

PRÓBA WYJAŚNIENIA MECHANIZMU POWSTAWANIA MIĘSA O WODNISTEJ STRUKTURZE W OPARCIU O KINETYKĘ PRZEMIAN ADENOZYNOTRÓJFOSFORANU

KAROL KRZYWICKI

Instytut Przemysłu Mięsnego, Poznań

Rekapitulując stan naszej wiedzy o tworzeniu się mięsa wodnistej, można powiedzieć, że obserwowane obniżenie wartości przetwórczych oraz pogorszenie cech organoleptycznych tego rodzaju mięsa jest rezultatem znacznej denaturacji pewnych białek sarkoplazmy zachodzącej pod wpływem intensywnej produkcji kwasu mlekowego przez tkankę (Briskey, 1964; Bendall i Lawrie, 1964).

Ingerencja technologa w celu wyeliminowania wodnistej mięsa, oparta o tę wiedzę, ma niewielkie szanse powodzenia, ponieważ zmiany biochemiczne determinujące powyższą strukturę i jakość mięsa zachodzą w ciągu pierwszych kilkudziesięciu minut po uboju nie pozostawiając czasu na zastosowania środków zapobiegawczych, celowych z ekonomicznego punktu widzenia (Krzywicki, 1968). Znane, skuteczne sposoby eliminowania wodnistości mięsa, jak stosowanie środków farmaceutycznych (Bendall, 1965; Hallund i Bendall, 1965) lub gwałtowne schładzanie przy pomocy ciekłego azotu (Borchert i Briskey, 1964) z tego właśnie względu nie mają praktycznego znaczenia.

Aby uzyskać większe szanse w zwalczaniu objawów wodnistości mięsa, trzeba poznać przyczyny przyspieszenia procesów glikolizy prowadzących do zbyt szybkiej produkcji kwasu mlekowego. Źródła intensywnej produkcji kwasu mlekowego należy niewątpliwie szukać wśród reakcji biochemicznych związanych z cyklem glikolitycznym. W tych poszukiwaniach można by pójść dwoma drogami:

— przyjmując, że przyspieszenie glikolizy jest spowodowane wzrostem aktywności lub stężenia jednego z enzymów katalizujących reakcje rozkładu glikogenu do kwasu mlekowego,

— albo przyjmując, że intensywne wytwarzanie kwasu mlekowego jest wynikiem wzmożonego zapotrzebowania na adenozynotrójfosforan wywołane wzrostem aktywności jednej z ATP-az mięśniowych lub przebiegiem reakcji o ujemnym bilansie energetycznym.

Obecnie istnieją już jednak przesłanki wskazujące na drugą z wymienionych dróg, jako na tę, która może przynieść rozwiązanie problemu. Wynika to z badań przeprowadzonych przez Bendalla i in. (Bendall, 1965; Bendall i in., 1963). Stwierdzili oni, że wszelkie różnice szybkości zmian pH po uboju w mięśniach świń znikają po zastosowaniu środków farmaceutycznych blokujących przekazywanie bodźców nerwowych do mięśnia (kurara, myanesin). Obserwacja ta eliminuje wzrost aktywności lub stężenia enzymów cyklu glikolitycznego jako przyczynę przyspieszenia spadku pH po uboju. Bowiem w przypadku istnienia enzymu posiadającego znacznie wyższą niż przeciętna aktywność lub większą ilość jakiegoś enzymu, równowaga dynamiczna panująca w mięśniu byłaby przesunięta bardziej w kierunku produktów reakcji katalizowanych przez dany enzym i tym samym wystąpiłoby zróżnicowanie szybkości zmian pH.

Zróżnicowanie szybkości glikolizy jest więc wywołane przez reakcję przebiegającą poza cyklem glikolitycznym, wzbudzaną przez bodźce nerwowe i prowadzącą do hydrolizy enzymatycznej adenozynotrójfosforanu. Reakcje glikolizy należy traktować jako pomocnicze w stosunku do reakcji lub procesów wykorzystujących energię zgromadzoną w ATP. Szybkość hydrolizy ATP w tych właśnie reakcjach należy uważać za czynnik regulujący szybkość przemiany glikogenu w kwas mlekowy. Wiadomo że podczas pracy mięśnia zużycie ATP, a tym samym i szybkość glikolizy może wzrosnąć kilkaset razy w porównaniu z tzw. szybkością spoczynkową (Davies, 1964). Gdyby te dwie reakcje, czy też dwa cykle reakcji, nie były ze sobą odpowiednio sprzężone, zapasy ATP zostałyby w mięśniu prędko wyczerpane i mięsień stałby się niezdolny do wykonywania pracy.

Bendall i in. (1963) badali przemiany adenozynotrójfosforanu i fosfokreatyny w dwóch grupach mięśni *longissimus dorsi* (Danish Landrace), różniących się szybkością zmian pH po uboju. W pierwszej (A), maksymalna szybkość zmian pH wynosiła 0,65 jednostki pH/godz. (mięśnie normalne), w drugiej (B) — 1,05 jednostki pH/godz. (mięśnie „wodniste”). Maksymalne szybkości rozkładu ATP były też różne i wynosiły odpowiednio 1,04 $\mu\text{M P/min. g}$ (A) oraz 1,63 $\mu\text{M P/min. g}$ (B). Zmiany zawartości fosfokreatyny były mniej uderzające, a to z powodu dużej rozpiętości wartości początkowych (10 min. po uboju zawartość fosfokreatyny wahała się w granicach od 3 do 11 $\mu\text{M/g}$). Zaobserwowano jednak, że w grupie B średnia zawartość fosfokreatyny po 35 min. była niższa od 2 $\mu\text{M/g}$, natomiast w grupie A wartości tego rzędu stwierdzono dopiero po około 100 min. Uzupełniając te dane można tu dodać, że udało się stwierdzić liniową zależność między pH_1 (umowna miara szybkości spadku pH), a szybkością rozkładu ATP w mięśniu *longissimus dorsi* (Krzywicki, wyniki nie publikowane). Na przykład dla wartości pH_1 5,7 zaobserwowano aktywność 0,8 $\mu\text{M P/min. mg}$ białka, a dla pH_1 7,0—0,25 μM

P/min. mg białka. Galloway i Goll (1967) co prawda, nie stwierdzili żadnych różnic w grupie 12 badanych mięśni *longissimus dorsi*. Podają oni średnią aktywność $0,247 \pm 0,006 \mu\text{M P/min. mg białka}$. Przy doborze mięśni do badań nie kierowali się oni jednak szybkością zmian pH *post mortem* jako kryterium i prawdopodobnie grupa badanych mięśni nie była pod tym względem istotnie zróżnicowana.

Jeżeli przyjmiemy hipotezę, że przyspieszenie zmian pH jest wywołane zwiększonym zapotrzebowaniem na ATP przez komórkę mięśniową, to trzeba odpowiedzieć na pytanie, na jakim etapie metabolizmu komórkowego to zwiększone zapotrzebowanie występuje. Z ATP-az mięśniowych dwie zasługują na zainteresowanie — ATP-aza miofibrylarna oraz sarkoplazmatyczna, aktywowana jonami Mg. Kilkakrotnie bardziej aktywna ATP-aza miofibrylarna jest nierozłącznie związana z aktywnością (pracą) mięśnia (Lawrie, 1966). Dotychczas nie stwierdzono, aby równoległe z szybkimi zmianami pH w tuszy występował skurcz mięśni i dlatego należy raczej wątpić, aby odgrywała ona rolę w badanym procesie. Druga ze wspomnianych ATP-az znajduje się w sarkoplazmie (Kielley i Mayerhof, 1950) i jest ściśle związana z fosfolipidami. Hydroliza lecytyny przez fosfolipazę C powoduje zanik aktywności enzymu.

W celu wyjaśnienia roli ATP-azy aktywowanej jonami Mg w przyspieszaniu glikolizy skorzystano właśnie z jej powiązania z fosfolipidami. Prześledzono ich rozmieszczenie i zawartość w kilku elementach tkanki mięśniowej, zwracając jednocześnie uwagę na ewentualne związki z szybkością zmian pH (Krzywicki, 1965; Krzywicki i Ratcliff, 1967). Wyniki tych badań okazały się dość interesujące. Po pierwsze, stwierdzono, że skład fosfolipidowy frakcji miofibrylarniej, mitochondrialnej oraz retikulum sarkoplazmatycznego jest niemal identyczny ($53,3 \pm 1,1\%$ lecytyny, $14,3 \pm 0,8\%$ fosfatydyloinozytolu, $22,8 \pm 1,0\%$ kefaliny, $7,3 \pm 0,8\%$ składnika niezidentyfikowanego). Po drugie, zaobserwowano istnienie dodatkowo, wysoko istotnej korelacji między szybkością zmian pH po uboju a ilością fosfolipidów we frakcji miofibrylarniej, najbogatszej pod tym względem, bo zawierającej od 57 do 78% fosfolipidów znajdujących się w tkance. Opierając się na tych obserwacjach można sugerować, że znakomita większość fosfolipidów tkanki mięśniowej pochodzi z elementu komórkowego, znajdującego się we wszystkich badanych frakcjach i mającego podobną strukturę. Takim elementem mogą być tylko błony lipoproteinowe.

Biorąc pod uwagę technikę rozdziału tkanki na wspomniane frakcje można się spodziewać, że najcieńsza frakcja miofibrylarna może zawierać oprócz miofibryli jądra komórkowe, sarkolemmę, pewną ilość tkanki łącznej oraz retikulum sarkoplazmatyczne, nie oddzielone w trakcie homogenizacji od miofibryli. Fosfolipidy błon lipoproteinowych jądra komórkowego oraz sarkolemmy stanowią niewielką część ogólnej ilości i nie mogą z tego względu stanowić podstawy do wytłumaczenia wysokiej

zawartości tych związków we frakcji miofibrylarnej. Pozostaje jeszcze do rozpatrzenia retikulum. W komórce mięśni szkieletowych jest ono bardzo rozbudowane. Jego kanaliki gęsto i ściśle oplatają poszczególne miofibryle, tworząc regularną sieć służącą do transportu poszczególnych metabolitów oraz przewodzącą bodźce od zakończeń nerwowych do wnętrza włókna mięśniowego. Regularność struktury retikulum związana jest z periodycznością budowy miofibryli, tzn. każdemu sarkomerowi towarzyszą te same elementy retikulum (Franzini-Armstrong i Porter, 1964). Niektóre fragmenty retikulum (układ poprzeczny) posiadają wydatną błonę lipoproteinową. Pamiętając o rozmieszczeniu retikulum sarkoplazmatycznego we włóknie mięśniowym, nietrudno wyobrazić sobie jak niełatwym zadaniem jest mechaniczne uwolnienie z tych gęstych splotów miofibryli. Tak więc, bez wielkiego ryzyka można założyć, że większość retikulum pozostaje nadal związana z miofibrylami (Muscatello, 1961; Hanson i Olley, 1965; Hulsmans, 1961; Wheeldon i in., 1965) i jest źródłem fosfolipidów znajdujących się w tej frakcji. Dodajmy, że w większości tkanek właśnie retikulum jest elementem najbogatszym w fosfolipidy.

Pozostała do rozwiązania jeszcze kwestia funkcjonalnego powiązania między retikulum a szybkością zmian pH. Z dotychczasowych rozważań wynika, że podstawą dla takiego powiązania musi być wzmożone zapotrzebowanie na ATP. Klucz do rozwiązania tego problemu dają wspomniane już wcześniej doświadczenia Bendalla i Hallunda (Bendall, 1965; Hallund i Bendall, 1965), w których blokowano przekazywanie bodźców nerwowych do komórki mięśniowej. Blokada taka znosiła całkowicie różnicowanie mięśni pod względem szybkości zmian pH. Dokonali oni poza tym ciekawego spostrzeżenia. Mianowicie, kiedy po zastosowaniu blokady pobudzali mięsień bezpośrednio przy pomocy prądu elektrycznego, zaobserwowali dwojaki rodzaj reakcję. W jednej grupie mięśni, po szoku elektrycznym następowało niewielkie przyspieszenie spadku pH, które po krótkim czasie ustępowało. W drugiej grupie, natomiast, szok powodował duże przyspieszenie spadku pH, a mięśnie nie wracały już do poprzedniego stanu równowagi. Pełnego wyjaśnienia tego zjawiska nie udało się im znaleźć. Stwierdzili na podstawie porównań z próbami kontrolnymi, że pierwszej grupie odpowiadają mięśnie normalne, a drugiej wodniste.

Otrzymane dotychczas wyniki pracy, prowadzonej obecnie w Instytucie Przemysłu Mięsnego, pozwalają na sformułowanie hipotezy tłumaczącej omówione zjawisko.

Jedną z funkcji retikulum sarkoplazmatycznego jest rola tzw. czynnika rozkurczowego. Wiadomo że warunkiem koniecznym wystąpienia skurczu mięśnia jest obok obecności ATP obecność jonów wapnia. W nieobecności jonów Ca^{++} ATP spełnia tylko rolę czynnika pozwalającego na zachowanie elastyczności mięśnia. Mięsień nie może wykonywać jednak żadnej pracy. Dopiero w obecności jonów Ca^{++} następuje hydro-

liza ATP i tworzenie się wiązań między aktyną i miozyną, prowadzące do skurczu. Otóż funkcja retikulum jako czynnika rozkurczowego polega na pełnieniu przez nie roli tzw. pompy wapniowej. Jest ono zdolne do wyłapywania znacznych ilości wapnia z otaczającego je środowiska, wbrew gradientowi stężeń. Uwalnianie nagromadzonego wapnia następuje pod wpływem impulsu przekazanego przez nerw. Oczywiście, sorpcja jonów wapniowych wbrew gradientowi stężeń wymaga dostarczenia energii, w postaci ATP. Według Hasselbacha i Makinose (1962) dodanie jonów Ca^{++} prowadzi do 7—8-krotnego przyspieszenia szybkości hydrolyzy ATP przez retikulum. Absorpcji 1 mola Ca^{++} towarzyszy hydroliza około 1 mola ATP.

Badając mięśnie o wysokich i niskich wartościach pH_1 , stwierdzono, że frakcja miofibrylarna posiada własności pompy wapniowej (a więc zawiera retikulum) oraz że wydajność tej pompy idzie w parze z obniżaniem się wartości pH_1 (Krzywicki, wyniki nie publikowane). Używając słów „ilość retikulum” zamiast „wydajności pompy” łatwo zrozumiemy zależność między ilością fosfolipidów i szybkością zmian pH po uboju. Podobnie jasne stają się niewytłumaczone spostrzeżenia Bendalla i Hallunda (1965). Mianowicie bardziej rozbudowany system retikulum zużywa więcej energii, ponieważ po każdym impulsie nerwowym uwalniającym jony Ca^{++} do sarkoplazmy, następuje kosztowna w sensie energetycznym resorpcja. W mięśniach „wodnistych” (bogatych w retikulum) odbudowanie zapasów ATP wymaga poważniejszego wykorzystania rezerw energetycznych ukrytych w glikogenie i stąd szybsza produkcja kwasu mlekowego. Porter i Franzini-Armstrong (1965) stwierdzają, że retikulum sarkoplazmatyczne jest również zdolne do szybkiej syntezy ATP poprzez cykl glikolityczny, oraz sugerują, że rozwój systemu retikularnego w mięśniu jest ściśle związany z jego wymaganiami energetycznymi. Mięśnie przystosowane do ciągłego, długotrwałego wysiłku czerpią energię produkowaną głównie przez mitochondria na drodze fosforylacji oksydatywnej. Retikulum jest w takich mięśniach słabiej rozwinięte. Natomiast mięśnie przystosowane do krótkotrwałego, nagłego wysiłku są zaopatrywane w ATP przede wszystkim przez cykl glikolityczny i mają dobrze rozwinięty układ retikulum.

Uogólniając wyniki omówionych, szczegółowych badań, można sugerować, że stosowany obecnie system hodowli świń, ograniczający w znacznym stopniu swobodę ruchu zwierząt, prowadzi do zmian w metabolizmie tkanki mięśniowej sprzyjających przyspieszeniu glikolizy *post mortem* i tym samym obniżających wartość przetwórczą mięsa.

LITERATURA

1. Bendall J. R., R. A. Lawrie, 1964. Die Fleischwirtschaft, 16:411.
2. Bendall, J. R., 1965. XIth Congress European Meat Research Workers, Belgrade.
3. Bendall J. R., Hallund O., Wismer-Pedersen J., 1963. J. Fd. Sci., 28:156.

4. Borchert L. L., E. J. Briskey, 1964. J. Fd. Sci., 29:203.
5. Briskey E. J., 1964. Adv. Fd Res., 13:89.
6. Davies R. E., 1964. Proc., Roy. Soc., B 160:480.
7. Franzini-Armstrong C., K. R. Porter, 1964. Nature, 202:355.
8. Galloway D. E., D. E. Goll, 1967. J. Anim. Sci., 26:1302.
9. Hallund O., Bendall J. R., 1965. J. Fd. Sci., 30:296.
10. Hanson S. W. F., J. Olley, 1965. The Technology of Fish Utilization, red. Kreuzer R., London, s. 35 i 105.
11. Hasselbach W., M. Makinose, 1962. Biochem. Biophys. Res. Comm., 7:132.
12. Hulsmans H. A. M., 1961. Biochim. Biophys. Acta, 54:1.
13. Kielley W. W., O. Mayerhof, 1950. J. Biol. Chem., 183:391.
14. Krzywicki K., 1965. Roczn. Inst. Przem. Mięś., 2:225.
15. Krzywicki K., 1968. Roczn. Inst. Przem. Mięś., 5:23.
16. Krzywicki K., P. W. Ratcliff, 1967. J. Sci. Fd. Agric., 18:252.
17. Lawrie R. A., 1966. Meat Science, Pergamon Press., s. 126.
18. Porter K. R., C. Franzini-Armstrong, 1965. Scient. Am., 212:73.
19. Wheeldon L. W., Z. Schumert, D. A. Turner, 1965. J. Lipid Res., 6:481.

Кароль Крживицки

ПОПЫТКА ОБЪЯСНЕНИЯ МЕХАНИЗМА ПОЯВЛЕНИЯ ВОДЯНИСТОГО МЯСА НА ОСНОВАНИИ КИНЕТИКИ ОБМЕНА АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА

Резюме

Автором выполнен пересмотр до сих пор опубликованных работ, касающихся объяснения роли поубойного обмена аденозинтрифосфата в процессе появления водянистого мяса.

На основании литературы и выполненных работ автор ставит гипотезу, согласно которой ускоренное падение рН в водянистых мышцах связано с развитой системой саркоплазматического ретикулума, а точнее с действием ретикулума, как релаксационного фактора.

По мнению автора снижение технологической ценности водянистого мяса является результатом глубоких перемен в обмене мышечной ткани, обусловленных применяемой в настоящее время системой свиноводства.

Karol Krzywicki

AN ATTEMPT TO ELUCIDATE THE MECHANISM OF WATERY MEAT FORMATION ON THE GROUND OF THE KINETICS OF ADENOSINETRI- PHOSPHATE (ATP) CHANGES

Summary

A review of recent research work on the role of post mortem ATP changes in watery pork muscles is presented. On that background and on the basis of the author's own work the hypothesis is put forward that an accelerated pH fall in a "watery" muscle is related to more developed sarcoplasmic reticulum system, namely, to its relaxing function.

The author suggests that the technological inferiority of watery meat represents a reflection of deep metabolic changes in muscle tissue caused by present breeding methods.