

GRAŻYNA KRASNOWSKA, BEATA SOBKÓW, MARZENA DĄBROWSKA,
MAŁGORZATA PELC

OKREŚLENIE PRZYDATNOŚCI WYBRANYCH PREPARATÓW ENZYMATYCZNYCH DO POPRAWY JAKOŚCI MIĘSA WOŁOWEGO

Streszczenie

Jedną z ważniejszych cech jakości kulinarnego mięsa wołowego jest kruchość. Kształtowana jest ona przede wszystkim podczas dojrzewania mięsa. Ten długotrwały proces, przebiegający z udziałem endogennych enzymów można przyspieszyć, poddając mięso działaniu egzogennych enzymów proteolitycznych. Celem pracy była próba oceny przydatności dwóch preparatów enzymatycznych (YG i YO), uzyskanych z hodowli drożdży *Yarrowia lipolytica* (szczep PII6a) do skruszania kulinarnego mięsa wołowego i porównanie jego efektywności w stosunku do pepsyny. Surowiec doświadczalny poddano hydrolizie enzymatycznej wybranymi preparatami w temp. 4 i 18°C, przez okres 6 i 24 godz., w dwóch wariantach pH środowiska (3,5 i 6,0). Ocenę działania doświadczalnych enzymów przeprowadzono w oparciu o stopień degradacji białek mięsa określony przyrostem zawartości wolnych grup aminowych, hydroksyproliny i azotu w roztworach po hydrolizie oraz na podstawie instrumentalnego pomiaru kruchości mięsa. Stwierdzono, że największą zdolnością proteolityczną w stosunku do białek mięsa wołowego charakteryzował się preparat enzymatyczny YO. Optymalną kwasowością środowiska działania ocenianych preparatów enzymatycznych okazała się wartość pH 3,5, natomiast temperatura nie miała istotnego wpływu na przebieg procesu degradacji białek. Dowiedziono, że wydłużenie czasu trwania procesu skruszania mięsa wołowego z 6 do 24 godz. miało istotny wpływ na polepszenie jego kruchości, jednak degradacja białek przebiegała najintensywniej w pierwszych 6 godz.

Słowa kluczowe: preparaty enzymatyczne, hydroliza enzymatyczna, kruchość, mięso wołowe.

Wprowadzenie

Jakość żywności to pojęcie obejmujące wiele składowych, które dotyczą jej zdrowotności, atrakcyjności sensorycznej i dyspozycyjności. O jakości mięsa decydują takie jego cechy, jak: wartość odżywcza, wartość biologiczna, soczystość, kruchość, smak czy zapach, przy czym konsument ocenia ją w dużej mierze na podstawie jakości

Dr hab. G. Krasnowska, mgr B. Sobków, mgr inż. M. Dąbrowska, mgr inż. M. Pelc, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych, Wydział Nauk o Żywności, Akademia Rolnicza, ul. C.K. Norwida

sensorycznej [6, 8]. W przypadku mięsa wołowego bardzo ważną cechą, wpływającą na jego ocenę, jest kruchość. Kształtowana jest ona poprzez wzajemne oddziaływanie wielu składowych, jak: udział i jakość tkanki łącznej, zawartość tłuszczu, struktura włókien i pęczków mięśniowych, zmiany enzymatyczne przy dojrzewaniu mięsa. Ponadto wiele czynników przyżyciowych, m.in. wiek, płeć, żywienie, postępowanie przedubojowe istotnie wpływają na ten wyróżnik jakości. Wzrost kruchości jest głównie wynikiem dezintegracji składników włókna mięśniowego w wyniku działania enzymów własnych, a zmiany w tkance łącznej są niewielkie. Proces ten jest długotrwały i w przypadku wołowiny zadowalającą kruchość uzyskuje się po 10–14 dniach [7, 14, 16, 23]. Jedną z metod stosowanych do poprawy kruchości są metody biologiczne. W celu przyspieszenia endogennej autolizy wzbogaca się naturalny układ enzymatyczny mięsa preparatami enzymów egzogennych o podobnych właściwościach katalitycznych. Mogą to być enzymy pochodzenia roślinnego, drobnoustrojowego bądź zwierzęcego [1, 3, 5, 19, 22]. Pod wpływem działania proteaz w mięsie zachodzi częściowy rozkład makrocząsteczek białek mięśniowych, rozerwanie wiązań dwusiarczkowych, zwiększenie reaktywności grup sulfhydrylowych, wodorotlenowych, karboksylowych i aminowych. W trakcie tego procesu w znacznym stopniu ulegają hydrolizie białka sarkoplazmatyczne, a w zależności od specyficzności enzymów, częściowo białka miofibrylarne i łącznotkankowe. Mięso staje się delikatne, zwiększa się stopień jego hydratacji oraz wzrasta strawność białek, czyli dostępność dla proteolitycznych enzymów trawiennych. Dzięki tym procesom wzrasta zawartość rozpuszczalnych oraz wolnych aminokwasów i niewielkich peptydów, co poprawia smakowość mięsa. Następuje też polepszenie kruchości i skrócenie czasu jego dojrzewania [6, 16, 17, 20].

Wzrastające zapotrzebowanie przemysłu spożywczego na preparaty enzymatyczne o ściśle określonych właściwościach powoduje ogromny rozwój technik ich wytwarzania. Ekonomicznie najbardziej uzasadniona jest produkcja tych preparatów z wykorzystaniem źródeł mikrobiologicznych [19, 22]. Drobnoustroje cechuje szybkie rozmnażanie się; mogą one być hodowane w warunkach przemysłowych przy użyciu tanich surowców odpadowych jako pożywek i dostarczać dowolnych ilości biomasy o znacznej zawartości enzymów. Dodatkowe możliwości zwiększania ilości enzymów w biomasie stanowi adaptacja enzymatyczna i użycie do produkcji specjalnie dobranych i wyselekcjonowanych mutantów odznaczających się zdolnością produkcji znacznie większej ilości enzymów. Drobnoustroje wytwarzają olbrzymią ilość różnorodnych, pod względem specyficzności substratowej, optimum pH i temperatury, enzymów proteolitycznych. Poza tym mikroorganizmy wytwarzają też enzymy niedostępne z innych źródeł. Stwarza to duże możliwości zastosowań w wielu procesach technologicznych i ich modyfikacjach [1, 5, 22].

Wykorzystanie drożdży *Yarrowia lipolytica* wynika z ich zdolności syntezy kwasu cytrynowego oraz produkcji lipaz i proteaz znajdujących zastosowanie w przemyśle chemicznym, kosmetycznym, farmaceutycznym i spożywczym. Drożdże te produkują enzymy pozakomórkowe takie, jak: kwaśne proteazy, fosfatazy, RN-azę, lipazy, esterazę i α -mannozydazę [4, 18, 24].

Preparaty enzymatyczne zastosowane podczas procesu dojrzewania mięsa umożliwiają znaczne skrócenie czasu trwania osiągania pożądanych cech sensorycznych. Problemem jest jednak umiejętne ich stosowanie, przez które rozumie się zarówno ilość, czas działania, jak i sposób przeprowadzenia enzymu w mięsie [1, 3, 22].

Celem przeprowadzonych badań było określenie przydatności preparatów enzymatycznych pochodzących z hodowli drożdży *Yarrowia lipolytica* (szczepu PII6a) do prowadzenia procesu skruszania mięsa wołowego.

Materiał i metody badań

Materiałem doświadczalnym było mięso wołowe (*m. semitendinosus*). Surowiec pobrano jednorazowo w ilości wystarczającej do zaplanowanych badań i przechowywano w warunkach zamrażalniczych.

Źródłem enzymów proteolitycznych zastosowanych w doświadczeniu były drożdże *Yarrowia lipolytica* (szczep PII6a) pochodzące z kolekcji Katedry Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Hodowle ww. szczepów prowadzono na podłożach mineralno-organicznych, w których jako źródło węgla zastosowano glukozę (G) lub olej słonecznikowy (O). Preparaty enzymatyczne otrzymano po podczyszczeniu poprzez odwirowanie płynu pochodzącego i w dalszej części pracy oznaczono je odpowiednio YG lub YO. W otrzymanych preparatach enzymatycznych oznaczano aktywność wobec kazeiny i hemoglobiny. Przyrost produktów degradacji substratów oznaczano spektrofotometrycznie, (przy długości fali 280 nm) po inkubacji w buforze fosforanowo-cytrynianowym w temp. 35°C przez 30 min [2, 11, 13]. Na podstawie uzyskanych wyników dobrano odpowiednie rozcieńczenia stosowanych preparatów w celu wyrównania ich aktywności.

Proteolizę białek mięsa prowadzono w temp. 4 i 18°C, przy dwóch wybranych wartościach pH: 3,5 i 6,0 w ciągu 6 i 24 godz. Porcje mięsa (ok. 50 g) poddano działaniu preparatu enzymatycznego metodą zalewową, stosując mieszaninę roztworu enzymu i buforu Brittona-Robinsona o odpowiednim pH w ilości 20 cm³. Porównawczo przeprowadzono degradację mięsa wołowego pepsyną (P) (firmy Sigma) przy takich samych parametrach prowadzenia procesu. Ponadto we wszystkich wariantach doświadczenia wykonano próby kontrolne, w których surowiec nie był poddany hydrolizie enzymatycznej. Po upływie założonego czasu próby homogenizowano, wirowano przy 10 tys. obr./min w ciągu 10 min i w supernatancie oznaczano produkty degradacji białek mięsa, tj. zawartość wolnej hydroksyproliny

[15], wolnych grup aminowych [10, 21] i białka [12]. Efekt oddziaływania enzymów na białka mięsa określano na podstawie analizy przyrostu ich zawartości w stosunku do prób kontrolnych.

Ponadto w surowcu i mięsie poddanym skruszaniu enzymatycznemu, po przeprowadzeniu obróbki cieplnej w temp. 95°C przez 1 godz. w roztworze soli fizjologicznej, przeprowadzano instrumentalny pomiar kruchości mięsa, polegający na określeniu wartości siły cięcia prostopadłościanów o wymiarach 1 x 1 x 5 cm, za pomocą aparatu Stevens QTS 25.

Uzyskane wyniki, z przeprowadzonych 3 serii doświadczenia (n = 12), poddano analizie statystycznej, stosując metodę jednoczynnikowej i wieloczynnikowej analizy wariancji z wykorzystaniem programu Statgraphics.

Wyniki i dyskusja

Uzyskane wyniki oznaczeń zawartości: białka, wolnych grup aminowych, hydroksyproliny oraz pomiarów kruchości mięsa zamieszczono w tab. 1. (analiza jednoczynnikowa), natomiast analizę wieloczynnikową zilustrowano graficznie (rys. 1–4).

Przedstawione dane wskazują, że pierwsze 6 godz. hydrolizy doprowadziło do najintensywniejszego przyrostu wartości oznaczanych wyróżników. Zawartość białka w roztworach po hydrolizie mięsa kształtowała się na poziomie od ~ 6568 µg/g surowca, przy zastosowaniu preparatu drożdżowego YO w pH = 3,5, do ~ 8633 µg/g surowca po hydrolizie preparatem YG w pH = 6,0. Wydłużenie czasu skruszania o dalsze 18 godz. powodowało nieznaczny przyrost białka przy czym najczęściej statystycznie nieistotny. Tylko w przypadku użycia preparatu YO w pH = 3,5 i temp. 18°C przyrost ilości białka rozpuszczalnego był istotny i osiągnął wartość 8560,96 µg/g surowca. Porównując efektywność działania ocenianych enzymów na białka mięśniowe nie zanotowano istotnych różnic, jakkolwiek nieco wyższe ilości białka oznaczano w przypadku degradacji mięsa pepsyną.

Analizując wpływ pH środowiska na przebieg hydrolizy, należy zwrócić uwagę na zwykle statystycznie nieistotny wpływ tego czynnika na ilość białka uwalnianego do roztworu, chociaż użycie preparatów drożdżowych (YO i YG) w pH = 6,0 było nieco efektywniejsze niż w pH = 3,5, szczególnie w krótszym czasie (6 godz.). Jednokierunkowa analiza wariancji wyników nie potwierdziła również wpływu temperatury na stopień degradacji białek mięsa wołowego, jakkolwiek w wyższej temperaturze stwierdzono intensywniejszy przyrost jego zawartości.

Analiza wariancji przy wielokierunkowej klasyfikacji dowodzi, że preparat enzymatyczny YO wykazywał wyższą efektywność degradacji białek surowca niż to miało miejsce po zastosowaniu preparatu YG, ale niższą od pepsyny (rys. 1).

Czynnikami istotnie wpływającymi na zwiększenie przyrostu uwolnionego białka były pH równe 6,0 i całodobowy czas prowadzenia hydrolizy mięsa wołowego.

Tabela 1

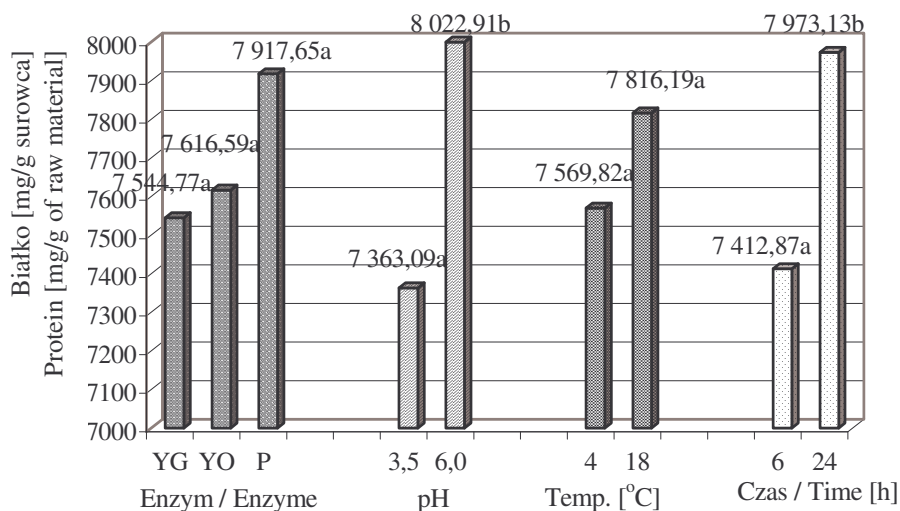
Wyniki oznaczeń zawartości: białka, wolnych grup aminowych, hydroksyproliny oraz siły cięcia po enzymatycznej degradacji białka mięsa wołowego. Analiza jednoczynnikowa.

Results of determining the contents of protein, free amino groups, hydroxyprolin, and shear force after the enzymatic degradation of protein from beef. One-way analysis of variance.

Enzym Enzyme	Parametry procesu Process parameters			Białko Protein [μg/g substrate]	Wolne grupy aminowe Free amine groups [μg/g substrate]	Hydroksypolina Hydroxyproline [μg/g substrate]	Siła cięcia Shear force [N/cm ²]	
	pH	temp. [°C]	czas time [h]					
P	3,5	4	6	6930,17 a*	121,66 a	10,98 b	75523 jk	
			24	7812,43 ab	280,70 b	12,42 bc	59300 fgh	
	3,5	18	6	7606,92 a	122,99 a	9,76 b	76029 jk	
			24	8170,18 ab	239,22 b	11,65 bc	57457 efg	
	6,0	4	6	7956,43 ab	104,15 a	8,04 a	87641 l	
			24	8864,65 bc	254,74 b	10,84 b	80818 kł	
	6,0	18	6	7993,34 ab	131,10 a	8,40 a	83355 lł	
			24	8007,07 ab	236,01 b	9,63 b	76309 jk	
	YO	3,5	4	6	6670,39 a	183,50 b	12,25 c	74396 jk
				24	7665,56 ab	227,63 b	15,07 d	59299 de
		3,5	18	6	6568,10 a	221,71 b	13,71 c	65155 hi
				24	8556,50 b	245,93 b	13,88 c	34042 a
6,0		4	6	7614,35 a	161,89 ab	9,13 b	63244 gh	
			24	7983,34 ab	182,34 ab	9,89 b	54786 def	
6,0		18	6	7813,48 ab	231,02 b	11,84 b	49851 cd	
			24	8060,96 ab	235,68 b	12,50 bc	36602 ab	
YG		3,5	4	6	6709,18 a	186,26 b	13,72 c	71267 ij
				24	7739,49 ab	203,47 b	15,44 d	60512 fgh
		3,5	18	6	6764,17 a	187,10 b	11,62 b	64661 hi
				24	7164,01 a	202,45 b	12,72 c	57234 efg
	6,0	4	6	7132,10 a	153,36 a	10,93 b	71195 ij	
			24	7759,70 ab	155,59 a	12,90 c	60212 fgh	
	6,0	18	6	8632,54 b	227,40 b	12,62 c	54190 def	
			24	8656,93 b	230,51 b	12,73 c	43305 bc	

* Wartości średnie w tej samej kolumnie oznaczone jednakowymi literami oznaczają brak różnic statystycznie istotnych przy poziomie ufności $\alpha \leq 0,05$ (n = 12).

* Means appearing in the same column and designated by identical letters indicate no statistically significant differences at a trust level of $\alpha \leq 0,05$ (n = 12).

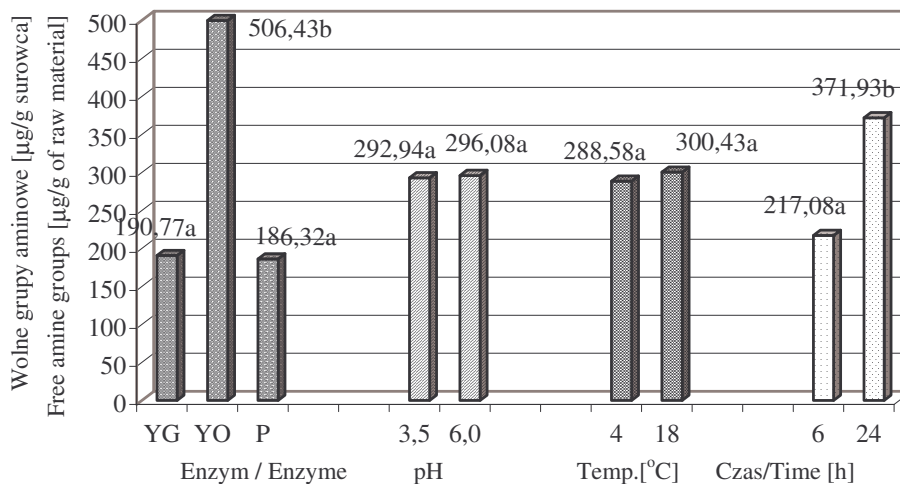


Rys. 1. Zawartość białka w roztworach po degradacji enzymatycznej mięsa wołowego. Analiza wieloczynnikowa.

Fig. 1. Protein content in the solutions after the enzymatic degradation of beef. Multifactor analysis of variance.

W przypadku oznaczeń wolnych grup aminowych po przeprowadzeniu hydrolizy enzymatycznej mięsa analizowanymi preparatami enzymatycznymi stwierdzić można, że wydłużenie czasu prowadzenia procesu degradacji wpłynęło istotnie na ich zwiększenie w roztworze po zastosowaniu pepsyny, a ilość oznaczonych wolnych grup aminowych wynosiła maksymalnie 280,70 $\mu\text{g/g}$ surowca (tab. 1). Natomiast preparaty drożdżowe już po 6 godz. prowadzenia degradacji uwalniały więcej grup aminowych. W tym przypadku wydłużenie czasu ich działania nie powodowało istotnego przyrostu tego wyróżnika. Z danych (tab. 1) wynika, że pH = 3,5 było zwykle efektywniejszym środowiskiem prowadzenia procesu niż pH = 6,0 w przypadku obu porównywanych preparatów. Podwyższenie temperatury, w której prowadzono hydrolizę, powodowało istotny wzrost intensywności uwalniania grup aminowych, ale stwierdzono go tylko przy wyższym pH środowiska w przypadku enzymów z *Yarrowia lipolytica*.

Analiza wieloczynnikowa omawianych oznaczeń wskazuje na wpływ czasu prowadzenia skruszania oraz podkreśla lepszą efektywność degradacji białek mięsa wołowego doświadczalnymi enzymami YO (rys. 2). Badania przeprowadzone przez Czajgucką i wsp. [4] wskazały również na wysoką aktywność proteaz z *Yarrowia lipolytica* w pH = 3,5. Natomiast badania Krasnowskiej [9] dowiodły, że zmiana źródła węgla w podłożu hodowlanym miała istotny wpływ na aktywność proteolityczną ocenianych preparatów drożdżowych. Autorka [9], prowadząc hydrolizę skór wieprzowych analogicznymi preparatami enzymatycznymi, wykazała również najintensywniejszą degradację białka przy zastosowaniu preparatu YO.



Rys. 2. Zawartość wolnych grup aminowych w roztworach po degradacji enzymatycznej mięsa wołowego. Analiza wieloczynnikowa

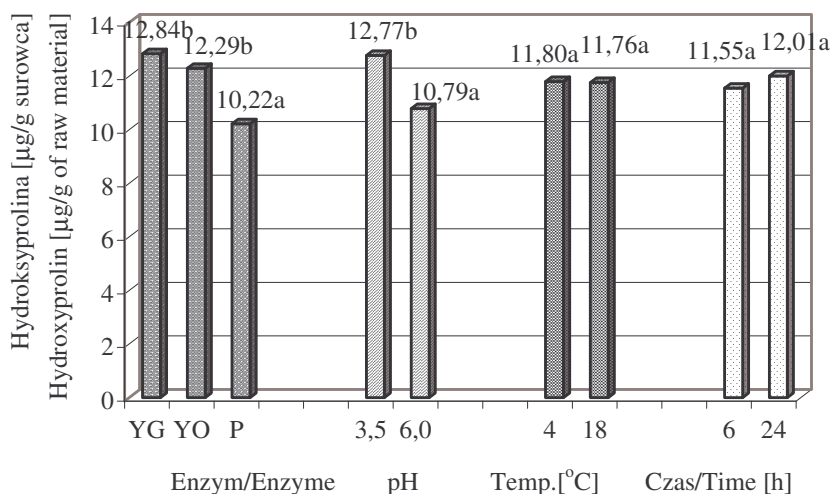
Fig. 2. Content of free amine groups in the solutions after the enzymatic degradation of beef. Multi-factor analysis of variance.

Na podstawie oznaczeń hydroksyproliny w roztworach po procesie skruszania wnioskować można, że preparaty pochodzenia drożdżowego charakteryzowały się wyższą zdolnością kolagenolityczną niż pepsyna (tab. 1). Najwięcej hydroksyproliny po skruszaniu pepsyną oznaczono w doświadczeniu prowadzonym w pH = 3,5 przez 24 godz. w temp. 4°C i wartość ta wynosiła 12,42 µg Hyp z 1 g surowca. W analogicznych warunkach procesu prowadzonego z zastosowaniem proteaz drożdżowych wartości te kształtowały się na istotnie wyższym poziomie i wynosiły 15,07 µg Hyp, przy zastosowaniu preparatu YO oraz 15,44 µg Hyp z 1 g surowca, przy zastosowaniu preparatu YG. Oba preparaty drożdżowe charakteryzowały się wysoką aktywnością wobec białek kolagenowych w pH = 3,5. Natomiast nieistotny okazał się wpływ podwyższenia temperatury prowadzenia procesu, a wydłużenie czasu hydrolizy tylko nieznacznie zwiększało zawartość tego aminokwasu w roztworze.

Analiza wieloczynnikowa (rys. 3) potwierdziła lepszą efektywność degradacji kolagenu mięsa preparatami drożdżowymi (najwyższa w przypadku YG) i istotny wpływ pH środowiska przy braku różnic w degradacji tego białka w wyższej temperaturze i przy wydłużeniu czasu prowadzenia procesu.

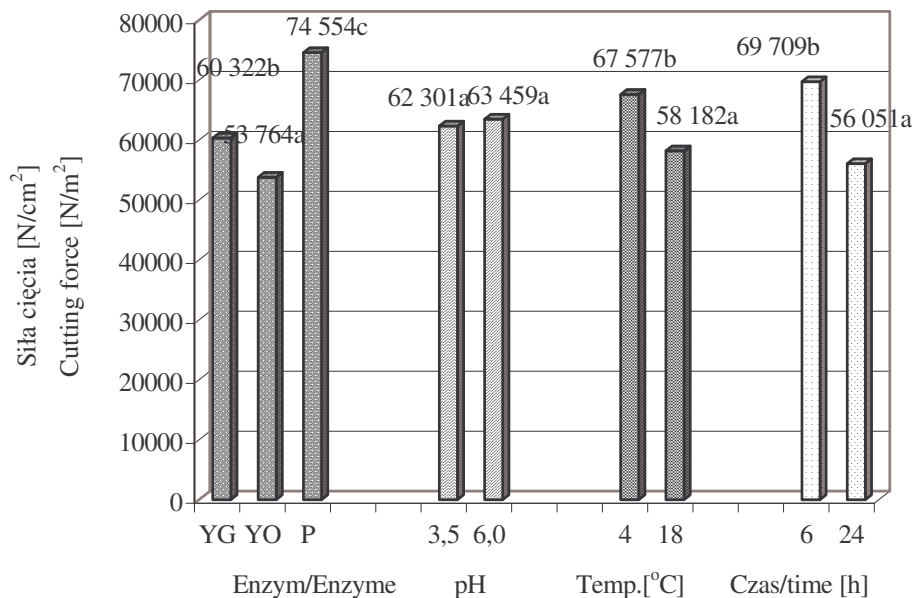
Po przeprowadzonej w doświadczeniu hydrolizie enzymatycznej mięsa wołowego dokonano pomiarów siły cięcia prób po uprzedniej modelowej obróbce termicznej. Analiza wariancji przy jednokierunkowej klasyfikacji wykazała znaczne zróżnicowanie wartości tego wyróżnika kruchości, wyrażonej w N/cm², kształtowały się one w przedziale od 34042 N/cm² (wariant skruszania preparatem YO w pH = 3,5 w

temp. 18°C przez 24 godz.) do 87641 N/cm² (przy skruszaniu pepsyną w pH = 6,0 w temp. 4°C przez 6 godz.), przy czym niższe wartości siły cięcia dowodzą lepszej kruchości mięsa. Porównując uzyskane wyniki (tab. 1) należy stwierdzić, że wydłużenie czasu przetrzymywania mięsa w obecności enzymu miało pozytywny wpływ na jego kruchość. Najlepsze efekty uzyskano prowadząc proces z użyciem preparatu drożdżowego YO w temp. 18°C przez 24 godz., gdzie przy obu wariantach pH siła cięcia była najmniejsza. Pepsyna natomiast okazała się enzymem najmniej efektywnym w pH = 6,0, a wydłużenie czasu prowadzenia procesu nie wpłynęło istotnie na poprawę kruchości mięsa wołowego (tab. 1), co wynika z faktu, że optimum jego działania jest w pH = 2,0. Analiza wielokierunkowa wykazała, iż czynnikami wpływającymi na zmniejszenie wartości siły cięcia są pH = 3,5, temp. 18°C oraz 24-godzinny czas prowadzenia degradacji białek (rys. 4). Reasumując, po analizie wykonanych oznaczeń chemicznych i instrumentalnym pomiarze kruchości mięsa poddanego hydrolizie enzymatycznej, należy podkreślić dobre właściwości proteolityczne ocenianych preparatów drożdżowych, w tym szczególnie enzymów preparatu YO. Ponadto godnym uwagi jest fakt, że poprawa kruchości mięsa doświadczalnymi preparatami była większa niż miało to miejsce w przypadku zastosowania pepsyny.



Rys. 3. Zawartość hydroksyproliny w roztworach po degradacji enzymatycznej mięsa wołowego. Analiza wieloczynnikowa.

Fig. 3. Hydroxyprolin content in the solutions after the enzymatic degradation of beef. Multifactor analysis of variance.



Rys. 4. Kruchość mięsa wołowego po degradacji enzymatycznej. Analiza wieloczynnikowa.

Fig. 4. Tenderness of beef after the enzymatic degradation. Multifactor analysis of variance.

Wnioski

1. Aktywność kolagenolityczna dwóch badanych preparatów drożdżowych, oceniona na podstawie przyrostu wolnej hydroksyproliny w roztworach po przeprowadzonej degradacji surowca, jest zdecydowanie wyższa niż pepsyny.
2. Wydłużenie czasu skruszania mięsa wołowego z 6 do 24 godz. ma istotny wpływ na degradację białek mięśniowych, jednak najintensywniejsza jest w pierwszych 6 godz. prowadzenia procesu.
3. Najlepszy efekt poprawy kruchości mięsa wołowego po hydrolizie enzymatycznej uzyskano stosując preparat enzymatyczny z drożdży *Yarrowia lipolytica* (szcep PII6a) z hodowli, w której źródłem węgla był olej (YO).
4. Pepsyna, w stosunku do ocenianych preparatów drożdżowych, w mniejszym stopniu wpływa na poprawę kruchości mięsa.

Literatura

- [1] Bednarski W.: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. W: Biotechnologia żywności. Red.: W. Bednarski i A. Rejs. WNT. Warszawa 2001, s. 376-397.
- [2] Bichodka M.J., Khachatourians G.G.: Purification and properties of an extracellular proteinase produced by entomopathogenic fungi. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1987, **7**, 1679-1684.
- [3] Buckenhüskes H., J.: Enzyme in der Fleischverarbeitung. *Fleischwirt.*, 2000, **3**, 29-33.

- [4] Czajgucka A., Chrzanowska J., Juszczyk P., Szołtysik M., Wojtatowicz M.: Aktywność proteolityczna szczepów drożdży pochodzących z serów Rokpol. *Biotechnologia*, 2003, **2** (1-2), 73-81.
- [5] Kalinowska H., Bielecki S., Turkiewicz M.: Enzymy nowej generacji w produkcji żywności. Cz. I. *Przem Spoż.*, 2000, **10**, 3-5.
- [6] Kijowski J.: Podstawy technologii mięsa drobiowego. W: *Mięso i przetwory drobiowe, technologia, higiena i jakość* - pod red. T. Grabowskiego i J. Kijowskiego. PWN. Warszawa 2004, s. 40-152.
- [7] Kołczak T.: Wpływ czynników poubojowych na kruchość wołowiny. *Gosp. Mięs.*, 2000, **5**, 28-31.
- [8] Kołczak T.: Jakość mięsa kulinarnego. *Gosp. Mięs.*, 2000, **8**, 32-33.
- [9] Krasnowska G.: Ocena właściwości proteolitycznych preparatów enzymatycznych uzyskanych z różnych szczepów drożdży *Yarrowia lipolytica*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **1** (38), 95-103.
- [10] Kuchroo C.V., Ramilly I.P., Fox P.F.: Assessment of proteolysis in cheese by reaction with trinitrobenzoesulphonic acid. *J. Food Technol.*, 1983, **7**, 129-133.
- [11] Leger R.J., Cooper R.M., Charnley A.K.: Cuticle-degradation enzymes of enthomopatogenic fungi. Cuticle degradation in vitro by enzymes from enthomopathogen. *J. Invertebr. Pathol.*, 1986, **47**, 167-177.
- [12] Mejbaum-Katzenellenbogen W., Mochnacka I.: Kurs praktyczny biochemii. PWN. Warszawa 1968.
- [13] Morihara K., Tsuzuki H.: Elastolytic properties of various proteinases of microbiological origin. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1967, **120**, 68-78.
- [14] Nowak D., Korzeniowski W.: Czynniki wpływające na jakość mięsa wołowego. *Gosp. Mięs.*, 2003, **2**, 22-23.
- [15] PN-ISO 1346:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości hydroksyproliny.
- [16] Pospiech E., Grześ B., Łyczyński A., Borzuta K., Szalata M., Mikołajczak B., Iwańska E.: Białka mięśniowe, ich przemiany a kruchość mięsa. *Mięso i Wędliny*, 2003, **1**, 26-33.
- [17] Powell T.H., Hunt M.C., Dickeman M.E.: Enzymatic assay to determine collagen thermal denaturation and solubilization. *Meat Sci.*, 2000, **54**, 307-311.
- [18] Robak M.: Studia nad wykorzystaniem octanu i wydzielaniem cytrynianu przez drożdże *Yarrowia lipolytica*. *Zesz. Nauk. AR, Rozprawy*, Wrocław 2002, s. 442.
- [19] Rawicka-Żukowska R.: Zastosowanie preparatów enzymatycznych w przemyśle rolno-spożywczym. *Przem. Spoż.*, 1998, **3**, 19-22.
- [20] Sikorski Z.E.: Charakterystyka białek głównych surowców żywnościowych. W: *Chemia żywności* - pod red. Z. E. Sikorski, WNT. Warszawa 2002, s. 304-333.
- [21] Snyder S. L., Sobociński P.Z.: An improved 2,4,6-trinitrobenzoesulphonic acid method for determination of amines. *Analys. Bioch.*, 1975, **64**, 285-288.
- [22] Warchalewski J.R.: Zastosowanie enzymów w produkcji żywności na przełomie wieków. *Przem. Spoż.*, 2001, **8**, 40-44.
- [23] Wajda S.: Możliwości poprawy jakości mięsa wołowego. *Gosp. Mięs.*, 2001, **7**, 24-26.
- [24] Wojtatowicz M., Chrzanowska J., Juszczyk P., Skiba A., Gdula A.: Identification and biochemical characteristic of yeast microflora of Rokpol cheese, In. *J. Food Microbiol.*, 2001, **69**, 135-140.

**DETERMINATION OF THE USEFULNESS OF SELECTED ENZYMATIC PREPARATIONS
TO IMPROVE THE QUALITY OF BEEF**

S u m m a r y

Tenderness of meat is one of the most important features of culinary beef. It is primarily created during the aging of meat. This long-term process with endogenic enzymes participating in it may be accelerated using exogenous proteolytic enzymes. The objective of the present study was to assess the usefulness of two enzymatic preparations (YG and YO), obtained from a culture of *Yarrowia lipolytica* yeasts (strain PII6a) and applied to tenderize beef, as well as to compare their effectiveness with the effectiveness of pepsin. The experimental material was enzymatically hydrolyzed using some selected preparations at two temperatures: 4°C and 18°C, for 6 and 24 hours, and at two pH values of the environment (3.5 and 6.0). The effect of the experimental enzymes was assessed on the basis of the degree of meat protein degradation. The latter was determined by the increase in the content of free amine groups, hydroxyproline, and nitrogen contained in post-hydrolysis solutions, as well as on the basis of measured levels of meat tenderness using special gauges. It was stated that the enzymatic preparation 'YO' showed the highest proteolytic activity if compared with the proteins of beef. The pH acidity of the environment equalling 3.5 was optimal for the activity of the assessed enzymatic preparations; the temperature did not have any relevant impact on the protein degradation process. It was proved that a prolonged hydrolysing process, from 6 to 24 hours, had a significant effect on the improvement of meat tenderness although the degradation was the most intensive during the first 6 hours.

Key words: enzymatic preparations, enzymatic hydrolysis, tenderness, beef 