

ZMIANY BIAŁKOWE W MIĘSIE WODNISTYM

TADEUSZ KOTIK

Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN
Zakład Mięsoznawstwa, Bydgoszcz

Pierwsze badania Ludvigsen z 1953 roku nad występowaniem mięsa wodniste u świń zwróciły uwagę na dużą przydatność pomiaru pH i temperatury tuszy 45 minut po uboju przy ocenie tego zjawiska. Na podstawie tych oznaczeń stwierdził on, że mięso wodniste charakteryzuje się niskim pH (oznaczone później pH_1), którego wartości wahają się w granicach 5,3—5,5 przy temperaturze 41,5—43°C. W mięsie prawidłowym te wartości wynoszą 6,8—7,0 przy 40—40,5°C.

Szybki spadek pH w mięsie tuż po uboju zwierzęcia spowodowany jest wzmożonym procesem glikolitycznym, który jest procesem egzotermicznym, stąd znaczne wydzielanie ciepła. Jest rzeczą oczywistą, że szybkie zakwaszenie mięśnia wraz z podwyższeniem się temperatury tuszy nie może nie mieć wpływu na niektóre właściwości fizykochemiczne białek mięśniowych.

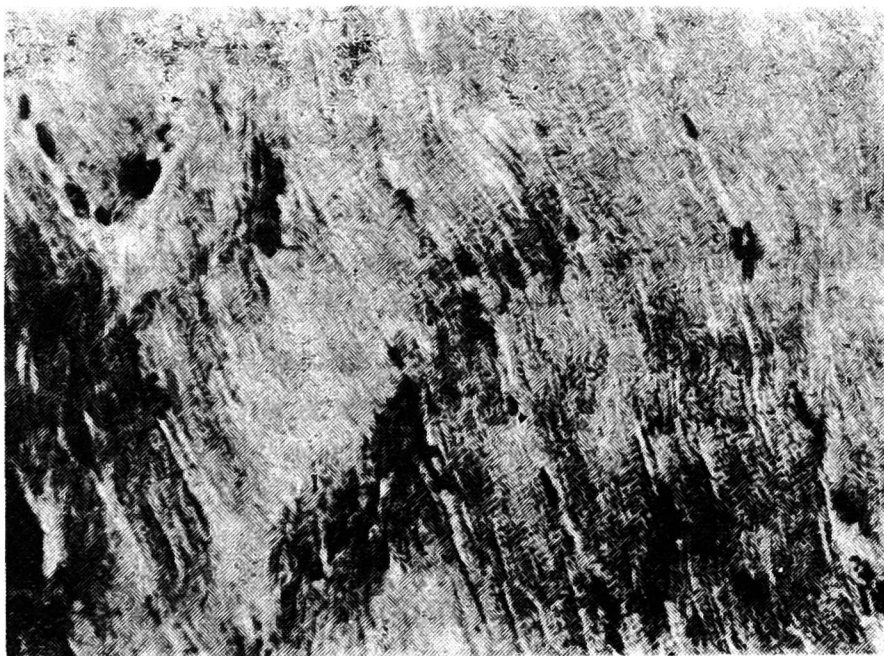
W preparatach mikroskopowych mięsa wodniste Ludvigsen (1953, 1954) zauważył znaczny obrzęk międzykomórkowy tkanki łącznej, otaczającej włókna mięśniowe, oraz brak poprzecznego prążkowania. Lawrie i in. (1958), w mięsie o niskim pH, przy użyciu metod histologicznych, zaobserwowali zmiany w żelu białkowym, który zdawał się być skoagulowany. Przy pH 4,3 wszystkie obserwowane fibryle były zmienione, przy czym w niektórych poprzeczne prążkowanie było zatarte. Fibryle o zachowanym prążkowaniu były skręcone i pofałdowane. Odmienne stanowisko w tym względzie zajmuje Wismer-Pedersen (1959), który donosi, że nie zauważył pod mikroskopem żadnych różnic między preparatami mięsa wodniste i prawidłowego. Ten sam autor (Wismer-Pedersen, 1959) podaje ponadto, że w wyniku procesów pośmiertnych zachodzących w tkance mięsa wodniste, stwierdza się zmiany w białkach mięśniowych, których widocznym objawem jest zmniejszona ich rozpuszczalność w 0,6 m KCl (ryc. 3). Tłumaczy on to tym, że zmniejszona rozpuszczalność białek mięśniowych może być spowodowana częściową ich denaturacją, szczególnie aktomiozyny. Także Lawrie i in. (1961) donoszą o zmniejszeniu się rozpuszczalności białek miofibrylarnych

z około 50% do 20% azotu całkowitego przy pH ostatecznym mięsa 5,05 (tabela 1).

Badaczom tym wydaje się, że pH ostateczne nie jest całkowicie odpowiedzialne za rozpuszczalność białek miofibrylarnych w mięsie wodnistym, ponieważ mieli próbki mięsa o pH ostatecznym 5,9, które były



Ryc. 1. Obraz mikroskopowy mięsa wodnistego (Ludvigsen, 1954)

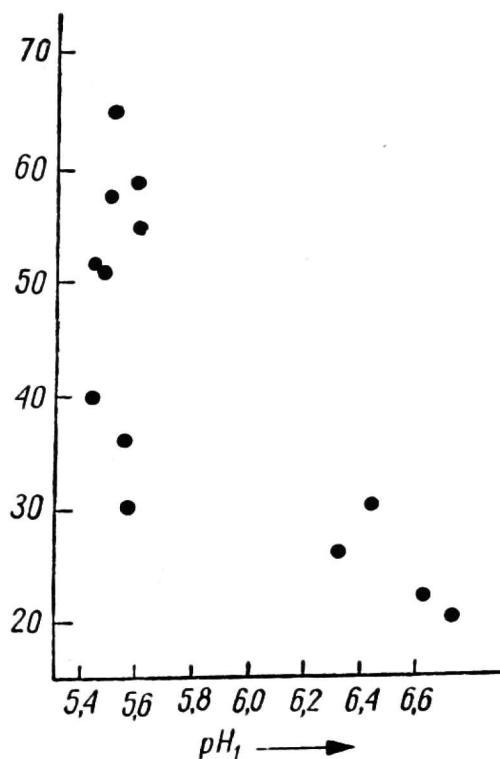


Ryc. 2. Obraz mikroskopowy mięsa prawidłowego (Ludvigsen, 1954)

wodniste i z których wyekstrahowane białko miofibrylarne stanowiło tylko 30% azotu całkowitego. Bendall i Wismer-Pedersen (1962) wykazali, że wyizolowane i przemyte miofibryle z mięsa wodnistego, są znacznie mniej rozpuszczalne w roztworach o wysokiej sile jonowej, oraz że zawierają one więcej białka. Zwiększoną zawartość białka tłumaczą tym,

że pochodzi ono z adsorpcji na powierzchni miofibryli zdenaturowanych białek sarkoplazmatycznych.

W tym samym czasie opracował Hart (1962a) metodę do oceny wodnistości mięsa, opierając się na różnicach w zmianach fizykoche-



Ryc. 3. Azost mięśnia nierozpuszczalny w 0,6 m KCl, % (Wisner-Pedersen, 1959)

Tabela 1

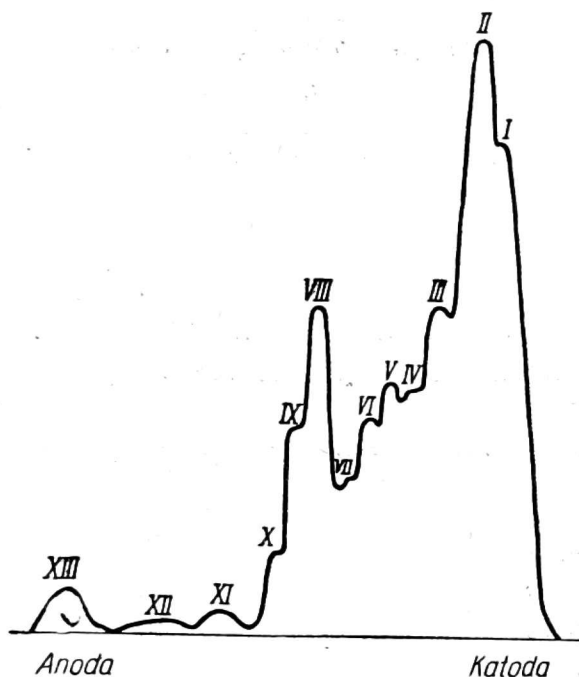
Rozpuszczalność białek miofibrylarnych (wyrażona w % azotu całkowitego) w zależności od pH ostatecznego (Lawrie i in., 1961)

pH ostateczne	Azot białka miofibrylarnego
5,80	52
5,56	52
5,46	40
5,42	48
5,31	26
5,29	26
5,28	22
5,19	29
5,19	22
5,05	20

micznych, jakie zachodzą pośmiertnie w mięsach prawidłowych i wodnistych. Zauważył on, że po dodaniu do ekstraktów białek sarkoplazmatycznych buforu fosforano-cytrynianowego o pH 4,6 otrzymywał po 30 minutach znaczne zmętnienie roztworów z powodu wytrącenia się części białek. Ma to miejsce głównie w próbach pochodzących z mięsa

prawidłowego. Przy użyciu tej metody oceny jakości mięsa stwierdził Hart (1962b) zmniejszoną rozpuszczalność białek sarkoplazmatycznych i miofibrylarnych w mięsie wodnistym.

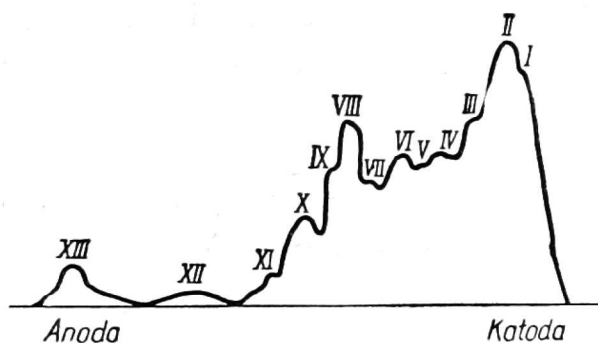
Krzywicki i Wismer-Pedersen (1962), przy zastosowaniu elektroforezy bibułowej ekstraktów białek sarkoplazmatycznych mięsa wodnisteo i prawidłowego, stwierdzili w mięsie wodnistym obecność tylko trzech frakcji. Na tych proteinogramach brak było frakcji pierwszej (zidentyfikowanej jako globulin x) oraz zmniejszenie pozostałych. Autorzy ci oznaczyli je cyframi od 1—4, przyjmując jako pierwszą frakcję wędrującą do katody. McLoughlin i Goldspink (1963), rozdzielając elektroforetycznie na octanie celulozy białka sarkoplazmatyczne, uzyskali pięć frakcji, które oznaczyli pierwszymi literami alfabetu, poczynając od frakcji wędrującej w kierunku anody. Na proteinogramie, który reprezentował rozdział białek z mięsa wodnisteo, zauważyli zmniejszenie się frakcji C (o szybkości elektroforetycznej α_2 -globulin surowicy krwi). Kotik (1970) uzyskał przy użyciu elektroforezy bibułowej rozdział białek sarkoplazmatycznych na 13 frakcji, co ilustrują ryciny 4 i 5. Stwierdzono



Ryc. 4. Krzywa białek sarkoplazmatycznych z proteinogramu mięsa prawidłowego (Kotik, 1970)

przy tym, że w mięsie wodnistym ulegają denaturacji nie w jednakowym stopniu poszczególne frakcje sarkoplazmatyczne. Stosunkowo w największym stopniu ulegają procesowi denaturacji frakcje I, XIII, IX i XI, gdzie zmniejszenie rozpuszczalności tych białek wynosiło 33—50%. Zmiany nieco mniejsze wynoszące 21—27% występują we frakcjach III, VII, II i IV. W skład frakcji, które zostały zidentyfikowane, a które ulegają częściowej denaturacji, wchodzi: miogen A i B dehydrogenaza kwasu mlekowego, mioalbumina, aldolaza, globulin x, mioglobina, fosfoglikomutaza, fosforylaza a i b.

Dokonując oznaczeń na żelu skrobiowym białek sarkoplazmatycznych mięsa wodnisteo i prawidłowego Goutefongea i Charpentier (1963) nie stwierdzili istotnych różnic. Z kolei Scopes i Lawrie (1963) oraz Scopes (1964), przy zastosowaniu tej samej metody elektroforetycznej, spostrzegli w mięsie wodnistym brak części frakcji lub ich ogólne zmniejszenie. Sugerują oni, że brak ten dotyczy enzymów glikolitycznych, które według nich ulegają denaturacji.



Ryc. 5. Krzywa białek sarkoplazmatycznych z proteinogramu mięsa wodnisteo (Kotik, 1970)

Dalsze badania histologiczne prowadzone przez McLoughlina i Goldspinka (1963) wykazują w mięsie wodnistym obecność pofałdowanych włókien i licznych splotów obok nie zmienionych prostych włókien. Ponieważ powyższe zmiany dotyczą tylko preparatów mięsa wodnisteo, wyklucza się możliwość powstania ich w związku z techniką histologiczną. Także Hornsey i Stephenson (1963), na podstawie fotografii preparatów histologicznych, stwierdzają obecność skoagulowanego białka i przychylają się do zdania Bendalla i Wismer-Pedersena (1962), że jest to białko sarkoplazmatyczne.

Inny pogląd na pochodzenie zdenaturowanego białka w mięsie wodnistym przedstawił Cassens i in. (1963a, b). Autorzy ci, badając struktury mięsa wodnisteo przy użyciu mikroskopu elektronowego, zauważyli zwarte, nieregularne, ciemne pasma biegnące w poprzek włókien. Dochodzą oni do wniosku, że następuje w mięsie wodnistym rozerwanie włókienek miozynowych. Wobec tego uważają oni, że zaobserwowane pasma są pochodzenia fibrylarnego, a nie ze zdenaturowanej sarkoplazmy, jak sądzili Bendall i Wismer-Pedersen (1962).

Wyraźne zmiany rozpuszczalności białek mięśniowych, tak sarkoplazmatycznych jak i miofibrylarnych, wynikające z różnej szybkości spadku pH w mięsie po uboju przedstawił McLoughlin (1963) (tabl. 2).

Jak widać z tabeli, wraz ze spadkiem pH, progresywnie maleje rozpuszczalność białek miofibrylarnych i sarkoplazmatycznych, co zdaje się świadczyć niezbicie o denaturacji tych białek w pierwszych godzinach po uboju zwierząt. O zmniejszonej rozpuszczalności białek sarkoplazmatycznych i miofibrylarnych w mięsie wodnistym przy jednocześnie dużych odchyleniach osobniczych donoszą Topel i in. (1967). Sayre i Briskey

(1963) z naciskiem podkreślają, że rozpuszczalność białek mięśniowych a szczególnie miofibrylarnych jest uzależniona nie tylko od pH_1 , ale także w dużym stopniu od temperatury tuszy (ryc. 6). Na przykład przy tym samym zakresie pH_1 5,3—5,6 w zależności od temperatury tuszy, różnice w rozpuszczalności białek miofibrylarnych mogą wynosić około 150%.

W dotychczasowych jednak badaniach nad białkiem mięsa oznaczano zwykle tylko ich rozpuszczalność. Zmniejszenie rozpuszczalności tłumaczono denaturacją białek bez ilościowego ich oznaczania. W badaniach prowadzonych w naszym Zakładzie nad białkami mięsa wprowadziliśmy (Kotik, 1970) do dotychczas stosowanych oznaczeń jakościowych —

Tabela 2

pH_1 i poziom frakcji azotu w mięśniu *longissimus dorsi* 24 godz. po uboju
(McLoughlin, 1963)

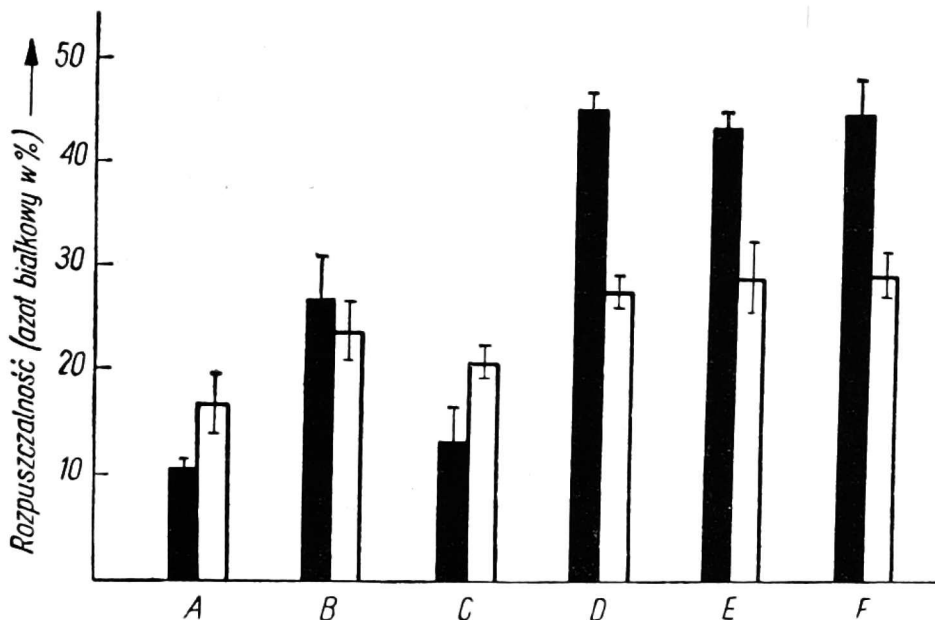
pH_1	Frakcje azotu wyrażone w % azotu całkowitego			
	azot białek sarkoplazmatycznych	azot białek miofibrylarnych	azot niebiałkowy	azot białek stromy
5,00	21,1	29,5	12,4	36,2
5,10	20,8	29,6	12,6	36,9
5,15	21,9	30,7	12,6	34,7
5,31	21,2	35,0	11,9	31,8
5,40	20,0	40,1	12,4	25,5
5,50	20,4	43,8	12,5	23,4
5,60	24,2	39,1	12,5	23,7
5,80	24,9	44,3	11,8	18,9
5,85	25,9	51,2	13,7	9,3
6,20	27,1	54,1	12,8	6,0
6,70	28,3	52,8	12,8	6,1
6,80	30,5	54,2	12,5	3,6

ilościowe oznaczania białka zdenaturowanego. Otrzymane na bardzo dużym materiale wyniki wskazują na ścisłą współzależność pomiędzy poziomem białek miofibrylarnych, a poziomem białka zdenaturowanego. Przy zwiększaniu się białka zdenaturowanego zmniejsza się ilość rozpuszczalnych białek miofibrylarnych. Na podstawie tych wyników można sądzić o denaturacji białek miofibrylarnych w mięsie wodnistym.

Wśród zmniejszonej ilości białek sarkoplazmatycznych w mięsie wodnistym według Henrygo i in. (1955), Lawriego (1960), Kołczaka (1968) znajduje się również mioglobina. Stąd też według tych autorów, barwa mięsa wodnistej jest bardzo jasna. Inni badacze natomiast jak Wismer-Pedersen (1959), Briskey i in. (1959) oraz Kortz i in. (1968) nie stwierdzili istotnie niższej zawartości mioglobiny w mięsie wodnistym.

Badania nad białkami mięsa wodnistej były prowadzone przy użyciu różnych metod, poczynając od metod histologicznych (od mikroskopu

optycznego do elektronowego), poprzez ekstrakcję białek buforami o różnym pH i sile jonowej, poprzez różne rozdziały elektroforetyczne, na prostych analizach chemicznych kończąc. Stosowanie przez badaczy tak różnorodnych metod bardzo utrudniało, a czasami wręcz uniemożliwiało porównywanie wyników. Tym niemniej na podstawie dotychczasowych



Ryc. 6. Rozpuszczalność białek miofibrylarnych i sarkoplazmatycznych w mięśni *L. dorsi* w 24 godz. *post mortem* (Sayre i Briskey, 1963). A — pH 5,3–5,6, temp. > 35°C; B — pH 5,3–5,6, temp. < 35°C; C — pH 5,7–5,9, temp. > 35°C; D — pH 5,7–5,9, temp. < 35°C; E — pH 6,0+, temp. 35°C; F — pH 6,0+, temp. < 35°C; ■ — białko miofibrylarne; □ — białko sarkoplazmatyczne

wyników można stwierdzić, że w mięsie wodnistym występuje zmniejszona rozpuszczalność białek sarkoplazmatycznych i miofibrylarnych z czym łączy się zmniejszona zdolność wiązania wody — mniejsza wodochłonność. Poza tym stwierdzono zgodnie, że białka sarkoplazmatyczne ulegają denaturacji, natomiast co do denaturacji białek miofibrylarnych i barwników mięśniowych zdania są podzielone. W świetle zestawionych danych oraz czasami diametralnie różnych opinii, wydaje się, że dalsze prace nad białkami mięsa wodnisteego są konieczne, gdyż wiele jeszcze zjawisk oraz mechanizmów ich powstawania wymaga bezwzględnie wyjaśnienia.

LITERATURA

1. Bendall J. R. and J. Wismer-Pedersen, 1962. *J. Food Sci.*, 27:144.
2. Briskey E. J., R. W. Bray, W. G. Hoekstra, R. W. Grummer and P. H. Phillips, 1959. *J. Animal Sci.*, 18:153.
3. Cassens R. G., E. J. Briskey and W. G. Hoekstra, 1963a. *Nature*, 197:1119.
4. Cassens R. G., E. J. Briskey and W. G. Hoekstra, 1963b. *Nature*, 198:1004.
5. Charpentier J., et R. Goutefongea, 1963. *Ann. Biol. Anim. Biophys.*, 3:381.
6. Henry M., J. Billon et G. Haouza, 1955. *Rev. Path. Gén. Comp.*, 669:857.
7. Hornsey H. C. and R. A. Stephenson, 1963. IXth Conference of European Meat Research Workers Budapest.

8. Hart P. C., 1962a. Tijdschr. Diergeneesk., 87:156.
9. Hart P. C., 1962b. Tijdschr. Diergeneesk., 87:1020.
10. Kołczak T., 1968. Praca doktorska, WSR Kraków.
11. Kortz J., S. Grajewska, J. Różycka, R. Barzdo, 1968. Med. wet., 24:325.
12. Kotik T., 1970. Zesz. probl. Post. Nauk rol., nr 103.
13. Krzywicki K. and J. Wismer-Pedersen, 1962. VIIIth European Congress of Meat Research Institutes, Moskwa.
14. Lawrie R. A., D. P. Gatherum and H. P. Hale, 1958. Nature, 182:807.
15. Lawrie R. A., 1960. J. Comp. Pathol. Therap., 70:273.
16. Lawrie R. A. and D. P. Gatherum, 1961. VIIth Meeting of European Meat Research Workers. Warsaw.
17. Ludvigsen J., 1953. XVth International Veterinary Congress. Stockholm.
18. Ludvigsen J., 1954. 272. Beretning fra Forsøgslaboratoriet, København.
19. McLoughlin J. V., 1963. IXth Conference of European Research Workers. Budapest.
20. McLoughlin J. V. and G. Goldspink, 1963. Irish J. Agric. Res., 2:27.
21. Sayre R. N. and E. J. Briskey, 1963. J. Food Sci., 28:675.
22. Scopes R. K. and R. A. Lawrie, 1963. Nature, 197:1202.
23. Scopes R. K., 1964. Biochem. J., 91:201.
24. Topel D. G., R. A. Merkel and J. Wismer-Pedersen, 1967. J. Animal Sci., 26:311.
25. Wismer-Pedersen J., 1959. Acta Agric. scand., 9:69.

Тадеуш Котик

БЕЛКОВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ВОДЯНИСТОМ МЯСЕ

Резюме

Представлены исследования проблем белковых изменений возникающих в водянистом мясе у свиней.

Гистологические исследования показали исчезновение поперечной полосатости, а также скручивание и сморщивание мышечных волокон в водянистом мясе. На основании исследований при применении электронного микроскопа констатируется присутствие денатурированного белка в пробах водянистого мяса. Однако, мнения на тему происхождения денатурированного белка очень разногласны.

При применении техник экстракции констатированы изменения в растворимости миофибрилярных и саркоплазматических белков, которые объяснялись процессом денатурации саркоплазматического белка и осаждением его на миофибрилярном белке. Более новые исследования, кажется, все таки доказывают, что денатурации подвергаются обе фракции.

Применение электрофоретичной техники позволило доказать неравномерную степень денатурации отдельных фракций саркоплазматического белка.

Tadeusz Kotik

PROTEIN CHANGES IN PALE, SOFT AND EXUDATIVE MEAT IN PIGS

Summary

The paper gives an account of the present state of research on protein changes taking place in pale, soft and exudative (PSE) meat in pigs.

Histological analyses have shown in PSE muscles a disappearance of cross-striation and manifested twisted and corrugated fibres. Electronic microscope analysis brings evidence of a presence of denatured protein in PSE meat samples. However, the opinions as to the origin of the denatured protein are very controversial.

By means of extraction methods it has been ascertained that there are some changes in the solubility of myofibrillar and sarcoplasmic proteins. They were attributed to a process of denaturation on the part of sarcoplasmic protein and its sedimentation on myofibrillar protein. However, the newest results seem to prove that it is both the fractions that undergo denaturation.

The use of electrophoretic methods has made it possible to demonstrate the unequal degree of denaturation in particular fractions of sarcoplasmic protein.