

BIAŁKA WYCIEKAJĄCEGO PŁYNU Z MIĘSA O WODNISTEJ STRUKTURZE U ŚWIŃ

TADEUSZ KOŁCZAK * I MIROSŁAWA WEBER **

* Zakład Fizjologii Zwierząt Instytutu Zootechniki, Kraków

** Katedra Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej, Kraków

Z mięśni, w których występuje wysoka temperatura i niskie pH wkrótce po uboju, wycieka po zakończonym stężeniu pośmiertnym znaczna ilość płynu (mięso wodniste). Nie stwierdzono istotnej różnicy w zawartości wody pomiędzy mięsem normalnym a mięsem o wodnistej strukturze (Wismer-Pedersen, 1959; McLoughlin i Goldspink, 1963a; Kołczak, 1966).

Wykazano znaczną stratę w rozpuszczalności zarówno białek sarkoplazmy jak i białek miofibryli w mięsie o wodnistej strukturze (Sayre i Briskey, 1963; McLoughlin, 1963; Scopes, 1964; Kołczak, 1968). Przyпуска się, że wyciekanie płynu z mięsa jest rezultatem obniżonej zdolności wiązania wody przez białka strukturalne mięśnia (Bendall i Wismer-Pedersen, 1962).

Ludvigsen (1945) wykazał, że pod ciśnieniem 100 atm. można z mięsa o wodnistej strukturze wycisnąć 14—31% płynu, który zawierał 1,8—1,9% azotu, podczas gdy w tych samych warunkach z mięsa normalnego płynu wycisnąć się nie da. McLoughlin i Goldspink (1963a) stwierdzili, że płyn wyciekający z mięsa o wodnistej strukturze zawiera 8,4—12,6 g białka/100 ml płynu i na podstawie przeprowadzonej elektroforezy na błonie octanu celulozy wyciągnęli wniosek, że pochodzi ono z sarkoplazmy.

W niniejszej pracy przeprowadzono doświadczenie, w którym mięso o wodnistej strukturze poddano ciśnieniu 100 atm. i zbadano skład związków azotowych w wyciśniętym płynie i w pozostałości z mięsa. Równocześnie porównano przy pomocy elektroforezy na żelach akrylamidowym i agarowym skład białkowy wyciekającego płynu z mięsa o wodnistej strukturze z wodnymi ekstraktami z mięsa normalnego i z mięsa o wodnistej strukturze.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono na mięsie wieprzowym w Stacji Kontroli Użytkowości Rzeźnej Trzody Chlewnej w Chorzelowie. Pobrano próbki mięśnia (*M. longissimus dorsi*) o skrajnie wodnistej strukturze w 24 godz. po uboju od 5 świń. Stopień wodnistej struktury w mięsie oznaczano podobnie jak w pracy poprzedniej* (Kołczak i wsp., 1970).

Około 30 g mięsa zamrażano w stałym dwutlenku węgla i poddawano analizie. Natomiast następne 40 g mięsa umieszczano w prasie do tkanek (firmy H. Cegielski, Poznań) i poddawano stałemu ciśnieniu 100 atm. przez 5 min. Ciśnienie kontrolowano na manometrze podłączonym do prasy. Wyciśnięty płyn zbierano i oznaczano w nim poziom azotu ogólnego i poziom azotu niebiałkowego. Resztę mięsa pozostałą po wyciśnięciu płynu usuwano z prasy i zamrażano w stałym dwutlenku węgla.

Próbkę mięsa oraz resztę z mięsa pozostałą po wyciśnięciu z niego płynu (zamrożone w dwutlenku węgla) krojono na skrawki grubości 30 μ przy pomocy mikrotomu mrożonego dwutlenku węgla. Zamrożone skrawki mięsa poddawano analizie zgodnie z metodą Helandera (1957). Oznaczano: % wody, azot ogólny mięsa, azot białkowy sarkoplazmy i miofibryli oraz azot niebiałkowy. Białka sarkoplazmy ekstrahowano 0,03 M buforem fosforanowo-potasowym, pH 7,4. Ogólne białko rozpuszczalne ekstrahowano roztworem 1,1 M KJ w 0,1 M buforze fosforanów potasu, pH 7,4. Ilość białka miofibryli obliczano jako różnicę pomiędzy ogólnym białkiem rozpuszczalnym a białkiem sarkoplazmy. Azot niebiałkowy określano w ekstraktach, w których strącono białko równą objętością 20% kwasu trójchlorooctowego.

Płyn wyciśnięty z mięsa rozcieńczano pięciokrotnie 0,03 M buforem fosforanowo-potasowym (pH 7,4) i oznaczano w nim ilość azotu białkowego i niebiałkowego.

Azot oznaczano mikrometodą Kjeldahla.

Płyn wyciekający z mięsa o wodnistej strukturze do badań elektroforetycznych zbierano wprost z mięśnia 24 godz. po uboju po przecięciu mięśnia najdłuższego grzbietu za ostatnim kręgiem piersiowym. Płyn rozcieńczano odpowiednim buforem, w którym przeprowadzano elektroforezę. Rozdział elektroforetyczny białek wyciekającego płynu porównano z rozdziałem elektroforetycznym białek wodnych ekstraktów z mięsa normalnego i z mięsa o wodnistej strukturze. Elektroforezę przeprowadzono w dwóch żelach: agarowym i akrylamidowym.

Wodne ekstrakty z mięsa normalnego i z mięsa o wodnistej strukturze użyte do badań elektroforetycznych otrzymywano z próbek pobranych z tuszy w 24 godz. po uboju. Sposób wykonania wodnych ekstraktów oraz zastosowane metody elektroforezy zostały opisane w pracy poprzedniej (Kołczak i wsp., 1970).

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej według wzorów dla wielkości związanych z sobą podanych przez Steel i Torrie (1960).

Tabela 1

Rozpuszczalność składników azotowych mięsa o wodnistej strukturze poddanego ciśnieniu 100 atm. przez 5 min.

Nr świni	Wartość zmętnienia	pH	Doświad- czenie	% wody	g azotu/100 g suchej masy mięśnia				g azotu w 100 ml płynu wyciśniętego z mięśnia			
					ogólny	sarkopla- zma	włókienka mięśn.	białkowy	niebiał- kowy	niroz- puszcza- lny	ogólny	białkowy nie- białkowy
1	53	5,13	A	75,05	13,48	2,29	3,41	1,73	6,05	1,86	1,32	0,54
			B	66,51	12,90	1,39	3,06	1,01	7,44			
2	66	5,17	A	75,36	13,81	3,40	2,22	1,95	6,24	1,90	1,33	0,57
			B	67,91	13,74	1,56	2,86	1,45	7,87			
3	120	5,33	A	75,16	12,93	2,81	2,52	1,84	5,76	2,02	1,49	0,53
			B	64,36	12,80	1,12	2,96	1,19	7,53			
4	234	5,65	A	74,74	13,34	2,55	3,39	1,78	5,62	1,92	1,42	0,50
			B	66,48	13,35	1,31	3,55	1,18	7,31			
5	292	5,31	A	75,25	12,97	3,08	2,86	2,11	4,92	2,00	1,43	0,57
			B	65,89	12,96	1,46	3,80	1,34	6,36			
Średnio			A	75,11	13,31	2,83	2,88	1,88	5,72	1,94	1,40	0,54
			B	±,11	±,16	±,19	±,24	±,07	±,23			
				66,23	13,15	1,37	3,25	1,23	7,30			
				±,57	±,17	±,07	±,18	±,08	±,25			

A — przed zastosowaniem ciśnienia; B — pozostałość mięsa po wyciśnięciu płynu pod ciśnieniem 100 atm.

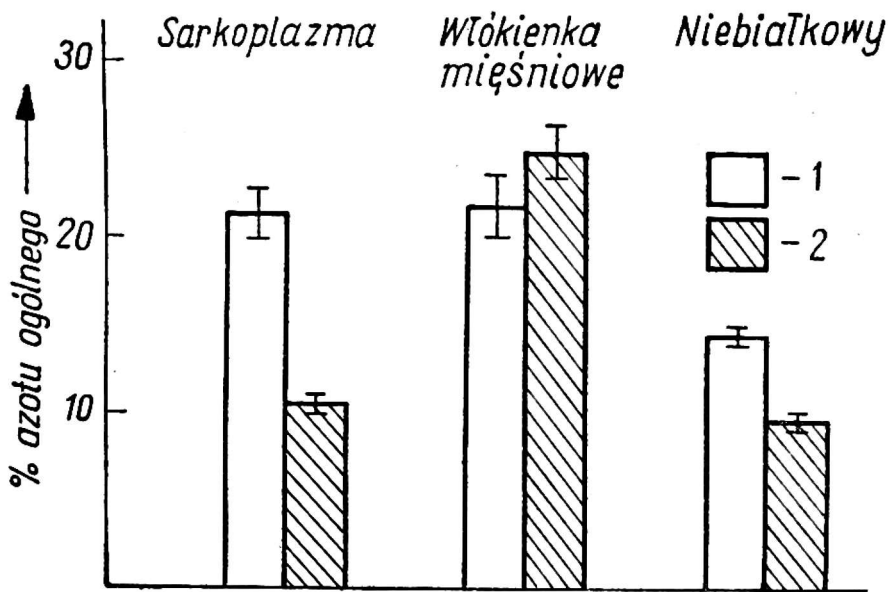
WYNIKI I DYSKUSJA

Charakterystykę mięśni oraz wpływ zastosowanego ciśnienia na skład i rozpuszczalność składników azotowych mięśnia i zawartość związków azotowych w wyciśniętym płynie z mięsa podano w tabeli 1.

Z mięśni normalnych nie zdołano pod ciśnieniem 100 atm. wycisnąć żadnego płynu. Natomiast z mięśni o wodnistej strukturze wyciskano znaczne ilości płynu, który zawierał średnio w 100 ml: 1,40 g azotu białkowego oraz 0,54 g azotu niebiałkowego.

Rozpuszczalność zarówno białek sarkoplazmy jak i białek miofibryli w próbkach mięsa wziętego do badania jest znacznie niższa w porównaniu z mięsem normalnym (Sayre i Briskey, 1963; McLoughlin, 1963; Scopes, 1964; Topel i wsp., 1967; Kołczak, 1968).

Usunięcie pod ciśnieniem 100 atm. przez 5 min. z mięsa o wodnistej strukturze płynu, który występuje w nim w formie niezwiązanej, wykazało, że z płynem usunięto również znaczny procent białek sarkoplazmy i związków azotowych niebiałkowych (ryc. 1). Ilość azotu nierozpuszczalnego w pozostałości mięśnia (po wyciśnięciu z niego płynu) znacznie się zwiększyła, ze względu na usunięcie łatwo rozpuszczalnych białek sarkoplazmy i związków azotowych niebiałkowych a zwiększenie się nierozpuszczalnego białka miofibryli w ogólnej masie mięsa poddanego powtórnej analizie.

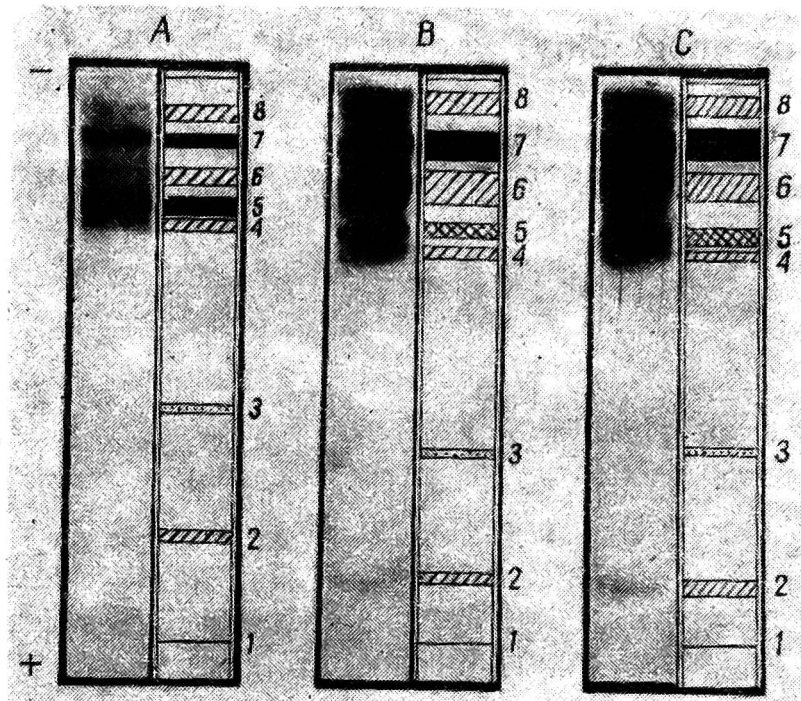


Ryc. 1. Rozpuszczalność związków azotowych mięsa o wodnistej strukturze poddanego ciśnieniu 100 atm. przez 5 min. 1 — kontrola przed zastosowaniem ciśnienia, 2 — pozostałość mięsa po wyciśnięciu płynu pod ciśnieniem 100 atm. przez 5 min.

Na podstawie otrzymanych wyników można sądzić, że z płynem, który występuje w mięsie o wodnistej strukturze w formie niezwiązanej, usuwane są z mięsa łatwo rozpuszczalne białka sarkoplazmy i związki azotowe niebiałkowe.

Skład jakościowy białek wyciekającego płynu z mięsa o wodnistej

strukturze zbadano elektroforetycznie. Rozdział elektroforetyczny białek wyciekającego płynu porównano z białkami wodnych ekstraktów z mięsa normalnego i z mięsa o wodnistej strukturze. Wyniki uzyskane w elektroforezie na żelu akrylamidowym przedstawiono na ryc. 2.



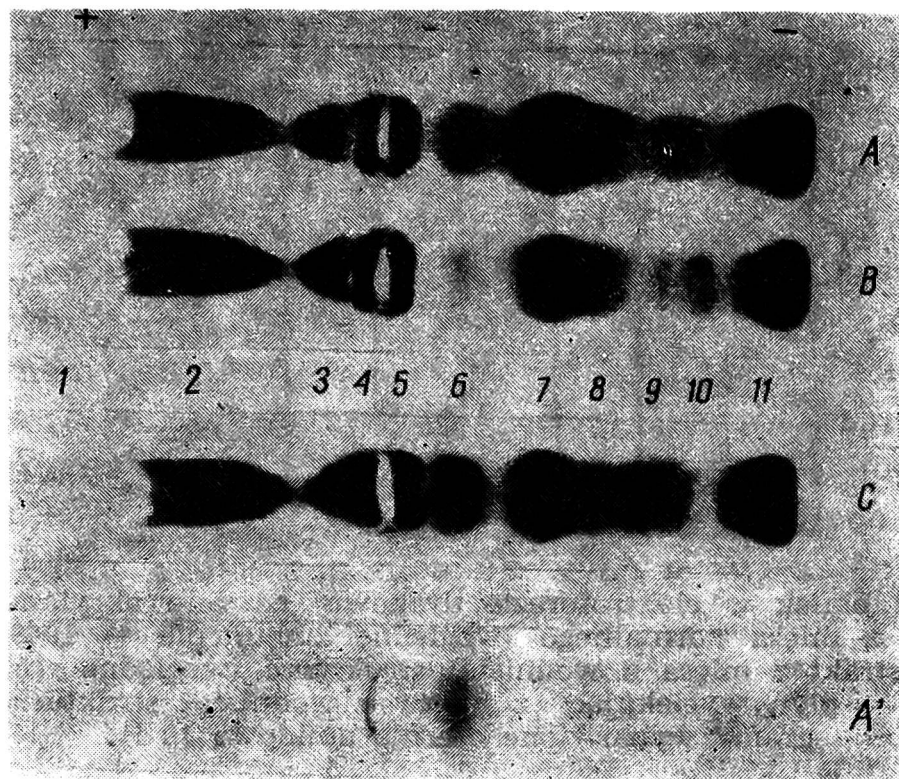
Ryc. 2. Rozdział białek w elektroforezie dyskowej na żelu akrylamidowym. A — wodny ekstrakt z mięsa normalnego (względne zmętnienie = 1949, pH = 6,81). B — wodny ekstrakt z mięsa o wodnistej strukturze (względne zmętnienie = 66, pH = 5,17). C — płyn wyciekający z mięsa o wodnistej strukturze. Elektroferogramy wybarwione czernią amidową 10 B

Rozdział elektroforetyczny i względna gęstość poszczególnych frakcji białkowych w wyciekającym płynie podobne są do rozdziału elektroforetycznego i względnej gęstości białek wodnego ekstraktu z mięsa o wodnistej strukturze. W porównaniu z białkami wodnego ekstraktu z mięsa normalnego można zauważyć, że względna gęstość frakcji białkowej oznaczonej na ryc. 2 — nr 5, jest znacznie mniejsza w wyciekającym płynie oraz w wodnym ekstrakcie z mięsa o wodnistej strukturze. Podobne rezultaty uzyskano poprzednio przy badaniu rozpuszczalności wodnej białek sarkoplazmy z obu typów mięsa (Kończak i wsp., 1970).

Na podstawie powyżej przytoczonych wyników można sądzić, że w wyciekającym płynie z mięsa o wodnistej strukturze występują tylko te białka sarkoplazmy, które są rozpuszczalne.

Dodatkowe informacje uzyskano w elektroforezie na żelu agarowym (ryc. 3). Elektroferogram białek wyciekającego płynu jest również bardzo podobny do elektroferogramów białek wodnych ekstraktów z mięsa normalnego oraz z mięsa o wodnistej strukturze. Względna gęstość frakcji białkowej wędrującej do katody a oznaczonej na ryc. 3 — nr 7 jest znacznie mniejsza w wyciekającym płynie oraz w wodnym ekstrakcie z mięsa o wodnistej strukturze w porównaniu z wodnym ekstraktem

z mięsa normalnego. Natomiast względna gęstość frakcji białkowej — oznaczonej nr 6, jest w wyciekającym płynie znacznie większa w porównaniu z wodnymi ekstraktami z obu typów mięsa. Frakcja białkowa nr 6 została zidentyfikowana jako benzydino-pozytywna. Ponieważ mioglobina wydaje się być podstawową benzydino-pozytywną substancją w sarkoplazmie, dlatego też można przypuszczać, że frakcja białkowa nr 6 jest przynależna do mioglobiny.



Ryc. 3. Rozdział białek w elektroforezie na żelu agarowym. A — wodny ekstrakt z mięsa normalnego (względne zmętnienie = 1852, pH = 6,79). B — wodny ekstrakt z mięsa o wodnistej strukturze (względne zmętnienie = 197, pH = 5,03). C — płyn wyciekający z mięsa o wodnistej strukturze. A, B, C — wybarwione czernią amidową 10 B. A' — próbka A wybarwiona benzydynam

Przypuszcza się, że mioglobina może ulegać denaturacji i precypitacji w mięśniach w warunkach niskiego pH i wysokiej temperatury po uboju (McLoughlin i Goldspink, 1963b; Goldspink i McLoughlin, 1964; Trautman, 1966). Na podstawie wyników uzyskanych w niniejszej pracy można również sądzić, że strata mioglobiny w płynie wyciekającym z mięsa o wodnistej strukturze, może być również istotną przyczyną znacznego odbarwienia mięsa. Można, opierając się na tym przypuszczeniu, starać się wytłumaczyć sprzeczne rezultaty pomiarów zawartości mioglobiny w mięsie o wodnistej strukturze uzyskiwane przez rozmaitych autorów (Henry i wsp., 1955; Lawrie, 1960; Wismer-Pedersen, 1959; Briskey i wsp., 1959), gdyż ilość mioglobiny w badanym mięsie może być uzależniona od ilości wyciekającego płynu z próbki mięśnia pobranej do oznaczenia oraz od sposobu przygotowania próbki mięśnia do analizy.

LITERATURA

1. Bendall J. R., J. Wismer-Pedersen, 1962. J. Food Sci., 27:144.
2. Briskey E. J., R. W. Bray, W. G. Hoekstra, R. H. Grummer, P. H. Phillips, 1959. J. Animal Sci., 18:153.
3. Goldspink G., J. V. McLoughlin, 1964. Irish J. Agric. Res., 3:9.
4. Helander E., 1957. Acta Physiol. Scand., 41 (suppl.):141.
5. Henry M., J. Billon, G. Haouza, 1955. Rev. Path. Gen. Comp., 669:857.
6. Kołczak T., 1966. Roczn. Nauk rol., 88-B-3:303.
7. Kołczak T., 1968. Badania nad właściwościami biochemicznymi białek mięśni o wodnistej strukturze u świń. Praca doktorska, WSR, Kraków.
8. Kołczak T., Mirosława Weber, Z. Ewy, 1970. Zesz. probl. Post. Nauk rol., nr 103.
9. Lawrie R. A., 1960. J. Comp. Pathol., 70:273.
10. Ludvigsen J., 1954. Beretn. fra Forsøgslab. (Kbh), 272:112.
11. McLoughlin J. V., 1963. Irish J. Agric. Res., 2:115.
12. McLoughlin J. V., G. Goldspink, 1963a. Irish J. Agric. Res., 2:27.
13. McLoughlin J. V., G. Goldspink, 1963b. Nature, 198:584.
14. Sayre R. N., E. J. Briskey, 1963. J. Food Sci., 28:674.
15. Scopes R. K., 1964. Biochem. J., 91:201.
16. Steel R. G. D., J. H. Torrie, 1960. Principles and Procedures of Statistics. McGraw-Hill, New York.
17. Topel D. G., Merkel R. A., J. Wismer-Pedersen, 1967. J. Animal Sci., 26:311.
18. Trautman J. C., 1966. J. Food Sci., 31:409.
19. Wismer-Pedersen, J., 1959. Food Res., 24:711.

Т. Колчак, М. Вебер

БЕЛОК ЖИДКОСТИ ТЕКУЩЕЙ ИЗ СВИНОГО МЯСА С ВОДЯНИСТОЙ СТРУКТУРОЙ

Резюме

Мясо с водянистой структурой подвержено было давлению 100 атмосфер в продолжении 5 минут. Получено было много жидкости содержащей в 100 мл 1,40 г белкового азота и 0,54 г небелкового азота.

Исследование растворимости азотных соединений в остатке мяса выказало, что в жидкость переходит большое количество белков саркоплазмы и азотных небелковых соединений.

Из мяса с нормальной структурой не получили жидкости под влиянием давления.

При помощи дискового электрофореза на гелях агар-агара и акриламида авторы выказали, что качественный состав белков вытекающей жидкости из мяса с водянистой структурой похож на состав белков водяного экстракта этого мяса.

Разница была замечена только в плотности некоторых белковых фракций по сравнению с водяным экстрактом нормального мяса.

T. Kołczak, M. Weber

THE PROTEINS OF EXUDATIVE FLUID FROM PALE, SOFT AND EXUDATIVE
PORK MEAT

Summary

Pale, soft and exudative (PSE) pork meat was subjected to a pressure of 100 atm. for 5 minutes. A considerable amount of fluid which contained 1.4 g protein nitrogen and 0.54 g non-protein nitrogen per 100 ml was obtained. The solubility of nitrogen compounds in what remained of the meat demonstrated that a considerable percentage of sarcoplasmic protein and non-protein constituents had been removed with the fluid. From samples of meat with normal morphology no fluid could be pressed out under a pressure of 100 atm.

Agar gel and polyacrylamide gel disc electrophoretic protein patterns of the exudative fluid from PSE meat are similar to the water protein extract of PSE meat. Some differences were observed in the density of certain fractions in comparison with the water protein extract of normal meat.