

# APARATURA

## BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

### Wpływ oddziaływania zimnej plazmy na zmienność form mioglobiny mięsa świńskiego

NATALIA ULBIN-FIGLEWICZ, ANDRZEJ JARMOLUK

UNIwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Nauk o Żywności,  
Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością

**Słowa kluczowe:** zimna plazma, mięso, barwniki hemowe, mioglobina

#### STRESZCZENIE

Zastosowanie zimnej plazmy jako metody dekontaminacji żywności stanowi w ostatnich latach przedmiot badań wielu naukowców. Oprócz efektywności przeciwdrobnoustrojowej tego procesu istotne jest określenie wpływu obróbki plazmowej na wyróżniki jakościowe mięsa. W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczących ekspozycji plazmowej mięsa na zmienność zawartych w nim form barwników hemowych. Stwierdzono, że plazma argonowa nie indukuje zmienności ogólnej liczby barwników hemowych jak i stężeń znanych form mioglobiny izolowanych z próbek mięsa świńskiego eksponowanego na jej działanie. Zaobserwowano zmiany stężenia omawianych form mioglobiny podczas przechowywania.

#### Influence of cold plasma treatment on variation of myoglobin forms in meat

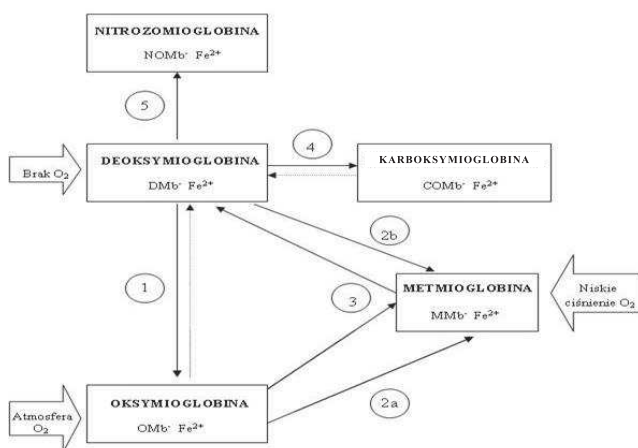
**Keywords:** cold plasma, haem pigments, meat, myoglobin

#### ABSTRACT

Meat quality is determined by few factors, but colour of meat plays the most important role in the acceptability of meat. The objective of the current study was to determine effect of argon plasma treatment on concentration of total haem pigments and myoglobin forms. It was found that cold plasma treatment has not an influence on concentration of total haem pigments and concentration of myoglobin forms in control sample and sample treated with argon plasma. Storage induced a significant increase of MetMb and DeoMb and decrease of OxyMb.

## 1. WSTĘP

Barwa mięsa stanowi bardzo istotny czynnik decydujący o akceptacji konsumenckiej. Przy zakupie mięsa kulinarnego preferowana jest barwa jasnoczerwona, która kojarzona jest ze świeżością surowca. Głównym barwnikiem nadającym barwę mięsu jest mioglobina. W zależności od stężenia i formy chemicznej tego barwnika hemowego barwa mięsa ulega zmianie. W świeżym mięsie mioglobina występuje w trzech formach: deoksymioglobina (DeoMb), oksymioglobina (OxyMb) i metmioglobina (MetMb), które determinowane są obecnością ligandu połączonego z atomem żelaza hemu i wartością wiązania żelaza w pierścieniu porfiryńowym hemu (Rys. 1).



Rysunek 1 Przemiany mioglobiny na powierzchni mięsa [1]

Figure 1 Myoglobin redox interconversions on the surface of meat [1]

Deoksymioglobina i oksymioglobina gwarantują pożądaną purpurowo-czerwoną i jasnoczerwoną barwę, zaś po utlenieniu ich do metmioglobiny barwa ta zmienia się na brunatną, co jest negatywnie postrzegane przez konsumentów i według ich opinii świadczy o pogorszeniu jakości mięsa [2]. Pakowanie w modyfikowanej atmosferze gazów (MAP – mieszaniny azotu, tlenu i dwutlenku węgla) umożliwia dłuższe zachowanie atrakcyjnej sensorycznie barwy i przedłużenie przydatności do spożycia mięsa i produktów mięsnych [3]. Obecnie prowadzone są również badania nad wykorzystaniem tlenku węgla (CO) jako komponentu mieszanek gazowych wykorzystywanych do pakowania świeżego mięsa, co umożliwia wytworzenie trwałej, wiśniowej barwy. Obecne regulacje prawne w Unii Europejskiej nie zezwalają na stosowanie tego gazu jako składnika MAP [4].

Plazma uznawana jest za czwarty stan skupienia i definiowana jako mieszanina cząstek obojętnych i naładowanych elektrycznie. Temperatura plazmy nietermicznej (zimnej) wynika z różnej temperatury tych właśnie cząstek: na ogół  $T_e/T_g \approx 10-100$ , co przy temperaturze elektronów  $T_e = 10^4-10^5$  K daje średnio temperaturę równą około 500 K dla jonów i około 300 K dla pozostałych cząsteczek. Obecność „zimnych” cząstek skutkuje brakiem uszkodzeń cieplnych materiału poddanego działaniu zimnej plazmy. Otwiera to nowe możliwości wykorzystania zimnej plazmy przy wytwarzaniu produktów termolabilnych, wliczając w to materiały biologiczne czy tkanki [5]. Jednym z aktualnie powszechnie obserwowanych trendów badawczych są zastosowania techniki plazmy nietermicznej jako metody dekontaminacji powierzchniowej żywności [6, 7]. Za właściwości sterylizacyjne odpowiada obecność w plazmie rodników, fotonów UV, cząstek typu: ozon, tlenek azotu, nadtlenek wodoru [5].

## 2. MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło mięso świńskie (*m. longissimus dorsi*) zakupione 48 h *post mortem* w Zakładzie Mięsnym „Dworec” w Golejowie. Mięso poddawano ekspozycji plazmowej w czasie 6 minut przy obniżonym ciśnieniu (-0,5 mbar). Ponadto próbki mięsa świeżego i po ekspozycji plazmą argonową zapakowano w woreczki z folii PA/PE próżniowo (VAC) oraz w modyfikowanej atmosferze gazów (MAP – 80% tlen, 20% dwutlenek węgla) i przechowywano przez 7 i 14 dni w temperaturze 4°C. Wpływ oddziaływania zimnej plazmy argonowej na ogólną zawartość barwników porfiryńowych określono metodą Warrisa w modyfikacji Pikula [8, 9]. W celu ekstrakcji barwników hemowych próbkę mięsa o masie 5 g homogenizowano z 50 cm<sup>3</sup> schłodzonego buforu fosforanowego o pH 6,8 przez 15 s przy prędkości obrotowej zespołu nożowego 9000 obr/min. Następnie homogenat chłodzono przez 60 min do temperatury 4-6°C, po czym próbki wirowano przy 4000xg przez 10 min. Z uzyskanego osadu ponownie ekstrahowano barwniki postępując jak uprzednio. Część (ok. 500 cm<sup>3</sup>) supernatantu wirowano przy 3000xg przez 60 minut, przesączało i mierzono absorbancję przy długości fali 525 nm. Ogólną zawartość barwników hemowych obliczono według wzoru:

$$OZB=A \cdot 17500 \cdot V / 7600 \cdot C \quad [\text{mg/g}] \quad (1)$$

gdzie: A – wartość absorbancji badanej próbki przy odpowiedniej długości fali (525 nm), V – współczynnik rozcieńczenia, który uwzględnia ilość dodanego buforu i zawartość wody w badanej próbce mięsa (cm<sup>3</sup>), C – masa naważki (g), 17500 – gramorównoważnik mioglobiny, 7600 – molarny współczynnik dla mio-, oksy- i metmioglobiny przy długości, fali 525 nm.

Poszczególne formy mioglobiny oznaczono metodą spektrofotometryczną, mierząc absorbancję przy długości fal: 420, 431, 502, 525, 557 i 582 nm [10-13].

### 3. APARATURA BADAWCZA

Plazmowy reaktor chemiczny firmy „Ertec Poland” o zasilaniu impulsowym jest urządzeniem laboratoryjnym przeznaczonym do badań wpływu plazmy podtrzymywanej wysokoenergetycznymi impulsami pól elektrycznych na przebieg procesu sterylizacji mięsa i jego przetworów.

Ważniejszymi elementami reaktora są:

- komora reakcyjna wykonana ze szkła laboratoryjnego typu Simax, w której umieszczony jest zespół wysokonapięciowego stolika przeznaczonego do umieszczenia próbki i służącego do przeniesienia wysokonapięciowych impulsów elektrycznych oraz zewnętrzny zespół elektrod uziemionych i stanowiących okładkę kondensatora wyładowczego. Komora jest przeznaczona do pracy w próżni w przestrzeni roboczej do 1 mbar;

- zasilacz elektryczny wysokonapięciowy dostarczający impulsów o amplitudzie do 4kV i częstotliwości 70 kHz, które ulegają podwyższeniu za pomocą olejowego transformatora ferrytowego umieszczonego w obudowie z czarnego polietylenu. Zasilacz wysokiego napięcia w postaci metalowej szuflady umieszczony jest pod stołem laboratoryjnym. Na stole umieszczona jest klatka ekranowana siatką metalową, rozpiętą na izolacyjnych płytach poliwęglanowych, wewnątrz ramy aluminiowej;

- metalowa komora ekranowana umieszczona z prawej strony wewnątrz klatki, mieszcząca układy pomiarowe i sterownicze. Na frontowej ścianie w tej części urządzenia umieszczone zostały przyrządy kontrolno-pomiarowe oraz zespoły przycisków sterujących. W obudowie klatki zamontowana jest komora reakcyjna zespólna z układem elektrycznego podnoszenia i opuszczania klosza komory reakcyjnej na podstawie dielektrycznej z uszczelką próżniową.

### 3.1 Dane techniczne prototypowego generatora zimnej plazmy

Wielkościami charakterystycznymi reaktora plazmowego są:

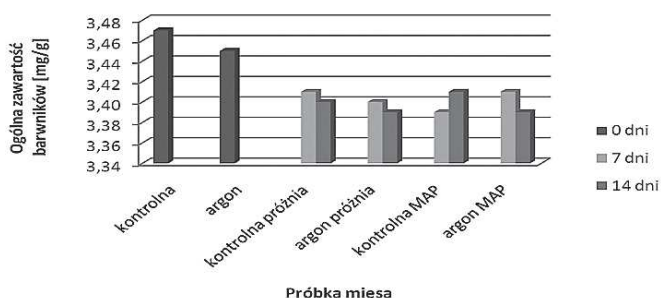
- napięcie impulsu elektrycznego ustawiane w zakresie 0,5 do 20 kV AC zasilanie 3-fazowe 3x400V,
- minimalny czas powtarzania impulsu: 0,5 s,
- pojemność klosza reaktora: 30 l,
- wymiary urządzenia (długość x głębokość x wysokość): 700 x 500 x 650 mm,
- masa: ~70 kg.

### 4. ANALIZA STATYSTYCZNA

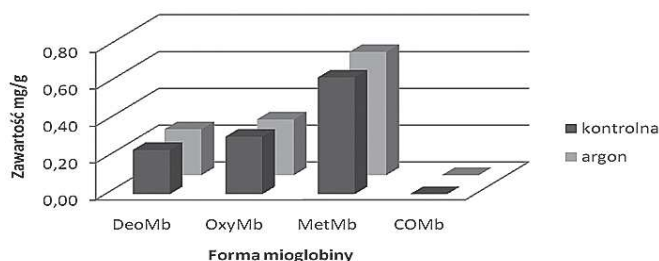
Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu Statistica 6, stosując wieloczynnikową analizę wariancji (Anova). Grupy jednorodne zostały wyodrębnione dla Testu Duncana (założony poziom istotności wynosił 5%).

### 5. OMÓWIENIE I Dyskusja Wyników

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że zimna plazma argonowa nie wpływa istotnie na ogólną zawartość barwników (OZB) jak również zmienność poszczególnych form mioglobiny w mięsie świńskim ekspozycyjnemu na jej działanie. Próbkę mięsa świeżego charakteryzowały się stężeniem OZB na zbliżonym poziomie tj. ok. 3,5 mg/g (Rys. 2) oraz zawartością poszczególnych form mioglobiny wynoszącą dla DeoMb, OxyMb i MetMb odpowiednio 0,25 mg/g, 0,3 mg/g i 0,65 mg/g (Rys. 3). Ponadto w wyniku oddziaływania plazmą argonową, nie stwierdzono powstawania karboksymioglobiny. We wcześniejszych przeprowadzonych badaniach nie odnotowano również zmian wartości fizycznych wyróżników barwy L\*a\*b\* w mięsie ekspozycyjnemu na działanie zimnej plazmy [14].



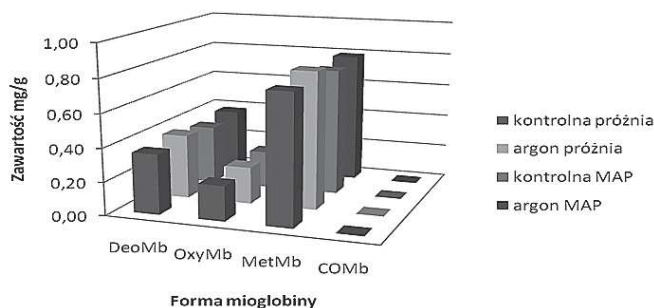
**Rysunek 2** Ogólna zawartość barwników hemowych  
**Figure 2** Total haem pigments concentration



**Rysunek 3** Zmienność zawartości form mioglobiny w próbkach mięsa świeżego

**Figure 3** Myoglobin dye concentration in fresh meat samples

Podczas chłodniczego przechowywania próbek zaobserwowano zmianę stężenia oznaczanych form mioglobiny, przy czym stwierdzono, że na zmienność tę wpływa wyłącznie czas przechowywania. Po upływie 7 dni odnotowano istotny wzrost ilości deoksymioglobiny i metmioglobiny, w odniesieniu do próbek mięsa świeżego odpowiednio o ok. 50% i 20% (Rys. 4). Wykazano także mniejsze o ponad 30 % stężenie oksymioglobiny, co wynika z zachodzących w mięsie procesów utleniania.

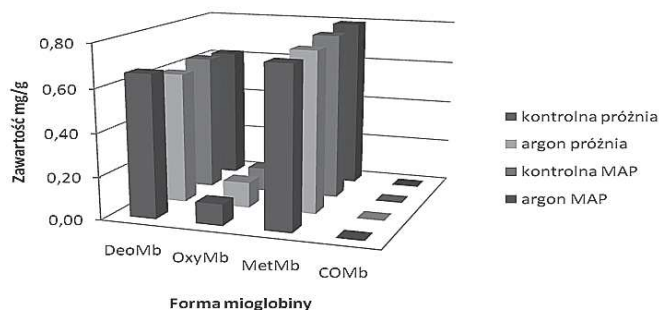


**Rysunek 4** Zmienność zawartości form mioglobiny w próbkach mięsa przechowywanych 7 dni

**Figure 4** Myoglobin dye concentration in meat samples after 7 days of storage

Przedłużenie przechowywania do 14 dni skutkowało dalszym wzrostem zawartości deoksymioglobiny z jednoczesnym zmniejszeniem stężenia oksymioglobiny (Rys. 5).

Balentine i wsp. (2006) wykazali zmniejszenie ilości oksymioglobiny wraz z wydłużeniem czasu przechowywania. Odnotowali mniejsze o ok. 80% zawartości tego barwnika hemowego po 144 godzinach składowania próbek mięsa [15]. Również



**Rysunek 5** Zmienność zawartości form mioglobiny w próbkach mięsa przechowywanych 14 dni

**Figure 5** Myoglobin dye concentration in meat samples after 14 days of storage

w badaniach przeprowadzonych przez Lindahl stwierdzono wpływ czasu przechowywania na zmienność zawartości barwników hemowych [16]. W celu zapobieżenia zmianom barwy mięsa w czasie chłodniczego przechowywania prowadzone są badania nad zastosowaniem przeciwutleniaczy np. ekstraktu rozmarynu czy mieszanki BHA/BHT jako dodatku do mięsa mielonego [15, 17]. Obiecującym rozwiązaniem w tym względzie jest stosowanie jadalnych powłok ochronnych wytwarzanych na bazie naturalnych biopolimerów, które wykazują właściwości barierowe wobec gazów oraz charakteryzują się niską przepuszczalnością tlenu [18,19].

## 6. WNIOSKI

Wykazano, że ekspozycja mięsa na działanie zimnej plazmy argonowej nie skutkuje zmianą ogólnej zawartości barwników hemowych i znanych form mioglobiny w mięsie. Oznacza to, że zimna plazma nie jest czynnikiem, indukującym przemiany oksydacyjne barwników hemowych, które mogłyby powodować zmiany barwy mięsa świńskiego.

Praca wykonana w ramach projektu rozwojowego Nr N R12 0079 06/2009 pt. „Opracowanie metody poprawy jakości i bezpieczeństwa żywnościowego chłodniczo przechowywanego mięsa”, finansowanego przez NCBiR.

## LITERATURA

- [1] Mancini R. A., Hunt M. C., Current research in meat color. *Meat Science*, 71, 2005, 100-121.
- [2] Kołczak T., Jakość wołowiny. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1 (56), 2008, 5-22.
- [3] Orkusz A., Wołoszyn J., Okruszek A., Shelf life and colour characteristics of thigh muscles of turkey's packaged under modified atmosphere. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 14 (55), 2005, 99-102.
- [4] Semeriak K., Jarmoluk A., Ambrozik A., Zimoch A., Stabilizacja barwy mięsa bydłęcego w atmosferze tlenu węgla (II). *Przemysł Chemiczny*, 90 (5), 2011, 1001-1005.
- [5] Morent R., De Geyter N., Inactivation of Bacteria by Non-Thermal Plasmas. *Biomedical Engineering – Frontiers and Challenges*. InTech, 2011, 25-54.
- [6] Moreau M., Orange N., Feuilloley M. G. J., Non-thermal plasma technologies: New tools for bio-decontamination. *Biotechnology Advances*, 26, 2008, 610-617.
- [7] Noriega E., Shama G., Laca A., Díaz M., Kong M. G., Cold atmospheric gas plasma disinfection of chicken meat and chicken skin contaminated with *Listeria innocua*. *Food Microbiology*, 28, 2011, 1293-1300.
- [8] Warriss P. D., The extraction of haem pigments from fresh meat. *J. Food Technol.*, 14, 1979, 75-80.
- [9] Pikul J., Ocena technologiczna surowców i produktów przemysłu drobiarskiego, Poznań, Wyd. ARP, 1993.
- [10] Krzywicki K., Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. *Meat Science*, 3, 1978, 2-10.
- [11] Krzywicki K., The determination of haem pigments in meat. *Meat Science*, 7, 1982, 29-36.
- [12] Sorheim O., Nissen H., Nesbakken T., The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide. *Meat Science*, 52, 1999, 152-164.
- [13] Tang J., Faustman C., Hoagland T. A., Revisited: equations for spectrophotometric determination of Myoglobin redox forms in aqueous meat extracts. *Food Chemistry and Toxicology*, 69, 2004, 717-720.
- [14] Ulbin-Figlewicz N., Zimoch A., Jarmoluk A., The use of argon plasma for surface meat decontamination. 58<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology 2012, Canada.
- [15] Balentine C. W., Crandall P. G., O'Bryan C. A., Duong D. Q., Pohlman F. W., The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73(3), 2006, 413-421.
- [16] Lindahal G., Colour Characteristics of Fresh Pork, Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala 2005.
- [17] Duong D. Q., Crandall P. G., Pohlman F. W., O'Bryan C. A., Balentine C. W., Castillo A., Improving ground beef safety and stabilizing color during irradiation using antioxidants, reductants or TSP. *Meat Science*, 48 (4), 2007, 359-368.
- [18] Zimoch A., Jarmoluk A., Barierowość biokompozytowych filmów ochronnych wytwarzanych na bazie naturalnych biopolimerów. *Przemysł Chemiczny*, 90 (5), 2011, 1099-1102.
- [19] Semeriak K., Ambrozik-Haba J., Jarmoluk A., Zimoch A., Ulbin-Figlewicz N., Możliwości wykorzystania L-(+)- $\alpha$ -tokoferolu i karboksyhemoglobiny jako inhibitorów procesów przemian barwników hemowych. *Przemysł Chemiczny*, 91 (5), 2012, 959-963.