Znaczenie śródmięśniowej tkanki łącznej w jakości mięsa¹⁾

MAGDALENA GÓRSKA, DOROTA WOJTYSIAK

Zakład Anatomii Zwierząt, Instytut Nauk Weterynaryjnych, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt,
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Otrzymano 04.03.2016

Zaakceptowano 26.04.2016

Górska M., Wojtysiak D.

Importance of intramuscular connective tissue for meat quality

Summary

During ageing, meat undergoes many structural and biochemical changes which make it possible to obtain meat of specific taste and physico-chemical parameters. One of the most important quality parameters is meat tenderness and juiciness. This work presents the results of studies concerning the possible effect of intramuscular connective tissue (IMCT) on the final meat quality. The amount, quality and organization of this tissue depend on the type of muscle, as well as its location in the carcass and function in the body. Muscles with high amounts of IMCT are generally less tender due to a considerable collagen content. The breakdown of IMCT network increases collagen solubility and decreases the number of extracellular matrix components, which may lead to increased meat tenderness and reduced meat juiciness. However, the final meat quality is determined not only by the proportion of connective tissue in the muscle structure, the size and organization of collagen fibres, the intramuscular fat content and the total collagen level, but also by the soluble collagen content. The effect of IMCT on the final meat quality requires further research, mainly at the molecular level.

Keywords: intramuscular connective tissue, meat quality, tenderness, juiciness

Mięso definiuje się jako mięśnie szkieletowe uznane za zdatne do spożycia, które wykazują najczęściej budowę heterogenną, ponieważ składają się z kilku typów włókien mięśniowych uporządkowanych w wiązki. Ważnym elementem mięśni szkieletowych jest śródmięśniowa tkanka łączna (intramuscular connective tissue; IMCT), tworząca zrąb łącznotkankowy mięśni. Morfologia, skład i ilość IMCT różnią się w sposób znaczący pomiędzy gatunkami, rasami, płcią, wiekiem czy typem mięśnia zwierząt (23).

Jakość mięsa oznacza wszystkie istotne cechy determinujące jego wartość użytkową i odżywczą dla konsumenta, które kształtują się przez cały okres życia zwierząt. Do najważniejszych z nich należą: kruchość, barwa, smak, soczystość oraz zapach. Badania ostatnich lat jednoznacznie dowodzą, że zawartość IMCT wpływa na jakość mięsa i produktów mięsnych, w tym na takie parametry sensoryczne mięsa, jak: tekstura (kruchość i twardość) oraz soczystość (2, 23). Celem niniejszego artykułu jest prezentacja struktury, właściwości i roli IMCT, jaką pełni ona w kształtowaniu jakości mięsa.

¹⁾ Badania zrealizowane w ramach tematu nr BM-4246/2015 i DS-3253 zostały sfinansowane z dotacji na naukę przyznanej przez MNiSW.

Skład, struktura i funkcja IMCT

IMCT stanowi niewielki procent całej masy mięśniowej, jednak jej ilość, skład oraz rozmieszczenie powodują powstawanie najbardziej zmiennych różnic fenotypowych pomiędzy mięśniami tusz zwierzęcych (25). W formowaniu i stabilizacji struktury IMCT uczestniczy tzw. macierz pozakomórkowa (extracellular matrix; ECM), której cząsteczki można podzielić na trzy główne klasy: kolageny, proteoglikany (proteoglycans; PGs) i glikoproteiny (glycoproteins; GPs) (16, 17). Zawartość IMCT określa się na podstawie ilości kolagenu, który stanowi ponad 95% wszystkich białek łącznotkankowych w mięśniach szkieletowych (4).

Kolagen jako główne białko IMCT pełni szczególną funkcję w mięśniach zwierząt, która sprowadza się do zapewnienia strukturalnej odporności mechanicznej. Wśród różnych typów genetycznych kolagenu znaczną jego część w mięśniach szkieletowych stanowi typ I (70-80%) i typ III (10-20%) (10), w porównaniu z kolagenem typu IV, V, VI, XII, XIV, XV i XIX, który znajduje się w niewielkiej ilości, nieprzekraczającej 1% (31). W skład ECM wchodzi również PGs i GPs. Pierwsze z nich stanowią w dużym stopniu glikolizowane białka, które

Ryc. 1. Przekrój poprzeczny przez *m. semimembranosus* świni rasy złotnicka pstra w 210. dniu życia: A, B – elektronogram (SEM); C – reakcja immunohistochemiczna na obecność kolagenu typu I-V; E – *endomysium*; P – *perimysium*. Skala 50 μm (33)

odgrywają ważną rolę w stabilizacji włókien kolagenowych (26). Szczególnie interesującym przykładem PGs zaliczanego do grupy małych proteoglikanów zasobnych w leucynę (small leucine-rich proteoglycans; SLRPs) jest dekoryna, która została zidentyfikowana w IMCT (25). Zdaniem wielu autorów dekoryna pełni ważną rolę czynnościową i regulatorową w warunkach *in vivo*. Dekoryna wiążąc się z transformującym czynnikiem wzrostu β (transforming growth factor β ; TGF- β), odpowiedzialnym za ekspresję genów ECM, proteinaz i inhibitorów, hamuje jego aktywność (34). Ponadto odgrywa istotną funkcję w tworzeniu ECM, bowiem jako struktura stabilna poubojowo łączy włókna kolagenowe typu I oraz otacza kolagen, chroniąc go przed proteolizą (2, 16, 27, 35). Trzecią główną klasą ECM są GPs, które stanowią białka niekolagenowe odpowiedzialne za powstawanie połączeń pomiędzy włóknami mięśniowymi a ECM. Posiadają one trzy typy struktur: jedna łączy się z białkami adhezyjnymi komórek (integrynami), druga z włóknami kolagenowymi, a trzecia z PGs (8).

Z konstrukcyjnego punktu widzenia można wyróżnić trzy rodzaje IMCT, takie jak: śródmięśna (*endomysium*), omięśna (*perimysium*) i namięśna (*epimysium*) (ryc. 1), różniące się zasadniczo pod względem składu i budowy (17, 29). Pierwszy rodzaj IMCT zwany *endomysium* budują kolageny typu I, III, IV i V (21). *Endomysium* jako cienka warstwa tkanki łącznej ma za zadanie otaczać pojedyncze włókna mięśniowe. Z kolei warstwa obejmująca poszczególne wiązki włókien mięśniowych i zawierająca liczne komórki tłuszczowe oraz naczynia krwionośne jest nazywana *perimysium* (23). *Perimysium* zbudowane z kolagenu typu I, III, IV, V, VI i XII (22) stanowi w przybliżeniu 90% całkowitej zawartości IMCT i odgrywa ważną rolę w teksturze mięsa (10). Natomiast mięśnie szkieletowe są otoczone przez zwartą, wytrzymałą i oporną na rozciąganie oraz rozpuszczanie tkanką łączną

zewnątrzną, która nosi nazwę *epimysium* (32). W jej skład wchodzi kolagen typu I. Wraz z tkanką łączną do namięśnej wnikają naczynia krwionośne i włókna nerwowe. Z uwagi na fakt, iż *epimysium* jest trudne do spożycia, zostaje usunięte z mięśni pośmiertnie (14). Stąd też badanie zrębu łącznotkankowego w odniesieniu do parametrów fizykochemicznych mięsa ogranicza się do dwóch struktur IMCT, a mianowicie *endomysium* i *perimysium*.

IMCT pełni wiele istotnych funkcji, bowiem przylegając do wiązek włókien mięśniowych, zapewnia rusztowanie struktury mięśni i ochronę przed ich odkształceniem w czasie skurczu. Ponadto daje możliwość uzyskania połączeń zarówno pomiędzy poszczególnymi włóknami mięśniowymi, jak i między sąsiednimi włóknami mięśniowymi a niewielkimi naczyniami krwionośnymi i nerwami. Pozwala to na zapewnienie spójności, elastyczności i wytrzymałości mechanicznej (25). IMCT stanowi również miejsce odkładania się tkanki tłuszczowej.

Rola IMCT w kształtowaniu tekstury i soczystości mięsa

Rozwój mięśni szkieletowych jest wysoce zorganizowanym procesem, regulowanym przez skomplikowane interakcje między włóknami mięśniowymi a ECM. W okresie rozwoju zarodkowego ECM odgrywa ważną rolę w regulacji namnażania się komórek mięśniowych, poprzez modulację aktywności czynników wzrostu lub przez bezpośredni udział w sygnalizacji komórkowej. Znaczenie ECM dotyczy nie tylko rozwoju mięśni szkieletowych, ale także przemian mięśni po uboju (16). W tym czasie zmiany zachodzące w tkance mięśniowej dotyczą głównie przemian biochemicznych, których wynikiem jest wystąpienie stężenia pośmiertnego i procesu tenderyzacji, czyli dojrzwiania mięsa. Wówczas mają miejsce istotne modyfikacje właściwości IMCT, jak i struktury włókien

mięśniowych, będące efektem endogennej proteolizy. Do objawów rozpadu tkanki łącznej po uboju można zaliczyć: zwiększającą się rozpuszczalność kolagenu oraz zmiany dotyczące właściwości mechanicznych *perimysium* i składu PGs (20).

Na różnice w kruchości mięsa może wpływać szereg czynników, takich jak: gatunek zwierzęcia, płeć, warunki środowiskowe, aktywność enzymów, zawartość miofibrili, tłuszczu śródmięśniowego oraz ilość IMCT. Nawet niewielkie różnice w składzie IMCT mogą mieć znaczący wpływ na kruchość mięsa (23), która jest uznawana przez konsumentów za najważniejszy parametr mięsa określający jego jakość. Pomimo że w tkance mięśniowej znajduje się niewiele kolagenu, zdaniem Janickiego i Buzafy (7), określone jego typy mogą odgrywać istotną rolę w kształtowaniu jakości mięsa. Do takich w szczególności należy kolagen typu III, który jest bardzo podatny na działanie proteaz, natomiast kolagen typu XII i XIV zmniejsza rozpuszczalność kolagenu, a tym samym kruchość mięsa (2).

Zróznicowanie w strukturze IMCT może również wywierać wpływ na kruchość mięsa. Na podstawie aktualnych danych piśmiennictwa stwierdzono ujemną korelację między grubością *endomysium* a kruchością mięsa w *m. pectoralis* u drobiu (1) oraz dodatnią korelację u świń, w takich mięśniach, jak: *m. biceps femoris*, *m. semimembranosus*, *m. quadriceps femoris* i *m. longissimus dorsi* (9). W *perimysium* znajduje się ponad 90% kolagenu. Wyniki Lewisa i Pursłowa (11) sugerują, że ta struktura IMCT posiada duży wpływ na kruchość mięsa. Zdaniem Astruca (2), *perimysium* ulega znaczącym modyfikacjom w przedziale 60-70°C z powodu rozpuszczania cząsteczek kolagenu do amorficznej struktury, czego następstwem są zmiany kruchości mięsa. Ponadto, rozbieżności w kruchości różnych mięśni tej samej tuszy zwierzęcej można głównie łączyć z ilością i grubością *perimysium* w mięśniach (3). *Perimysium* o większej grubości wiąże się ze zmniejszoną kruchością mięsa (28).

IMCT stanowi istotny czynnik kształtujący teksturę mięsa. O kruchości mięsa decyduje jednak nie tyle udział tkanki łącznej w strukturze mięśni czy też poziom kolagenu ogólnego, ale przede wszystkim zawartość kolagenu rozpuszczalnego (33). Listrat i Hocquette (13) zaobserwowali również pozytywny wpływ zawartości kolagenu rozpuszczalnego na poprawę kruchości, objawiającą się polepszeniem tekstury mięsa poprzez zatrzymywanie wody w czasie obróbki cieplnej. Należy podkreślić, że na wartość kruchości mięsa (siła cięcia) wpływa także rozmiar i organizacja włókien kolagenowych stanowiących IMCT. *Perimysium* utworzone ze ściśle ułożonych względem siebie włókien kolagenowych odznacza się wysokimi wartościami siły cięcia (18), co może tłumaczyć obserwowane w badaniach Wojtysiak (33) wysokie wartości siły cięcia w 45. minucie po uboju. Rozluźnieniu organizacji włókien kolagenowych IMCT towarzyszy natomiast spadek wartości siły cięcia (33).

Zdaniem Lewisa i wsp. (12) oraz Pursłowa (23) zmiany strukturalne IMCT, jakie zachodzą pośmiertnie, nie mają bezpośredniego wpływu na twardość i kruchość mięsa po ogrzaniu do temperatury 60°C i wyższej. W ciągu ostatnich lat Pursłow (24) zaproponował nową hipotezę wyjaśniającą interakcję pomiędzy procesem dojrzewania i gotowania mięsa a kształtowaniem się twardości IMCT. Przypuszcza się, że w IMCT występują dwie grupy cząsteczek kolagenu, gdzie pierwsza z nich cechuje się dużą wrażliwością, a z kolei druga znaczną opornością na procesy zachodzące w mięsie.

Dotychczas nie była znana rola PGs w kruchości mięsa. Nishimura i wsp. (19) wykazali, że ilość PGs w *m. semitendinosus* u bydła zmniejsza się po uboju, co prowadzi w ostateczności do destrukcji IMCT. Zdaniem autorów, degradacja PGs przyczynia się do wzrostu kruchości mięsa (2, 19, 30), jednak obecność dekoryny, ważnego proteoglikanu zarówno w *perimysium*, jak i *endomysium*, może stabilizować strukturę IMCT w mięśniach, chroniąc ją przed rozpadem podczas wczesnych etapów dojrzewania mięsa (16). Z kolei wraz z wydłużeniem okresu przechowywania obserwuje się istotny spadek poziomu tego białka, co najprawdopodobniej wpływa na usieciowanie włókien kolagenowych – głównych składników IMCT.

Podczas rozwoju mięśni szkieletowych PGs są zaangażowane w szereg różnych procesów, w tym nawodnienie tkanek i zdolność wiązania wody (30). Velleman (30) postawił hipotezę, że zmniejszenie ilości proteoglikanów prowadzi do niższej zdolności wiązania wody, a tym samym mniejszej soczystości mięsa. Wysoka możliwość przyjmowania i wiązania wody w mięsie występuje bezpośrednio po uboju oraz po zakończeniu procesu dojrzewania (co najmniej po 24 h). Dubost i wsp. (5) po raz pierwszy wykazali bezpośredni udział PGs w soczystości mięsa wołowego. Analizując mikrostrukturę *m. longissimus thoracis* i *m. semimembranosus* gotowanych w 55°C oraz *m. biceps femoris* i *m. semimembranosus* w 70°C autorzy odnotowali, że PGs w *m. longissimus thoracis* nie wpłynęły na cechy sensoryczne jakości mięsa, w porównaniu do PGs w *m. semimembranosus*, które były zaangażowane w jakość mięsa wołowego. Wyniki te posłużyły jako dowód, że na zdolność wiązania wody przez PGs istotnie wpływa temperatura ogrzewania i rodzaj mięśnia.

Podsumowanie

W czasie dojrzewania mięsa wykształcają się pożądane cechy świadczące o jego przydatności technologicznej i konsumpcyjnej. Następstwem tego procesu jest rozpad trzech rodzajów IMCT, który powoduje na ogół wzrost rozpuszczalności kolagenu i zmniejszenie ilości składników ECM, w tym PGs. Na podstawie aktualnych danych piśmiennictwa stwierdzono, że IMCT może istotnie wpływać na końcową jakość mięsa, kształtując takie cechy sensoryczne mięsa, jak:

kruchość oraz soczystość. Rozluźnieniu organizacji włókien kolagenowych IMCT towarzyszy spadek kruchości mięsa, a degradacja PGs przyczynia się do wzrostu kruchości mięsa i spadku jego soczystości. Dodatkowo wraz z wydłużeniem okresu przechowywania obserwuje się istotny spadek poziomu ważnego PG o nazwie dekoryna, co najprawdopodobniej wpływa na usieciowanie włókien kolagenowych, destabilizując strukturę IMCT w mięśniach.

O końcowej jakości mięsa decydują nie tylko udział IMCT w strukturze mięśni, wielkość i organizacja włókien kolagenowych, zawartość tłuszczu śródmięśniowego czy też poziom kolagenu ogólnego, ale także zawartość kolagenu rozpuszczalnego. Aktualnie wykazano pozytywny wpływ ilości kolagenu rozpuszczalnego na poprawę kruchości mięsa, objawiającą się polepszeniem tekstury mięsa poprzez zatrzymywanie wody w czasie obróbki cieplnej.

Dotychczasowe badania naukowe dostarczyły interesujących informacji w celu wyjaśnienia struktury, właściwości i roli IMCT w kształtowaniu końcowej jakości mięsa. Pomimo że jej znaczenie staje się coraz powszechniej rozumiane, procesy kształtujące cechy sensoryczne mięsa (tekstura i soczystość) są wciąż skomplikowane i wieloczynnikowe, gdyż wynikają ze specyfiki nie tylko tkanki łącznej i włókien mięśniowych, lecz także interakcji pomiędzy nimi.

Piśmiennictwo

- An J. Y., Zheng J. X., Li J. Y., Zeng D., Qu L. J., Xu G. Y., Yang N.: Effect of myofiber characteristics and thickness of perimysium and endomysium on meat tenderness of chickens. *Poult. Sci.* 2010, 89, 1750-1754.
- Astruc T.: Connective tissue: structure, function, and influence on meat quality. *Encyclopedia of Meat Sci.* 2014, 1, 321-328.
- Blicharski T. (red.): Aktualna wartość dietetyczna wieprzowiny, jej znaczenie w diecie i wpływ na zdrowie konsumentów. Polski Związek Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej POLSUS, Warszawa 2013, s. 24-36.
- Dąbrowska E., Jankowska B., Kwiatkowska A., Cierach M.: Zawartość kolagenu w mięśniach tylnej ćwierćtuszy wołowej. *Inż. Ap. Chem.* 2011, 50, 18-19.
- Dubost A., Micol D., Picard B., Lethias C., Andueza D., Bauchart D., Listrat A.: Structural and biochemical characteristics of bovine intramuscular connective tissue and beef quality. *Meat Sci.* 2013, 95, 555-561.
- Fosang A. J., Hardingham T. E.: Matrix Proteoglycans, [w:] Comper W. D. (red.): *Extracellular Matrix*. T. 2., Harwood Academic Publishers, Amsterdam 1996, s. 200-229.
- Janicki B., Buzala M.: Wpływ kolagenu na jakość technologiczną mięsa. *Zywn. Nauk. Technol. Ja.* 2013, 2, 19-29.
- Krzyżanowska-Goląb D., Lemańska-Perek A., Kątnik-Prastowska I.: Fibronektyna jako aktywny składnik macierzy pozakomórkowej. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2007, 61, 655-663.
- Lachowicz H. K., Závěť A. K., Maryško M., Vinai F.: Magnetic phases in nanogranular Co-Cu structures. *J. Magn. Magn. Mater.* 2004, 272-276, 1521-1523.
- Lepetit J.: A theoretical approach of the relationships between collagen content, collagen crosslinks and meat tenderness. *Meat Sci.* 2007, 76, 147-159.
- Lewis G. J., Purslow P. P.: Connective tissue differences in the strength of cooked meat across the muscle fibre direction due to test specimen size. *Meat Sci.* 1990, 28, 183-194.
- Lewis G. J., Purslow P. P., Rice A. E.: The effect of conditioning on the strength of perimysial connective tissue dissected from cooked meat. *Meat Sci.* 1991, 30, 1-12.
- Listrat A., Hocquette J. F.: Analytical limits of total and insoluble collagen content measurements and of type I and III collagen analysis by electrophoresis in bovine muscles. *Meat Sci.* 2004, 68, 127-136.
- Nakamura Y. N., Iwamoto H., Ono Y., Shiba N., Nishimura S., Tabata S.: Relationship among collagen amount, distribution and architecture in the M. longissimus thoracis and M. pectoralis profundus from pigs. *Meat Sci.* 2003, 64, 43-50.
- Nakano T., Li X., Sunwoo H. H., Sim J. S.: Immunohistochemical localization of proteoglycans in bovine skeletal muscle and adipose connective tissues. *Canadian J. Anim. Sci.* 1997, 77, 169-172.
- Nishimura T.: Role of extracellular matrix in development of skeletal muscle and postmortem aging of meat. *Meat Sci.* 2015, 109, 48-55.
- Nishimura T.: The role of intramuscular connective tissue in meat texture. *J. Anim. Sci.* 2010, 81, 21-27.
- Nishimura T., Fang S., Wakamatsu J., Takahashi K.: Relationships between physical and structural properties of intramuscular connective tissue and toughness of raw pork. *J. Anim. Sci.* 2009, 80, 85-90.
- Nishimura T., Hattori A., Takahashi K.: Relationship between degradation of proteoglycans in basement membrane and intramuscular connective tissue of bovine semitendinosus muscle. *Acta Anat.* 1996a, 155, 257-265.
- Nishimura T., Ojima K., Liu A., Hattori A., Takahashi K.: Structural changes in the intramuscular connective tissue during development of bovine semitendinosus muscle. *Tissue Cell* 1996b, 28, 527-536.
- Passerieux E., Rossignol R., Chopard A., Carnino A., Marini J. F., Letellier T., Delage J. P.: Structural organization of the perimysium in bovine skeletal muscle: functional plates and associated intracellular subdomains. *J. Struct. Biol.* 2006, 154, 206-216.
- Petibois C., Gouspillou G., Wehbe K., Delage J. P., Dèlèris G.: Analysis of type I and IV collagens by FT-IR spectroscopy and imaging for a molecular investigation of skeletal muscle connective tissue. *Anal. Bioanal. Chem.* 2006, 386, 1961-1966.
- Purslow P. P.: Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Sci.* 2005, 70, 435-447.
- Purslow P. P.: New developments on the role of intramuscular connective tissue in meat toughness. *Annu. Rev. Food Sci. T.* 2014, 5, 133-153.
- Purslow P. P.: The structure and functional significance of variations in the connective tissue within muscle. *Comp. Biochem. Physiol. A* 2002, 133, 947-966.
- Scott J. E., Thomlinson A. M.: The structure of interfibrillar proteoglycan bridge ('shape modules') in extracellular matrix of fibrous connective tissues and their stability in various chemical environments. *J. Anat.* 1998, 192, 391-405.
- Suzuki K., Kishioka Y., Wakamatsu J., Nishimura T.: Decorin activates akt down stream of IGF-IR and promotes myoblast differentiation. *J. Anim. Sci.* 2013, 84, 669-674.
- Swatland H. J., Gullett E., Hore T., Battenham S.: UV fiber-optic probe measurements of connective tissue in beef correlated with taste panel scores for chewiness. *Food Res. Int.* 1995, 28, 23-30.
- Turrina A., Martinez-González M. A.: The muscular force transmission system: Role of the intramuscular connective tissue. *J. Bodyw. Mov. Ther.* 2013, 17, 95-102.
- Velleman S. G.: Meat science and muscle biology: Extracellular matrix regulation of skeletal muscle formation. *J. Anim. Sci.* 2012, 90, 936-941.
- Voermans N. C., Bönnemann C. G., Huijijng P. A.: Clinical and molecular overlap between myopathies and inherited connective tissue diseases. *Neuromuscular Disord.* 2010, 18, 843-856.
- Weston A. R., Rogers R. W., Althen T. G.: Review: the role of collagen in meat tenderness. *Prof. Anim. Sci.* 2002, 18, 107-111.
- Wojtyśiak D.: Effect of breed on microstructure and tenderness of porcine semimembranosus muscle. *Ann. Anim. Sci.* 2014, 14, 697-705.
- Yang B., Yang B. L., Savari R. C., Turley E. A.: Identification of a common hyaluronan binding motif in the hyaluronan binding proteins RHAMM, CD44 and link protein. *EMBOJ.* 1994, 13, 286-296.
- Zhu J., Li Y., Shen W., Qiao C., Ambrosio F., Lavasani M., Nozaki M., Branca M. F., Huard J.: Relationships between transforming growth factor-β1, myostatin, and decorin: implications for skeletal muscle fibrosis. *J. Biol. Chem.* 2007, 282, 25852-25863.

Adres autora: mgr inż. Magdalena Górka, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków; e-mail: m.gorska@ur.krakow.pl