

UNTERSUCHUNGEN DER SH-GRUPPEN UND DER MILCHSÄURE BEI DER  
PSE-MUSKULATUR VON SCHWEINEN

G. Usunov, L. Zolova

Institut für Fleischwirtschaft - Sofia

Zusammenfassung

Das Ziel der in dieser Arbeit dargestellten Untersuchungen war den Grad der Aktivitätsveränderung der SH-Gruppen der Muskelproteine in der PSE-Muskulatur /PSEM/ und die Konzentrationsveränderung der Milchsäure zu verfolgen.

Das Untersuchungsmaterial stammte aus *M. longissimus dorsi* von 19 Schweinen mit einer deutlich ausgeprägten PSE-Muskulatur. Gleichzeitig wurden 16 Kontrollschweine untersucht, die keine pathologischen Veränderungen der Muskulatur aufwiesen.

Es wurde festgestellt, dass die schnell reagierenden /zugänglichen/ SH-Gruppen in der PSE-Muskulatur fast dreimal abnahmen im Vergleich mit denjenigen in der normalen Muskulatur. Noch deutlicher wurde diese Tendenz bei den maskierten SH-Gruppen beobachtet, deren Menge in der PSE-Muskulatur fünfmal geringer war. Diese Veränderungen der Muskelproteine in der PSE-Muskulatur traten bei einer erhöhten Konzentration der Milchsäure ein.

Es wird über die mögliche Veränderung des nativen Eiweißmoleküls der Muskelproteine und über ihre Teildenaturierung diskutiert, von welchen die die PSE-Muskulatur charakterisierenden Veränderungen hervorgerufen werden.

STUDIES ON SULPHYDRYL GROUPS AND LACTIC ACID IN PALE EXUDATIVE  
MUSCLES IN PIGS

G. Usunov, L. Zolova

Meat Industry Institute - Sofia

Summary

The investigations presented in this paper follow the degree of change in the activity of SH groups of muscle proteins in pale exudative muscles (PSEM) and the concentration changes for lactic acid.

Material studied was *m. longissimus dorsi* of 19 pigs with clearly expressed pale exudative muscles. At the same time, were investigated 16 controls no pathological changes in muscles.

It was found that the quickreactive (accessible) SH groups in PSEM muscles, are reduced threefold in comparison with normal muscles. More clearly expressed, this tendency is established, with the masked SH groups, which are fivefold less in PSEM. These changes of the SH groups in muscle proteins are seen on the background of a bigger lactic acid concentration.

The possible change of the native protein molecule of muscle proteins is discussed and their partial denaturation as a result of which are exhibited the changes characterising the pale exudative muscles.

ETUDE SUR LES SH-GROUPES ET L'ACIDE LACTIQUE DANS LA MUSCULATURE  
EXSUDATIVE DES PORCS

G. Ouzounov, L. Tzolova

Institut de recherches sur la viande - Sofia

Résumé

Les études que comporte le présent travail ont pour but d'examiner le changement de l'activité des SH-groupes dans les protéines musculaires de la musculature exsudative (PSEM) et les modifications de la concentration de l'acide lactique.

L'étude porte sur le *m. Longissimus dorsi* de 19 porcs à une musculature exsudative exprimée. On expérimente en même temps sur 16 porcs témoins sans changements pathologiques de la musculature.

On établit que les SH-groupes à une vitesse accélérée dans la PSE-musculature diminuent trois fois par rapport à la musculature habituelle. Cette tendance est plus nette dans les SH-groupes dissimulés dont la quantité est cinq fois plus petite dans la PSEM. Les changements en question des SH-groupes des protéines musculaires PSEM ont lieu sur la base d'une concentration élevée en acide lactique.

On discute sur les modifications éventuelles de la molécule protéique native des protéines musculaires, ainsi que sur leur dénaturation partielle ce qui provoque les changements caractérisant la musculature exsudative.

ИССЛЕДОВАНИЕ СУЛЬФИДРИЛЬНЫХ ГРУПП И МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ  
В БЛЕДНОЙ ЭКССУДАТИВНОЙ МЫШЦЕ СВИНЕЙ

Институт мясной промышленности - София

Г. Узунов, Л. Цолова

Аннотация

Исследования, представленные в настоящей работе, имеют цель проследить степень изменения активности SH-групп мышечных протеинов в бледной эксудативной мышце /PSEM/ и изменение концентрации молочной кислоты.

Объектом исследования служили *m. long. dorsi* 19 свиней с ярко выраженным эксудативным характером мышечной ткани. Параллельно были исследованы 16 свиней без патологических изменений мышечной ткани.

Установлено, что быстро реагирующие /доступные/ SH-группы в PSEM мышце уменьшаются почти в 3 раза в сравнение с нормальной мышечной тканью. Еще яснее эта тенденция установлена при исследовании маскированных SH-групп, количество которых в 5 раз меньше в PSEM. Эти изменения SH-групп мышечных протеинов PSEM происходят на фоне повышенной концентрации молочной кислоты.

Обсуждается возможное изменение нативной белковой молекулы мышечных протеинов и их частичная денатурация, в результате которой получают изменения, характеризующие бледную эксудативную ткань.

UNTERSUCHUNGEN DER SH-GROUPEN UND DER MILCHSÄURE BEI DER  
PSE-MUSKULATUR VON SCHWEINEN

G. Usunov, L. Zolova

Institut für Fleischwirtschaft - Sofia

Die SH-Gruppen realisieren eine sehr grosse Reaktivität der Eiweissmoleküle, indem sie auch für die Bildung der Kovalentbindungen verantwortlich sind. Von den SH-Gruppen hängen im erheblichen Masse wichtige funktionell-biochemische Prozesse im Organismus ab, wie Nerventätigkeit, Muskelverkürzung, Zellteilung, Regulation der Durchlässigkeit der Membranen, oxydative Phosphorylierung und Beschädigungen durch Radiation des Gewebes /TORTSCHINSKI 1971/.

Eine Möglichkeit zur Charakterisierung der im Muskelgewebe verlaufenden Prozesse ist die Verfolgung der Veränderungen der SH-Gruppen in den Bedingungen eines veränderten pH. Die einzelnen Muskelproteine weisen eine verschiedene Anzahl von reaktionsfähigen SH-Gruppen auf, von deren Aktivität die biochemischen und die technischen Eigenschaften der Muskulatur, wie Wasserbindevermögen, Zartheit, ATPase u.a., direkt abhängig sind. /HOFMANN und HAMM 1967/. Bei veränderten physiologischen Bedingungen wird die Geschwindigkeit und der Charakter der Oxydation der SH-Gruppen in Abhängigkeit vom Verhältnis zwischen ihrem Redoxpotential und dem Oxydator, dem pH und der Temperatur gestellt. Bei Senkung des pH nimmt die Geschwindigkeit der Reaktion des Thiol-Disulfid-Wechsels ab /JOCELYN 1967/.

Bei der PSEM, die durch eine beschleunigte Glykolyse und entsprechend abnehmendes pH gekennzeichnet ist, ist es vom Interesse parallel mit der veränderten Menge der Milchsäure auch die Reaktionsfähigkeit der SH-Gruppen zu verfolgen.

#### Material und Methodik

Es wurden Proben von *M. longissimus dorsi* von Schweinen - Kreuzungen zwischen Weisse bulgarische Rasse und Landrasse - nach

nach erfolgter Kühlung der Schweinehälften untersucht. Die Beobachtung wurde im Sommer im Fleischkombinat Russe bei einer Lufttemperatur von 30 bis 36°C durchgeführt. Zur Entdeckung typischer Fälle von PSE-Fleisch wurden mehrere Partien Schweine vom Zeitpunkt der Ruhestellung der Tiere vor der Schlachtung bis zur Erhaltung der gekühlten Hälften untersucht. Es wurden Proben von 19 Schweinen mit einer vollständig ausgebildeten PSE-Muskulatur ausgewählt. Gleichzeitig wurden 16 Kontrollproben untersucht. Zur Standardisierung des Materials wurde das Fleisch aus einem bestimmten Teil des *M. longissimus dorsi* /aus dem Lumbalbereich/ von Schweinen, die bei gleichen Zucht-, Transport- und Ruhebedingungen gehalten wurden, entnommen.

Die PSE-Proben wiesen eine deutlich ausgeprägte bleiche Farbe, eine wässrige Oberfläche und eine veränderte Konsistenz auf. Das Untersuchungsmaterial wurde sofort nach Entnahme im Medium von 10 %igem Natriumchlorid in einer 0,02 Mol EDTA-Lösung im Verhältnis 1:9 homogenisiert.

Nach einer 30-minütigen Extraktion in diesem Medium und nach einer 20-minütigen Zentrifugierung bei 10 000 U/min in einer Kühlzentrifuge wurden die SH-Gruppen nach der Methode von ELLMAN /1959/ mittels des Reagentes 5,5'-Dithiobis/2-Nitrobenzoesäure ermittelt. Dieses Reagens bildet bei einem pH ca 8 mit den SH-Gruppen des Proteins ein farbiges Anion des Nitrophenolates, dessen Menge bei 412 m $\mu$  abgelesen wurde.

Die Methode erweist sich als streng spezifisch und empfindlich für die Bestimmung der SH-Gruppen sowohl in den nativen, als auch in den denaturierten Proteinen bei Einhaltung der Anforderungen der entsprechenden Methodik zur Differenzierung der zugänglichen und maskierten SH-Gruppen.

Die Milchsäure wurde mit Veratrol nach dem Prinzip der Umwandlung der Milchsäure zu Aldehyd bei Erhitzung mit konzentrierter Schwefelsäure bestimmt. Das gebildete Azetaldehyd ergibt in Reaktion mit dem Veratrol eine Färbung, die rosa ist und die ein Maximum der FarbabSORPTION bei 520 m $\mu$  aufweist, bei welcher Wellenlänge auch die Menge der Milchsäure bestimmt wird /KRILOVA 1961/.

#### Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse von der Untersuchung der SH-Gruppen und der Milchsäure an den PSE-Proben und an den Kontrollproben sind in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1

Quantitative Charakteristik der SH-Gruppen und der Milchsäure in der Muskulatur von PSE-Schweinen und normalen Tieren.

| Nr. Probe | Zugängliche SH-Gruppen |               | Maskierte SH-Gruppen |               | Milchsäure    |                     |
|-----------|------------------------|---------------|----------------------|---------------|---------------|---------------------|
|           | PSE Mol                | Kontrolle Mol | PSE Mol              | Kontrolle Mol | PSE mg/0,5 ml | Kontrolle mg/0,5 ml |
| 1         | 0,0085                 | 0,0166        | 0,0032               | 0,0135        | 0,078         | 0,047               |
| 2         | 0,0067                 | 0,0210        | 0,0032               | 0,0153        | 0,082         | 0,027               |
| 3         | 0,0085                 | 0,0210        | 0,0035               | 0,0146        | 0,060         | 0,041               |
| 4         | 0,0062                 | 0,0196        | 0,0034               | 0,0125        | 0,059         | 0,064               |
| 5         | 0,0081                 | 0,0196        | 0,0062               | 0,0188        | 0,078         | 0,060               |
| 6         | 0,0085                 | 0,0210        | 0,0025               | 0,0188        | 0,075         | 0,060               |
| 7         | 0,0059                 | 0,0196        | 0,0026               | 0,0160        | 0,078         | 0,060               |
| 8         | 0,0063                 | 0,0180        | 0,0033               | 0,0180        | 0,075         | 0,047               |
| 9         | 0,0077                 | 0,0196        | 0,0029               | 0,0155        | 0,076         | 0,050               |
| 10        | 0,0075                 | 0,0166        | 0,0033               | 0,0162        | 0,078         | 0,058               |
| 11        | 0,0073                 | 0,0166        | 0,0033               | 0,0162        | 0,082         | 0,052               |
| 12        | 0,0074                 | 0,0154        | 0,0029               | 0,0166        | 0,082         | -                   |
| 13        | 0,0067                 | 0,0210        | 0,0036               | 0,0146        | 0,092         | -                   |
| 14        | 0,0074                 | 0,0220        | 0,0031               | 0,0180        | 0,098         | -                   |
| 15        | 0,0072                 | 0,0220        | 0,0027               | 0,0188        | -             | -                   |
| 16        | 0,0073                 | 0,0220        | 0,0035               | 0,0196        | -             | -                   |
| 17        | 0,0085                 | 0,0220        | 0,0031               | -             | -             | -                   |
| 18        | 0,0068                 | -             | 0,0032               | -             | -             | -                   |
| 19        | 0,0068                 | -             | -                    | -             | -             | -                   |
| 20        | 0,0074                 | -             | -                    | -             | -             | -                   |
| $\bar{x}$ | 0,0077                 | 0,020         | 0,0033               | 0,0164        | 0,078         | 0,050               |

Die von den einzelnen Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse sind in der Tabelle individuell angegeben, damit man die konkreten Werte der o.g. Merkmale umfassen kann. Somit kann man den Einfluss der Bedingungen, wie Ruhestellung der Tiere vor der Schlachtung, Schlachtung, Lufttemperatur u.a., auf das Auftreten einer bestimmten PSE-Stufe bei den einzelnen Tieren deutlich feststellen.

In Tabelle 1 sind in Spalten die zugänglichen /schnellreagierenden/ SH-Gruppen und die maskierten /nach Denaturierung des Eiweisses für eine Reaktion befreiten/ SH-Gruppen getrennt angegeben auf dem Hintergrund der veränderten Menge der Milchsäure - ein wichtiges biochemisches, das PSE-Fleisch charakterisierendes Merkmal /BRISKEY 1964, HOFMANN und HAMM 1967/. Daraus ist ersichtlich, dass bei PSE-Fleisch die zugänglichen SH-Gruppen auf der Muskelproteine einen Durchschnittswert von 0,007 Mol aufweisen, wobei die einzelnen Werte in einem Bereich von 0,0059 bis 0,0085 Mol variieren. Gleichzeitig ist dieser Wert bei den Kontrollproben 0,020 Mol oder ca dreimal höher /hier variieren die einzelnen Werte in einem Bereich von 0,0154 bis 0,0220 Mol/.

Interessant ist in diesem Zusammenhang die Veränderung der Konzentration der Milchsäure im Muskelgewebe. Beim PSE-Fleisch erreicht der Gehalt an Milchsäure ziemlich hohe Werte - 0,078 bis 0,098 mg/0,5 ml, wobei in den einzelnen Fällen diese zwischen 0,059 bis 0,098 mg/0,5 ml variieren, während er bei den Kontrollproben nur 0,050 mg/0,5 ml beträgt /mit Variationen von 0,027 bis 0,064 mg/0,5 ml/. Somit ist beim PSE-Fleisch der Milchsäuregehalt mit 0,028 mg/0,5 ml höher als bei den Kontrollen.

Die bis hier angeführten Daten zeigen, dass die zugänglichen SH-Gruppen in umgekehrter Korrelation mit dem Niveau der Milchsäure im Muskelgewebe stehen.

Diese Tendenz ist noch deutlicher zum Ausdruck gebracht bei den maskierten SH-Gruppen, die bezüglich der Veränderungen der innermolekularen Bindungen der Proteine auf dem Hintergrund der Milchsäuremenge aussagekräftiger sind.

Die Veränderungen der Werte der maskierten SH-Gruppen können eigentlich anzeigen, wie weit das saure Medium bei der Aus-

Bildung von PSE-Fleisch zu Teildenaturierungsvorgängen geführt hat. Dies ist eine Bestätigung dafür, dass in dem PSE-Fleisch eine Störung in dem nativen Eiweissmolekül als Ergebnis eines veränderten pH-Optimums im Eiweiss eingetreten ist. Die maskierten SH-Gruppen im PSE-Fleisch erreichen kaum 0,0033 Mol - d.h. einen fünfmal niedrigeren Wert im Vergleich mit diesem der Kontrolle, der 0,0164 Mol beträgt.

Es wurde festgestellt /USUNOV und ZOLOVA 1974/, dass bei dem PSE-Fleisch als Folge der intensiven Glykolyse und des Anhäufens grosser Mengen Milchsäure aufgrund eines überwiegenden anaeroben Stoffwechsels die gesamte LDH-Aktivität steigt.

Gleichzeitig wurde eine Veränderung des elektrophoretischen Bildes der löslichen Proteine und ihres Gesamtgehaltes bei PSE-Fleisch angegeben. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen nochmals den labilen Zustand der Eiweissmoleküle. Dies wurde durch den veränderten Gehalt der SH-Gruppen nachgewiesen. So kann man annehmen, dass sie aufgrund der veränderten Kovalentbindungen und der entsprechend gestörten tertiären Struktur der Eiweissmoleküle hydrophob werden und somit weiter den exudativen Charakter des Prozesses kennzeichnen.

Die Veränderungen des PSE-Fleisches können folgenderweise interpretiert werden: Hypoxie des Gewebes  $\rightarrow$  Spannung des anaeroben Prozesses  $\rightarrow$  Erhöhung des Milchsäuregehaltes  $\rightarrow$  Abnahme des pH  $\rightarrow$  Veränderung der Aktivität der SH-Gruppen  $\rightarrow$  Labilität des Eiweissmoleküles  $\rightarrow$  Veränderung des Wasserhaltevermögens und der Farbe.

Abschliessend möchten wir darauf hinweisen, dass während für die Ätiologie des PSE-Fleisches mehrere Faktoren, wie Stress, Rasse, Fütterung, geographische Lage, Umwelttemperatur, Transport, Behandlung vor der Schlachtung u.a., verantwortlich sind, sind für die Pathogenese und für die Entwicklung des Prozesses die Veränderungen der SH-Gruppen, bzw. die funktionellen Möglichkeiten der Proteine, von erheblicher Bedeutung.

#### Literatur

1. Krilova N.N., J.M. Ljaskovskaja. Fisiko-chimitscheskie metodi issledovanija produktov shivotnogo proizshoshdenie. Pischte-promisdat, Moskva, 1961.
2. Tortachinski J.M. Sulfidrilnie i disulfidnie grupi belkov. Isd. "Nauki", Moskva, 1971.
3. Ellman G.L. Arch. Biochem. and Biophys., 1959, 82, 70.
4. Hofmann K., R. Hamm. XIIth European Meeting of Meat Research Workers, D-4, 1967.
5. Jocelyn P.C. Europ. J. Biochem, 1967, 2, 327.
6. Usunov G., L. Zolova. Die Fleischwirtschaft, 54, 1974, 3, 531