

Szkucik K. — Variability in bacterial contamination of mechanically separated meat in relation to time and temperature of storage

The aim of the work was to determine the degree of contamination of mechanically separated meat (MSM) from pigs and cattle depending on the time and temperature of storage (0, 24 and 48 hours at 2° and 10°C). There was estimated a total number of bacterial cells in 1 g of meat, the number of proteolytic bacteria, psychrophilic ones, the number of *Proteus* sp., the titre of *E. coli*, enterococci, anaerobic sporogenic bacilli, the presence of *Salmonella*

sp. and coagulase-positive staphylococci. The examinations were performed according to Polish norms. It was found that: I) The level of microflora in MSM was dependent on time and temperature of storage. II) A rapid increase of microflora was observed in MSM along with time of storage; the higher temperature the higher number of bacteria was noted. III) Among bacteria present in MSM proteolytic and psychrophilic bacteria constituted a high percentage of microflora indicating that a decomposition of MSM took place even at cold storage.

ILSE FIEDLER, JOCHEN WEGNER, DANUTA KŁOSOWSKA\*,  
BOGUSZ KŁOSOWSKI\*, CHARLOTTE REHFELDT

## Wpływ czasu i sposobu pobrania próbki mięśnia u świń i bydła na ocenę mikroskopową włókien mięśniowych\*)

Forschungszentrum für Tierproduktion, Dummerstorf — Rostock  
\*Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, Zakład Mięsoznawstwa,  
Pl. Weysenhoffa 11, 85-072 Bydgoszcz

Powiązania między strukturą tkanki mięśniowej, ilością i grubością włókien, ich aktywnością enzymatyczną a umięśnieniem, wydajnością rzeźną i jakością mięsa zwierząt użytkowych wykazano w wielu pracach (4, 5, 7, 13, 14, 21, 26). Napotykanie w piśmiennictwie rozbieżności dotyczące grubości włókien, udziału poszczególnych typów włókien wynikać mogą z genotypu (13, 14), wpływu żywienia (12), jak i metodyki badań. Grubość włókien mięśniowych zależy może od rodzaju mięśnia i miejsca pobrania próbki (10) oraz od sposobu przygotowania wycinka mięśnia do pomiarów, jak i samej metody pomiarów (9). Stosuje się kilka metod pobrania próbki mięśni do badań histologicznych i histochemicznych u zwierząt gospodarskich: a) pobranie od żywego zwierzęcia na drodze chirurgicznej oraz biopsji igłowej i strzałowej, b) pobranie krótko po uboju, c) pobranie z tuszy po ustąpieniu *rigor mortis*. W badaniach związanych z produkcją zwierzęcą z wymienionych metod rzadziej stosowaną jest metoda biopsji (2, 18, 19, 20). Według Muira (22) wnioskowanie o strukturze tkanki mięśniowej, cechach degeneracji opierać się powinno na materiale pobranym *ante mortem*. Jest to szczególnie ważne u świń charakteryzujących się nadwrażliwością na stres, u których występuje gwałtowne przyspieszenie glikolizy *post mortem*, spadek pH, wzrost temperatury mięśni, doprowadzający do denaturacji białek mięśniowych (23, 28) i zmian strukturalnych tkanki mięśniowej (11).

Możliwości pobrania próbki mięśniowej za życia u zwierząt są raczej niewielkie. Zmusza to do korzystania z materiału poubojowego, po schłodzeniu tuszy. Badania niniejsze podjęto

w celu wykazania zakresu zmian w cechach histochemicznych i histologicznych włókien mięśniowych w zależności od czasu pobrania próbki. Ponadto badania miały na celu porównanie metody pomiaru średnic włókien mięśniowych: 1) przy użyciu lanometru, 2) przy użyciu półautomatycznego urządzenia pomiarowego MFA-1. W podjętych badaniach chodziło o wykazanie możliwości pomiaru grubości włókien najprostszymi metodami, przydatnymi dla oceny efektów produkcyjnych zwierząt gospodarskich.

### Material i metody

Do badań użyto 10 loszek o masie 110—120 kg, mieszańców Landrace × Edelschwein × linia 150, 15 wieprzków o masie 90—110 kg, mieszańców polskiej białej zwisłouchej × wielka biała polska, 10 wieprzków rasy wielkiej białej polskiej (90—110 kg), 20 sztuk bydła typu mięsnego (90—450 kg). U świń próbki mięśni z *m. longissimus thoracis* pobierano na wysokości 13 i 14 żebra 10 min. przed ubojem metodą biopsji strzałowej (29) oraz 5 min., 45 min., 24 godz. i 48 godz. po uboju. U bydła w wieku 150 dni próbki mięśni pobierano z *m. semitendinosus* metodą biopsji strzałowej i w wieku 450 dni 24 godz. po uboju. Wycinki do badań histologicznych zamrażano w ciekłym azocie i ścinano w kriostacie. Na 10 μm skrawkach przeprowadzono reakcję dehydrogenazy bursztynianowej (17) oraz reakcję NADH<sub>2</sub>-TR (8). Oprócz tego wycinki mięśni 10 wieprzków rasy wielkiej białej polskiej utrwalono w płynie Bakera i mrożono na stoliku TOS. Na 15 μm skrawkach ścinanych na mikrotomie mroźniowym przeprowadzono reakcję na lipidy za pomocą barwienia suda-nem czarnym B (14). Na podstawie reakcji barwnej wyróżniono dwa typy włókien mięśniowych: o niskiej aktywności enzymów oksydacyjnych (dehydrogenazy bursztynianowej i NADH<sub>2</sub>-TR) lub niskiej zawartości lipidów — włókna białe i o wysokiej aktywności lub dużej zawartości lipidów (włókna czerwone i pośrednie). Wyróżniono także odrębny typ włókien — tzw. włókien olbrzymich (14). Typy włókien mięśniowych wyróżniono w 10 wiążkach mięśniowych (17) lub na określonej powierzchni przekroju przy użyciu pół-

\*) Praca wykonana w ramach współpracy między Akademią Nauk Rolniczych NRD a Polską Akademią Nauk.

automatycznego analizatora włókien mięśniowych MFA-1 (1). Średnice włókien mięśniowych na tych samych preparatach mierzone przy pomocy lanametru (200 włókien, 14) oraz przy pomocy półautomatycznego analizatora (500 włókien, 1). Przeprowadzono także pomiary grubości włókien na podstawie średniej z dwóch średnic największej (D) i najmniejszej

$$(d), \frac{D+d}{2}$$

Statystyczną ocenę wyników przeprowadzono w oparciu o test Studenta, współczynniki korelacji liniowej i korelacji rangowej (25).

Wyniki i omówienie

W tab. 1 przedstawiono wyniki pomiarów

Tab. 1. Średnice włókien *m. semitendinosus* bydła mierzone przy pomocy lanametru i przy użyciu półautomatycznego urządzenia MFA-1

Sposób pobrania prób	Średnice włókien, $\mu\text{m}$				$r_r$
	Lanometr		MFA-1		
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	
Próby biopsyjne, n=10	39,8	5,1	36,4	5,3	0,94**
Próby po 24 godz., n=10	51,9	3,9	47,4	5,6	0,93**

Objaśnienia:  $r$  — współczynnik korelacji rangowej, \*\* —  $p < 0,01$ .

średnic włókien mięśniowych przy użyciu lanametru i półautomatycznego urządzenia MFA-1. Zarówno w próbach pobranych metodą biopsji, jak i 24 godz. po uboju nieco wyższe wartości uzyskiwano przy metodzie pomiaru najmniejszych średnic przy pomocy lanametru. Współczynniki korelacji rangowej między obu metodami są istotne  $r = 0,94$  ( $p < 0,001$ ), co wskazuje na możliwość wyboru jednej z metod do oceny wielkości włókien w zależności od wyposażenia pracowni histologicznej. Mierzenie średnic włókien półautomatycznym urządzeniem jest znacznie mniej czasochłonne niż na lanametrze, ale metoda pomiaru najmniejszych średnic przy pomocy lanametru jest tak samo przydatna, lecz wymaga większego nakładu pracy. W pracy niniejszej przeprowadzono także porównanie metody pomiaru grubości włókien na podstawie średniej z dwóch średnic, największej i najmniejszej oraz tylko najmniejszej średnicy (tab. 2). Zgodnie

Tab. 2. Średnice włókien *m. longissimus thoracis* świń rasy wbp na podstawie pomiaru  $\frac{D+d}{2}$  i najmniejszych średnic (Bydgoszcz)

Średnice włókien	$\frac{D+d}{2}$ n=10		Najmniejsza średnica n=10		$r_r$	r
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s		
Średnice włókien białych, $\mu\text{m}$	81,1	4,2	65,3	3,5	0,76**	0,76**
Średnice włókien czerwonych + pośrednich, $\mu\text{m}$	57,1	2,7	46,2	3,8	0,66*	0,65*
Średnie średnice wszystkich włókien, $\mu\text{m}$	73,5	3,4	59,2	3,2	0,73**	0,68**

Objaśnienia: D — największa średnica, d — najmniejsza średnica,  $r_r$  — współczynnik korelacji rangowej, r — współczynnik korelacji liniowej, \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ .

Tab. 3. Średnice włókien *m. longissimus thoracis* świń mieszańców (Landrace  $\times$  Edelschwein  $\times$  linia 150) przy biopsyjnym i poubojowym pobraniu prób (Dummerstorf)

Cechy włókien	Biopsja n=10		24 godz. po ubju n=10	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Średnice włókien białych, $\mu\text{m}$	108,8 <sup>a</sup>	6,0	92,4 <sup>b</sup>	15,5
Średnice włókien czerwonych + pośrednich, $\mu\text{m}$	81,6 <sup>a</sup>	5,2	75,8 <sup>b</sup>	16,2
Średnie średnice wszystkich włókien, $\mu\text{m}$	101,7 <sup>a</sup>	5,3	87,8 <sup>b</sup>	17,7
Udział włókien białych, %	73,9 <sup>a</sup>	3,4	71,0 <sup>a</sup>	6,3
Udział włókien czerwonych + pośrednich, %	26,1 <sup>a</sup>	3,4	28,2 <sup>a</sup>	6,3

Objaśnienie: a, b —  $p < 0,05$ .

Tab. 4. Wpływ czasu pobrania prób mięśni na cechy włókien *m. longissimus thoracis* wieprzków mieszańców wbp  $\times$  pbz (Bydgoszcz)

Cechy włókien	Czas pobrania próby							
	5 min. n=15		45 min. n=15		24 godz. n=15		48 godz. n=15	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Średnice włókien białych, $\mu\text{m}$	76,2 <sup>a</sup>	7,4	71,9 <sup>ab</sup>	6,1	71,5 <sup>ab</sup>	8,1	66,9 <sup>b</sup>	6,2
Średnice włókien czerwonych + pośrednie, $\mu\text{m}$	57,1 <sup>a</sup>	6,2	54,7 <sup>ab</sup>	5,3	52,8 <sup>ab</sup>	8,5	49,8 <sup>b</sup>	4,4
Średnie średnice wszystkich włókien, $\mu\text{m}$	70,2 <sup>a</sup>	6,9	66,9 <sup>ab</sup>	5,2	65,9 <sup>ab</sup>	7,5	61,2 <sup>b</sup>	5,3
Średnie włókien olbrzymich, $\mu\text{m}$	139,1 <sup>a</sup>	17,3	125,2 <sup>b</sup>	11,8	113,6 <sup>bc</sup>	26,4	101,1 <sup>c</sup>	11,6
Włókna białe, %	68,8	8,7	69,4	5,2	71,6	6,6	69,6	6,1
Włókna czerwone + pośrednie, %	31,2	8,7	30,6	5,2	28,4	6,6	30,4	6,1

Objaśnienie: a, b —  $p < 0,05$ .

z oczekiwaniem uzyskano istotne różnice w bezwzględnych wartościach poszczególnych typów włókien, a wyliczone współczynniki korelacji liniowej i rangowej są istotne ( $P < 0,05$  i  $p < 0,01$ ), wskazując na możliwości korzystania z obu metod.

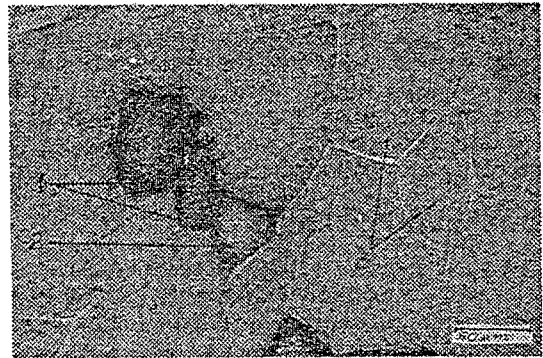
Istnieje wiele metod służących do pomiaru średnic włókien mięśniowych, których przegląd daje Herman i wsp. (10). Wydaje się jednak słuszną opinią Brooka (2), że znacznie mniejszym błędem pomiaru obarczona jest metoda pomiaru najmniejszych średnic, zwłaszcza przy sporządzeniu nieco skośnych przekrojów. Pomiar grubości włókien na podstawie najmniejszej i największej średnicy przy niezupełnie idealnym przekroju poprzecznym będzie wykazywał większą grubość włókien w porównaniu z grubością włókien tego samego wycinka, przy idealnie poprzecznym przekroju. Wydaje się zatem, że pomiar grubości włókien na podstawie najmniejszych średnic jest w pełni uzasadniony.

Tabele 3 i 4 wykazują wpływ czasu i sposobu pobrania próby na cechy histologiczne *m. longissimus thoracis* świni. Średnice włókien zarówno o wysokiej aktywności oksydatywnej (czerwone i pośrednie), jak i o niskiej aktywności (białe) w próbkach pobranych biopsyjnie, jak i 5 min. po uboju są największe, co związane jest ze skróceniem włókien mięśniowych pod wpływem skurczu, występującym w momencie pobrania próby. Ilustrują to ryc. 1 i 2. Po ustąpieniu *rigor mortis* obserwuje się zmniejszenie średnic włókien mięśniowych, co wskazują pomiary średnic w próbkach pobranych 24 i 48 godz. po uboju. Na przekrojach poprzecznych mięśnia po 24 godz. (ryc. 3) obserwuje się zwiększenie przestrzeni międzykomórkowych, międzymiofibrilarnych. Wynika to z utraty wody po śmierci komórki i zmian przepuszczalności błon komórkowych. Niewielkie zmiany w średnicach włókien mięśniowych w próbkach pobranych 45 minut i 24 godz. po uboju uzasadniają możliwość korzystania z materiału poubojowego do oceny grubości włókien.

Duże różnice w średnicach włókien mięśniowych (tab. 3 i 4) przy porównaniu prób pobranych w takim samym czasie, ale przez różne ośrodki badawcze (Dummerstorff i Bydgoszcz) wynikać mogą z odmiennego materiału badawczego (odmienne rasy zwierząt i krzyżówki, loszki i wieprzki). O tym, że czynnik rasowy może mieć wpływ na cechy mikrostruktury tkanki mięśniowej donosiło szereg badaczy (13, 14, 24, 27). Dane piśmiennictwa dotyczące wpływu płci na wielkość włókien mięśniowych są niezgodne i niekiedy kontrowersyjne (6, 12, 16, 27).

Nie stwierdzono istotnych różnic w procentowym udziale typów włókien mięśniowych wyróżnianych na podstawie aktywności obu badanych enzymów oksydacyjnych w zależ-

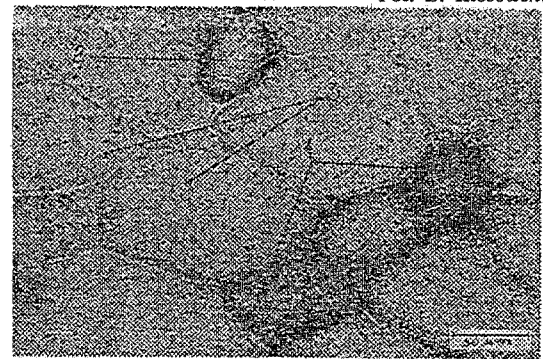
ności od czasu pobrania próby (tab. 3 i 4). Do 48 godz. po uboju możliwe jest rozróżnienie włókien tylko na dwa typy: o wysokiej aktywności (zawierające włókna czerwone i pośred-



Ryc. 1. Przekrój poprzeczny *m. longissimus thoracis* świni nr 17 5 min. po uboju. Reakcja dehydrogenazy bursztynianowej

Objaśnienia: 1 — włókna o wysokiej aktywności, 2 — włókna o pośredniej aktywności, 3 — włókna o niskiej aktywności.

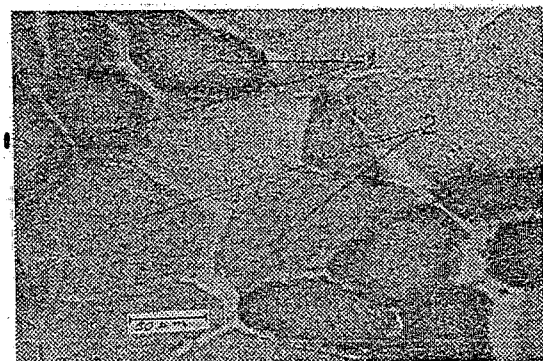
Fot. B. Kłosowski



Ryc. 2. Przekrój poprzeczny *m. longissimus thoracis* świni nr 17 45 min. po uboju. Reakcja dehydrogenazy bursztynianowej

Objaśnienia: 1 — włókna o wysokiej aktywności, 2 — włókna o pośredniej aktywności, 3 — włókna o niskiej aktywności.

Fot. B. Kłosowski



Ryc. 3. Przekrój poprzeczny *m. longissimus thoracis* świni nr 17 24 godz. po uboju. Wyraźnie zwiększone przestrzenie między włóknami mięśniowymi

Objaśnienia: 1 — włókna o wysokiej i pośredniej aktywności, 2 — włókna o niskiej aktywności.

Fot. B. Kłosowski

nie) i o niskiej aktywności (włókna białe). Już w próbkach pobranych 24 godz. po uboju różnicowanie włókien czerwonych i pośrednich stwarza duże trudności, co stwierdzono i we wcześniejszych badaniach (15) przy wyróżnieniu typów włókien na podstawie zawartości lipidów. Wyniki badań własnych upoważniają do stwierdzenia, że tkanka mięśniowa pobrana 24 godz. po uboju może służyć jako źródło informacji w zakresie grubości włókien, a w nieco ograniczonym zakresie o udziale poszczególnych typów włókien mięśniowych.

### Wnioski

1. Czas i sposób, w jakim pobiera się tkankę mięśniową do badań histologicznych ma istotne znaczenie dla oceny średnic włókien mięśniowych.

2. Pobranie materiału dla oceny grubości włókien mięśniowych może mieć miejsce po 24 godz. po uboju.

3. Zarówno pomiar najmniejszych średnic (200 włókien) za pomocą lanometru, jak i pomiar grubości włókien (500 włókien) przy pomocy półautomatycznego analizatora MFA-1 dają zbliżone wyniki, co pozwala w zależności od wyposażenia pracowni dokonać wyboru jednej z metod dla oceny grubości włókien mięśniowych.

4. Zróżnicowanie histochemiczne aktywności enzymów oksydacyjnych tkanka mięśniowa zachowuje do 48 godz. po uboju, jednakże po upływie 24 godz. zacierają się różnice między włóknami czerwonymi (o wysokiej aktywności enzymów) i pośrednimi.

### Piśmiennictwo

1. Beyersdorfer G., Ohlerich M., Wegner J.: Z. mikrosk. anat. Forsch., Leipzig (w druku).
2. Brooke M. H.: The Physiology and Biochemistry of Muscle as a Food, wyd. Briskey E. J., Cassens R. G. 2, 131, 1970.
3. Bulla J., Zelnik J., Poliansky J., Granat J.: Zivoč. Vyroba, 24, 47, 1979.
4. Cassens R. G., Marple D. N., Elkelenboom G.: Adv. Fd Res. 21, 71, 1975.
5. Cooper C. C., Cassens R. G., Briskey E. J.: J. Fd Sci. 34, 299, 1963.
6. Dumont B. L., Boulleau T.: J. Rech. Porcine France 11, 121, 1979.
7. Fiedler J., Otto E.: Fleisch 36, 213, 1982.
8. Fiedler J., Weber Ch.: Z. mikrosk. anat. Forsch., Leipzig 95, 1027, 1981.
9. Godynicki S.: Roczn. WSR Pozn. 17, 129, 1963.
10. Hermann V., Fink H., Kracht E.: Wiss. Zschr. Univ. Jena Math. Nat.-Wiss. R 32, 659, 1983.
11. Johannsen U., Menger S., von Lengerken G.: Arch. Exp. Vet. Med. 36, 357, 1982.
12. Kiessling K. H., Lundström K., Petersson H., Stalhamer H.: Swedish J. agric. Res. 12, 69, 1982.
13. Klosowska D.: Z. probl. Post. Nauk rol. 139, 199, 1973.
14. Klosowska D.: Cechy histologiczne i histochemiczne mięśni świń, bydła i drobiu a jakość mięsa. Praca hab. BTN. Prace Wydz. Nauk Przyrod. Seria B, nr 31, 1984.
15. Klosowska D., Klosowski B.: Wiss. Beitrage 21 Europ. Fleischforscher-Kongress, Bern 1975, s. 70.
16. Klosowska D., Klosowski B.: Zesz. probl. Post. Nauk rol. 180, 447, 1976.
17. Klosowska D., Klosowski B., Różycka J.: Proc. 25 Europ. Meeting Meat Res. Work. 1979, s. 215.
18. Lahucky R., Rajtar V., Sidor V.: Veterinarství, 30, 302, 1980.
19. Laflamme L. F.: Canad. J. Anim. Sci. 53, 193, 1973.
20. Livingston D. M., Blair M. R.: English P. R.: Anim. Prod. 8, 267, 1966.
21. Michel G., Salomon F. V.: Tierzucht 35, 335, 1981.
22. Muir A. R.: J. comp. Path. 80, 137, 1970.
23. Prost E.: Medycyna Wet. 37, 193, 1981.
24. Rahelić S., Puac S.: Meat Sci. 5, 439, 1980.
25. Snedecor G. W.: Statistical Methods. Ames, Iowa, 1956.
26. Staun H.: Acta Agric scand. 13, 293, 1963.

27. Staun H.: Europ. Ass. Anim. Prod. Meeting, Hungary 1970, s. 1.
28. Topel D. G.: Proc. Pork Quality Symp. Univ. Wisconsin, 1972.
29. Wegner J., Schöberlein L.: Mh. Vet-Med. 39, 665, 1984.

Adres autora: dr Danuta Klosowska, PL Weyssenhofa 11, 85-072 Bydgoszcz

Фидлер И., Вегнер И., Клосовская Д., Клосовский В., Рефельдт Ш. — Влияние времени и способа взятия пробы мышцы у свиней и скота на микроскопическую оценку мышечных волокон

Исследования провели на *m. semitendinosus* скота и *m. longissimus thoracis* свиней-помесей Landrace X Edelschwein, польской белой длинноухой с крупной белой польской и породы крупной белой польской. Отметили, что время и способ взятия мышечной пробы имеет значение для оценки диаметров мышечных волокон. Наибольшие диаметры мышечных волокон наблюдали в мышцах, взятых методом биопсии и через 5 минут после забоя. Несущественные различия между диаметрами волокон в мышцах, взятых через 45 минут и 24 часа после забоя, мотивируют возможность использования послеубойного материала для оценки толщины волокон. Приближенные результаты, полученные между применяемыми 2 методами измерения волокон (наименьшие диаметры-Lanometr и случайные диаметры-полуавтоматический анализатор MFA-1), позволяют выбрать один из методов для оценки толщины волокон. На основе активности оксидативных энзимов в мышечной ткани, взятой из туш 24 часа после забоя, возможно различение только 2 типов мышечных волокон — красных и белых. Отличение промежуточных волокон от красных создает затруднения. Результаты исследований указывают, что мышечная ткань, взятая через 24 часа после забоя, может являться источником информации относительно толщины волокон, а в несколько ограниченном масштабе — о доле отдельных типов волокон.

Fiedler I., Wegner J., Klosowska D., Klosowski B., Rehfeldt Ch. — Influence of time and method of a meat sample collection in pigs and cattle on the results of microscopic appraisalment

The examinations were done with *m. semitendinosus* of cows and *m. longissimus dorsi* of pigs (Landrace X Edelschwein, Polish Large White X Landrace White, and Polish Large White). It was found that time and method of meat samples collection play an essential role in appraisalment of diameter of muscular fibres. The greatest diameters of fibres were noted in meat samples collected after 5 min. since slaughter by a biopsy method. Nonsignificant differences in a diameter of muscular fibres found in meat samples collected after 45 min and 24 h since slaughter point to a possibility to use the post-slaughter material for determinations of muscular fibres thickness. Closely related results obtained by the two methods of muscular fibres measuring (the lowest diameters, lanometer, an accidental diameter, semiautomatic analyzer MFA-1) enable to chose one of these two methods to determine a diameter of muscular fibres. Results of determinations of the activity of oxydative enzymes of muscular tissue samples collected after 24 h since slaughter enable to differentiate only two types of muscular fibres: white and red. Differentiation between red and intermediate fibres is difficult. The results of the studies show that muscular tissue collected after 24 h since slaughter can give informations concerning a diameter of muscular fibres, however, it can give a little less informations about types of muscular fibres in the examined samples.