-groups in muscle tissue depend mostly on the amount of these groups in the myofibrillar fraction.

Post-mortem changes in the amount of SH-groups in the myofibrillar fraction of PSE and normal muscles are similar in their general pattern but they differ in their range. Probably, —SH groups take part in the process of rigor mortis.

The results confirm the hypothesis on the faster or earlier course of many biochemical and chemical reactions and processes in PSE muscles post mortem.