

EWA HAJDUK

Wpływ czynników biologicznych na jakość płuc bydłych jako surowca dla przemysłu farmaceutycznego

Katedra Chłodnictwa i Koncentratów Spożywczych Wydziału Technologii Żywności AR, ul. Podłużna 3, 30-239 Kraków

Hajduk E.

An influence of biological factors on the quality of bovine lungs used as a raw material in the pharmaceutical industry

Summary

These studies were undertaken to determine the influence of age, sex and the season of slaughter on the quality of bovine lungs utilized as a raw material for the pharmaceutical industry. Investigations were done on 123 animals, divided into four age groups. The groups were: calves, bulls and heifers up to two-years of age, young and old cows. The examined lungs came from cattle slaughtered in winter (January), in spring (April), in summer (July) and autumn (October). The following analyses were carried out: the activity of aprotinin, the content of soluble and crude protein and pH. The obtained results have been statistically evaluated. It has been found out that all factors: age, sex, and the season of slaughter had an effect on the above parameters. The lungs of older animals contained a higher number of crude protein, higher aprotinin activity and pH. Moreover, the highest aprotinin activity as well as the highest crude and soluble protein content have been observed in January. The lungs of bulls contained more crude protein and showed higher aprotinin activity in comparison with heifers, whereas a higher amount of soluble protein was found in heifers' lungs. No influence of sex and slaughter season on pH value has been confirmed.

Płuca należą do jadalnych surowców ubocznych stosowanych w przemyśle mięsnym do produkcji wędlin podrobowych oraz w niewielkiej ilości do bezpośredniej sprzedaży. Ze względu na dużą zawartość białek i fosfolipidów są także cennym surowcem dla przemysłu farmaceutycznego, gdzie stanowią bazę do produkcji surfaktantów oraz jedyne w obecnej terapii inhibitora proteaz – aprotyniny. Aprotynina stała się składnikiem leków stosowanych obecnie w leczeniu zapalenia trzustki, przy hamowaniu krwotoków, w przebiegu rozpadu nowotworów złośliwych (22). W Polsce lek ten produkowany jest pod nazwą Traskolan.

Dla zakładów farmaceutycznych istotne znaczenie ma jakość surowca, która w oczywisty sposób wiąże się z jego wydajnością. Istotny wpływ ma na nią sposób utrwalania oraz biorąc pod uwagę jego biologiczny charakter, czynniki decydujące między innymi o warunkach wzrostu zwierząt (żywienie), jego wiek i płeć.

Piśmiennictwo podaje szereg danych dotyczących wpływu czynników biologicznych na jakość tkanki mięśniowej. Informacje określające ich oddziaływanie na surowce uboczne są niewielkie. Brak jest dotąd badań na temat stosowania płuc jako surowca do produkcji biopreparatów.

Celem pracy było określenie wpływu takich czynników jak: wiek, płeć i sezon uboju bydła na poziom aprotyniny, białek i wartość pH w płucach bydłych.

Materiał i metody

Surowiec do badań stanowiły świeże płuca bydła uzyskane z wyselekcjonowanych w zakładach mięsnych sztuk bydła rasy czarno-białej w 4 kategoriach wiekowych: cielęta (do 3 miesięcy), jałówki i buhaje około 2 letnie (24 miesiące), krowy 5-7-letnie (60-84 miesiące) oraz krowy stare – ok. 10-letnie (120 miesięcy). Płuca z wymienionych kategorii wiekowych pobierano 4 razy w roku: wiosną (kwiecień), latem (lipiec), jesienią (październik) i zimą (styczeń). Badania przeprowadzono na lewym płacie płucnym po usunięciu pnia oskrzelowego, wykonując oznaczenia w 3 powtórzeniach. Całość badań objęła 123 sztuki bydła.

W badanym surowcu oznaczono:

- zawartość białek rozpuszczalnych metodą biuretową (19); ekstrakty przygotowano homogenizując 1 g tkanki z 40 cm³ 0,2 M zimnego roztworu KCl,
- wartość pH za pomocą pehametru typ HI 9025 po wymieszaniu 10 g zmielonej tkanki z 10 cm³ wody dejonizowanej; odczytu dokonywano po 10 min.
- wartość białka całkowitego metodą Kjeldahla (9),
- aktywność aprotyniny metodą spektrofotometryczną (4) zaadaptowaną do oznaczeń w tkance płucnej przez Zakłady Farmaceutyczne Jelfa S. A. w Jeleniej Górze. Ekstrakty do pomiaru aktywności aprotyniny otrzymano poprzez wytrząsanie 25 g rozdrobnionej tkanki z 50 cm³ roztworu uzyskanego przez wymieszanie 47,5 cm³ H₂O z 2,5 cm³ 20% CaCl₂. Po ustaleniu pH mieszaniny na poziomie 5,5 przy pomocy 10% HCl prowadzono ekstrakcję w

temp. 60°C w ciągu 2 h, a następnie kontynuowano ją przez 15 min. w temp. 80°C. Po zakończeniu procesu próby filtrowano używając sączków bibułowych. W uzyskanym przesączu oznaczano wzrost absorbancji w ciągu 5 min, w temp. 37°C i przy długości fali 405 nm używając Spektromiastrowca 21. Przed pomiarem absorbancji badanej próby dokonano takiego samego pomiaru dla roztworu trypsyny i wzorca. Aktywność aprortyniny obliczono w jednostkach inaktywacji kalikreiny (j.i.k.) w przeliczeniu na 1 kg płuc stosując wzór:

$$X = \frac{(\Delta E_T - \Delta E_P) \cdot 582 \cdot R}{\Delta E_T - \Delta E_W}$$

gdzie:

ΔE_T – zmiana absorbancji trypsyny przypadająca na 1 min,

ΔE_P – zmiana absorbancji próbki przypadająca na 1 min,

ΔE_W – zmiana absorbancji wzorca przypadająca na 1 min,

R – rozcieńczenie,

582 – aktywność wzorca/cm³.

1 jednostka inaktywacji kalikreiny jest to taka ilość substancji czynnej, która w czasie 2 h przy pH 8 i w temp. 20°C inaktywuje do połowy 2 jednostki kalikreiny i odpowiada 0,14 µg czystego inhibitora (13).

Obliczenia statystyczne przeprowadzono stosując arkusz kalkulacyjny Excel 5. Dla określenia wpływu wieku i sezonu uboju na zawartość aprortyniny, białek i wartość pH wykonano analizę wariancji jednoczynnikowej obliczając jednocześnie NIR (najmniejszą istotną różnicę) na poziomie istotności $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$. Wpływ płci oszacowano przeprowadzając test t-Studenta i C Cochran-Coxa. Po-

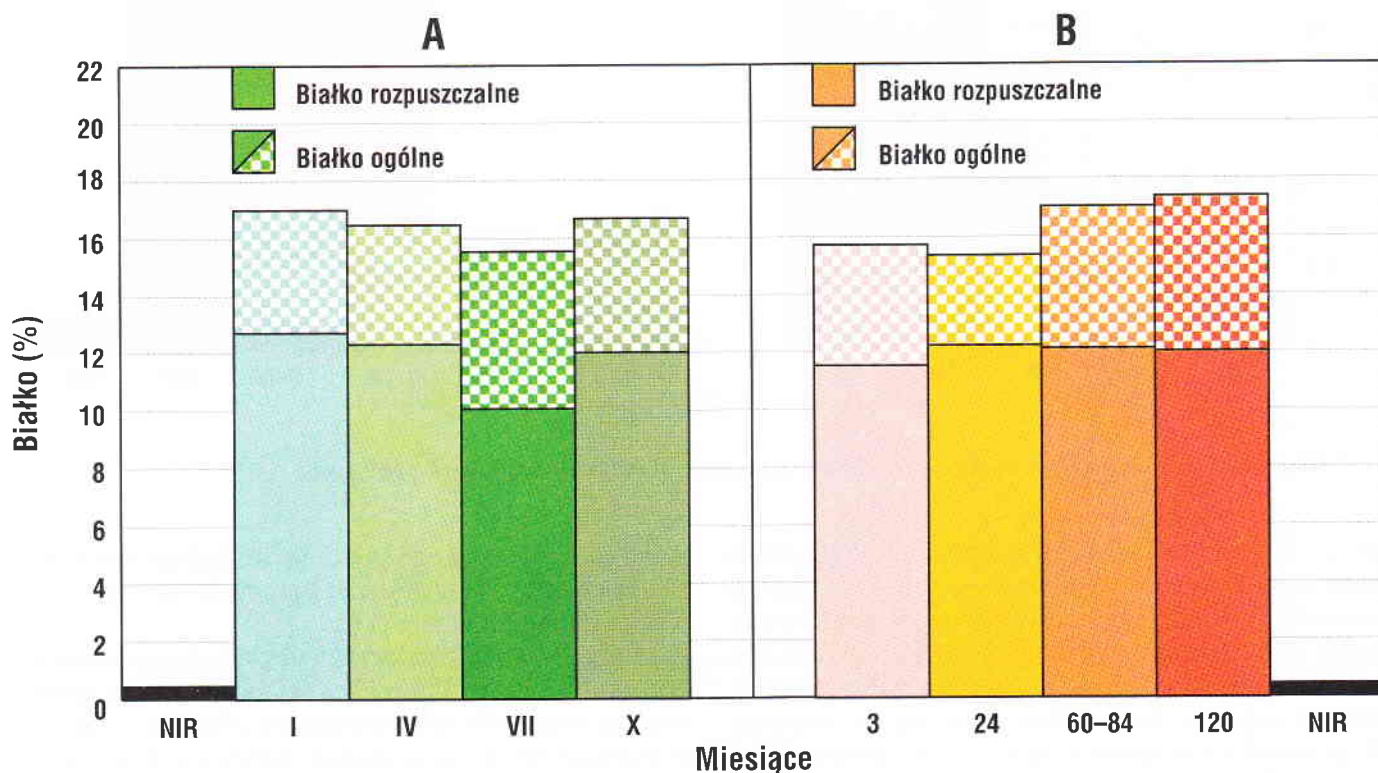
nadto, aby uzyskać informację o ewentualnej współzależności otrzymanych wyników, obliczono współczynnik korelacji (3).

Wyniki i omówienie

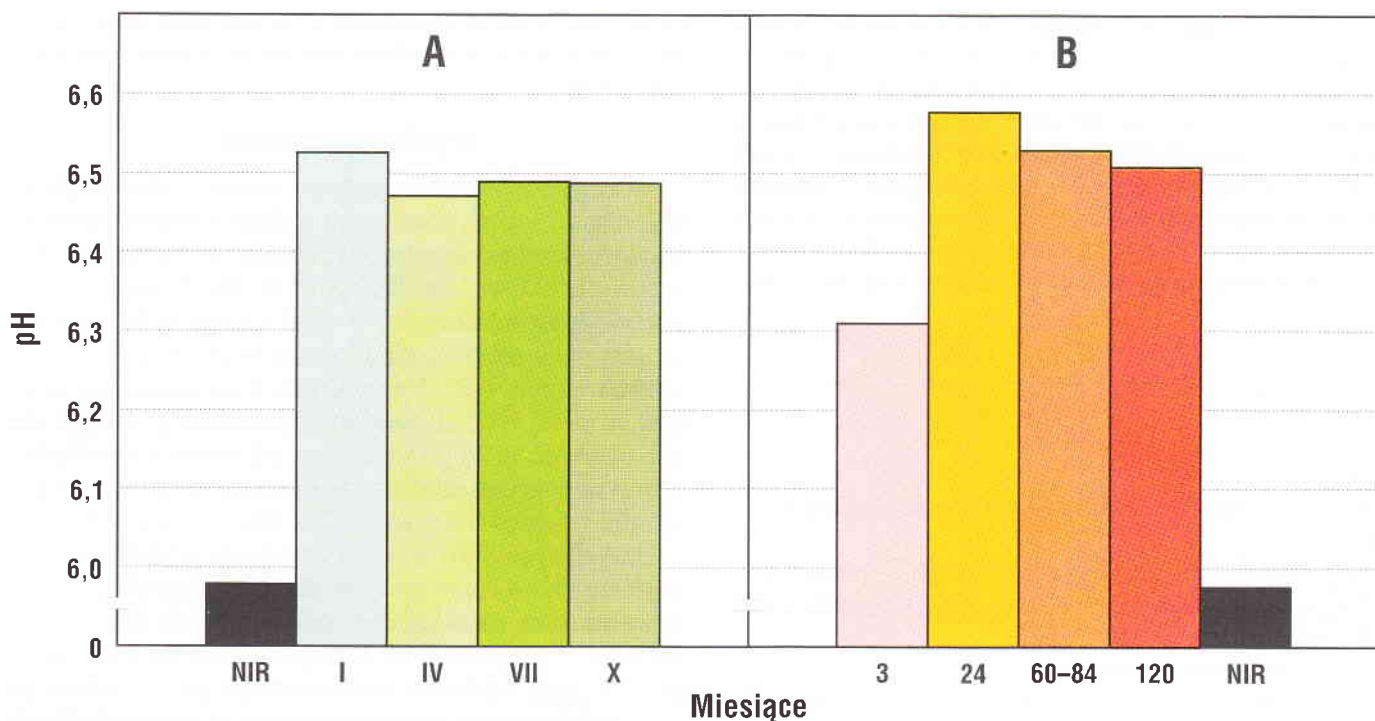
W celu porównania wpływu wieku i okresu uboju przedstawiono na wspólnym układzie współrzędnych wartości średnie aprortyniny, białka i pH dla danej kategorii wiekowej (w kategorii bydła 2 letniego nie uwzględniono buhajów) w skali całego roku oraz dla każdej pory roku uwzględniając wszystkie kategorie wiekowe (ryc. 1-3). Na wykresach umieszczono również wartość NIR dla poziomu istotności $p \leq 0,05$. Jeżeli wartość NIR jest większa od różnicy pomiędzy porównywanymi średnimi to oznacza, że przy tym poziomie istotności nie różnią się one między sobą.

Badania prowadzone nad wpływem czynników biologicznych na różnego typu tkanki wykazały, iż wiek wpływa m.in. na skład chemiczny i jakość tkanki mięśniowej (10), zawartość kolagenu i kwasowość szpiku kostnego zarówno wieprzowego jak i bydlęcego (15) oraz kolagenu rozpuszczalnego w przedłożadkach i trawieńcu bydła (20). Wiek bydła wpływa również w pewnym stopniu na skład chemiczny płuc bydlęcych (1, 16).

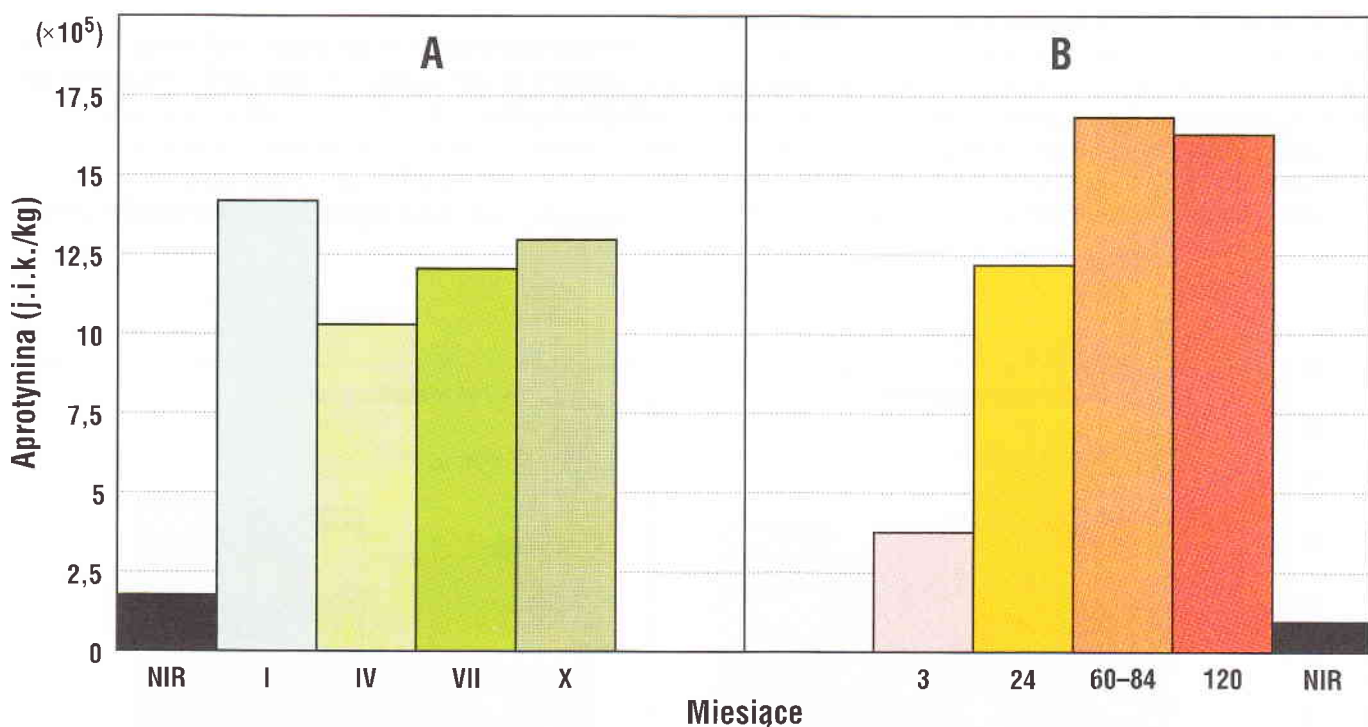
Wyniki otrzymane w tej pracy wskazują na istnienie różnicy w zawartości białka całkowitego w płucach pochodzących z bydła zróżnicowanego wiekowo, a mianowicie u krów w obu klasach wiekowych jest go więcej niż u jałówek i cieląt (ryc. 1). Zależność tę charakteryzuje dość wysoki współczynnik korelacji



Ryc. 1. Wpływ okresu uboju (A) i wieku bydła (B) na zawartość białka całkowitego i rozpuszczalnego w płucach bydlęcych



Ryc. 2. Wpływ okresu uboju (A) i wieku bydła (B) na wartość pH w płucach bydłęcych



Ryc. 3. Wpływ okresu uboju (A) i wieku bydła (B) na aktywność aprotyniny w płucach bydłęcych

(tab. 2). W przypadku białka rozpuszczalnego, nieco niższą jego zawartość odnotowano tylko w płucach cielęcych. W pozostałych trzech grupach wiekowych różnice były statystycznie nieistotne (ryc. 1). Brak korelacji pomiędzy wiekiem i zawartością białka rozpuszczalnego sugeruje, że decyduje on raczej o zawartości frakcji białek nierozpuszczalnych, a ich zawartość różnie z wiekiem. Pośrednio zbliżone wyniki uzyskała Pełczyńska wykazując wyższą zawartość kolagenu

całkowitego (będącego składnikiem frakcji białek nierozpuszczalnych) w płucach starszych osobników zarówno bydła jak i świń (16).

Jeszcze wyższą korelację z wiekiem stwierdzono dla aprotyniny, zaś w przypadku pH statystycznie istotna różnica wystąpiła tylko pomiędzy płucami cielęcymi a należącymi do pozostałych kategorii wiekowych (ryc. 2). Pełczyńska i Libelt także nie stwierdzili istotnych różnic tego wskaźnika w płucach bydła 4 i 10-

-letniego (14). Aktywność aprotyniny wahała się w szerokich granicach od 110 857,2 (cielę z uboju lipcowego) do 2 379 733,3 j.i.k./kg płuc (krowa w wieku 5-7 lat z uboju styczniowego). Wysoki współczynnik zmienności wykazano nie tylko w danym sezonie (23,63 do 38,52%), ale również pomiędzy osobnikami należącymi do tej samej grupy wiekowej (do 31,63%), co świadczy, że na jej ilość mają wpływ jeszcze inne czynniki. Jak wynika z ryc. 3. najniższe wyniki uzyskano w płucach cielęcych, a najwyższe w płucach pochodzących z bydła starszego (krowy 5-7 i 10-letnie), przy czym różnica była aż 4,5-krotna. Stąd również najwyższy współczynnik korelacji (tab. 2).

Znacznie mniejszy wpływ na aktywność aprotyniny miał okres uboju bydła, gdyż różnica pomiędzy najwyższą „styczniową” a najniższą „kwietniową” aktywnością wynosiła tylko około 19%. Również w przypadku białka całkowitego sezon uboju spowodował mniejsze wahania jego ilości. Natomiast białko rozpuszczalne wykazało większą zmienność sezonową niż wiekową, zaś różnice dla pH były statystycznie nieistotne. Zmiany wynikające z okresu uboju bydła spowodowane są różnym sposobem odżywiania charakterystycznym dla danej pory roku. Wpływ sezonowości wykazano także w szeregu innych przypadkach (2, 7, 8). U ryb okres połowu wpływa tak istotnie na skład chemiczny tkanki mięśniowej, że w Japonii istnieją lepsze i gorsze sezony na spożycie ryb i owoców morza w zależności od gatunku (6, 12).

Prowadzone już wiele lat temu badania nad wpływem płci na skład chemiczny tkanki mięśniowej wykazały istotne różnice w ilości i jakości tłuszczu śródmięśniowego u osobników różnych płci (1, 5, 17, 18, 21, 23).

Nie znaleziono w dostępnej literaturze wyników badań na temat wpływu płci na skład narządów wewnętrznych bydła i świń, stąd trudno o dokonanie porównań. Wyniki jakie otrzymano w badaniach własnych wskazują, że płeć wpłynęła istotnie na większość badanych wyróżników (brak jej w przypadku pH), przy czym różnice te były jeszcze mniejsze niż spowodowane wiekiem bydła czy sezonem uboju (tab. 1). Zawartość aprotyniny i białka całkowitego była wyższa u buhajów niż jałówek odpowiednio o 7,4 i 5,3%, natomiast białka rozpuszczalnego stwierdzono o 12,7% więcej w płucach jałówek.

Wnioski

1. Wiek bydła, od którego pochodzą płuca wpływa na ilość zawartego w nim białka całkowitego, pH i aktywność aprotyniny; ich wartości są wyższe w płucach starszych osobników.

2. Sezon uboju bydła nie ma wpływu na poziom pH płuc, natomiast aktywność aprotyniny i zawartość białka rozpuszczalnego i całkowitego jest najwyższa w styczniu.

3. Płuca bydlęce osobników różnej płci lecz tego samego wieku wykazują wyższą aktywność aprotyni-

Tab. 1. Średnia aktywność aprotyniny, zawartość białka całkowitego i rozpuszczalnego oraz pH w zależności od płci bydła

Rodzaj płuc	Aprotynina j.i.k/kg	Białko całkowite %	Białko rozpuszczalne %	pH
Płuca jałówek n = 25	1 216 543,73	15,34	12,17**	6,67
Płuca buhajów n = 20	1 312 999,32*	16,20**	10,63	6,64

Objaśnienia: *istotność przy $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$.

Tab. 2. Współczynniki korelacji pomiędzy poszczególnymi wyróżnikami

Badany wyróżnik	Białko całkowite	Wiek	Białko rozpuszczalne	pH
Aprotynina	0,3737*	0,6626*	0,1147	0,5339*
pH	0,0804	0,2642*	-0,0117	-
Białko rozpuszczalne	0,1387	0,1548	-	-
Wiek	0,5539*	-	-	-

Objaśnienie: *istotność korelacji liniowej przy $p \leq 0,01$

ny i zawartość białka całkowitego u buhajów, a białka rozpuszczalnego u jałówek; brak jest natomiast różnic w poziomie pH.

Piśmiennictwo

- Anderson B. A.: Advances in Meat Research. T. 5, Elsevier Applied Science, London, New York, 1988, s. 15.
- Cambero M. I., Hoz-L-de-la, Sanz B., Ordonez J. A.: J. Sci. Food Agric. 56, 351, 1991.
- Gawęcki J., Wagner W.: Podstawy metodologii badań doświadczalnych w nauce o żywieniu i żywności. PWN, Warszawa 1984.
- Geiger R.: Methods of Enzymatic Analysis. Hans-Ulrich Bergmeyer, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1985, s. 119.
- Hammond J.: Growth and Development of Mutton Qualities in the Sheep. Oliver and Boyd, London 1932.
- Hatae K., Nakai H., Shimada A., Murakami T., Takada K., Shirojo Y., Watabe S.: J. Food Sci. 60, 32, 1995.
- Hossain M. J., Salah-Uddin M., Jalil M. A., Yasmin T., Paul D. C., Chanda G. C.: Asian-Austr. J. Anim Sci. 7, 321, 1994.
- Kim B. C., Joo S. T., Hong K. C., Kim Y. K.: Korean J. Anim. Sci. 31, 99, 1989.
- Klyszejko-Stefanowicz L.: Ćwiczenia z biochemii. PWN, Warszawa-Poznań 1982.
- Lawrie R. A.: Chemical and Biochemical constitution of muscle, w: Meat Science. Pergamon Press, Oxford, New York 1985, s. 43.
- Lawrie R. A., Gatherum D. P.: J. Agric. Sci. 62, 381, 1964.
- Mendez E., Gonzalez R. M.: Food Chem. 59, 213, 1997.
- Norma Zakładowa: Traskolan koncentrat, Jeleniogórskie Zakłady Farmaceutyczne, ZN-/MPCH/-F.
- Pelczyńska E., Libelt K.: Medycyna Wet. 45, 623, 1989.
- Pelczyńska E., Nowakowski Z.: Medycyna Wet. 44, 347, 1988.
- Pelczyńska E., Prost E.: Medycyna Wet. 44, 730, 1988.
- Pelczyńska E., Prost E.: Medycyna Wet. 40, 481, 1984.
- Prost E., Pelczyńska E., Libelt K.: Medycyna Wet. 41, 207, 1985.
- Snow J. M.: J. Fish Res. Bd. Can. 7, 594, 1950.
- Szukcik K.: Medycyna Wet. 44, 627, 1988.
- Terrell R. N., Sness G. G., Bray R.: J. Anim. Sci. 28, 449, 1969.
- Werle E.: Trasyloł: ein kürzer Überblick über Geschichte, Biochemie und Wirkungen. Neue Aspekte der Trasyloł-Therapie, Schattauer, Stuttgart-New York, 1972, s. 9.
- Wierbicki E., Kunkle L. E., Cahill V. R., Deatherage F. E.: Food Technol. 10, 80, 1956.

Adres autora: dr Ewa Hajduk, ul. Bałuckiego 5E/13, 30-318 Kraków