A8

R.HAMM und J.VAN HOOF*

(Institut für Chemie und Physik der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, BRD)

Einfluß der Zerkleinerung auf den Abbau von ATP und Glykogen im Rindermuskel post mortem

Einleitung

Vor Eintritt des Rigor mortis besitzt das Muskelgewebe des Rindes dank seines hohen Gehaltes an Adenosintriphosphat (ATP)*) und seines hohen pH-Wertes ein beträchtliches Wasserbindungsvermögen. Während des postmortalen Abbaues von ATP und Glykogen und der Entwicklung des Rigor mortis kommt es zu einer starken Abnahme des Wasserbindungsvermögens des Gewebes. Aus diesem Grunde ist schlachtwarmes Fleisch zur Herstellung von Brühwürsten wesentlich besser geeignet als Rigor- oder Post-rigor-Fleisch. Vor der Verarbeitung zur Brühwurst wird das schlachtwarme Fleisch in der Regel im Fleischwolf zerkleinert. Da zur Erzielung einer guten Bindung zum Zeitpunkt des Salzens noch eine ausreichende Menge an ATP im Fleisch enthalten sein muß, ist die Frage von Interesse, welchen Einfluß die Zerkleinerung des Fleisches auf die Geschwindigkeit des Abbaues von ATP und Glykogen ausübt. Den ATP-Abbau in unzerkleinertem und zerkleinertem Muskelgewebe hat bereits PARTMANN (1) studiert, wobei er die Freisetzung an "energiereichem Phosphat" bestimmte. Er beobachtete eine Beschleunigung der ATP-Spaltung durch das Zerkleinern, die jedoch beim Rindermuskel um ein Vielfaches geringer war als beim Fischmuskel. Ein eingehenderes Studium der Wirkung des Zerkleinerungsprozesses auf die biochemischen Veränderungen im Rindermuskel post mortem stand noch aus. Nach Abschluß unserer Untersuchungen zu diesem Thema erschien eine Arbeit von NEWBOLD und SCOPES (2), in der ebenfalls eine Beschleunigung des ATP-Abbaues im Rindermuskel durch Zerkleinerung festgestellt wurde. Da in dieser Arbeit jedoch weder der vollständige Abbau des ATP über Inosinmonophosphat (IMP) zu Hypoxanthin noch die Geschwindigkeit der Glykogenabnahme und Lactatzunahme ermittelt worden waren, erscheint uns eine Veröffentlichung unserer Ergebnisse erforderlich.

*) Abkürzungen: ATP = Adenosintriphosphat; ADP = Adenosindiphosphat; AMP = Adenosinmonophosphat; IMP = Inosinmonophosphat; p.m. = post mortem

A8

Material und Methoden

Untersucht wurde der Longissimus dorsi-Muskel von drei 3-jährigen Bullen. Das Fleisch wurde nach Entfernen von grobem Fett- und Bindegewebe innerhalb einer Stunde post mortem im Fleischwolf (4,5 mm-Scheibe) zerkleinert und bei +4°C aufbewahrt. Ein Teil desselben Muskels wurde unzerkleinert bei +4°C gelagert. Zu verschiedenen Zeiten post mortem wurden 20 g-Proben des zerkleinerten und unzerkleinerten Gewebes entnommen. Nach pH-Messung wurden die Proben in Folie verpackt auf -80°C eingefroren und bei -30°C bis zur Aufarbeitung (höchstens 6 Tage) gelagert. Vorversuche hatten ergeben, daß während dieser Gefrierlagerung kein Abbau von ATP und Glykogen erfolgte. 4 g des gefrorenen Gewebes wurden mit 13 ml 6,5%iger eiskalter Perchlorsäure 1 min unter Kühlung im Bühler-Homogenisator homogenisiert. Das filtrierte Homogenat wurde mit 1 N KOH neutralisiert und bei 40 000 U/min zentrifugiert. Im Überstand wurden ATP, ADP, AMP, IMP, Inosin und Hypoxanthin nach POTTHAST und HAMM (3) quantitativ bestimmt. Lactat wurde mit der "Lactat-Test-Combination" der Fa. BOEHRINGER u. SÖHNE, Mannheim, enzymatisch bestimmt. Auch die Bestimmung von Hexosemonophosphat erfolgte auf enzymatischem Wege (4). Zur Glykogenbestimmung wurden 2 g des gefrorenen Gewebes in 30%ige KOH eingetragen. Die Bestimmung wurde mit einer modifizierten Methode nach CARROL, LONGLEY und ROE (5) vorgenommen.

Ergebnisse und Diskussion

Obwohl die Menge der Zellinhaltsstoffe im Longissimus dorsi-Muskel der drei Tiere unterschiedlich war, so übte die Zerkleinerung in allen Fällen die gleiche Wirkung aus. Es sei daher hier nur das Ergebnis eines der drei Versuche wiedergegeben. Wie Fig. 1 zeigt, wurde Glykogen im zerkleinerten Gewebe wesentlich rascher abgebaut als im unzerkleinerten. Dementsprechend ging die Bildung von Lactat im zerkleinerten Muskel rascher vonstatten als im unzerkleinerten. Während im unzerkleinerten Gewebe die Glykolyse erst nach 48 Stunden zum Stillstand kam, war dieses Stadium im zerkleinerten Gewebe bereits nach 12 Stunden erreicht. In beiden Fällen jedoch lag nach 48 Stunden die gleiche Menge an Restglykogen vor. Dies gilt, wie aus Tabelle 1 hervorgeht, für alle drei untersuchten Muskeln.

Die beschleunigte Umwandlung von Glykogen zu Lactat bedingte einen rascheren pH-Abfall post mortem im zerkleinerten Fleisch (Fig. 2). Dies hatten auch NEWBOLD und SCOPES (2) festgestellt. Wie die Glykogen- und Lactatwerte, erreichten auch die pH-Werte etwa 48 Stunden p.m. im zerkleinerten und unzerkleinerten Gewebe die gleiche Höhe.

Der End-pH-Wert (72 Stdn.p.m.) war unabhängig vom Anfangs- und Restglykogengehalt der drei Muskelproben, da sich in allen Fällen etwa die gleiche Menge an Milchsäure gebildet hatte (Tabelle 1). In Untersuchungen anderer Autoren(6) war ebenfalls das Fehlen einer Korrelation zwischen End-pH-Wert und Restglykogen-Gehalt beobachtet worden. Die verbreitete Auffassung, wonach bei End-pH-Werten des Fleisches um 5,5 kein Restglykogen mehr vorhanden sei, ist demnach nicht immer berechtigt.

Was den Einfluß der Milchsäurebildung auf den pH-Wert betrifft, so fanden wir, daß - im zerkleinerten wie im unzerkleinerten Gewebe - die Bildung von 6,0 µMol Lactat den pH-Wert um 0,1 Einheiten erniedrigt. Dieser Wert steht im Einklang mit Befunden von NEWBOLD und SCOPES (7) am M.sternomandibularus des Rindes.

A8

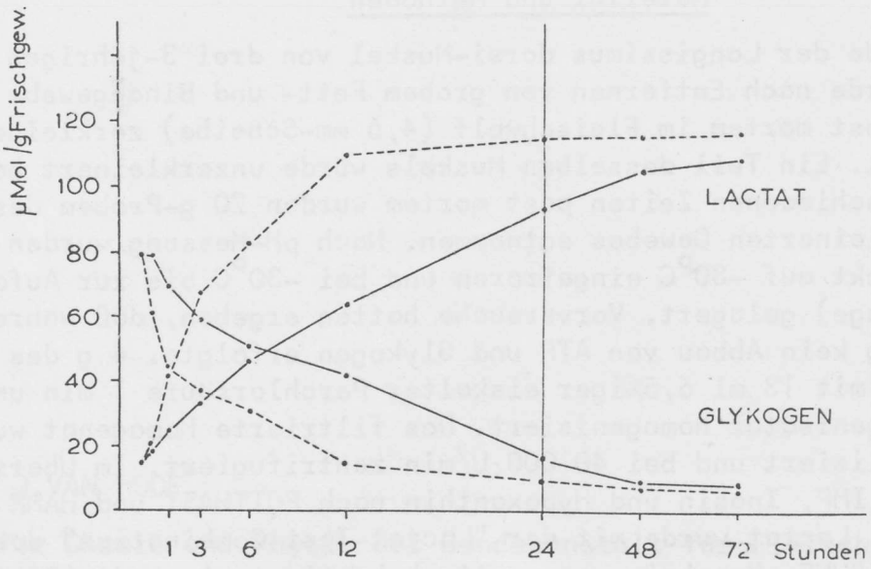

Fig. 1 Einfluß der Zerkleinerung auf die Geschwindigkeit der Umwandlung von Glykogen (Angaben in Glucose-Einheiten) zu Lactat im Rindermuskel (+4 °C).
●—●: unzerkleinert; ●---●: zerkleinert. Abszisse: Stunden post mortem. Der erste Punkt jeder Kurve gibt den Wert für das unzerkleinerte Gewebe an, der unmittelbar vor der Zerkleinerung gemessen wurde.*)
Influence of grinding on the time-course of transformation of glycogen (glucose units) to lactate in beef muscle.
●—●: intact muscle; ●---●: minced muscle. Abscissa: hours post mortem. The first point of each curve: intact muscle; second point: freshly ground tissue.

Tabelle 1 Glykogen-Abbau und Lactat-Bildung post mortem in Rindermuskeln mit unterschiedlichem Anfangs-Glykogengehalt. U = unzerkleinert; Z: Zerkleinert.

Breakdown of glycogen and formation of lactate post mortem in beef muscles with different contents of initial glycogen. U: intact muscle; Z: minced muscle

Tier Animal No.	Stunden hours p.m.	pH	Glykogen (µMol/Glucose/g)		Lactat (µMol/g)		Umwandlung von Glykogen zu Lactat Transformation of glycogen to lactate %	
			U	Z	U	Z	U	Z
I	1	6,90	78,33	78,33	13,45	13,45		
	72	5,42	5,03	6,17	109,68	108,12	65,64	65,50
II	1	6,98	104,54	104,54	28,70	28,70		
	72	5,45	37,00	39,93	103,39	102,48	55,22	57,09
III	1	6,95	78,94	78,94	15,18	15,18		
	72	5,50	8,63	6,94	113,88	118,90	70,28	72,58

Auffallend ist es, daß nur ein Teil des abgebauten Glykogens p.m. in Lactat umgewandelt wird. Während in den beiden Muskeln mit niedrigeren Glykogengehalten etwa 70 % des abgebauten Glykogens in Form von Lactat wiedergefunden wurden, waren es in dem Muskel mit hohem Glykogengehalt nur 55 % (Tab. 1).

*) Diese Erklärung gilt auch für Fig. 2 - 5

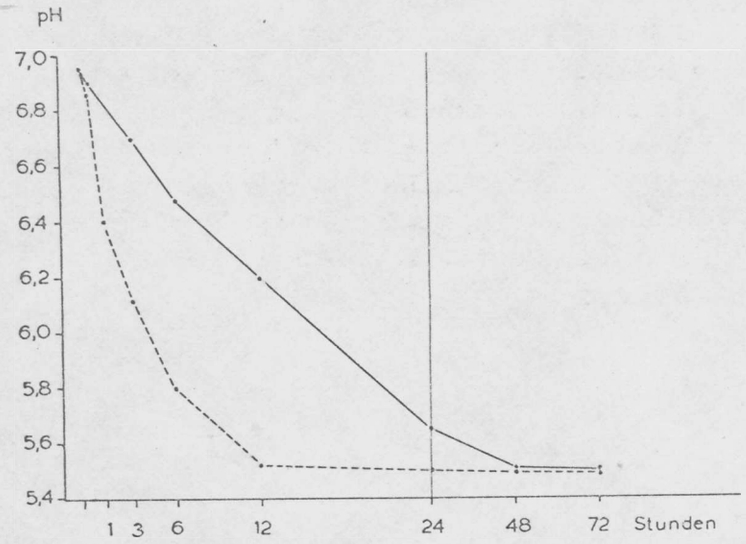

Fig. 2 Einfluß der Zerkleinerung auf die Geschwindigkeit des pH-Abfalls im Rindermuskel.

Influence of grinding on the time-course of the change in pH in beef muscle.

Eine ähnliche Beobachtung haben bereits FOLLET und RATCLIFF (8) an Lamm-Muskulatur gemacht. Die Frage des unvollständigen Abbaues von Glykogen p.m. wird gegenwärtig in unserem Institut bearbeitet. Eine Anhäufung von Metaboliten an irgendeiner Stufe der postmortalen Glykolyse konnten wir nicht feststellen.

Im Gegensatz zu NEWBOLD und SCOPES (2) fanden wir, daß innerhalb der ersten 12 Stunden p.m. im zerkleinerten Fleisch mehr Hexosemonophosphat gebildet wird als im unzerkleinerten (Fig. 3). Unsere Befunde bestätigen also nicht die Auffassung dieser Autoren, daß das Zerkleinern die Phosphorylase-Aktivität vermindert. Nach 24 Stunden war der Hexose-Monophosphat-Gehalt im zerkleinerten und unzerkleinerten Gewebe von gleicher Größenordnung.

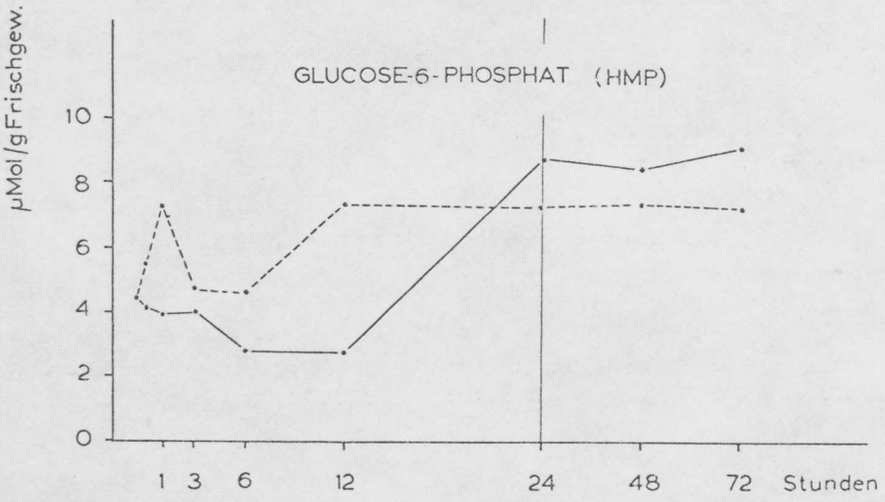

Fig. 3 Einfluß der Zerkleinerung auf den Gehalt des Rindermuskels an Hexosemonophosphat zu verschiedenen Zeitpunkten p.m.

Influence of grinding on the time-course of changes in the concentration of hexose monophosphate.

A8

Die durch Zerkleinerung des Muskels bedingte Beschleunigung der postmortalen Glykolyse ist sicherlich die Folge einer erhöhten Geschwindigkeit des ATP-Abbaues. Der ATP-Gehalt der drei untersuchten Muskeln betrug 1 Stunde p.m. 5,3 bzw. 5,7 bzw. 6,3 µMol/g Frischgewebe; er nahm post mortem auf Endwerte zwischen 0 und 0,1 µMol ATP/g ab. Im unzerkleinerten Fleisch war die völlige Hydrolyse innerhalb von 24 Stdn. p.m. beendet, während im zerkleinerten Fleisch dieses Stadium bereits 12 Stdn.p.m. erreicht war (Fig. 4).

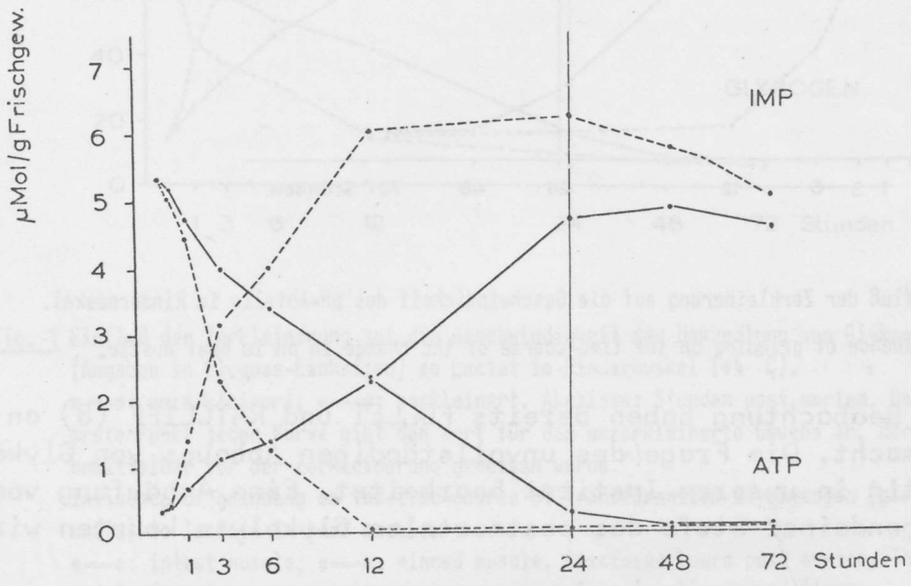

Fig. 4 Einfluß der Zerkleinerung auf die Geschwindigkeit der Umwandlung von ATP zu IMP im Rindermuskel.

Influence of grinding on the time-course of the transformation of ATP to IMP in beef muscle.

Der Gehalt des Gewebes an Adenosindiphosphat (ADP), der in den drei untersuchten Muskeln 1 Std.p.m.zwischen 1,23 und 1,80 µMol lag, änderte sich im zerkleinerten wie im unzerkleinerten Muskel während der ersten Stunden nach dem Schlachten nicht wesentlich (Fig. 5). Erst wenn mehr als die Hälfte des ATP abgebaut war, setzte eine Abnahme des ADP-Gehaltes ein. Diese Abnahme erfolgte im zerkleinerten Gewebe etwas rascher als im unzerkleinerten. Im Gegensatz zum ATP war jedoch auch 72 Stdn. p.m. noch ein Rest von 0,25 bis 0,80 µMol ADP im Muskel enthalten.

Der Gehalt des Gewebes an Adenosinmonophosphat (AMP) blieb im unzerkleinerten Muskel während der gesamten Lagerungsperiode konstant; im zerkleinerten Gewebe war eine vorübergehende leichte Zunahme zu beobachten (Fig. 5).

Inosinmonophosphat (IMP) nahm als wichtiges Abbauprodukt von ATP und ADP während der ersten Stunden p.m. zu; sein Gehalt erreichte nach Ablauf der Hydrolyse von ATP (und ADP) ein Maximum (Fig. 4). Im Gegensatz zu dem Befund von DANNERT und PEARSON (9) war in unseren Versuchen eine Aufrechterhaltung des IMP-Gehaltes über mehrere Tage nicht festzustellen. Dem beschleunigten Abbau von ATP im zerkleinerten Fleisch entsprach eine raschere Bildung von IMP. Das durch enzymatische Dephosphorylierung von IMP gebildete Inosin trat erst 24 Stdn.p.m. in Erscheinung, und zwar im unzerkleinerten Gewebe stärker als im zerkleinerten (Fig. 5). Hypoxanthin, das in geringer Menge schon 1 Std.p.m. nachzuweisen war, zeigte im Gegensatz zum

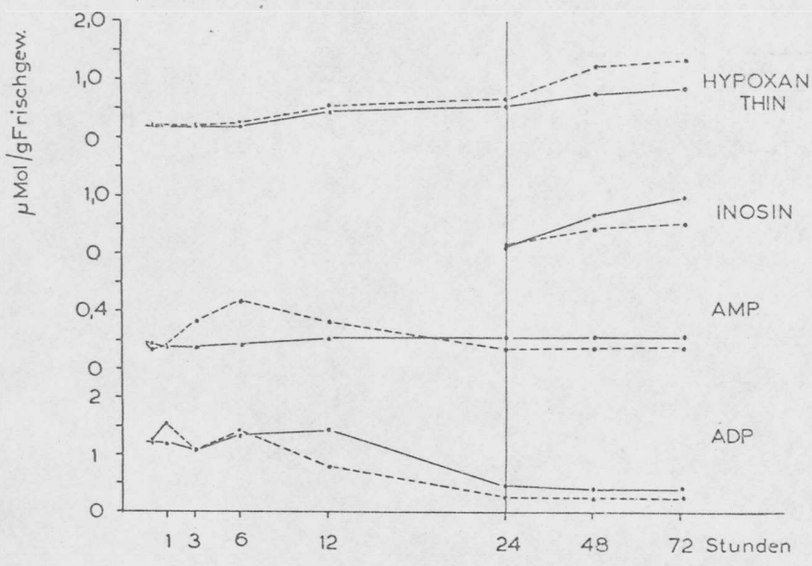

Fig. 5 Einfluß der Zerkleinerung auf den Gehalt des Rindermuskels an ADP, AMP, Inosin und Hypoxanthin zu verschiedenen Zeitpunkten post mortem.

Influence of grinding on the time-course of changes in the concentrations of ADP, AMP, inosine and hypoxanthine in beef muscle.

Inosin im zerkleinerten Gewebe eine stärkere Zunahme als im unzerkleinerten (Fig.5).

Aus den Resultaten dieser Untersuchung ist zu ersehen, daß Zerkleinerung des Muskelgewebes vor Eintritt des Rigor mortis den Abbau von ATP zu IMP (und Hypoxanthin) und von Glykogen zu Lactat beschleunigt. Der hier am M. longissimus dorsi ermittelte Einfluß der Zerkleinerung auf die Geschwindigkeit des ATP-Abbaues ist wesentlich stärker als die von PARTMANN (1) am Psoas-Muskel des Rindes (+5°C) gefundene Wirkung des Zerkleinerns auf die Freisetzung an "energiereichem Phosphat". Mit den Resultaten von NEWBOLD und SCOPES (2) lassen sich entsprechende Vergleiche hinsichtlich des Ausmaßes des Zerkleinerungseffektes auf den ATP-Abbau nicht anstellen, da diese Autoren die Versuche bei +20°C, wir hingegen bei +4°C anstellten.

PARTMANN (1) erklärt den Effekt der Zerkleinerung damit, daß durch Verletzung des Gewebes das Erschlaffungsfaktor-System inaktiviert werde. Es wäre in der Tat denkbar, daß eine Freisetzung von Ca^{++}-Ionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum eine Aktivierung von Gewebe-ATPasen bewirkt, die ihrerseits einen beschleunigten Abbau von ATP und - als Folge hiervon - auch von Glykogen hervorruft.

Literatur

1. PARTMANN,W.: Zeitschr.Ernährungswissensch. 2, 70 (1961).
2. NEWBOLD,R.P. and R.K.SCOPES: J.Food Sci. 36, 209 (1971)
3. POTTHAST,K. u.R.HAMM: J.Chromatog. 42, 558 (1969)
4. BERGMEYER,H.U.:"Methoden der enzymatischen Analyse".Weinheim. 1962
5. CARROL,N.V.,R.LONGLEY, and H.S.ROE : J.Biol.Chem. 220, 583 (1956)
6. NEWBOLD,R.P. and R.K.SCOPES: Biochem.J. 97, 1 (1965)
7. NEWBOLD,R.P. and R.K.SCOPES: Biochem.J. 105, 127 (1967)
8. FOLLET,M. and P.RATCLIFF: Proceed.of the 15th European Meeting of Meat Research Workers. Helsinki, 1969. p. 282
9. DANNERT, R. and A. PEARSON: J.Food Sci. 32, 49 (1967)