

Mgr inż. Urszula RAFALSKA
Mgr inż. Adrian STELMASIAK
Mgr inż. Małgorzata MOCZKOWSKA
Mgr inż. Monika MARCINKOWSKA-LESIAK
Dr inż. Jarosław WYRWISZ
Dr inż. Andrzej PÓLTORAK

Samodzielny Zakład Techniki w Żywieniu
Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, SGGW w Warszawie

WPŁYW WITAMINY D₃ NA KRUCHOŚĆ KULINARNEGO MIĘSA WOŁOWEGO®

The effect of vitamin D₃ on the tenderness of culinary beef meat®



Praca powstała w ramach projektu Optymalizacja produkcji wołowiny w Polsce zgodnie ze strategią „od widelca do zagrody” nr PO IG 01.03.01-00-204/09 współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007-2013

Słowa kluczowe: wołowina, kruchość, witamina D₃, kalcytriol.

Jedną z najważniejszych cech kształtujących jakość kulinarnego mięsa wołowego jest kruchość. Przeprowadzone badania dowiodły, że konsumenci są w stanie zapłacić więcej za mięso wołowe zakwalifikowane do klasy „Premium”. Kruchość jest kształtowana w wyniku procesów poubojowych związanych z degradacją białek miofibrylarnych. Liczni badacze na przestrzeni ostatnich lat dążą do opracowania metody poprawy kruchości przed dokonaniem uboju zwierząt. Jedną z takich metod jest modyfikacja sposobu żywienia zwierząt poprzez dodatek do pasz witamin i związków mineralnych.

W niniejszym artykule zebrano i omówiono dane literaturowe dotyczące wpływu dodatku witaminy D₃ do paszy zwierząt na kruchość mięsa wołowego.

Key words: beef meat, tenderness, vitamin D₃, calcitriol.

One of the most important features influencing the culinary beef meat quality is tenderness. Studies show that consumers are willing to pay more for the beef meat for a class “Premium”. Tenderness is formed by processes related to post-mortem degradation of myofibrillar proteins. Many researchers in recent years tend to develop methods to improve the tenderness of meat before slaughter. One of those methods is to modify the diet of animals through feed additives like vitamins and minerals.

In this article, was collected and discussed literature data concerning the effect of vitamin D₃ addition to animal feed to the tenderness of meat.

WPROWADZENIE

Kruchość jest jedną z najistotniejszych cech kształtujących jakość mięsa i wpływających na jego akceptowalność konsumencką [5, 7, 12, 18, 22, 25]. W 1995 roku przeprowadzono badania, w których oszacowano, że spadek kruchości mięsa kosztuje rocznie przedsiębiorców w Stanach Zjednoczonych ponad 250 milionów dolarów. Ponadto wykazano, że konsumenci są w stanie zapłacić więcej za mięso bardziej kruche lub też zakwalifikowane do klasy jakościowej „Premium” [5]. Kruchość jest kształtowana podczas przemian biochemicznych zachodzących postmortem, związanych z degradacją białek miofibrylarnych. Na przestrzeni ostatnich 15 lat naukowcy zajmują się opracowaniem sposobu poprawy kruchości mięsa jeszcze przed dokonaniem

uboju. Do takich metod można zaliczyć podawanie zwierzętom wraz z paszą witaminy D₃. Witamina D, występująca w organizmach zwierzęcych jako cholekalcyferol oraz jej aktywne metabolity 25-hydroksywitamina D (kalcydiol) i 1,25-dihydroksywitamina D (kalcytriol), wpływa bezpośrednio oraz pośrednio na wychwytywanie jonów wapnia i fosforu z jelit i przekazywanie ich z krwioobiegiem do mięśni oraz kości. Ponadto stwierdzono, że metabolity witaminy D₃ są od 1,5 do nawet 5 razy aktywniejsze niż podstawowa, niezhydrolizowana forma witaminy D₃ [34]. Witamina D oraz jej metabolity poprzez regulację gospodarki wapniowo-fosforanowej w organizmie wpływają na zwiększenie stężenia jonów wapnia, które niezbędne są do aktywacji enzymów proteolitycznych tzw. kalpain, odpowiedzialnych za kruszenie mięsa [32].

Celem artykułu jest podsumowanie danych literaturowych dotyczących budowy, pełnionych funkcji oraz mechanizmu działania witaminy D₃ w organizmie oraz próba odpowiedzi na pytanie – w jaki sposób witamina D₃ może przyczynić się do poprawy kruchości kulinarnego mięsa wołowego.

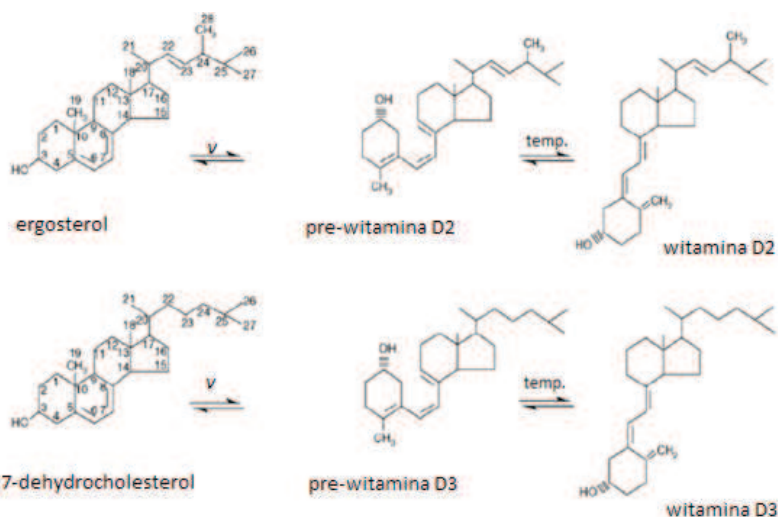
BUDOWA CHEMICZNA I METABOLIZM WITAMINY D₃

Witamina D₃, cholekalcyferol, to witamina rozpuszczalna w tłuszczach wywodząca się z cholesterolu. Zbudowana jest z czterech pierścieni węglowych oraz jednego łańcucha bocznego (rysunek 1). Ponadto z powodu obecności jednego „zerwanego” pierścienia węglowego (B), witamina D została zaliczona do związków sekosteroidowych.

W organizmie istnieją dwa źródła witaminy D – 80% tej witaminy pochodzi z syntezy skórnej pod wpływem działania światła słonecznego lub promieniowania UVB, zaś pozostałe 20% dostarczane jest do organizmu wraz z pożywieniem. Najbardziej aktywną biologicznie formą witaminy D jest kalcytriol czyli podwójnie zhydrolizowana forma – 1 α ;25-(OH)₂D₃. Związek ten jest niemalże 1000-krotnie aktywniejszy niż kalcydiol. Kalcytriol bardzo często zwany jest też hormonem witaminowym. Wspomnianą wcześniej aktywność biologiczną witaminy D uzyskuje w wyniku procesu hydroksylacji przebiegającego w wątrobie oraz w nerkach. Przedtem jednak w skórze dochodzi do termicznej izomeryzacji prowitaminy D₃ pod wpływem promieniowania UVB. Kolejny etap aktywacji witaminy D₃ obejmuje wiązanie jej z glikoproteiną DBP tzw. białkiem wiążącym witaminę D. Białko to syntetyzowane jest w wątrobie i należy do tej samej grupy genowej co albuminy. DBP jest białkiem o masie cząsteczkowej równej 58 kDa., jego głównym zadaniem jest wychwytywanie metabolitów witaminy D i transportowanie ich do wątroby oraz nerek, gdzie ulegają procesowi hydroksylacji katalizowanej przez 25-hydroksylazy do 25-hydroksywitaminy D₃, a następnie z udziałem 1 α -hydroksylazy do 1 α ;25-dihydroksywitaminy D₃ (rysunek 2) [3, 6, 8, 10, 25, 31, 33, 38].

MECHANIZM DZIAŁANIA WITAMINY D ORAZ JEJ WPŁYW NA MIĘŚNIE

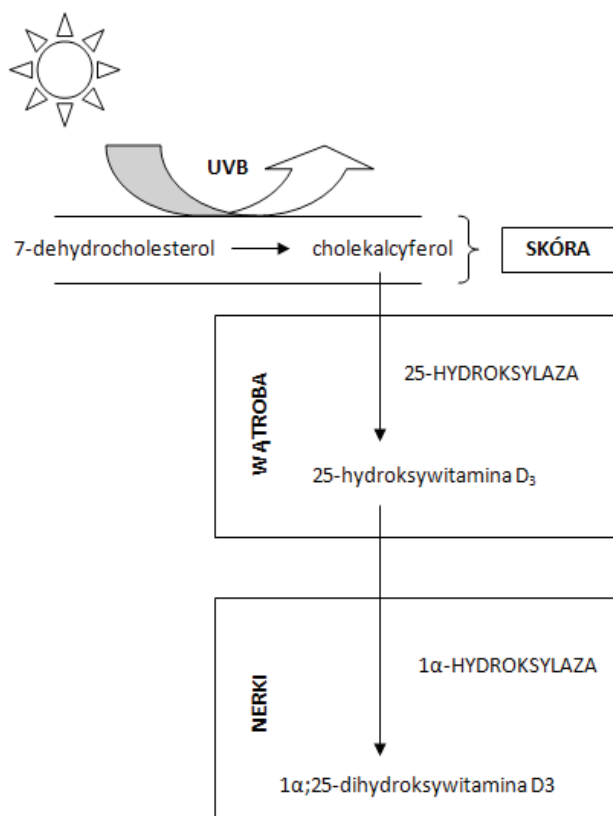
Główną funkcją kalcytriolu w organizmie jest regulacja gospodarki wapniowo-fosforanowej. W wyniku zwiększenia się ilości podwójnie zhydrolizowanej formy witaminy D₃ w osoczu krwi dochodzi do wzrostu poziomu jonów wapnia oraz fosforu. Ponadto każdy spadek stężenia jonów wapnia



Rys. 1. Synteza witaminy D₂ z ergosterolu oraz witaminy D₃ z 7-dehydrocholesterolu.

Fig. 1. The synthesis of vitamin D₂ from ergosterol and vitamin D₃ from 7-dehydrocholesterol.

Źródło: Opracowano na podstawie Chmielewska-Szewczyk D. 2012 [6]



Rys. 2. Schemat syntezy aktywnych form witaminy D₃.
Fig. 2. Synthesis scheme of active forms of vitamin D₃.

Źródło: Opracowano na podstawie Tukaj C. 2008 [39]

we krwi powoduje wzrost aktywności parathormonu, który odpowiedzialny jest za stymulację wytwarzania aktywnej formy witaminy D czyli kalcytriolu (proces zachodzi w nerkach). W konsekwencji krążący w organizmie kalcytriol wpływa na zwiększenie resorpcji wapnia z kości i zmniejszenia ilości parathormonu we krwi.

Kalcytriol oddziałuje na mięśnie w dwojaki sposób: genomowo i pozagenomowo. W obydwu mechanizmach działania pośredniczy receptor VDR: jądrowy (nVDR) w mechanizmie genomowym oraz błonowy (mVDR) w mechanizmie pozagenomowym. Połączenie kalcytriolu z receptorem nVDR powoduje w nim zmiany konformacyjne, które umożliwiają interakcję z receptorem RXR (ang. Retinoid X Receptor). W ten sposób powstaje aktywny heterodimer, który może łączyć się z DNA wpływając tym samym na wyłączenie transkrypcji genów [1, 12, 32].

Poza przedstawionym wyżej mechanizmem kalcytriol może działać również na poziomie komórkowym (wpływ na transport jonów wapnia do tkanek) lub też na poziomie międzykomórkowym (regulacja transportu jonów wapnia przez membrany). Obecność $1\alpha,25$ -dihydroksywitaminsy D_3 wpływa na aktywację enzymów odpowiedzialnych za proces hydrolizy lipidów inozytolowych, w wyniku której powstają związki (IP_3 – 1;4;5-trifosforan oraz DAG – diacyloglicerol) wiążące się z białkami w błonach kanałów wapniowych inicjując tym samym ich otwieranie [1, 12, 31, 33].

WITAMINA D_3 A KRUCHOŚĆ MIĘSA

W świetle przeprowadzonych dotychczas badań, witamina D_3 stosowana jest w celu poprawy kruchości mięsa kulinarnego. Proces dojrzewania nadający ostateczną formę tekstury mięsa jest determinowany poprzez działanie enzymów wewnątrztkankowych. Enzymy te podzielone są na cztery główne grupy: katepsyny, kalpainsy, kaspazy oraz proteasomy zwane multikatalityczną proteazą. Najistotniejszymi enzymami w procesie dojrzewania są kalpainsy: μ - oraz m-kalpainsy, które różnią się między sobą stężeniem jonów wapnia, niezbędnym do ich aktywacji. μ -Kalpainsy są aktywne przy stężeniu jonów Ca^{2+} równym od 3 do 50 μM , zaś m-kalpainsy – od 400 do 800 μM . W żywym mięśni stężenie jonów wapnia wynosi ok. 0,2 μM z kolei po uboju stężenie to gwałtownie wzrasta i wynosi ok. 100 μM . Po upływie 72 godzin od uboju dochodzi do spadku aktywności μ -kalpainsy co koreluje ze wzrostem kruchości mięsa. Badania przeprowadzone na szczurach wykazały, że najwięcej kalpain znajduje się przy linii Z sarkomerów. 66% całości kalpain stanowią μ -kalpainsy, zaś resztę m-kalpainsy oraz kalpastatyny będące inhibitorami kalpain. Stwierdzono również, że kalpainsy usytuowane są w obrębie prążków I oraz A. Takie umiejscowienie kalpain związane jest ściśle z pełnioną przez nie funkcją czyli degradacją białek budujących linie Z oraz prążka I sarkomeru – troponiny T, troponiny I, titiny, nebuliny czy też winkuliny. W wyniku proteolizy tych białek, a w szczególności titiny dochodzi do rozluźnienia struktury mięśni objawiającej się wzrostem kruchości mięsa [2, 9, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 32].

Oprócz teorii tenderyzacji mięsa związanej z działaniem enzymów wewnątrztkankowych istnieje jeszcze jeden mechanizm warunkujący postęp w dojrzewaniu mięsa. Mechanizm ten, opisany w 1996 roku przez Takahashiego, zakłada, że wzrost kruchości mięsa związany jest z bezpośrednim działaniem jonów wapnia, które przyłączając się do fosfolipidów obecnych we włóknach mięśniowych powodują osłabianie ich struktury [37].

Pierwsze badania, wykorzystujące podawanie zwierzętom witaminy D_3 przeprowadzono w 1955 roku w celu

zapobieżenia występowania hipokalcemii u bydła mlecznego. Od tego czasu witamina D podawana była zwierzętom w różny sposób – zazwyczaj w specjalnie przygotowanych kapsułkach lub w postaci zastrzyków domięśniowych. W 1997 roku zapoczątkowano badania dotyczące wpływu skarmiania bydła w końcowym etapie opasu paszą z wysokimi dawkami witaminy D_3 na właściwości fizykochemiczne mięsa kulinarnego. We wspomnianym doświadczeniu analizowano dwie różne dawki witaminy D_3 ($5 \cdot 10^6$ oraz $7,5 \cdot 10^6$ IU/dzień) podawane w dwóch różnych odstępach czasowych poprzedzających ubój badanych sztuk zwierząt (5 i 10 dni przed ubojem) oraz ich wpływ na wartości siły cięcia (F_{max}) mierzone przy użyciu testu szerometrycznego. Na podstawie przeprowadzonego doświadczenia zaobserwowano 12,6% wzrost ilości jonów wapnia we krwi zwierząt przy podaniu dawki $5 \cdot 10^6$ IU/dzień przez 5 dni przed ubojem. W przypadku zwiększenia dawki witaminy D_3 do $7,5 \cdot 10^6$ IU/dzień i wydłużenia czasu podaży do 10 dni przed ubojem, zanotowano zredukowanie wartości siły cięcia o odpowiednio 18% dla steków wołowych i skrócenie czasu dojrzewania do 7 dni [1].

W kolejnych latach badacze testowali także inne dawki witaminy D dodawane do paszy (od 0 do $7,5 \cdot 10^6$ IU) oraz ich wpływ na zawartość jonów wapnia we krwi lub mięśniach, a także na kruchość. Wykazano, że dawka $7,5 \cdot 10^6$ IU wpływa na wzrost stężenia jonów Ca^{2+} we krwi zwierząt o ok. 50% w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt, która dostawała paszę bez dodatku witaminy D_3 . Podobna zależność uzyskana została dla podawania dawki $5 \cdot 10^6$ IU. Wyniki uzyskane dla wartości siły cięcia przy użyciu testów instrumentalnych zostały potwierdzone przez badania konsumenne [36].

Wszystkie przeprowadzone badania w tej dziedzinie koncentrowały się nie tylko na odpowiednim dobraniu dawki witaminy D_3 . Licznym modyfikacjom ulegały również czas oraz sposoby podawania witaminy. Najczęściej stosowanymi formami podawania witaminy były: żelatynowe kapsułki podawane raz dziennie przed porannym skarmianiem [27, 35], mieszaniny sproszkowanej witaminy D_3 wraz z paszą, której główny komponent stanowiła mielona kukurydza [14, 16, 24, 28, 29, 30, 35, 36, 38] lub też mieszaniny pasz z aktywnymi metabolitami witaminy D_3 m. in. kalcytriolu [4, 5, 7, 23, 40].

Według dostępnej literatury większość badaczy wiąże obniżenie wartości maksymalnej siły cięcia (F_{max}) ze wzrostem stężenia jonów Ca^{2+} , które odpowiedzialne są za aktywację enzymów proteolitycznych (kalpain) wpływających na degradację białek miofibrylarnych [1].

Więcej wyników badań dotyczących wpływu skarmiania zwierząt paszą z dodatkiem witaminy D_3 na kruchość mięsa przedstawiono w tabeli 1.

PODSUMOWANIE

Jednym z głównych kryteriów determinujących zachowania konsumentów na rynku mięsa jest jego jakość, której wyróżnikiem jest tekstura, a w szczególności kruchość. Długoletnia obserwacja konsumentów krajowych jak i zagranicznych, wykazała iż są oni w stanie zapłacić znacznie więcej za mięso wyższej jakości. W Polsce w ciągu ostatnich

Tabela 1. Podsumowanie wyników badań, dotyczących wpływu dodatku witaminy D₃ do paszy zwierząt na kruchość mięsa wołowego, prowadzonych na przestrzeni ostatniej dekady

Table 1. Summary of studies concerning the effect of the vitamin D₃ addition to the animals feed on beef tenderness, conducted over the last decade

Autor/Rok publikacji	Stosowane dawki witaminy D ₃ [MIU/dzień/zwierzę]	Główne wnioski
Montgomery i wsp., 2000	5; 7,5 podawane przez 9 dni przed ubojem; Czas dojrzewania po uboju 3; 7; 14 i 21 dni	Wzrost zawartości jonów wapnia we krwi; Spadek siły cięcia dla mięśni dojrzewających 14 dni
Scanga i wsp., 2001	1; 2; 3; 4; 5 czystej witaminy D ₃ lub witaminy D ₃ w dawce 4 lub 5 z dodatkiem 75 g CaCO ₃ podawane przez 2; 4; 6 lub 8 dni przed ubojem; Czas dojrzewania po uboju 2; 7; 14 i 21 dni	Wzrost zawartości jonów wapnia we krwi zwierząt dla wszystkich dawek; Brak efektów działania witaminy D ₃ podawanej z CaCO ₃
Karges i wsp., 2001	6 podawana przez 4 lub 6 dni; Czas dojrzewania po uboju 7; 14 i 21 dni	Wzrost stężenia jonów wapnia we krwi; Wielkość siły cięcia zależna od rodzaju badanego mięśnia
Montgomery i wsp., 2002	0; 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5 czystej witaminy D ₃ podawane przez 9 dni (codziennie) przed ubojem; Czas dojrzewania 7; 10; 14 i 21 dni	Wzrost stężenia jonów wapnia we krwi; Skarmianie zwierząt paszą z dodatkiem witaminy D ₃ nie wpłynęło na zmiany jakości i wydajności tusz wołowych; Zaobserwowano wzrost zawartości witaminy D ₃ w mięśniach i wątrobie zwierząt; Dawka witaminy D ₃ 0,5 oraz 7 MIU/dzień spowodowała zmniejszenie wartości siły cięcia
Wertz i wsp., 2004	62,5 lub 125 mg 25-OH D ₃ ; Czas dojrzewania po uboju 6 i 14 dni	Brak wyników świadczących o zmniejszeniu wartości siły cięcia
Montgomery i wsp., 2004	0; 0,5; 1 i 5; Czas dojrzewania po uboju 3; 7; 10; 14 i 21 dni	Wzrost stężenia jonów wapnia we krwi; Zmniejszenie siły cięcia
Lawrence i wsp., 2006	125 mg 25-OH D ₃ podawane przez 2; 4 i 6 dni przed ubojem	Brak wpływu na barwę mięsa, pH, długość sarkomerów, ubytki masy po obróbce termicznej oraz siłę cięcia
Purchas i wsp., 2007	7µg witaminy D ₃ /100 g produktu homogenizowane było z surowym mięsem, a następnie obrabiane termicznie	Brak znaczących różnic w koncentracji witaminy D ₃ pomiędzy poszczególnymi mięśniami
Carnagey i wsp., 2008	500 mg 25-hydroksywitaminy D ₃ lub mieszanka 500 mg 25-hydroksywitaminy D ₃ z 1000 IU witaminy E podawane jednorazowo w postaci kapsułek	Wzrost stężenia jonów wapnia we krwi zwierząt; Wzrost stężenia metabolitów witaminy D we krwi zwierząt; Spadek siły cięcia dla próbek pochodzących od zwierząt skarmianych paszą z dodatkiem witaminy D lub witaminy E, brak analogicznych wyników dla mięsa pochodzącego od zwierząt skarmianych paszą z dodatkiem mieszanki witaminy D i E
Gonzalez i wsp., 2010	0 oraz 7,5 MIU/dzień/sztukę podawano na 7 dni przed ubojem; Czas dojrzewania 10 dni	Zastosowana dawka witaminy D ₃ przyczyniła się w znacznym stopniu do poprawy kruchości mięsa
Lobo-Jr i wsp., 2012	0 oraz 2 MIU/dzień/sztukę podawane 2 lub 8 dni (codziennie) przed ubojem	Zastosowana dawka witaminy D spowodowała wzrost stopnia fragmentacji miofibrili
Hansen i wsp., 2012	Zwierzętom podawano Zilpaterol z dodatkiem 7 MIU/zwierzę/ dzień witaminy D ₃ ; Skarmianie paszą z wymienioną mieszanką następowało 6 lub 3 dni przed ubojem; Czas dojrzewania po uboju 14 dni	Zaobserwowano wzrost intensywności barwy czerwonej oraz znaczne polepszenie kruchości mięsa

Źródło: Opracowanie własne na podstawie: [5, 11, 13, 16, 23, 24, 26, 27, 28, 34, 35, 40]

20 lat spożycie wołowiny spadło z poziomu ok. 16 kg/os/rok (początek lat 90) do 2,4 kg/os/rok (rok 2012). Przyczyny tego zjawiska upatruje się w wysokich cenach tego rodzaju mięsa oraz zbyt zróżnicowanej, często niskiej jakości [22]. Od końca lat 90 rozpoczęto badania mające na celu opracowanie sposobu poprawy kruchości mięsa wołowego jeszcze przed dokonaniem uboju. Przykładem takich działań jest modyfikowanie diety zwierząt poprzez dodatek do pasz witaminy D₃ lub jej aktywnych metabolitów tzn. kalcydiolu lub kalcytriolu. Działanie to ma wpływ na zwiększenie wydalania do osocza krwi jonów wapnia, które biorą czynny udział w aktywacji enzymów proteolitycznych zwanych kalpainami. Enzymy te biorą udział w reakcji proteoli-

zy białek miofibrilarnych, a w szczególności białek budujących linie graniczne sarkomerów (linie Z) – titiny i nebuliny. Degradacja tego rodzaju białek wpływa na rozluźnienie struktury mięśni, a co za tym idzie na polepszenie kruchości mięsa. Aby metoda ta miała swoje zastosowanie musi być ustalona odpowiednia dawka witaminy D₃ jak też częstotliwość jej podaży. Według dotychczas przeprowadzonych badań oraz prognoz naukowców odpowiednio dobrana dawka witaminy D₃ pozwoli nie tylko na poprawę kruchości mięsa, a więc i jego jakości ale także skróci czas dojrzewania mięsa co znacznie przyczyni się do ograniczenia kosztów ponoszonych przez przedsiębiorców z tytułu magazynowania surowca mięsnego.

LITERATURA

- [1] AVANDO-OSORIO G. 2002. The effect of vitamin D₃ on calcium homeostasis of beef steers. Saskatoon. Saskatchewan. Canada, 4-47.
- [2] BAHRAMI Y., EHSANIZAD M. 2013. *Effectiveness of calpastatin and calpain genes of meat quality and tenderness in Iranian livestock breeds*. Journal of Applied Environmental and Biological Sciences, 3 (8), 13-19.
- [3] BALL G. F. M. 2004. Vitamins. Their role in the human body. Blackwell Science, 189-233.
- [4] CARNAGEY K. M., HUFF-LONERGAN E. J., LONERGAN S. M., HORST R., L., TRENKLE A. H., BEITZ D. C. 2006. *Use of 25-hydroxyvitamin D₃ and dietary calcium manipulations to improve tenderness of beef*. Animal Industry Report, 652 (1), ASL R2055.
- [5] CARNAGEY K. M., HUFF-LONERGAN E. J., TRENKLE A., WERTZ-LUTZ A. E., HORST R. L., BEITZ D. C. 2008. *Use of 25-hydroxyvitamin D₃ and vitamin E to improve tenderness of beef from the longissimus dorsi of heifers*. Journal of Animal Science, 86, 1649-1657.
- [6] CHMIELEWSKA-SZEWCZYK D. 2012. *Kontrowersje wokół witaminy D₃*. Alergia, 2, 14-19.
- [7] FOOTE M. R., HORST R. L., HUFF-LONERGAN E. J., TRENKLE A. H., PARRISH F. C. JR., BEITZ D. C. 2004. *The use of vitamin D₃ and its metabolites to improve beef tenderness*. Journal of Animal Science, 82, 242-249.
- [8] FRASER W. D., MILAN A. M. 2013. *Vitamin D assays: Past and Present debates, difficulties and development*. Calcified Tissue International, 92, 118-127.
- [9] GEESINK G. H., KUCHAY S., CHISHTI A. H., KOOHMARAIE M. 2006. *μ-Calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins*. Journal of Animal Science, 84, 2834-2840.
- [10] GIRGIS C. M., CLIFTON-BLIGH R. J., HAMRICK M. W., HOLICK M. F., GUNTON J. E. 2013. *The role of vitamin D in skeletal muscle: Form, Function and metabolism*. Endocrinology Review, 34 (1), 33-38.
- [11] GONZALEZ J. M., WILL P. A., HARRIS J. K. 2010. *Vitamin D₃ supplementation to goats does not improve loin chop tenderness and color stability*. Texas Journal of Agriculture Natural Resource, 22, 111-122.
- [12] HAMILTON B. 2010. *Vitamin D and Human Skeletal Muscle*. Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports, 20, 182-190.
- [13] HANSEN S., FRYLINCK L., STRYDOM P. E. 2012. *The effect of vitamin D₃ supplementation on texture and oxidative stability of beef loins from steers treated with zilpaterol hydrochloride*. Meat Science, 90, 145-151.
- [14] HOPE-JONES M., STRYDOM P. E., FRYLINCK L., WEBB E. C. 2012. *Effect of dietary beta-agonist treatment, vitamin D₃ supplementation and electrical stimulation of carcasses on colour and drip loss of steaks from feedlot steers*. Meat Science, 90, 607-612.
- [15] HUFF-LONERGAN E., ZHANG W., LONERGAN S. M. 2010. *Biochemistry of postmortem muscle – Lessons on mechanisms of meat tenderization*. Meat Science, 86, 184-195.
- [16] KARGES K., BROOKS J. C., GILL D. R., BREAZILE J. E., OWENS F. N., MORGAN J. B. 2001. *Effects of supplemental vitamin D₃ on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and muscle properties of beef steers*. Journal of Animal Science, 79, 2844-2850.
- [17] KEMP C. M., SENSKY P. L., BARDSLEY R. G., BUTTERY P. J., PARR T. 2010. *Tenderness – An enzymatic view*. Meat Science, 84, 248-256.
- [18] KOŁCZAK T. 2008. *Jakość wołowiny*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1 (56), 5-22.
- [19] KOOHMARAIE M. 1994. *Muscle proteinases and meat aging*. Meat Science, 36, 93-104.
- [20] KOOHMARAIE M. 1996. *Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat*. Meat Science, 43, 193-201.
- [21] KOOHMARAIE M., GEESINK G. H. 2006. *Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system*. Meat Science, 74, 34-43.
- [22] KOSICKA-GĘBSKA M., PRZEŹDZIERSKA N., GĘBSKI J. 2010. *Tendencje zmian w spożyciu mięsa wołowego w Polsce w latach 2000-2009*. Problemy Rolnictwa Światowego, 10 (25), 49-59.
- [23] LAWRENCE R. W., DOYLE J., ELLIOT R., LOXTON I., MCMENIMAN J. P., NORTON B. W., REID D. J., TUME R. W. 2006. *The efficacy of vitamin D₃ metabolite for improving the myofibrillar tenderness of meat from Bos indicus cattle*. Meat Science, 72, 69-78.
- [24] LOBO-JR A. R., DELGADO E. F., MOURAO G. B., PEDREIRA A. C. M. S., BERNDT A., DEMARCHI J. J. A. A. 2012. *Interaction of dietary vitamin D₃ and sunlight exposure on B. indicus cattle: animal performance, carcass traits, and meat quality*. Livestock Science, 145, 196-204.
- [25] ŁĄCKA K., MACIEJEWSKI A. 2013. *Udział witaminy D w etiopatogenezie autoimmunologicznego zapalenia tarczycy*. Polski Merkuriusz Lekarski, 36 (203), 281-285.
- [26] MONTGOMERY J. L., CARR M. A., KERTH C. R., HILTON G. C., PRICE B. P., GALYEAN M. L., HORST R. L., MILLER M. F. 2002. *Effect of vitamin D₃ supplementation level on the postmortem tenderization of beef from steers*. Journal of Animal Science, 80, 971-981.

- [27] MONTGOMERY J. L., PARRISH F. C. JR., BEITZ D. C., HORST R. L., HUFF-LONERGAN E. J., TREMKLE A. H. 2000. *The use of vitamin D₃ to improve beef tenderness*. Journal of Animal Science, 78, 2615-2621.
- [28] MONTGOMERY J.L., KING M. B., GENTRY J. G., BARHAM A. R., BARHAM B. L., HILTON G. G., BLANTON J. R., HORST R. L. JR., GALYEAN M. L., MORROW K. J., WESTER D. B. JR., MILLER M. F. 2004. *Supplemental vitamin D₃ concentration and biological type of steers. II. Tenderness, quality and residues of beef*. Journal of Animal Science, 82, 2092-2104.
- [29] MONTGOMERY J. L., BLANTON J. R. Jr., HORST R. L., GALYEAN M. L., MORROW K. J. Jr., ALLEN V. G., WESTER D. B., MILLER M. F. 2004. *Effect of supplemental vitamin D₃ concentration on concentrations of calcium, phosphorus, and magnesium relative to protein in subcellular components of the longissimus and the distribution of calcium within longissimus muscle of beef steers*. Journal of Animal Science, 82, 2742-2749.
- [30] MONTGOMERY J. L., GALYEAN M. L., HORST R. L., MORROW K. J. Jr., BLANTON J. R. Jr., WESTER D. B., MILLER M. F. 2004. *Supplemental vitamin D₃ concentration and biological type of beef steers. I. Feedlot performance and carcass traits*. Journal of Animal Science, 82, 2050-2058.
- [31] MOSZCZYŃSKI P., PYĆ R. 1999. *Biochemia witamin. Część II. Witaminy lipofilne i kwas askorbinowy*. Wydawnictwo PWN, 50-72.
- [32] NOWAK M. 2005. *Rola kalpain w procesie kruszenia mięsa*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1 (42), 5-17.
- [33] PEŁCZYŃSKA M., JAROSZEWICZ J., ŚWITALSKA M., OPOLSKI A. 2005. *Właściwości biologiczne kalcytriol i jego nowych analogów – potencjalne zastosowanie terapeutyczne*. Postępy Higieny Medycyny Doświadczalnej, 59, 129-139.
- [34] PURCHAS R., ZOU M., PEARCE P., JACKSON F. 2007. *Concentrations of vitamin D₃ and 25-hydroxyvitamin D₃ in raw and cooked New Zealand beef and lamb*. Journal of Food Composition and Analysis, 20, 90-98.
- [35] SCANGA J. A., BELK K. E., TATUM J. D., SMITH G. C. 2001. *Supranutritional oral supplementation with vitamin D₃ and calcium and the effects on beef tenderness*. Journal of Animal Science, 79, 912-918.
- [36] SWANEK S. S., MORGAN J. B., OWENS F. N., GILL D. R., STRASIA C. A., DOLEZAL H. G., RAY F. K. 1999. *Vitamin D₃ supplementation of beef steers increases longissimus tenderness*. Journal of Animal Science, 77, 874-881.
- [37] TAKAHASHI K. 1996. *Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat. The non-enzymatic mechanism of meat tenderization*. Meat Science, 43, 67-80.
- [38] TIPTON N. C., KING D. A., PASCHAL J. C., HALE D.S., SAVELL J. W. 2007. *Effects of oral vitamin D₃ supplementation and supplement withdrawal on the accumulation of magnesium, calcium, and vitamin D in the serum, liver, and muscle tissue and subsequent carcass and meat quality of Bos indicus influenced cattle*. Meat Science, 75, 150-158.
- [39] TUKAJ C. 2008. *Właściwy poziom witaminy D warunkiem zachowania zdrowia*. Postępy Higieny Medycyny Doświadczalnej, 62, 502-510.
- [40] WERTZ A. E., KNIGHT T. J., TREMKLE A., SONON R., HORST R. L., HUFF-LONERGAN E. J., BEITZ D. C. 2004. *Feeding 25-hydroxyvitamin D₃ to improve beef tenderness*. Journal of Animal Science, 82, 1410-1418.