

Przedstawione w opracowaniu zasady oceny wartości użytkowej buhajów oparte są na wybranym zestawie cech gromadzonych aktualnie w bazie danych PZHiPBM. W przyszłości przewiduje się wzbogacenie gromadzonej bazy danych o dodatkowe cechy obserwowane na buhajach, mające wpływ na ich użyteczność mięsną, m.in. o cechy związane z budową, umięśnieniem i kalibrem zwierząt.

**Literatura:** 1. Choroszy Z., Szewczyk A., Różycki M., Choroszy B., 2007 – Możliwości oceny wartości hodowlanej buhajów ras mięsnych

w Polsce. *Mat. XV. Szkoły Zimowej „Produkcja mleka i wołowiny a zdrowie człowieka”*, 291-297. 2. Młynek K., Litwińczuk Z., 1999 – Przydatność pomiarów zoometrycznych i indeksów budowy do oceny wartości rzeźnej bydła ubijanego przy masie ciała około 500 kg. *Zeszyty Naukowe Przeglądu Hodowlanego* 44, 343-351. 3. Wajda S., Draus S., Piotrowski J., 2002 – Projekt oceny na potomstwie buhajów ras mięsnych przeznaczonych do krzyżowania z rasą cb. *Biul. Inf. IZ* 2, 133-139. 4. Wilson D.E., 1992 – Application of ultrasound for genetic improvement. *J. Anim. Sci.* 70, 973-983.

## Geny warunkujące jakość mięsa u bydła – proteoliza w mięśniach a kruchość wołowiny

Edyta Juszcuk-Kubiak<sup>1</sup>,  
Stanisław Józef Rosochacki<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>IGiHZ PAN w Jastrzębcu  
<sup>2</sup>Politechnika Białostocka

W ocenie konsumentów podstawowym wyróżnikiem mięsa jest jego smakowitość, soczystość, a przede wszystkim kruchość. Najczęściej jest ona doceniana dopiero w trakcie spożywania mięsa. W przemyśle mięsnym nastawionym na zaspokajanie potrzeb klientów powoduje to poważne problemy. Kruchość mięsa zależy od wielu czynników przyżyciowych: rasy, płci, wieku, typu mięśnia, stosowanych promotorów wzrostu oraz parametrów procesów technologicznych, tj. elektrycznej stymulacji, wychładzania i dojrzewania mięsa oraz obróbki termicznej.

Od wielu lat przedmiotem badań jest zjawisko dojrzewania mięsa, będące wynikiem procesów biochemicznych prowadzących do poprawy jego kruchości i smakowitości. O ile jednak pierwszy etap tych procesów, tj. beztlenowa glikoliza przebiegająca z jednoczesnym rozkładem związków wysokoenergetycznych i prowadząca do zakwaszenia mięśni, znany jest dość dobrze, o tyle przebieg dalszych przemian zachodzących w strukturze miofibrilli, w wyniku których mięso osiąga pożądaną kruchość, absorbuje w dalszym ciągu badaczy na całym świecie. Przez wiele lat sądzono, że zjawisko dojrzewania uwarunkowane jest głównie działaniem proteolitycznych enzymów lizosomalnych z grupy katepsyn. Obecnie uważa się, że większą rolę w procesie kruszenia mięsa w czasie jego przechowywania odgrywa proteolityczny system kalpainowy, na który składają się:  $\mu$ -kalpaina,  $m$ -kalpaina (wymagające do aktywacji jonów  $Ca^{2+}$ ) i kalpastatyna (endogenny inhibitor kalpain, pełniący główną rolę w regulacji systemu kalpainowego w mięśniach *post mortem*).

Badania tekstury mięsa koncentrują się obecnie na proteolitycznej degradacji miofibrilli, jako głównej przyczynie wzrostu kruchości podczas jego przechowywania po uboju [8]. Chociaż wciąż nie jest pewne, które z białek miofibrilarnych są substratami głównych systemów proteolitycznych, zwraca się coraz większą uwagę na białka cytoszkieletowe, które tworzą strukturę włókna mięśniowego – ich rozpad rozluźnia strukturę mięśni, czyniąc mięso bardziej kruchym.

W ostatnich latach zaczęto identyfikować polimorfizm w niektórych sekwencjach genów powiązanych z proteolizą, tj. w genach  $\mu$ -(*CAPN1*) i  $m$ -(*CAPN2*) kalpainy, genie kalpastatyny (*CAST*), czy genach katepsyny B (*CTSB*) i katepsyny D (*CATD*), które zalicza się do tzw. grupy genów kandydatów, odpowiedzialnych za kształtowanie kruchości mięsa w procesie dojrzewania poubojowego, a przede wszystkim za degradację białek miofibrilarnych i rozbicie ich struktury. Produkty białkowe tych genów – kalpainy i katepsyny, stanowią układ enzymów proteolitycznych uczestniczących w degradacji białek mięśniowych, a szczególnie białek miofibrilarnych. Powiązania polimorfizmu genów szlaku proteolitycznego z aktywnością enzymów proteolitycznych i w efekcie końcowym z jakością konsumpcyjną mięsa są celem badań wielu laboratoriów na świecie.

Kruchość, kolor, smak, pH oraz pojemność wodna mięsa są przynajmniej częściowo określane przez procesy proteolityczne w tkankach po zabiciu zwierzęcia i w procesie przechowywania mięsa. Proces kruszenia i dojrzewania mięsa związany jest z poziomem kalpain w mięśniu. Na przykład różnica około 10% w poziomie  $\mu$ -kalpainy pomiędzy mięśniem piersiowym u świni a mięśniem najdłuższym grzbietu u bydła powoduje, że proces dojrzewania wieprzowiny jest szybszy niż wołowiny. Mięśnie czerwone dojrzewają dłużej niż białe, co pokrywa się z obserwowanym niższym poziomem kalpain. Natomiast mięśnie piersiowe kur mają mniej kalpain (a szczególnie  $\mu$ -kalpainy) w porównaniu z czerwonymi mięśniami nóg i prawdopodobnie dlatego wykazują mniejszy stopień dojrzewania. Również mięso pochodzące od zwierząt starszych i mięśnie czerwone wymagają dłuższego okresu dojrzewania, dlatego przy przygotowaniu mięsa do spożycia sugeruje się segregację wyrębów na partie mięsa „białego” i „czerwonego”. Mięso bardziej delikatne może być również otrzymane przez aktywację kalpain, zwiększając stężenie początkowe jonów wapnia ( $CaCl_2$ ) powyżej 1 mM [2]. Badania te są ograniczone jak na razie tylko do mięśnia najdłuższego grzbietu. Stopień zesztynienia mięśni różni się pomiędzy gatunkami zwierząt, np. w wołowinie następuje po

15-36 godz., w jagnięcinie po 12-24 godz., w wieprzowinie po 4-8 godz., a w mięsie kur po 2 godz. [8].

W ostatnich latach zwiększenie produkcji wędlin i wyrobów z mięsa spowodowało rozwinięcie badań aktywności katepsyn w biotechnologicznej kontroli produktów mięsnych [14]. Na tej podstawie stwierdzono, że to właśnie katepsyny (katepsyna D i proteiny siarczkowe B, L, H) uczestniczą w procesie „dojrzwania” wędlin oraz są aktywne w produktach konserwowanych (wędzonych). Wykazano aktywność katepsyny D nawet do 6 miesięcy w wyprodukowanych wędlinach, a aktywność katepsyny B i L trwa dwa razy dłużej.

Prowadzone obecnie badania w laboratoriach na całym świecie sugerują, że gen  $\mu$ -kalpajny (*CAPN1*) i kalpastatyna (*CAST*) są głównymi genami kandydującymi do roli genów, których produkt ma duży wpływ na proces kruszenia mięsa. Badania te mają na celu określenie wpływu występujących mutacji w sekwencjach DNA wyżej wymienionych genów na aktywność enzymatyczną kodowanych produktów białkowych w mięśniach szkieletowych, a w konsekwencji na parametry związane z jakością mięsa. System kalpajna-kalpastatyna odgrywa znaczącą rolę w procesach wzrostu i rozwoju mięśni szkieletowych w okresie postnatalnym. Wiadomo, że aktywność kalpastatyny pozostaje w wysokiej korelacji z tempem wzrostu mięśnia, co sugeruje, że wzrost mięśni szkieletowych może być wynikiem zmniejszonej degradacji białek na skutek zmniejszonej aktywności kalpajna lub znacznego wzrostu aktywności kalpastatyny.

W genie *CAPN1* zlokalizowano kilka polimorfizmów typu SNP (single nucleotide polymorphism), wśród których wykryta mutacja w eksonie 9 – powodująca zamianę Ala<sup>316</sup> → Gly<sup>316</sup> w rejonie kodującym domenę II enzymu kalpajna, oraz w eksonie 14 – zmieniająca Ile<sup>530</sup> na Val<sup>530</sup> w rejonie kodującym domenę III białka, były istotnie skorelowane z kruchością mięsa wołowego w rasach piemontese-angus oraz jersey-limousine mierzoną w 48 h po uboju [10, 17].

W najnowszych badaniach [1, 15] wykazano istotną zależność kruchości i cech organoleptycznych mięsa wołowego od genotypu *CAST* względem dwóch wykrytych mutacji w intronie 5 i w rejonie 3'UTR. Podobne badania prowadzone są również w przypadku wpływu polimorfizmu w genie *CAST* na cechy tuszy i jakości mięsa wieprzowego. Pierwsze badania tego typu wykonano w Polsce na świnich [7], wykazując istotność zróżnicowania genotypu *CAST* na cechy charakteryzujące odkładanie tłuszczu (grubość słoniny i masa boczku) oraz na masę polędwicy.

Z ostatnich lat pochodzą dane odnośnie polimorfizmu genu *CTSB* i cystatyny (inhibitora katepsyny B) u świń i bydła oraz jego wpływu na cechy tuszy związane z grubością słoniny i masą ciała [4, 5, 9, 16].

W przypadku genu katepsyny D u bydła zidentyfikowano 9 SNP w regionie kodującym oraz jedną delecję w 3'-UTR [3]. Dwa SNP, polegające na substytucji nukleotydów, powodowały zmianę sekwencji aminokwasowej białka. Pierwszy SNP, będący substytucją G/A w regionie kodującym propeptyd, powodował zamianę glicyny na serynę, drugi SNP – transwersja G/C w regionie genu kodującym łańcuch ciężki, zamianę glicyny na alaninę i był charakterystyczny tylko dla rasy bydła japońskiego.

W Zakładzie Cytogenetyki Molekularnej IGiHZ PAN w Jastrzębcu prowadzone są badania związane z polimorfizmem genów kodujących enzymy szlaku proteolitycznego oraz jego powiązania z cechami jakości i kruchości wołowiny. Juszcuk-Kubiak i wsp. [4, 5, 6], analizując polimorfizm genów *CAPN1*, *CAST*, *CTSB*, zidentyfikowali łącznie 11 nowych mutacji typu SNP. Trzy ciche mutacje zidentyfikowane w eksonach 6 i 7, odpowiednio dla genu *CAPN1* i *CTSB*, były istotnie skorelowane z odtłuszczeniem tuszy i z kruchością mięsa. W intronie 12 genu *CAST* zidentyfikowano cztery substytucje nukleotydowe, które wykazywały zależność pomiędzy mutacjami w intronie 12 genu *CAST* a parametrami technologicznymi i organoleptycznymi mięsa mierzonymi w 48 h po uboju. W wyniku tych badań, trzy fragmenty uwzględniające wykryte polimorfizmy zamieszczono w bazie danych GenBank, pod numerami: AY639597 (*CAPN1*), AY258325 (*CAST*), AY639598 (*CTSB*).

Badania dotyczące wpływu aktywności enzymów proteolitycznych na proces degradacji białka w ogólnym procesie obrotu białka nabrały tempa w ostatnich latach. Wyniki tych badań sugerują, że degradacja białek mięśniowych stanowi ważny mechanizm regulujący wzrost mięśni. Trzy czynniki decydują o wzroście mięśni szkieletowych: poziom syntezy białek mięśniowych, poziom ich degradacji oraz liczba i rozmiar włókien mięśniowych.

Pierwsze badania porównawcze aktywności katepsyny D i autolizy w mięśniach bydła rasy cb i ras mięsnych zostały przeprowadzone w Polsce [12, 13]. Stwierdzono w nich istotne różnice rasowe w aktywności i ilości katepsyn asparaginykowych. Poziom katepsyny D i katepsyn siarczkowych był niższy w mięśniach zwierząt rasy cb niż w mięśniach zwierząt rasy piemontese. Podobne oznaczenia przeprowadzone na buhajach ras mięsnych (angus, hereford, charolaise, limousine i simentalska) wykazały, że najwyższe aktywności katepsyny D zanotowano u buhajków rasy angus i simentalskiej.

Badania dotyczące powiązania genetycznego polimorfizmu genu katepsyny D z aktywnością enzymów i jakością mięsa wołowego, jak dotąd nie były publikowane.

Przeprowadzone badania (Juszcuk-Kubiak i wsp. – dane niepublikowane) zależności polimorfizmu w genie *CATD* z aktywnością enzymu i autolizą w mięśniach wykazały istotne różnice w aktywności kodowanego enzymu w mięśniach szkieletowych oraz w procentowej zawartości tłuszczu w mięsie, kruchości i konsystencji mięsa.

W celu powiązania ze sobą markerów genetycznych, jak i aktywności enzymatycznych, prowadzone są oznaczenia wielu parametrów fizyko-chemicznych i organoleptycznych mięsa w kierunku skorelowania tych wszystkich oznaczeń z finalną wartością konsumpcyjną mięsa, czyli jego smakowitością. Oprócz metod obiektywnych, opartych na pomiarach aparaturowych, istnieją również ważne sposoby subiektywnej oceny mięsa, w których wykorzystuje się odczucia smakowe, węchowe i wzrokowe, a mięso oceniane jest za pomocą różnych skal punktowych. Często zdarza się, że ocena subiektywna jest wyraźnie różna od oceny fizyko-chemicznej, gdyż mięso do konsumpcji musi mieć trochę inne właściwości, niż to przeznaczone do przetwórstwa. Fizyko-chemiczne metody oceny jakości mięsa mają za zadanie jak najobiektywniej ocenić

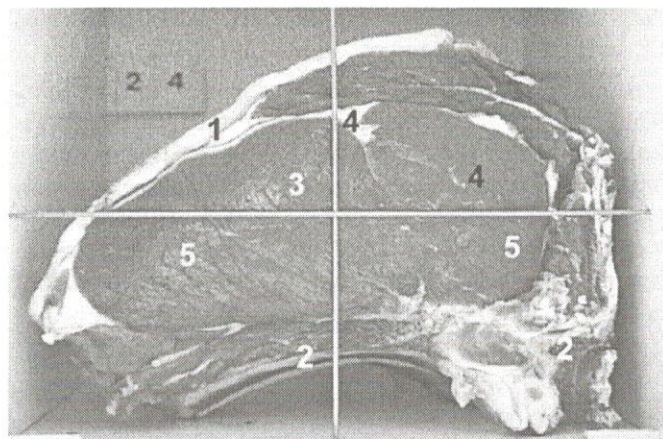
badaną próbę mięsa w dalszym procesie jego przetwarzania i przydatności kulinarnej. Do metod tych należą: oznaczanie zawartości wody, tłuszczu i białka, pomiar pH, ilości wycieku soku mięsnego i wycieku po obróbce termicznej oraz – stosowane przy ocenie przydatności kulinarnej mięsa – oznaczanie barwy i tekstury.

Mięso wołowe przeznaczone do przetwórstwa musi być silnie zabarwione, czyli posiadać wysoką zawartość mioglobiny. Barwa mięsa konsumpcyjnego jest głównym wskaźnikiem, którym kieruje się kupujący; z reguły preferowane jest mięso o odcieniu jaśniejszym, które pochodzi zwykle od zwierząt młodszych. Ocena sensoryczna uwzględnia następujące wyróżniki: barwa, zapach, smak i konsystencja. Stosuje się taką samą ocenę dla wszystkich cech – od dyskwalifikującej (1) do bardzo dobrej (5). Przy ocenie konsystencji ocena dyskwalifikująca może być zarówno dla mięsa typu PSE (wodnistego), jak i DFD (suchego). W celu powiązania takich parametrów, jak barwa i marmurkowatość z wynikami analiz chemicznych oraz oceną technologiczną, oceną profilu tekstury oraz oceną sensoryczną mięsa, wycinek mięśnia najdłuższego grzbietu umieszcza się w specjalnej obudowie standaryzującej warunki oświetlenia. Zdjęcia przekroju mięśnia najdłuższego grzbietu przetwarza się na obraz cyfrowy i poddaje analizie matematyczno-statystycznej, pozwalającej na określenie składowych barwy mięsa – R, G, B (czerwona, zielona, niebieska). Program komputerowy wydziela i poddaje analizie ilościowej pola białe – tłuszcz śródmięśniowy i tkankę łączną, obliczając ich procentowy udział w stosunku do całkowitej powierzchni mięśnia. Parametry określające barwę i marmurkowatość mięsa są korelowane z wynikami analiz chemicznych.

Wiele laboratoriów prowadzi obecnie badania zmierzające do określenia funkcji innych nierozpoznanych dotąd genów, których polimorfizm może kształtować wartość cech tucznych, rzeźnych i jakości mięsa u zwierząt gospodarskich. Konsekwencją prowadzonych badań w tej dziedzinie jest pojawienie się nowych testów molekularnych, dzięki którym będzie można łatwiej selekcjonować bydło we wczesnej fazie życia, biorąc pod uwagę pożądane cechy jakości mięsa pod względem kulinarnym. Obecnie jeden z testów jest już osiągalny na rynku i może być użyty w selekcji bydła pod względem marmurkowatości mięsa (test pozwalający określić genotyp zwierzęcia względem genu tyreoglobuliny (TG) – <http://www.geneticsolutions.com.au>). Drugi test, nieosiągalny jeszcze na rynku, tzw. marker kruchości, opiera się na wykryciu polimorfizmu dla genu *CAPN1*. Allel kodujący izoleucynę w pozycji 530 i glicynę w pozycji 316 był związany z występowaniem mięsa twardego [11].

Na końcową jakość mięsa wpływa wiele czynników. Oceniając wartość rzeźną bydła należy pamiętać, że o udziale elementów i składników tkankowych w tuszy decydują przede wszystkim czynniki genetyczne i środowiskowe, które występują podczas opasu bydła. Natomiast na jakość mięsa bardzo duży wpływ ma także obrót przedubojowy bydła oraz sposób, w jaki traktowane są tusze czy mięso po uboju.

Wśród badaczy i praktyków panuje pogląd, że kulinarne mięso wołowe pełnię swoich walorów organoleptycznych, w tym przede wszystkim pożądaną kruchość, osiąga po odpowiednio długim okresie dojrzewania. Najczęściej podaje



1 – tłuszcz okrywowy, 2 – żebra, 3 – tkanka mięśniowa, 4 – tłuszcz śródmięśniowy, 5 – barwa mięsa

Fot. Zdjęcie przekroju mięśnia najdłuższego grzbietu

się, że okres ten przy chłodniczym przechowywaniu mięsa w temperaturze 1-2°C powinien wynosić około 7-10 dni. Dopiero po tym okresie kulinarne mięso może trafić do konsumenta. Natomiast powiązanie polimorfizmu genów kodujących białka szlaku proteolitycznego z jakością sensoryczną i cechami biochemicznymi mięsa może w przyszłości przyczynić się do lepszej charakterystyki i doskonalenia tych cech u bydła, a więc przyspieszenia hodowli zwierząt o najlepszych, w odczuciu konsumenta, cechach jakościowych uzyskiwanego mięsa.

**Literatura:** 1. Casas E., White S.N., Wheeler T.L., Shackelford S.D., Koohmaraie M., Rile D.G., Chale C.C., Johnson D.D., Smith P.L., 2006 – J. Anim. Sci. 84, 520-525. 2. Dransfield E., 1994 – Meat Sci. 36, 105-121. 3. Higuchi M., Miyashita Y., Nagamine A., Watanabe A., Awata T., 2003 – J. Anim. Breed. Genet. 120, 322-330. 4. Juszczyk-Kubiak E., Wyszyńska-Koko J., Wicińska K., Rosochacki S., 2007 – Biochem. Genet. 45, 325-333. 5. Juszczyk-Kubiak E., Wyszyńska-Koko J., Wicińska K., Rosochacki S., 2007 – Mol. Biol. Rep. (w druku; od 7.01 2007 on-line w PubMed). 6. Juszczyk-Kubiak E., Sakowski T., Flisikowski K., Wicińska K., Oprządek J., Rosochacki S.J., 2004 – J. Appl. Gen. 45, 457-460. 7. Koćwin-Podsiadła M., Kurył J., 2003 – Anim. Sci. Pap. Rep. 21, Suppl. 1, 61-75. 8. Koohmaraie M., 1996 – Meat Sci. 43, 193-201. 9. Oprządek J., Flisikowski K., Zwierzchowski L., Juszczyk-Kubiak E., Rosochacki S.J., Dymnicki E., 2005 – Arch. Tierz., Dummerstorf, 48, 81-87. 10. Page B.T., Casas E., Quaas R.L., Thallman R.M., Wheeler T.L., Shackelford S.D., Koohmaraie M., White S.N., Bennett G.L., Keele J.W., Dikeman M.E., Smith T.P.L., 2004 – J. Anim. Sci. 82, 3474-3481. 11. Pospiech E., Borys A., 2004 – Gospodarka Mięsna 7, 20-25. 12. Rosochacki S.J., Sakowski T., Połozynowicz J., Juszczyk-Kubiak E., Kowaluk-Krupa A., Oprządek J., 2004 – Czech J. Anim. Sci. 49, 340-348. 13. Rosochacki S.J., Sakowski T., Juszczyk-Kubiak E., Butarewicz A., Połozynowicz J., 2005 – Czech J. Anim. Sci. 50, 422-429. 14. Russo V., Fontanesi L., Davoli R., Nanni Costa L., Cagnazzo M., Buttazzoni L., Virgili Yerie M., 2002 – Anim. Gen. 33, 123-131. 15. Schenkel F.S., Miller S.P., Jiang Z., Mandell B.I., Ye X., Li H., Wilton W.J., 2006 – J. Anim. Sci. 84, 291-299. 16. Sonstegard T.S., Garret W.M., Ashwell M.S., Benett G.L., Kappes S.M., Van Tassell C.P., 2000 – Mamm. Genome 11, 682-688. 17. White S.N., Casas E., Wheeler T.L., Shackelford S.D., Koohmaraie M., Riley D.G., Chase C.C., Jonson D.D., Keele J.W., Smith T.P.L., 2005 – J. Anim. Sci. 83, 2001-2008.