

# Metody określania stopnia wykrwawienia zwierząt rzeźnych

KRZYSZTOF SZKUCIK

Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR,  
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Szkucik K.

## Detection methods for the degree of bleeding in slaughter animals

Summary

The significance of macroscopic inspection as well as the role of tests estimating the level of the residual blood content in muscles has been presented. The hematological and physical tests (HPLC, radioactivity of  $I^{131}$ , isoelectric focusing PAGIF) have been described. Special attention was paid to simple tests that every veterinarian is able to perform while conducting post-slaughter inspections. A trial of a compression test modified by the author as well as a hemoglobin diffusion test according to Beutling has been included among these tests. It has likewise been suggested that these tests should be carried out on standard muscles: abdominal and neck muscles.

**Keywords:** bleeding, residual blood, differentiation tests for the level of bleeding

Powszechnie stosowaną metodą uboju zwierząt jest wykrwawienie w następstwie przecięcia naczyń krwionośnych (zarówno tętnicznych, jak i żylnych) szyi, klatki piersiowej lub bezpośredniego otwarcia mięśnia sercowego. W wyniku nagłego niedokrwienia centralnego układu nerwowego następuje śmierć zwierzęcia.

Podstawowym celem wykrwawienia, oprócz pozbawienia życia zwierzęcia, jest pozyskanie jadalnych surowców, a przede wszystkim tkanki mięśniowej, o możliwie najlepszych cechach jakościowych. Wykształcenie ich zależne jest od stopnia wykrwawienia zwierzęcia. Przy niepełnym lub braku wykrwawienia, krew zalegająca w tkance mięśniowej pełni funkcję buforu, nie pozwalając na rozwinięcie się procesów glikogenolizy i tym samym zakwaszenia tkanki mięśniowej. Brak poubojowego zakwaszenia powoduje zwiększoną podatność tkanki mięśniowej na rozkład, a także nie uruchamia enzymatycznych procesów dojrzewania i tym samym wytworzenia pozytywnych cech sensorycznych mięsa. Z tych też względów możliwie największe wykrwawienie zwierzęcia jest czynnikiem kształtującym przydatność oraz jakość spożywczą mięsa.

W rozpoznawaniu zróżnicowanego poziomu wykrwawienia tusz zwierząt rzeźnych brak jest dotąd jednolitych i jednoznacznie różnicujących metod rozpoznawczych takiego stanu. Ocena stopnia wykrwawienia w większości przypadków jest subiektywnym odczuciem badającego, opartym na ocenie wyglądu tkanki mięśniowej, a czasem narządów wewnętrznych. Przyczyną takiego postępowania jest brak oficjalnego, standardowego postępowania w badaniu mięsa. W obowiązujących przepisach brak jest wskazań do wykonywania pomiarów czy testów określających poziom krwi resztkowej w tkance mięśniowej. Dla obiektywizacji stopnia wykrwawienia przeprowadzić można, dotąd znane, aczkolwiek oficjalnie nie podawane metody. W praktyce stosować można szereg

sposobów rozpoznawczych, zarówno badanie makroskopowe, jak i bardziej szczegółowe testy diagnostyczne.

Badanie makroskopowe umożliwia określenie barwy i stopnia uwodnienia mięśni, narządów wewnętrznych, głównie płuc i serca, oraz stopnia wypełnienia krwią naczyń krwionośnych ze szczególnym uwzględnieniem żył podskórnych i naczyń tkanki łącznej. Badanie makroskopowe pozwala z reguły na stosunkowo łatwe stwierdzenie braku wykrwawienia. Wszystkie naczynia krwionośne, a przede wszystkim główne pnie naczyniowe w jamie brzusznej i klatce piersiowej są bowiem wypełnione krwią. Narządy wewnętrzne są obrzękłe i przesiąknięte krwią, a płuca zmieniają swoją barwę, stając się intensywnie czerwone. Znacznie trudniejsze jest natomiast określenie zależności między stopniem wykrwawienia a intensywnością barwy tkanki mięśniowej. W obrębie nawet tego samego gatunku zwierzęcia mogą występować pewne różnice barwy mięśni związane z żywieniem i środowiskiem wychowu zwierząt. Na barwę tkanki mięśniowej wpływać mogą także odchylenia od prawidłowej jej jakości, takie jak: wodnistość, wybroczynowość, a przede wszystkim pojawiające się coraz częściej odchylenia barwy spowodowane wystąpieniem syndromów PSE i DFD (7). Stąd też badanie makroskopowe nie może być jedynym testem, na którym można oprzeć ocenę stopnia wykrwawienia. Stwierdzone w badaniu sanitarno-weterynaryjnym nieprawidłowości mogą być jedynie wskazaniem do przeprowadzenia dalszych postępowań rozpoznawczych, które pozwolić mogą na dokładniejsze określenie poziomu wykrwawienia tusz. Są nimi liczne testy fizykochemiczne, opierające się na określeniu zawartości hemoglobiny.

Badania nad określeniem stopnia wykrwawienia prowadził przed wieloma laty Schönberg (13), opisując metodę pasków bibułowych, wprowadzanych w nacięcie mięśni. Pewną odmianą tego testu jest próba kompresorowa, polegająca na ściśnięciu w kompresorze kawałka

mięsa umieszczonego na bibule filtracyjnej, a następnie określeniu stopnia jej zawilgocenia oraz ocenie natężenia czerwonej barwy (16).

Innym z fizycznych testów różnicujących stopień wykrwawienia jest określenie barwy wyciągu mięsnego (próba ługowania hemoglobiny), a wynik staje się bardziej wyraźny przy kolorymetrycznym określeniu natężenia barwy. Próba ługowania hemoglobiny pozwala tylko na zróżnicowanie stanów pełnego wykrwawienia od braku wykrwawienia lub wykrwawienia niewielkiego stopnia, które stwierdza się przy uboju w agonii. Metoda ta, oparta na analizie widmowej, wymaga odpowiedniej, kosztownej aparatury i nie różnicuje stanów niepełnego wykrwawienia.

Do określenia stopnia wykrwawienia opracowano także szereg testów chemicznych opartych na reakcji barwników organicznych z hemoglobina. Reakcja barwna pomiędzy hemoglobina zawartą w wyciągu mięsnym a zielenią malachitową i nadtlenkiem wodoru została opisana przez Radana (11). Według wskazań tego autora, test ten różnicuje trzy podstawowe stopnie wykrwawienia: pełne, niezupełne i brak wykrwawienia. Reder (12) opracował test, polegający na zmianie barwy błękitu Löfflera i fuksyny karbolowej pod wpływem hemoglobiny zawartej w rozdrobnionej próbce tkanki mięśniowej. Wprowadzono także do diagnostyki stopnia wykrwawienia test, który jest określany jako próba pseudoperoxydazowa. W reakcji tej hemoglobina pełni funkcję peroxydazy, katalizując utlenianie i zmianę barwy nalewki gwajakolowej z brązowej przy prawidłowym wykrwawieniu do niebieskiej, a nawet niebieskofioletowej przy braku wykrwawienia.

Przeprowadzono także próby określenia stopnia wykrwawienia za pomocą testów hematologicznych. Jednym z nich było określenie liczby erytrocytów w soku mięśniowym lub wyciągu mięsnym. Podjęto także próby ilościowego określenia hemoglobiny w soku mięśniowym bydła rzeźnego. Posłużono się testem Sahliego stosowanym w badaniach hematologicznych. Porównując te wyniki z testem bibułowym Schönberga stwierdzono, że nie zawsze wysoki poziom hemoglobiny jest jednoznaczny z wystąpieniem czerwonego zabarwienia bibuły.

Wszystkie z opisanych testów, a w szczególności testy oparte na reakcji barwnej, są testami orientacyjnymi i nie zawsze dobrze różnicującymi poziom wykrwawienia. Testy te są wynikiem reakcji zastosowanego odczynnika z żelazem zawartym w hemoglobinie. Pierwiastek ten zawiera także w swej budowie mioglobina. Pomimo że przechodzenie tego związku do wyciągów w czasie ekstrakcji jest mniejsze niż hemoglobiny, wymienione testy mogą być obciążone pewnym błędem. Stąd też najlepszym rozwiązaniem jest ilościowe określenie krwi zawartej w tkankach zwierząt lub oznaczenie poziomu hemoglobiny.

Dokładne określenie poziomu hemoglobiny i zróżnicowania ilościowego dwóch podstawowych barwników, tj. mioglobiny i hemoglobiny dały metody chromatograficzne, a w szczególności chromatografia jonowymienna oraz chromatografia oparta na sączeniu molekularnym. Jedną z pierwszych prób opracowania metody równoległego oznaczenia w mięśniach poziomu ilościowego mioglobiny i hemoglobiny została podjęta przez Borcherta,

a następnie udoskonalona przez Pisulę (9). Według tego autora, udział hemoglobiny w ogólnej zawartości barwników w tkance mięśniowej waha się od 25% do 30%. Autor ten wskazuje jednocześnie na szereg takich czynników, jak: środowisko, żywienie, a przede wszystkim rodzaj mięśnia, które w istotny sposób kształtują ilość i wzajemny stosunek ilościowy mio- i hemoglobiny.

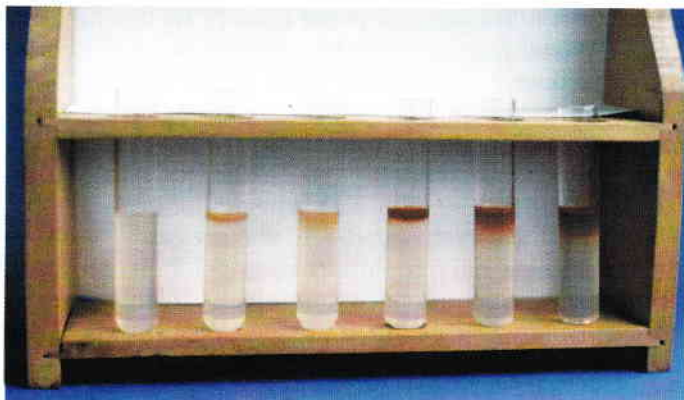
Götze (5) w swych badaniach, wykorzystując elektroforetyczny rozdział mioglobiny i hemoglobiny, wykazał, że zawartość mioglobiny w mięśniach trzech badanych grup świń (ubite w agonii, z konieczności i pochodzące z normalnego uboju) wahała się od 7,2 do 7,4 mg/g, natomiast poziom hemoglobiny wynosił odpowiednio: 11,2 mg/g, 4,8 mg/g, 2,5 mg/g.

Dalsze badania nad określeniem poziomu obu barwników w tkance mięśniowej przeprowadzono przy pomocy filtracji molekularnej w żelu sephadex (2, 10) oraz wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (HPLC) (3). Próbowano także określić zróżnicowany poziom wykrwawienia poprzez wysalanie hemoglobiny, używając do tego celu fosforanów (4). Poziom hemoglobiny wyliczano także z absorpcji oksyhemoglobiny przy długości fali 576 nm. W obu tych przypadkach nie wzięto pod uwagę obecności mioglobiny, która w istotny sposób mogła wpływać na wyniki tych badań. Skojarzenia takie nasuwać mogły wysokie wyniki oznaczeń hemoglobiny otrzymane metodą wysalania.

Badania przeprowadzone przez Stollego i wsp. (15) wykazały, że próba izoelektrycznego ogniskowania hemoglobiny w żelu poliakrylamidowym może być kryterium różnicowania świń pochodzących z ubojów pozorowanych od świń z normalnego uboju. U świń z uboju pozorowanego w składzie białek mięśnia pośladowego wykazano dodatkowo dwie frakcje, które co prawda stwierdzono także w białku zwierząt normalnie ubijanych, ale zawsze w wyraźnie mniejszej ilości.

W badaniach nad określeniem stopnia wykrwawienia, a przede wszystkim nad ilościowym określeniem krwi resztkowej posłużono się techniką radioizotopową. Użyto do tego celu chromu  $Cr^{51}$  oraz dwóch izotopów jodu  $I^{125}$  i  $I^{131}$  (6, 14, 17). Jak wykazał Smith (14), chrom  $Cr^{51}$  kumulował się w tkankach i stąd też stał się mało przydatny do określenia poziomu krwi resztkowej. Najlepsze wyniki dało zastosowanie  $I^{131}$ . Znakowaną tym pierwiastkiem albuminę surowicy krwi wprowadzano do organizmu świń (17) oraz kurcząt brojlerów (6) i na podstawie aktywności radiacyjnej określano pozostałość krwi w narządach i tkance mięśniowej. Badania te wykazały, że zawartość krwi w mięśniach szkieletowych świń wynosiła średnio 1,63% masy mięśnia (17). Wykazano istotne różnice w zawartości krwi pomiędzy mięśniami (5).

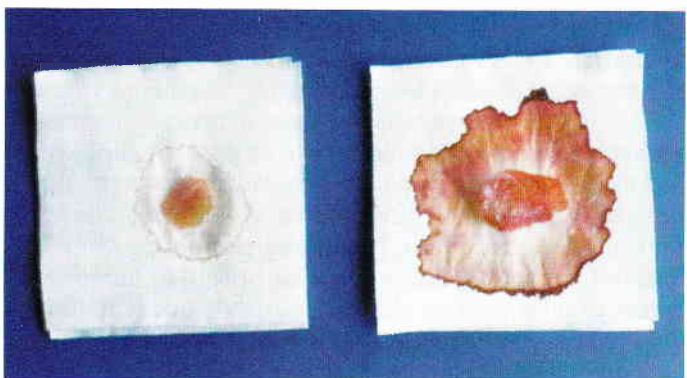
Metody chromatograficzne, izoelektrycznego ogniskowania, a także badania izotopowe są dość skomplikowane i trudne technicznie do przeprowadzania w terenowym laboratorium. Metodę, którą może wykonać każde laboratorium Inspekcji Weterynaryjnej podaje Beutling (1). Test dyfuzji hemoglobiny w agarze polega na naniesieniu wyciągu mięsnego na słupek agarowy i odczytaniu barwy i wielkości pierścienia wytworzonego przez dyfundującą do podłoża hemoglobinę. Sposób dyfundowania hemoglobiny do podłoża przedstawiono na ryc. 1. Test ten został sprawdzony i pozytywnie oceniony przez innych



Ryc. 1. Test dyfuzji hemoglobiny w agarze (różna procentowa zawartość hemoglobiny w wyciągu mięsny)

autorów (16, 20, 21). Jedyne Paulick i Stolle (8) stwierdzają, że dyfundować może także mioglobina, ale, jak stwierdza autorka testu, przy niewielkim rozdrobieniu (nożyczkami) tkanki przechodzenie do wyciągu mioglobiny jest znikome i nie ma wpływu na wynik testu. W badaniach własnych, wykonanych na eksperymentalnie wykrwawianych świniami, wykazano, że jest to jeden z prostych, ale najlepszych testów różnicujących pięć podstawowych stopni wykrwawienia. W badaniach tych wykazano, że testem różnicującym wszystkie badane stopnie wykrwawienia był także test kompresorowy (ryc. 2). Dla zobiektywizowania wyników badań wprowadzono określony rodzaj bibuły nasączonej nasyconym roztworem KCl oraz pomiar (za pomocą planimetru) powierzchni plamy i jej barwy (16).

Ważnym czynnikiem w określeniu stopnia wykrwawienia jest także rodzaj materiału, jaki należy pobrać do badań w celu prawidłowego określenia poziomu krwi pozostającej w tuszy zwierzęcia. Jak wykazano, narządy wewnętrzne nie nadają się do przeprowadzenia testów fizykochemicznych. Zawierają one nawet przy maksymalnym wykrwawieniu tak dużą ilość krwi, że wyniki tych testów są w każdym przypadku dodatnie. Jedyne mięśnie mogą być materiałem do przeprowadzenia tych testów. Badania własne wykazały, że nie wszystkie mięśnie w jednakowym stopniu różnicują poziom wykrwawienia tusz i stąd nie wszystkie są przydatne do określenia stopnia wykrwawienia. Mięśnie takie jak żwacz i część mięśniowa przepony zawierają zbyt dużą ilość krwi i przy maksymalnym wykrwawieniu mogą dać reakcje fałszywie do-



Ryc. 2. Wynik testu kompresorowego dla mięsa dobrze i źle wykrwawionego

datnie, wskazujące na niepełne wykrwawienie. Natomiast mięsień najdłuższy klatki piersiowej ma tak niski poziom krwi, że przy braku wykrwawienia testy dają wyniki fałszywie ujemne. Najbardziej przydatnymi i różnicującymi wszystkie badane stopnie wykrwawienia okazały się mięśnie: nadgrzebieniowy, skośny wewnętrzny brzucha i mięśnie szyi. Jednakże ze względu na dostępność w czasie badania poubojowego, praktyczne znaczenie mogą mieć tylko mięśnie szyi i skośny wewnętrzny brzucha (16).

Podsumowując należy wskazać, że dla właściwego określenia stopnia wykrwawienia zwierząt, a tym samym wydania odpowiedniej oceny sanitarno-weterynaryjnej wskazane jest stosowanie makroskopowego badania poubojowego tusz i narządów wewnętrznych oraz odpowiednio dobranych testów rozpoznawczych, przede wszystkim testu dyfuzji hemoglobiny wg Beutling lub próby kompresorowej, przeprowadzonych na reprezentatywnych dla tej oceny mięśniach. Potwierdzeniem tego wniosku są wyniki badań bydła i świń pochodzących z uboju przemysłowego oraz z ubojów sanitarnych, a także dostarczonych do rzeźni jako ubite w transporcie (19).

## Piśmiennictwo

1. Beutling D.: Der Hämoglobin-Diffusionstest – ein neues Schnellverfahren zum Nachweis von Blut in Fleisch. *Mh. Vet.-Med.* 1984, 39, 308-311.
2. Bünning K., Hamm R.: Über den Hämoglobin- und Myoglobingehalt der Skelettmuskulatur von Schwein und Rind. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* 1974, 155, 332-335.
3. Gerold M., Stolle A.: Elektrostimulation, Untersuchungen über den Einfluß auf den Ausblutungsgrad von Rinderschlachttierkörpern. *Fleischwirtschaft* 1994, 74, 864-867.
4. Ginger I. D., Schwaingert B. S.: Chemical studies with purified metmyoglobin. *J. Agric. Fd Chem.* 1954, 2, 1037-1040.
5. Götze U.: Elektrophoretische Untersuchungen des Meskelpreßsafftes gesunder normalgeschlachteter, notgeschlachteter und verendeter Schlachtschweine zur Bestimmung des Ausblutungsgrades im Fleisch. *Fleischwirtschaft* 1974, 54, 234-238.
6. Kotula A. W., Helbacka N. V.: Blood retained by chicken carcasses and cup-up parts as influenced by slaughter method. *Poultry Sci.* 1966, 45, 404-409.
7. Paszkiewicz W., Prost E. K.: Występowanie syndromu PSE i DFD u świń i bydła rzeźnego województwa lubelskiego. *Medycyna Wet.* 1992, 48, 409-412.
8. Paulick C. H., Stolle F. A.: Möglichkeiten einer objektiven Bestimmung und Beurteilung des Ausblutungsgrades bei Schlachttieren. *D.V.G. Arbeits. Lebensmittelhgy.* 1988, 29, 78-83.
9. Pisula A.: Wpływ zawartości barwników hemowych w mięśniach na barwę mięsa wieprzowego. *Zeszyty Nauk SGGW, Rozprawy naukowe* nr 42, Warszawa 1974.
10. Pisula A.: Separation of the meat pigment by gel filtration on sephadex. *Zeszyty Probl. Post. Nauk Rol.* 1975, 167, 115-119.
11. Radan M.: A malachite-green test for the determination of efficiency of bleeding. *Nord. Vet. Med.* 1955, 7, 564-566.
12. Reder W.: Die Feststellung des Ausblutungsgrades im Fleisch der Schlachttiere mittels Farbreaktion (Löfflerblau-Karbolfuchsin-Verfahren). *Z. Fleisch Milchhyg.* 1944, 54, 181-182.
13. Schönberg F.: Die Fließpapierprobe, ein einfaches Hilfsmittel zur Feststellung des Ausblutungs- und Wässerigkeitsgrades im Fleisch, insbesondere bei der Beurteilung von Not- und Krankschlachtungen. *Berl. Tierärztl. Wschr.* 1937, 13, 510-512.
14. Smith B. S. W.: A comparison of  $^{125}\text{I}$  and  $\text{Cr}^{51}$  for measurement of total blood volume and residual blood content of tissues in the rat; evidence for accumulation of  $\text{Cr}^{51}$  by tissues. *Clin. Chim. Acta* 1970, 27, 105-109.
15. Stolle F. A., Reuter G.: Kriterien zur Erkennung unzulässig gewonnenen Schweinefleisches. *Fleischwirtschaft* 1981, 61, 1179-1182.
16. Szkucik K.: Różnicowanie i obiektywizacja stopnia wykrwawienia jako podstawa oceny sanitarno-weterynaryjnej zwierząt rzeźnych. *Praca hab. AR Lublin* 1996.
17. Szkucik K.: Pozostałość krwi w tkankach wykrwawianych świń. *Medycyna Wet.* 1998, 54, 537-540.
18. Szkucik K.: Zależność między stopniem wykrwawienia świń a podatnością na rozkład ich mięsa. *Medycyna Wet.* 2000, 56, 452-455.
19. Szkucik K., Wojtuś A., Strawa K.: Ocena stopnia wykrwawienia zwierząt pochodzących z ubojów sanitarnych. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 327-329.
20. Toan P. V., Beutling D.: Methodische Untersuchungen zur Verkürzung der Reaktionszeit beim Hämoglobin-Diffusionstest. *Mh. Vet.-Med.* 1989, 44, 25-29.
21. Vogt S., Kirchner J., Beutling D.: Vergleichende Untersuchungen zum Nachweis des Ausblutungsgrades von Schlachttieren. *Mh. Vet.-Med.* 1984, 39, 858-861.