

Enzymatické systémy, ktoré sa zúčastňujú zrenia a krehnutia mäsa

E. BYSTRICKÁ

Postupy a ich mechanizmus, ktoré sú dôsledkom činnosti rôznych enzymatických systémov, možno dnes už vysvetliť teoreticky. Zrenie mäsa a jeho krehkosť sú taktiež predovšetkým závislé od činnosti rôznych enzymatických systémov, ktoré sa týchto postupov zúčastňujú.

Enzýmy pri každej chemickej reakcii živej bunky prejavujú svoju činnosť. Primárne sú bielkovinnej povahy a je známe, že podstatná časť bielkovín buniek v živej hmote prejavuje enzymatickú činnosť. Aj metabolizmus tkane a orgánov zvierata zahrňuje v sebe širokosiahle usporiadanie rôznych enzymatických systémov. Každý systém je vo svojej funkcii vysoko špecifický, katalyzuje len jednu zlúčeninu alebo skupiny, ktoré majú úzku nadväznosť na tieto zlúčeniny. Práve táto špecifičnosť, vzhľadom na substrát a typ chemickej reakcie, ktorú katalyzuje, je podkladom pre klasifikáciu jednotlivých systémov.

Nakoľko povaha enzymatickej reakcie sa nemôže jednoducho vysvetliť reakciou substrátu a enzýmu, predpokladá sa, že katalýza je výslednicou tvorby intermediárnej zlúčeniny alebo komplexu medzi katalyzátorom a reagujúcim činidlom. Rovnica enzým (E) + substrát (S) = enzým-substrát komplex (ES), enzým-substrát komplex = enzým (E) + produkty (P), platí pre dve fázy enzymatickej aktivity. Ak berieme do úvahy, že enzým-substrátový komplex sa veľmi rýchlo rozkladá, rýchlosť katalýzy bude závisieť hlavne od rýchlosti reakcie.

Mechanizmus reakcií možno posúdiť len pomocou štúdia kinetiky reakcií, hlavne vplyvu koncentrácie enzýmov, koncentrácie substrátov, pH, teploty a iných kolísajúcich hodnôt, ktoré ovplyvňujú rýchlosť reakcií. Pri posúdení činnosti enzýmov je nutné merať rýchlosti chemických reakcií, ktorú dané enzýmy katalyzujú.

Pri štúdiu činnosti enzýmov ide o tri typy reakčných rýchlostí, a to reakcie prvého, druhého a tretieho radu. Málakedy ide o reakcie vyššieho radu. Kinetika enzymatických reakcií je veľmi často komplikovaná a pri samej reakcii, ako táto postupuje, sa môže meniť rad reakcie.

Poznanie rýchlosti reakcie, ako funkcie koncentrácie reagujúcich molekúl — nám často poskytuje potrebné, hodnotné informácie (čo do počtu molekúl, ktoré sa reakcie zúčastňujú). Taktiež je nutné sledovať kolísajúce teploty, koncentráciou vodíkových iónov a ostatné faktory, ktoré vplývajú na zmenu rýchlosti reakcií. Presné stanovenie a vyjadrenie rýchlosti reakcií má základný význam.

Rýchlosť enzymatickej reakcie pri konštantnej koncentrácii enzýmu závisí

od koncentrácie substrátu. Pri veľmi nízkych alebo veľmi vysokých koncentráciách enzýmov rýchlosť je úmerná koncentrácii substrátu. S rastúcou koncentraciou enzýmov vzrastá rýchlosť reakcie. Tento vzrast pri nízkej koncentrácii enzýmu je priamo úmerný jeho koncentrácii. Pri zvýšení množstva enzýmu priamy vzťah zaniká a rýchlosť vzrastu je pomalšia.

Rýchlosť väčšiny enzymatických reakcií so stúpajúcou teplotou vzrastá a s klesajúcou (až po určitú teplotu) klesá. Enzýmy sú citlivé na tepelnú inaktiváciu. Čím je teplota vyššia, tým rýchlejšie sa ničia katalytické vlastnosti enzýmov. Za optimálnu teplotu považujeme teplotu, pri ktorej sa za danú jednotku času zmení najväčšie množstvo substrátu. Táto teplota sa pre daný enzým mení nielen vo vzťahu k času, ale tiež vo vzťahu ku zmenám pH, koncentracii a čistote prípravy enzýmu. Tepelná inaktivácia je analogická, alebo môže pozostávať z denaturácie. Pre tepelnú inaktiváciu je podstatná voda, nakoľko vysoko purifikované enzýmy sú stálejšie k teplote v stave suchom, ako keď obsahuje určitú vlhkosť.

Taktiež koncentrácia vodíkových iónov má podstatný vplyv na aktivitu enzýmov. Každý enzým má svoje optimálne pH, pri ktorom aktivita je optimálna, kým pri inom pH je menšia. Optimum pH sa v súlade s podmienkami pokusu môže meniť a najčastejšie sa aj mení. Substrát, zdroj materiálu enzýmu, časový prvok a použitý ústojný roztok ovplyvňujú optimálne pH enzymatickej reakcie. Aktivitu enzýmu vyjadrujeme v jednotkách, ktorých definícia obvykle zahrňuje množstvo spotrebovaného substrátu alebo množstvo produktu, vytvoreného za určitú časovú jednotku, pri určitom pH, teplote, koncentrácii atď. Ak je molekulová váha daného enzýmu známa, konštanta rýchlosti sa vyjadruje pomocou počtu molekúl. Ak však nie je známa, alebo nejde o čistý prípravok, jednotka aktivity sa môže vyjadriť na mg bielkovín alebo na mg dusíka bielkovín. Za najsprávnejšie sa považuje stanoviť aktivitu enzýmu pri optimálnych podmienkach vzhľadom na faktory, ako je pH, koncentrácia substrátu a prítomnosť aktivátorov, ale nie vzhľadom na teplotu, nakoľko pri vysokých teplotách počas skúšania javí enzým tendenciu inaktivovať sa.

Jednotlivé enzýmy sa veľmi líšia v rozpustnosti. Mnohé sa vo vode rýchlo rozpúšťajú, zatiaľ čo iné nie sú rozpustné, prípadne iné sú rozpustné v roztoku neutrálnej soli alebo v ústojnom roztoku. V niektorých prípadoch rozpustnosť enzýmov má charakteristické vlastnosti bielkovín. Vyzrážajú sa z roztoku bielkoviny – zrážajúcimi činidlami, analogicky ako iné bielkoviny, sú menej rozpustné vo vodných roztokoch pri ich izoelektrickom bode. Pri posudzovaní enzymatickej činnosti a enzýmov ako takých musíme brať do úvahy aj ich špecificitu (absolútna, relatívna a stereochemická špecificita). Enzýmy s absolútnou špecificitou obmedzujú svoju činnosť na jednoduchý substrát alebo jednoduchý typ chemickej väzby. Pojmom relatívnej špecificity myslíme tú vlastnosť enzýmu, že hoci atakuje určitý substrát alebo typ väzby, bude tiež reagovať s iným substrátom, ale v menšom meradle.

Význam enzýmov je pre živé zvierá veľmi veľký, pretože fakticky katalyzujú každú reakciu v živej bunke. Po zabití zvierata sa ani enzýmy, ani ich činnosť v rôznych tkanivách nezničí. Napr. glykolytické enzýmy majú veľký význam pre rozvoj rigoru mortis. Proteolytické enzýmy svaloviny sú relatívne inaktívne, predpokladá sa však, že majú veľkú dôležitosť pri krehnutí mäsa, ktoré je dôsledkom jeho zrenia.

Z hľadiska účasti enzýmův na metabolizme zvierat, na tenderizácii mäsa a úchove mäsových výrobkov je nutné oboznámiť sa s najnovšími poznatkami, týkajúcimi sa činnosti enzymatických systémův v mäse. Metabolické pochody v každej bunke a tkani prebiehajú za účasti celého súboru rôznych enzymatických procesův. Enzýmy ako v rastlinnom, tak i v živočíšnom tkanive, sú viac-menej viazané na rôzne morfológické štruktúry bunky alebo sú súčasťou hmoty týchto štruktúr. V minulosti sa výskum v značnom meradle venoval štúdiu komplexnej štruktúry svalového tkaniva, jeho rozvoju a zmenám, ktorými prechádza svalovina. Skúmal sa vplyv veku, plemena, pohlavia, cvičenia a námahy na metabolické procesy svaloviny, ako aj na jej ultraštruktúru. Výskum sa ďalej zamerail na hormonálne, nutričné vplyvy, ako aj vplyvy okolia, chovanie sa svaloviny post mortem, postup zrenia a krehkosti. Svalové tkanivo je zaujímavé i z hľadiska chemickej povahy dôležitých metabolických pochodův, ktoré dodávajú energiu, ako aj z hľadiska mechanizmu premeny energie chemických reakcií na mechanickú energiu.

Svalové sťahovanie je funkcia svalových bielkovín. Svalové bielkoviny možno rozdeliť na rad frakcií, ktoré sa od seba líšia. Asi 20 % všetkých svalových bielkovín – cicavcov pripadá na myogén, ktorý možno rozdeliť na dve frakcie, a to: myogén A a myogén B. Kryštalický myogén, tzv. myogén A, má enzymatický účinok (aldoláza). Možno ho ľahko získať extrakciou vodou z rozdrveného svalstva. Je pravdepodobne súčasťou sarkoplazmy a nemá priamu účasť na pochodoch, spojených s rýchlou koncentráciou priečne pruhovaných svalův.

Ďalšou súčasťou kontraktívnych elementův svalového vlákna je myozín, ktorý sa ľahko izoluje 0,6 M roztokom KCl alebo NaCl. Jeho fyzikálno-chemické vlastnosti do istej miery pripomínajú globulíny. Myozín zo soľného roztoku vypadáva pri dialýze a zriedením vodou. V čistej vode (bez soli) sa však na rozdiel od skutočných globulínův nerozpúšťa. Za určitých podmienok

T a b. 1. Obsah aminokyselín v kryštalickom myozíne

Názov aminokyselín	Obsah v 100 g bielkoviny %
Arginín	7,0
Histidín	1,7
Lyzín	10,3
Kyselina glutamová	22,1
Kyselina asparágová	8,9
Tyrozín	3,4
Serín	3,9
Treonín	4,9
Cystín	1,4
Metionín	3,4
Tryptofán	0,8
Glykokol	1,9
Alanín	6,3
Leucín	15,6
Valín	2,6
Fenylalanín	4,3
Prolín	1,9

možno získať myozín nielen vo forme gélu, ale tiež vo forme kryštalickej. Má špecifickú vlastnosť viazať ióny, najmä Ca^{++} a Mg^{++} . Jeho molekulová váha dosahuje až 1 500 000.

Engelhardt a Ljubimovová už v roku 1939 získali dôležité údaje, týkajúce sa enzymatického adenosíntrifosfatázového účinku myozínu, ktorý má schopnosť katalyzovať štiepenie kyseliny adenosíntrifosforečnej na kyselinu adenosíntrifosforečnú a H_3PO_4 . Pri tomto postupe, ktorý má priamy vzťah k mechanizmu svalovej kontrakcie, sa uvoľňuje veľké množstvo energie.

Obsah aminokyselín v kryštalickom myozíne

Podľa najnovších biochemických výskumov kontraktívnou svalovou bielkovinou nie je iba myozín, ale tzv. aktomyozín, zložený komplex myozínu s druhou svalovou bielkovinou, aktínom, ktorý je súčasťou myofibril. Aktín zo svaloviny po izolovaní myozínu možno ľahko extrahovať vodou 0,6 M roztokom KCl. V 100 g svaloviny je zvyčajne 3 g aktínu. Táto bielkovina sa môže vyskytovať vo dvoch formách, ktoré sa od seba líšia fyzikálno-chemickými vlastnosťami, je to globulárny G-aktín a fibrilárny F-aktín. Ich jemnú štruktúru možno dobre rozoznať elektrónovým mikroskopom. Fibrily polymerizovaného aktínu sa nezískajú rozvinutím globulínu G-aktínu, ale ich spojením do dlhých reťazcov. Pravdepodobne pri spojovaní jednotlivých častí ióny kyseliny adenosíntrifosforečnej a vápnika hrajú dôležitú úlohu. V svalu, ktorý sa nachádza v klude, je aktín vo fibrilárnej forme, avšak možno predpokladať, že pri sťahovaní svalstva dochádza k depolymerizácii aktínu a k jeho premene na globulárny aktín. Molekulová váha aktínu je okolo 75 000.

Tab. 2. Obsah aminokyselín v králičom aktíne

Názov aminokyseliny	Obsah v 100 g bielk. %	Názov aminokyseliny	Obsah v 100 g biel. %
Arginín	7,2	Metionín	4,6
Lyzín	8,55	Glykokol	6,9
Histidín	2,4	Alanín	1,7
Kyselina glutamová	15,5	Valín	2,8
Kyselina asparágová	8,9	Trolín	7,1
Tyrozín	4,3	Hydroxiprolín	1,65
Tryptofán	2,1	Leucín a izoleucín	22,3
Cystín	1,1	Fenylalanín	—

Aktín sa in vitro môže zlučovať s inou svalovou bielkovinou, myozínom, za vzniku viskózneho aktomyozínu. Aktomyozínový gél, ktorý sa získal vo forme jemných vlákien, má účinok adenosíntrifosfatázy, (ktorý patrí myozínu) a má tú vlastnosť, že pri určitej koncentrácii iónov K a Mg (0,05 M KCl a 0,001 N MgCl_2) za prítomnosti ATP prudko sa sťahuje. Pri vyššej koncentrácii solí, keď pridáme ATP, aktomyozín disociuje na dve zložky, aktín a myozín. Jeho viskozita pritom veľmi klesne. Szentgyörgyi uvádza, že zmrštenie aktomyozínu

vplyvom ATP je podkladom k sfahovaniu svalového vlákna. Funkcia iných bielkovín pri svalovej kontraktácii, ktoré sú súčasťou priečne pruhovaného svalstva — globulín X a bielkoviny strómy, nie je dostatočne preštudovaná. Myoglobín, ktorý sa nachádza v červených svaloch, podobne ako hemoglobín, môže viazať a uvoľňovať kyslík. Pomocou tejto bielkoviny sa zásobujú svalové vlákna kyslíkom. Medzi bielkoviny svalového tkaniva patrí aj rad bielkovín, enzýmov, ktoré katalyzujú najrôznejšie biochemické premeny v svaloch, glykolýzu, hydrolýzu tukov a polysacharidov (glykogénu).

Z nebielkovinných látok, ľahko extrahovateľných z priečne pruhovaného svalstva okrem kyseliny adenosíntrifosforečnej (ATP), adenosindifosforečnej (ADP) a adenylovej, medzi extraktívnymi látkami svaloviny majú veľký význam kreatín, kyselina kreatínfosforečná, karnozín, anserín a karnitín. K iným dusíkatým látkam svalovín patria fosfatidy, aminokyseliny, močovina a purínové bázy. Medzi najdôležitejšie nedusíkaté látky svaloviny patrí glykogén, produkty jeho rozkladu, hlavne hexozofosfáty, kyselina mliečna, tuky, cholesterol a celý rad minerálnych solí. Väčšina týchto zlúčenín sa zúčastňuje metabolických pochodov, keď je sval v kľude, ale hlavne pri jeho aktívnej činnosti.

Najdôležitejším substrátom svalovej glykolýzy a dýchania je glykogén. Jeho obsah v priečne pruhovanom svalstve môže dosahovať až 2%. Keď sa vykonáva namáhavá svalová práca, glykogén sa do značnej miery využije anaeróbnou cestou za vzniku kyseliny mliečnej, ktorá prechádza do krvi a spolu s ňou sa dostáva do pečene, kde sa z nej syntetizujú uhľovodany (glykogén).

Chemické zloženie hladkého svalstva

Chemické zloženie hladkého svalstva nie je dostatočne preštudované. Jeho súčasťou okrem bielkovín sú rôzne extraktívne látky, ku ktorým patrí: kreatín, fosfokreatín, kreatinín, glykogén, niektoré hexozofosfáty, kyselina ATP, kyselina mliečna a iné. Bielkoviny aktomyozínového komplexu sú prítomné len v malom množstve, a to v hladkom svalstve stavovcov a vtákov.

Chemizmus sfahovania svalov

Reakcia aktomyozínu a nukleotidu kyseliny ATP má za následok sfahovanie priečne pruhovaného svalstva. Aktomyozín pritom mení svoje elastické vlastnosti, keď sa ATP štiepi za vzniku $ADP + H_3PO_4$.

$ATP + \text{aktomyozín} + H_2O = ADP + H_3PO_4 + \text{zmraštený aktomyozín}$. Defosforylácia ATP prebieha za uvoľňovania značného množstva energie, ktorá sa potom nahromadí v makroenergetických fosfatových väzbách tohto nukleotidu (asi 12 000 cal/1 mol H_3PO_4). Táto energia sa vo svale používa na uskutočnenie mechanickej práce, mení sa tu energia chemická na mechanickú prácu. Pri svalovej práci treba obnoviť ATP. Resyntéza ATP a ADP je spojená s celým radom premien, ktoré dodávajú energiu. Sú to hlavne:

1. glykogenolýza alebo glykolýza (štiepenie glykogénu alebo glukózy za vzniku kyseliny mliečnej),

2. tkanivové dýchanie (oxidácia rôznych substrátov dýchania, hlavne glycidov a fosfolipidov na CO_2 a H_2O),

3. prenos fosfátovej skupiny z fosfokreatínu na ADP.

Pri transfosforylácii dochádza k intramolekulárnemu prenosu zvyšku kyseliny fosforečnej z jednej organickej zlúčeniny na druhú. Enzýmy, ktoré katalyzujú prenos fosforečného zvyšku, nazývajú sa transfosforylázy (fosfoferázy). Najobecnejší systém, pri ktorom sa uskutočňuje prevod fosforečných zvyškov, tvorí sa kyselinou adenosíntrifosforečnou (ATP) a adenosíndifosforečnou (ADP), ktoré do seba vzájomne prechádzajú. Konečným výsledkom transfosforylácie je vznik fosforečnej zlúčeniny kreatínu, ktorá je bohatá na energiu. Premeny rôznych fosforečných zlúčenín, tvorba a rozklad organických zlúčenín fosforu pri látkovom metabolizme, majú veľký význam v svalovom tkanive.

Energia, ktorá sa získa rozkladom ATP, používa sa vo fáze zmršťovania svalového vlákna. Odstránenie ATP zo svalu je spojené so stratou elasticity (vývojom rigoru). Dostatočné množstvo kyseliny adenosíntrifosforečnej vo svalových vláknach je jednou z najdôležitejších podmienok zachovania svalovej elasticity. ATP v živom vlákne nevyvoláva zmršťovanie, pretože v svalových bunkách, ktoré sa nepodráždili, sa nachádza špeciálna bielkovina (faktor Marsh-Bendallov), ktorá brzdí enzymatický adenosíntrifosfatázový účinok aktomyozínu, čím sa zabráni zmršťovaniu svalových vlákien. Pre svalovú relaxáciu je bezpodmienečne nutná prítomnosť tohto faktora spolu s ATP. Účinok tohto faktora je závislý od celého radu podmienok, najmä však od koncentrácie iónov vápnika vo svalových vláknach. Pod vplyvom nervových impulzov sa koncentrácia týchto iónov môže vo svaloch veľmi rýchlo meniť. Tento zložitý systém regulácie adenosíntrifosfatázového účinku aktomyozínu určuje aj to, že je možná dvojfázová svalová činnosť (zmršťovanie a relaxácia), ďalej ovplyvňuje priebeh rigoru mortis, ktorý postupne mizne, svaly opäť zvláčnejú, čiže týmto postupom sa vlastne ovplyvňuje celý postup zrenia a tenderizácia mäsa.

Postmortálne zmeny vo zvieracej svalovine — vlastné zrenie

Rozdielnosť svalov je dôsledkom rôznych faktorov a druhu zvierata, plemena, pohlavia, veku, ich anatomického umiestnenia, námahy, cvičenia, kímnej techniky atď. Značný vplyv majú rôzne vonkajšie okolnosti, ktoré v bezprostrednej postmortálnej perióde menia chovanie sa svaloviny i zloženie mäsa ako pri výrobe tak i pri skladovaní. Ďalej je to únava, strach, ošetrovanie pred zabitím, podmienky pri zabití, ako i pri bezprostrednej perióde rigoru mortis a pri nasledovnom skladovaní. Čo sa týka začatia rigoru mortis pri rôznych svaloch, závisí od rôznych faktorov, ako začiatkovej a konečnej hodnoty pH, rýchlosti jeho poklesu, začiatkovej a konečnej hodnoty obsahu glykogénu, začiatkovej zásoby na energiu bohatých fosfátov atď. Rôzne svaly majú kapacitu na resyntézu fosfátov bohatých na energiu, ako i silu vštíepiť ATP a potlačiť také štiepenie (aktivita Marsh-Bendallovho faktora). Treba brať do úvahy, že aj v rámci jedného svalu môžu byť veľké rozdiely v zložení a konštitúcii. Napr. pozdĺž svaloviny veľmi kolíše hodnota konečného pH, ako i pigmentácia. Tak i v enzymatickom zložení jednotlivých svalových vlákien sa vyskytujú značné rozdiely. Niektoré svalové vlákna majú širší priemer a pri metabolizme svalov potom prevláda činnosť glykolytických enzýmov,

zatiaľ čo pri vláknach s užším priemerom sú väčšinou v činnosti také enzymatické systémy, ktoré sa zúčastňujú dýchania.

Začiatok rigoru mortis

Pri priebehu postmortálnej glykolýzy sa stane sval neohybným, dochádza k rigoru mortis. I keď rigor mortis je už dávno známy, jeho chemický význam sa len nedávno spresnil a objasnil. Erdős (1943) dokázal, že začiatok rigoru mortis je vo vzťahu k miznutiu ATP zo svaloviny. V neprítomnosti ATP, aktín a myozín reagujú a vytvárajú pevnú refaz aktomyozínu. Strata pružnosti, prebieha zo začiatku pomaly (perióda oneskorená), potom vysokou rýchlosťou (rýchla fáza). Čas začiatku rýchlej fázy rigoru mortis (pri danej teplote) závisí vo väčšine prípadov priamo na hladine ATP. Pri lokálnej regulácii ATP účinkuje v snahe udržať teplo tela a štrukturálnu ucelenosť svalovej bunky. Resyntézou ADP a kreatínfosfátu (CP) sa môže hladina ATP určiť dobu udržať. Keď sa zásoba CP využije, postmortálnou glykolýzou môže sa ATP resyntetizovať, ale len neefektívne a celková hladina klesne. Je samozrejmé, že k tomu dôjde neskôr, ak je prítomné malé množstvo glykogénu, a dokonca aj keď je vysoké množstvo glykogénu, resyntéza ATP glykolýzou nemôže sa udržať na dostatočne vysokej hladine, takej, aby sa zabránilo tvorbe aktomyozínu. Námaha pred smrťou zníži hodnotu začiatočného pH, a skráti čas do začiatku rýchlej fázy, keď nastane vyčerpanie glykogénu v dôsledku iných príčin, ako je hladovanie atď.

Nadbytok kyslíka stimuláciou dýchania oddiali začiatok rigoru mortis. Začiatok rigoru mortis sprevádza zníženie schopnosti viazať vodu.

Na problematiku zrenia mäsa sa zameralo mnoho výskumných prác. Tak sa napr. skúmali medziprodukty glykolýzy a kofaktory pri rýchlej a pomalej glykolýze svaloviny ošipaných. Použila sa svalovina longissimus dorsi 3 plemien ošipaných: Chester White, Hampshire a Poland China za účelom stanovenia rozdielov v metabolických medziproduktoch svaloviny s rýchlou a pomalou glykolýzou. Nezistili sa podstatné rozdiely v obsahu mliečnanov a glukózy pri týchto troch plemenách vo vzorkách krvi odobratých pri vykrvácaní alebo 24 hod. pred vykrvácáním.

Dalej sa skúmali rôzne kombinácie teploty a kyslosti vo vzťahu k zmenám štruktúry svaloviny. Ak sa pH znížilo asi na hodnotu 5,4 (mliečna kyselina asi 1 %), rezultovalo mäkké, exsudatívne tkanivo; teplota tkaniva sa udržiavala nad 25 °C. Keď sa tkanivo náhle ochladilo, zabránilo sa extrémnemu kolísaniu pH a zmenám štruktúry svaloviny, čím sa dosiahlo zlepšenie materiálu čo do intenzity zafarbenia a schopnosti viazať vodu v čerstvej tkani.

V iných pokusoch sa sledoval vplyv 3 skladovacích teplôt na zmeny a vzťah určitých chemických a fyzikálnych vlastností hovädzej svaloviny. Degradácia ATP sa merala dvoma spôsobmi, a to tvorbou amoniaku a bioluminiscenčnou enzymatickou metódou. Bioluminiscenčná metóda sa lepšie osvedčila. Pozoroval sa vzťah medzi pH a ATP svaloviny pri 3 skúmaných teplotách. Nenašiel sa priamy vzťah medzi degradáciou a odporom voči strihu s možnou výnimkou pre svalovinu skladovanú pri 37 °C. Pri iných pokusoch sa použili chemické a histochemické pozorovania, napr. pri hovädzej a bravčovej svalovine, pričom sa pozorovala aktivita celého radu špecifických enzymatických systémov.

Pri zrení mäsa a jeho krehnutí dochádza k chemickým a fyzikálnym zmenám bielkovín. To, že problém krehkosti mäsa už niekoľko rokov zaujímal vedeckých pracovníkov, je pochopiteľné, nakoľko jednou z najdôležitejších vlastností mäsa je práve jeho krehkosť. Faktory, ktoré túto vlastnosť ovplyvňujú, sú komplexné, počnúc od dedičných vlastností zvierat a končiac metódou varenia. Bielkoviny sú najväčšou zložkou pevnej časti svalového tkaniva a tvoria približne 80 % jeho sušiny, zahrňujú sa medzi tie faktory, ktoré môžu ovplyvniť húževnatosť alebo krehkosť mäsa. Predmetom skúmania sú ich fyzikálne a chemické zmeny, ku ktorým dochádza pri bielkovinách svaloviny po zabíí zvierat a pred varením. Najviac pokusov sa robilo na kurčatách, nakoľko sa s nimi relatívne ľahko manipuluje. Pripravili sa vzorky kureniec, ktoré sa odobrali v určitom čase pri zrení. Použil sa postup, ktorý umožňuje rýchlu separáciu bielkovinných zložiek tak, aby dochádzalo k ich minimálnej interakcii.

Bielkoviny sa potom frakcionovali a frakcie sa skúmali pomocou diskovej elektroforézy, pričom sa zistilo, že málo zložiek sa zrážalo pri tej istej koncentrácii KCl, (čo dokazuje heterogenitu aktomyozínovej a myozínovej frakcie).

Celková koncentrácia v soli rozpustných bielkovín pri zrení vzrastá. Pri pokusoch sa zistilo, že po 20 min. celkové množstvo extrahovateľných bielkovín bolo 6,4 mg/ml, vzrástlo na asi 8 mg/ml počas rigoru a potom ďalej vzrástlo ešte vyššie na hodnotu 10 mg/ml po 24 hodinách. Zdá sa, že hlavnou príčinou tohto vzrastu je aktomyozínová frakcia (Rosa, 1960). Vo frakcii myozínu sa uvádzajú malé zmeny. Za účelom ďalšieho skúmania týchto frakcií sa použila iónomeničová chromatografia. Je to veľmi dobrý spôsob oddeľovania ťažkých molekúl v komplexných biologických materiáloch pri purifikácii rôznych enzýmov.

Mnohé výskumné laboratória sa zamerali na rôzne faktory, ktoré ovplyvňujú krehkosť. Tak napr. Western Regional Research Laboratory (WRRL) vo svojom výskumnom pláne zahrňuje výskum vplyvu rôznych meniacich sa výrobných faktorov na akosť finálneho výrobku, ako i štúdium biofyzikálnych a biochemických zmien, vyskytujúcich sa vo svalovine hydiny od momentu smrti až po čas, keď sú už zmeny krehkosti ukončené.

De Fremery (1963) uvádza výsledky, týkajúce sa metabolických zmien, ktoré sprevádzajú rigor mortis (degradácia ATP, rozklad glykogénu, pokles pH atď.). Napriek tomu, že v poslednom čase vo WRRL venovala sa pozornosť výskumu zrenia a krehnutia mäsa, v budúcnosti sa pracovníci chcú venovať vyriešeniu 3 dosiaľ nezodpovedaných otázok:

1. Prečo svalovina hydiny, ktorá je spoiatku krehká, stuhne, keď prebieha glykolýza?

2. Ako sa stane svalovina hydiny, ktorá stuhla pod vplyvom glykolýzy, opäť krehkou pri zrení?

3. Prečo urýchlenie postmortálnej glykolýzy inhibuje tenderizáciu, ktorá v svalovine hydiny normálne prebieha pri zrení?

Pracovníci tohto výskumného strediska považujú za nutné tieto otázky bezpodmienečne vyriešiť, ak sa má ozrejmiť problém krehkosti mäsa. Nakoľko krehkosť alebo húževnatosť mäsa je funkciou pevnej alebo vo vode nerozpustnej štruktúry svaloviny a je priamo závislá od štruktúry bielkovín svaloviny, denaturácie, koagulácie a hydrolýzy týchto bielkovín, obsahu vody,

teploty a času ohrievania (ak ide o krehkosť po varení), môže mať každý z týchto faktorov svojím spôsobom alebo spoločne vplyv na určitý druh krehkosti.

Pri rôznych výskumoch dospelo sa i k tomu poznatku, že pomer anorganických iónov bielkovín a hydratácie bielkovín hrajú primárnu úlohu pri krehkosti. Ako vyplýva z prác Szentgyörgyiho, Webera, Engelhardta a mnohých iných pracovníkov, svalová kontrakcia je okrem iného dôsledkom hydratácie a viazania iónov (zahrňujúc ATP, Mg^{++} , Ca^{++} a reakcie aktínu a myozínu). Celkove sa došlo k záveru, že mäso sa čo do krehkosti môže meniť, ako aj jeho chovanie pri varení, zmrazovaní a rozmrazovaní, a to menením iónickej skladby svaloviny.

Deatherage a jeho spolupracovníci zamerali výskum postmortálnej tenderizácie mäsa tak, aby sa mohli zodpovedať 3 otázky:

1. Stúpa hydratácia bielkovín počas zrenia mäsa?
2. Sú rozloženie rigor mortis a následné zmeny vo vzťahu k disociácii alebo rozpustnosti aktomyozínu?
3. Čo sú ostatné postmortálne zmeny, spojené s týmito zmenami hydratácie?

Známy je vplyv niektorých enzymatických systémov pri skrehčovaní mäsa, avšak ešte mnoho otázok ostáva nezodpovedaných.

Dosiahol sa značný pokrok v určitých oblastiach chémie enzýmov, hlavne v oblasti špecifičnosti, kinetiky, štrukturálnych vzťahov a aktívnych centier proteolytických enzýmov zažívacieho traktu. Detailne sa študoval účinok rastlinných enzýmov (bromelín, ficín a papaín), ich pridávanie za účelom umelej tenderizácie mäsa. O katepsínoch, medzibunečných enzýmoch cicavcov v objemnej odbornej literatúre je mnoho protichodných údajov, takže nemáme jasný obraz o vlastnostiach týchto enzýmov.

Krehkosť mäsa sa meria rôznymi subjektívnymi skúškami. Zdá sa, že doposiaľ najzaužívanejšie sú: 1. technika merania počtu zákusov a 2. trianglový test. Známy je i rad objektívnych skúšok, vrátane chemických, histologických a mechanických. Pravdepodobne mechanické skúšky budú najužitočnejšie.

Záverom možno povedať toľko, že cieľom študijnovo-výskumnej správy bolo štúdium dostupných literárnych prameňov o faktoroch, ktoré ovplyvňujú zrenie a krehkosť mäsa, najmä však enzymatické systémy, ktoré sa na týchto postupoch v postmortálnej svalovine zúčastňujú. Sú to hlavne zmeny chemických a fyzikálnych vlastností bielkovín pri zrení mäsa, vzťahy medzi biochemickými vlastnosťami, vplyv vody a anorganických solí, ktoré pôsobia na krehkosť ako na jednu z najdôležitejších vlastností mäsa.

Usmerňovaním pochodov v postmortálnej svalovine a času zrenia mäsa a faktorov, ktoré na zrenie pôsobia, sleduje sa v prvom rade zlepšenie akosti mäsa, riešenie novej technológie spracovania, skladovania (otázka skladovacích priestorov), predaja mäsa atď. Treba venovať pozornosť riešeniu otázok, ktoré zefektívnia výrobu mäsa a zabránia váhovým a nutričným stratám.

S ú h r n

Prehľad niektorých enzymatických systémov, ktoré sa zúčastňujú postmortálnych zmien svalového tkaniva a majú vzťah k zreniu a krehnutiu mäsa. Usmerňovaním pochodov v postmortálnej svalovine, ako aj času zrenia a fak-

torov, ktoré na zrenie pôsobia, sleduje sa predovšetkým zlepšenie akosti, riešenie technológie spracovania, skladovania a zefektívnenia výroby.

Энзиматические системы участвующие при созревании и хрупкости мяса

Выводы

Обзор некоторых энзиматических систем участвующих при постморальных изменениях мышечной ткани и относящихся к созреванию и хрупкости мяса. Руководством процессов в постморальных мышцах как и времени созревания и факторов действующих на созревание в первую очередь преследуется улучшение качества, решение технологии обработки, складирования и высшей эффективности производства.

Enzymatic systems involved in ageing and tenderization of meat

The survey of some enzymatic systems which take part in post-mortem changes of muscles tissues related to meat ageing and tenderization. The control of processes in post-mortem muscles, of the time of ageing and of the other factors which effect the ageing, aimed firstly to the improving the quality, to the solution the technology the storage and the effectiveness of production.