

Jacek NIEDŹWIEDŹ, Halina OSTOJA, Tomasz ŻMIJEWSKI, Marek CIERACH

e-mail: jacek.niedzwiedz@uwm.edu.pl

Katedra Technologii i Chemii Mięsa, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

## Wczesne zmiany poubojowe w wołowej tkance mięśniowej

### Wstęp

Wczesne zmiany poubojowe zachodzące w obrębie związków energetycznych w znacznej mierze zdeterminowane są przez zawartość glikogenu zmagazynowanego w mięśniach tuż przed ubojem, a ta z kolei zależy od wielu czynników wśród, których wyróżnić można: gatunek, rasę, wiek, stopień odtuszczenia, żywienie, rodzaj mięśnia [Immonen *et al.*, 2000a, b, c, d; Niedzwiedz i Cierach, 2009; Cierach *et al.*, 2009]. Zgromadzenie niewielkich rezerw glikogenu mięśniowego, przyczynia się do wystąpienia wady typu DFD. Stan ten odzwierciedla się niewystarczającym zakwaszeniem mięśni po uboju, a mięso takie jest ciemne, suche i ma zwiąźłą strukturę [Kreikemeir *et al.*, 1998]. Ponadto jest mniej trwałe z uwagi na większą podatność na rozkład mikrobiologiczny [Wulfi *et al.*, 2002]. Wysoki poziom zawartości glikogenu w mięśniach przed wykrwawieniem przyczynia się do otrzymania mięsa o wartości  $pH$  w zakresie 5,5÷5,8, co korzystnie wpływa na dalsze przemiany w efekcie dając mięso o pożądanej jakości [Pösö i Puolanne, 2005].

Oprócz pomiaru wartości  $pH$  i oznaczania zawartości glikogenu oraz kwasu mlekowego, monitorując poubojowy metabolizm mięśni szkieletowych należy pamiętać o związku pełniącym funkcję nośnika energii, jakim jest adenozyntrifosforan (ATP). Stopień zużycia rezerw ATP pozwala określić wartość  $R$  [Calkins *et al.*, 1983; Ryu i Kim, 2005; Rhee *et al.*, 2006]. Wartość  $R_{250}$  wyraża stosunek zawartości hipoksantyny do ogólnej zawartości nukleotydów adenilowych, natomiast wartość  $R_{248}$  wyraża stosunek zawartości IMP do ogólnej zawartości nukleotydów adenilowych.

Przebieg najważniejszych procesów odpowiedzialnych za kształtowanie jakości mięsa wołowego związany jest z tempem poubojowego metabolizmu. Dynamika przemian biochemicznych zachodzących w mięśniach po uboju zwierzęcia wpływa na aktywność systemu kalpain, determinując zapoczątkowanie proteolizy [Rhee *et al.*, 2002; 2006].

Celem pracy było określenie tempa zmian poubojowych zachodzących w wołowej tkance mięśniowej z tusz mieszańców rasy czarnobiałej i *limousin* w czasie 48 h *post mortem*.

### Materiał badawczy i metodyka

Materiał badawczy stanowił mięsień *longissimus thoracis et lumborum*, pochodzący z tusz buhajów ( $n = 13$ ), mieszańców rasy czarnobiałej i *limousin*, o masie przedubojowej 516÷770 kg, w wieku 15÷28 miesięcy. Mięsień wycinano z tuszy 45 min *post mortem*, pakowano próżniowo i przechowywano w warunkach chłodniczych (temperatura 4±1°C). W ustalonych odstępach czasu tj. 45 min, 3 h, 6 h, 12 h, 24 h, 48 h po uboju pobierano próbki i zamrażano je w ciekłym azocie w celu zatrzymania przebiegu zmian pośmiertnych. W tych samych odstępach czasu dokonywano pomiaru wartości  $pH$  bezpośrednio w mięśniu [Niedzwiedz *et al.*, 2011]. Następnie w zamrożonych próbkach oznaczano zawartość glikogenu metodą antronową, która polegała na wydzieleniu glikogenu z tkanki mięśniowej za pomocą etanolu, po zhydrolizowaniu białek, przeprowadzeniu reakcji barwnej i pomiarze natężenia barwy [Chun i Yin, 1998], kwasu mlekowego metodą z hydrochinonem, polegającą na utlenieniu kwasu mlekowego w środowisku kwaśnym do aldehydu octowego, który z hydrochinonem przechodzi w związek o zabarwieniu żółto-brązowym, natężenie jego barwy mierzone było kolorymetrycznie [Dzierżyńska-Cybulko i Kijowski, 1982]. Określono także wartość  $R$ , będącą wskaźnikiem przemian nukleotydów adenilowych. Metoda oznaczania polegała na pomiarze absorbancji ATP i produktów

jego rozpadu (ADP, AMP, IMP, hipoksantyna) [Calkins *et al.*, 1983; Jerez *et al.*, 2003].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Obliczono współczynniki korelacji ( $R$ ) między parami wyróżników. Istotność różnic w czasie między poszczególnymi wartościami w obrębie jednego wyróżnika obliczono za pomocą testu *Duncana* przy poziomie istotności  $p < 0,05$ . Wykorzystano wieloczynnikową analizę wariancji ANOVA w celu porównania większej ilości wydzielonych grup przez kategorie wielu zmiennych. Umożliwiło to wykrycie efektów interakcji pomiędzy wybranymi cechami osobniczymi bydła. Wszystkie analizy statystyczne prowadzono w oparciu o oprogramowanie komputerowe *Statistica 10.0 (StatSoft Inc.)*.

### Omówienie i dyskusja wyników

Z uwagi na złożoność dojrzewalniczych przemian zachodzących w tkance mięśniowej po uboju, przeprowadzone badania koncentrowały się na ustaleniu kinetyki przemian glikogenu i ATP, gdyż zmiany tych związków energetycznych decydują o szybkości przemian poubojowych i odgrywają rolę w kształtowaniu końcowej jakości mięsa.

Tab. 1. Wartości  $pH$ , zawartość kwasu mlekowego i glikogenu, (wartości średnie ± odchylenie standardowe)

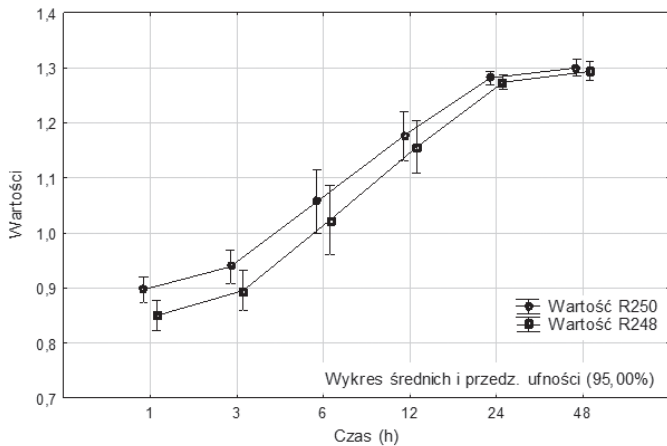
Wyróżnik	Czas <i>post mortem</i> , h					
	0,75	3	6	12	24	48
Temperatura, °C	35,3a ±1,4	27,5b ±2,2	16,4c ±3,6	9,2d ±2,6	5,6e ±1,3	4,7e ±1,0
Wartość $pH$	6,52a ±0,14	6,30b ±0,31	6,06c ±0,46	5,83d ±0,32	5,51e ±0,12	5,51e ±0,16
Glikogen, mg/100g	850a ±206	720b ±177	625b ±160	480c ±130	237d ±73	190d ±78
Kwas mlekowy, mg/100g	335a ±72	363ab ±84	402ab ±94	427b ±91	436b ±93	441b ±97

a, b, c, d, e – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy  $p < 0,05$

Badany mięsień 45 min *post mortem* zwierzał 850 mg/100g glikogenu – związku dostarczającego energii w przemianach biochemicznych (Tab. 1). Chłodnicze przechowywanie przyczyniło się do statystycznie istotnego ( $p < 0,05$ ) zmniejszenia zawartości glikogenu w analizowanym mięśniu do poziomu 625 mg/100g po 6 godzinach. Po 12 godzinach mięsień *longissimus thoracis et lumborum* zwierzał 480 mg/100g (56% początkowej ilości glikogenu). Dalsza analiza przebiegu zmian zawartości glikogenu w tkance mięśniowej, wykazała, że jego udział po 24 h *post mortem* zmniejszył się do poziomu 237 mg/100 g, a po 48 h wyniósł 190 mg/100 g (22% zawartości początkowej).

W mięśniu *longissimus thoracis et lumborum* 45 min *post mortem* zawartość kwasu mlekowego (końcowego produktu beztlenowej przemiany glikogenu) wynosiła 335 mg/100 g. Po 12 h wychładzania zawartość kwasu mlekowego uległa istotnemu zwiększeniu ( $p < 0,05$ ) i wynosiła 427 mg/100 g (Tab. 1). W następnych godzinach chłodniczego przechowywania nie odnotowano istotnego zwiększenia ilości kwasu mlekowego. Jego zawartość po 48 h kształtowała się na poziomie 441 mg/100g.

Dane liczbowe dotyczące wartości  $R$  oszacowane dla mięśnia *longissimus thoracis et lumborum* przedstawiono na rys. 1. Analizując przebieg zmian wskaźnika  $R_{248}$  w czasie dojrzewania zauważono, że w początkowym okresie po uboju – do 3 godziny, wartość tego wyróżnika uległa nieznacznym zmianom. W czasie kolejnych godzin chłodniczego przechowywania zaobserwowano znaczące ( $p < 0,05$ ) zwiększenie się

Rys. 1. Wartości  $R_{248}$  oraz  $R_{250}$  w zależności od czasu przechowywania chłodniczego

wartości omawianego wyróżnika, po 48 h jego wartość wynosiła około 1,30.

Podobny przebieg zmian odnotowano w przypadku wskaźnika  $R_{250}$ . Wartość  $R_{250}$  z poziomu około 0,90 nieznacznie zwiększyła się do 3 godziny *post mortem*, natomiast kolejne godziny wychładzania przyczyniły się do istotnego jej zwiększenia do poziomu około 1,30 po 24 h. Kolejna doba nie wpłynęła znacząco na zmianę wartości  $R_{250}$ . Oznaczanie wartości  $R$  wykonano w celu dokonania analizy szybkości i kierunku zmian ATP. Na podstawie powyżej przedstawionych danych można przypuszczać, że zaobserwowane w początkowym okresie po uboju, powolne zwiększanie się wartości omawianego wyróżnika spowodowane było zachodzącymi w tkance mięśniowej procesami syntezy i resyntezy ATP. Na znaczące wyczerpywanie się zapasów ATP bez możliwości jego odbudowy wskazywałyby fakt wyraźnego zwiększenia się wartości analizowanych wskaźników  $R_{248}$  i  $R_{250}$  po 12 godzinie *post mortem*.

Zwiększenie stężenia kwasu mlekowego, a także hydrolytyczny rozpad ATP przyczynił się do obniżenia wartości  $pH$  badanego mięśnia *longissimus thoracis et lumborum*, przechowywanego w warunkach chłodniczych przez 48 godzin *post mortem*. W badanym mięśniu, 45 min po uboju, wartość  $pH$  wynosiła 6,52 (Tab. 1). Już po trzech godzinach od momentu uboju nastąpiło istotne obniżenie wartości  $pH$  do poziomu 6,30. W czasie kolejnych trzech godzin zakwaszenie tkanki mięśniowej zwiększyło się o 0,24 jednostki  $pH$ . Natomiast 12 h *post mortem* próbki mięśnia charakteryzowały się wartością  $pH$  równą 5,83. Dalsze chłodnicze przechowywanie przyczyniło się do obniżenia wartości  $pH$  do poziomu 5,51. Z analizy otrzymanych wyników widać, że w ciągu pierwszych 12 h następowało znaczące obniżenie wartości  $pH$ , a w późniejszym okresie, do 48 h, nastąpiło spowolnienie tempa zakwaszania tkanki mięśniowej.

Tab. 2. Współczynniki korelacji liniowej między badanymi wyróżnikami

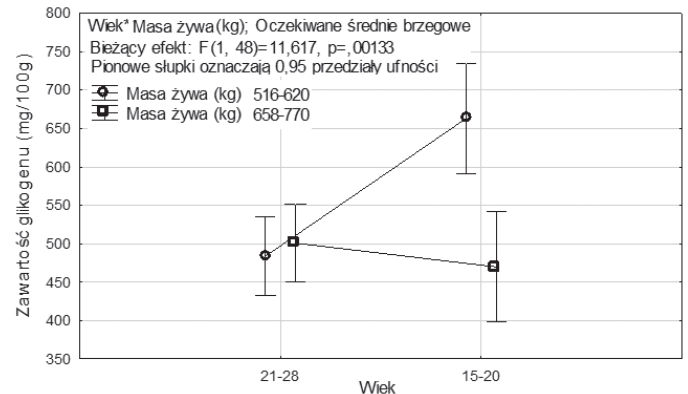
Wyróżnik	$pH$	Zawartość glikogenu, mg/100g	Zawartość kwasu mlekowego, mg/100g
Zawartość glikogenu*, mg/100 g	0,76	–	–
Zawartość kwasu mlekowego*, mg/100 g	-0,29	-0,28	–
Wartość $R_{250}$ *	-0,89	-0,84	0,32
Wartość $R_{248}$ *	-0,87	-0,85	0,33

\* współczynniki korelacji dla wyróżników oznaczonych gwiazdką są istotne statystycznie przy  $p < 0,05$

W tab. 2 przedstawiono współczynniki korelacji liniowej między badanymi wyróżnikami. Wszystkie wyznaczone współczynniki korelacji były istotne statystycznie przy  $p < 0,05$ . Bardzo wysoką korelację (wartości współczynników korelacji w przedziale 0,8÷0,9) odnotowano między wartościami  $R$ , zarówno  $R_{248}$  jak i  $R_{250}$ , a wartością  $pH$  i zawar-

tością glikogenu. Wysoce skorelowana (wartości współczynników korelacji w przedziale 0,6÷0,8) była zawartość glikogenu z wartością  $pH$  mięśnia. Niską korelację (wartości współczynników korelacji w przedziale 0,2÷0,4) odnotowano między zawartością kwasu mlekowego i wartością  $pH$  oraz zawartością glikogenu.

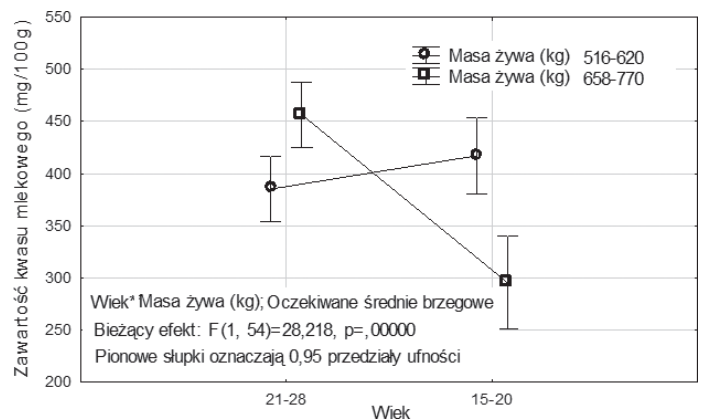
Surowiec wykorzystany do badań pochodził z tusz bydła o zróżnicowanej masie i wieku. Wiadomo, że wśród czynników wpływających na tempo i zakres poubojowego metabolizmu wyróżnia się wiek i masę bydła [Cierach i in., 2009], stąd podzielono ten surowiec na grupy biorąc za kryterium masę (516÷620 kg i 658÷770 kg) oraz wiek (15÷20 miesięcy i 21÷28 miesięcy). Po dokonaniu takiego podziału odnotowano w przypadku zawartości glikogenu istotną statystycznie interakcję wiek × masa żywa (Rys. 2).



Rys. 2. Zawartość glikogenu w zależności od wieku i masy żywej bydła, kg

Na podstawie wyników przeprowadzonej analizy można stwierdzić, że w przypadku bydła starszego (w wieku od 21 do 28 miesięcy) zawartość mięśniowego glikogenu nie zależała od żywej masy zwierzęcia. Natomiast w przypadku bydła z grupy wiekowej 15÷20 miesięcy, zawartość mięśniowego glikogenu zależała od jego masy żywej. Mięśnie bydła o mniejszej masie ciała odznaczały się większą zawartością glikogenu, natomiast bydła o większej masie ciała mniejszą rezerwę tego związku.

W odniesieniu do zawartości kwasu mlekowego w badanej tkance mięśniowej z bydła w wieku 15÷20 miesięcy, odnotowano podobną zależność do tej zaobserwowanej dla zawartości glikogenu (Rys. 3). Mięśnie bydła o mniejszej masie ciała odznaczały się większą zawartością kwasu mlekowego, natomiast bydła o większej masie ciała mniejszą. W przypadku mięśni bydła w wieku 21÷28 miesięcy odnotowano odwrotną zależność. Mięśnie bydła o mniejszej masie ciała odznaczały się mniejszą zawartością kwasu mlekowego, natomiast bydła o większej masie ciała większą.



Rys. 3. Zawartość kwasu mlekowego w zależności od wieku i masy żywej bydła, kg

Poziom zawartości zmagazynowanego w mięśniach glikogenu tuż przed ubojem jest jednym z najważniejszych czynników wpływających na jakość wołowiny [Immonen i in., 2000a]. Poubojowe przemiany

glikogenu w warunkach beztlenowych prowadzą do akumulacji kwasu mlekowego i w konsekwencji do zakwaszenia mięsa. Przemiany te nie przebiegają jednak z tą samą szybkością w czasie. Taką zależność zaobserwowano w badanym mięśni *longissimus thoracis et lumborum*, pochodzącym z tusz mieszańców rasy czarno-białej i limousin. Podobne tempo obniżania zawartości glikogenu w mięśni *longissimus* była rasy Hanwoo, zaobserwowali także Yu i in., [2008]. Rhee i in., [2002] nie odnotowali różnic w zawartości glikogenu w zależności od rasy i temperatury kondycjonowania mięsa, a jedynie wpływ czasu *post mortem* wpłynął na zużywanie rezerw glikogenu. W niniejszej pracy odnotowano różnice w zawartości glikogenu w zależności od masy żywej bydła oraz od jego wieku. W przypadku tych różnic, wpływ wieku i masy bydła może nie być bezpośrednią przyczyną, a być związany ze zmiennością osobniczą i wynikającymi z niej różnicami w przyrostach dobowych masy poszczególnych sztuk bydła oraz różnic w metabolizmie [Immonen i in., 2000c].

Końcowa wartość *pH* mięsa zależy nie tylko od procesu beztlenowej glikolizy w wyniku, którego produkowany jest kwas mlekowy i szereg produktów pośrednich takich jak: glukoza-6-fosforan, czy kwas pirogronowy, ale także od przemian związków fosforowych (fosfokreatyna, ATP) i aktywności enzymów szlaku glikolitycznego. Można tym tłumaczyć niską korelację między zawartością kwasu mlekowego i pozostałymi badanymi wyróżnikami.

Konwersja mięśni w mięso wiąże się ze zmianami nie tylko glikogenu, ale również ze zmianami w zawartości kwasu mlekowego, ATP i innych związków fosforowych. Dobrym wskaźnikiem pozwalającym monitorować poubojowe przemiany nukleotydów adenilowych jest wartość *R*. Niska wartość *R* oznacza wysokie stężenie ATP i odwrotnie. Wzrost wartości  $R_{248}$  mówi o obniżeniu zawartości ATP, zmniejszeniu zawartości IMP, natomiast  $R_{250}$  o zwiększeniu stężenia hipoksaniny, jako końcowego produktu rozpadu ATP. Wskaźnik ten w swoich badaniach wykorzystali: Rhee i in., [2002], Ryu i in. [2005], Muthukumar i Thulas, [2006]. Rhee i in. [2002] odnotowali związek między wartością *R* i czasem *post mortem*. Badane przez nich bydło rasy Holstein charakteryzowało się wolniejszym tempem metabolizmu ( $R_{248}$ ) we wczesnej fazie *post mortem*. W niniejszej pracy odnotowano bardzo wysoką korelację między wartościami *R* (zarówno  $R_{248}$  jak i  $R_{250}$ ) a wartością *pH* i zawartością glikogenu. Wyniki uzyskane przez Calkins i in. [1983], wskazują, że pośmiertne tempo przemian metabolicznych mierzone jako  $R_{248}$  jest istotnie skorelowane z kruchością wołowiny.

## Podsumowanie

Obniżenie zawartości glikogenu w mięśni *longissimus thoracis et lumborum* i zwiększenie stężenia kwasu mlekowego przyczynia się do ukształtowania typowej dla mięsa normalnego kwasowości (*pH* około 5,5).

Powolny wzrost wartości *R* w początkowej fazie *post mortem* wskazuje na możliwość syntezy i resyntezy ATP, a wyraźny jej wzrost w późniejszym okresie po uboju świadczy o gromadzeniu się IMP i hipoksaniny, związków odpowiadających za kształtowanie profilu smakowo-zapachowego mięsa.

Odnotowana bardzo wysoka korelacja między wartościami *R* (zarówno  $R_{248}$  jak i  $R_{250}$ ) a wartością *pH* i zawartością glikogenu, potwierdza słuszność stosowania tych wskaźników w celu monitorowania przebiegu zmian poubojowych w tkance mięśniowej oraz jako predyktorów jakości mięsa wołowego.

Zawartość mięśniowego glikogenu w przypadku młodego bydła rzeźnego (15÷20 miesięcy) zależy od jego masy żywej. Mięśnie bydła o mniejszej masie ciała odznaczają się większą zawartością glikogenu, natomiast bydła o większej masie ciała mniejszą rezerwą tego związku.

W przeprowadzonych badaniach nie zaobserwowano występowania odchyleń w dynamice przemian poubojowych zachodzących w mięśniach szkieletowych buhajków, mieszańców rasy czarno-białej i *limousin*, a zatem można wnioskować, że mięso z tusz takiego bydła odznaczało się będzie pożądaną jakością.

## LITERATURA

- Calkins C.R., Branecky L.J., Dutson T.R., Smith G.C., Carpenter Z.L. 1983. Postmortem muscle metabolism and meat tenderness. *Journal of Food Science*, **48**, 23-25. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1983.tb14780.x
- Chun Y., Yin Z.D. 1998. Glycogen assay for diagnosis of female genital Chlamydia trachomatis infection. *Journal of Clinical Microbiology*, **36**, nr 4, 1081-1082. PMID: PMC104693
- Cierach M., Niedźwiedz J., Borzyszkowski M. 2009. Zmiany poubojowe w wołowej tkance mięśniowej a jakość mięsa. *Inż. Ap. Chem.* **48**, nr 2, 27-28
- Dzierżyńska-Cybulko B., Kijowski J. 1982. *Zarys przetwórstwa surowców zwierzęcych*. Wyd. AR, Poznań
- Immonen K., Kauffman R.G., Schaefer D.M., Poulanne E. 2000a. Glycogen concentrations in bovine longissimus dorsi muscle. *Meat Science*, **54**, nr 2, 163-167. DOI: 10.1016/S0309-1740(99)00090-X
- Immonen K., Poulanne E. 2000b. Variation of residual glycogen-glucose concentration at ultimate pH values below 5,75. *Meat Science*, **55**, nr 3, 279-283. DOI: 1016/S0309-1740(99)00152-7
- Immonen K., Ruusunen M., Hissa K., Poulanne E. 2000c. Bovine muscle glycogen concentration in relation to finishing diet, slaughter and ultimate pH. *Meat Science*, **55**, nr 1, 25-31. DOI: 10.1016/S0309-1740(99)00121-7
- Immonen K., Schaefer D.M., Poulanne E., Kauffman R.G., Nordheim E.V. 2000d. The relative effect of dietary energy density on repleted and resting muscle glycogen concentrations. *Meat Science*, **54**, nr 2, 155-162. DOI: 1016/S0309-1740(99)00089-3
- Jerez N.C., Calkins C.R., Velazco J. 2003. Prerigor injection using glycolytic inhibitors in low-quality beef muscles. *Journal of Animal Science*, **81**, 997-1003.
- Kreikemeir K.K., Unruh J.A., Eck T.P. 1998. Factors affecting the occurrence of dark-cutting beef and selected carcass traits in finished beef cattle. *Journal of Animal Science*, **76**, 388-395
- Muthukumar M., Thulasi G. 2006. Effect of electrical stimulation on biochemical characteristics and tenderness of buffalo meat. *Indian Journal of Animal Science*, **76**, 971-973
- Niedźwiedz J., Cierach M. 2009. Przemiany poubojowe a mięso wysokiej jakości. *Gospodarka Mięsna*, **4**, 14-16
- Pösö A.R., Puolanne E. 2005. Carbohydrate metabolism in meat animals. *Meat Science*, **70**, nr 3, 423-434. DOI: 10.1016/j.meatsci.2004.12.017
- Rhee M.S., Ruy Y.C., Kim B.C. 2002. Comparative studies on metabolic rate and calpain/calpastatin activity between Hanwoo and Holstein beef. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, **15**, 1747-1753
- Rhee M.S., Ryu Y.C., Kim B.C. 2006. Postmortem Metabolic Rate and Calpain System Activities on Beef Longissimus Tenderness Classifications. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **70**, nr 5, 1166-1172. DOI: 10.1271/bbb.70.1166
- Ryu Y.C., Kim B.C. 2005. The relationship between muscle fiber characteristics, postmortem metabolic rate, and meat quality of pig longissimus dorsi muscle. *Meat Science*, **71**, nr 2, 351-357. DOI: 10.1016/j.meatsci.2005.04.015
- Wulf D.M., Emmett R.S., Leheska J.M., Moeller S.J. 2002. Relationship among glycolytic potential, dark cutting (dark, firm, and dry) beef and cooked beef palatability. *Journal of Animal Science*, **80**, 1895-1903
- Yu L.H., Lim D.G., Jeong S.G., In T.S., Kim J.H., Ahn C.N., Kim C.J., Park B.Y. 2008. Effects of temperature conditioning on postmortem changes in physicochemical properties in Korean native cattle (Hanwoo). *Meat Science*, **79**, nr 1, 64-70. DOI: 10.1016/j.meatsci.2007.07.033
- Pracopowstała w ramach Projektu WND-POIG.01.03.01-00-204/09: Optymalizacja produkcji wołowiny w Polsce zgodnie ze strategią „od widelca do zagrody”, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007-2013 (Umowa nr UDA-PO-IG.01.03.01-00-204/09-07).**