

KRZYSZTOF KRZYSZTOFORSKI, TADEUSZ KOŁCZAK

## WPLYW TEMPERATURY OGRZEWANIA I STĘŻENIA SOLI NA AKTYWNOŚĆ AMINOTRANSFERAZ ASPARAGINIANOWEJ I ALANINOWEJ W MIĘSIE WIEPRZOWYM

### Streszczenie

Celem pracy było zbadanie wpływu ogrzewania do temperatur w zakresie 65°C–80°C i czasu dogrzewania w danej temperaturze oraz dodatku soli i azotynu sodu na aktywność enzymów GOT i GPT w rozdrobnionej masie mięsnej. Stwierdzono, że wszystkie analizowane czynniki miały istotny wpływ na aktywność obu enzymów, jednakże najsilniejszy wpływ miała temperatura ogrzewania. Pomiar aktywności GPT i GOT mogą być użyte jako wskaźniki dojrzenia drobnorozdrobnionej masy mięsnej, odpowiednio do temperatury wyższej niż 70°C, i wyższej niż 75°C.

### Wstęp

Szybkość ogrzewania produktów mięsnych, jak i czas obróbki cieplnej mają wpływ na aktywność enzymów w gotowym wyrobie. Wiele z nich było ocenianych jako potencjalne wskaźniki efektywności obróbki cieplnej mięsa i przetworów mięsnych [14]. Przykładem enzymów stosowanych do tego celu były m.in.: fosfatazy [9, 16], peroksydaza [10], dehydrogenaza mleczanowa [1, 3], kinaza pirogronianowa [5] i aminotransferazy asparaginianowa (EC 2.6.1.1.) – GOT [11, 12, 13, 15] i alaninowa (EC 2.6.1.2.) – GPT [15]. Ich testowe wykorzystanie opiera się na znanej zależności zmniejszania aktywności enzymatycznej ze wzrostem temperatury, w zakresie wyższym od optymalnej.

Od dawna wiadomo o istnieniu znacznych ilości GOT i GPT w tkance mięśniowej [2, 4, 7]. Kormendy i wsp.[8] oraz Hamm i wsp. [7] rozróżnili mitochondrialny i sarkoplazmatyczny izoenzym GOT w mięśniach szkieletowych świń i bydła. Badania nad przechowywaniem próbek mięsa w temperaturze 0–4°C przez okres kilku tygodni po uboju zwierzęcia, wykazały bardzo niewielki spadek aktywności enzymatycznej

GOT [15]. Jak sugerował Hamm [6] GOT jest stosunkowo ciepłostabilna i nie może być użyta jako wskaźnik temperatury pasteryzacji produktów mięsnych. Podobne wyniki uzyskali Townsend i Davis [15] mierząc aktywność GOT i GPT w próbkach mielonej wołowiny ogrzewanych do temperatury 71°C, natomiast znaczny spadek aktywności GOT i w mniejszym stopniu GPT, obserwowali w próbkach ogrzewanych do temperatury 79°C. Senter i wsp.[13] wykazali, że aktywność GOT zależy w dużej mierze od wielkości próbki poddanej ogrzewaniu i temperatury ogrzewania mięsa wołowego. Inne badania [11, 12] potwierdzają natomiast przydatność pomiaru GOT jako wskaźnika dogrzania produktów mięsnych, jednak składniki dodawane do farszów mięsnych mogą mieć wpływ na aktywność niektórych enzymów w procesie ogrzewania mięsa. Istnieją więc różnice w ocenie przydatności pomiaru GOT i GPT do oceny temperatury ogrzewania mięsa.

Celem pracy było zbadanie wpływu ogrzewania do temperatury w zakresie 65°C–80°C i czasu dogrzewania w danej temperaturze oraz dodatku soli i azotynu sodu na aktywność GOT i GPT w rozdrobnionej masie mięsnej.

### **Material badawczy i metody badań**

Przedmiotem badań był mięsień najdłuższy grzbietu (*m. longissimus dorsi*) świń pobierany z miejscowych zakładów mięsnych. Doświadczenie przeprowadzono w pięciu grupach doświadczalnych: I – grupa kontrolna, bez dodatków; II – dodatek 1% NaCl; III – dodatek 2% NaCl; IV – dodatek 3% NaCl; V – dodatek 2% mieszanki peklującej o składzie: 1 kg NaCl + 4g NaNO<sub>2</sub>.

Z mięśnia oddzielano widoczną tkankę łączną i tłuszczową, następnie rozdrabniano w maszynce do mięsa przez siatkę o średnicy oczek 3 mm.

Wstępnie rozdrobnioną masę mięsną kutrowano wraz z dodatkami przy użyciu kutra typu UMC-5 firmy Stephan. Mięso kutra chłodzono mieszaniną wody z glikolem. Podczas kutrowania kontrolowano temperaturę masy mięsnej, która nie przekraczała 10°C. Wykutrowany farsz mięsny przetrzymywano przez okres 1 godziny w temperaturze pokojowej.

Następnie farszem napełniano próbówki polipropylenowe o średnicy 20 mm i wysokości 110 mm. Napełnianie prowadzono przy użyciu nadziewarki firmy Szevafen (Węgry). Probówki dzielono na cztery grupy i poddawano oddzielnie ogrzewaniu w łaźni wodnej do temperatury wewnętrznej farszu: 65°C, 70°C, 75°C i 80°C. Temperatura łaźni wodnej była o 1°C wyższa od temperatury dogrzania farszu. Po uzyskaniu określonej temperatury dwie próbówki z farszem wyjmowano i przerywano proces ogrzewania przez schłodzenie, natomiast na dwóch dalszych kontynuowano ogrzewanie w danej temperaturze przez okres 20 minut, po czym próbówki schładzano w bie-

żącej wodzie. Temperaturę farszów mierzono przy użyciu termopar aparatu Ellab CTF 84 (Dania).

Z każdej próbki pobierano 5 g masy mięsnej celem sporządzenia wodnego ekstraktu, który otrzymywano dodając do masy mięsnej 9 objętości schłodzonej wody destylowanej. Mieszaninę homogenizowano przez 2 minuty przy szybkości 8000 obr./min. noża homogenizatora typu MPW 120. Homogenat wirowano w wirówce K 24 D firmy Janetzky w temperaturze 4°C przy 12000g przez okres 10 minut.

Otrzymany supernatant sączone przez bibułę filtracyjną Whatman 1 otrzymując podstawowy ekstrakt wodny. W zależności od oczekiwanej aktywności enzymów, ekstrakt rozcieńczano maksymalnie 500-krotnie. W rozcieńczonych ekstraktach oznaczano aktywność GOT i GPT metodą statyczną przy użyciu zestawu odczynników firmy „Aqua-Med”, o numerach katalogowych odpowiednio 0035 i 0025. Aktywność enzymów wyrażono w jednostkach RF (Reitmana Fränkela). Doświadczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Wyniki poddano analizie statystycznej, obliczając wartości średniej arytmetycznej i błąd standardowy średniej, a także najmniejszą istotną różnicę między średnimi przy  $P < 0,05$ . Wpływ badanych czynników na aktywność obu enzymów oceniono przy użyciu trójczynnikowej analizy wariancji. Obliczenia statystyczne przeprowadzono przy użyciu programu STATGRAF wersja 3.0.

## Wyniki badań i dyskusja

Wyniki pomiarów aktywności GOT podano w Tabeli 1, natomiast wyniki analizy wariancji w tabeli 3.

Wszystkie analizowane czynniki miały istotny wpływ na aktywność GOT, najsilniejszy wpływ miała temperatura ogrzewania, ze wzrostem której malała aktywność enzymu.

Istotny wpływ na aktywność GOT w masie mięsnej ogrzewanej w temperaturach 75°C i 80°C, odgrywał również czas ogrzewania. Bardzo duży spadek aktywności GOT wystąpił przy ogrzewaniu do temperatury wyższej niż 75°C. Jeżeli przy ogrzewaniu do temperatur 65°C i 70°C czas ogrzewania nie miał wpływu na aktywność GOT, to w temperaturze 75°C dłuższy czas ogrzewania powodował znaczny spadek aktywności enzymu. Aktywność enzymu w masie mięsnej ogrzewanej w temperaturze 80°C przez 20 minut była bliska zeru.

Dodatek soli i mieszanki peklującej miał również istotny wpływ na aktywność GOT. Przy ogrzewaniu do temperatury wyższej niż 70°C dodatek soli w ilości 2% i 3% oraz dodatek mieszanki peklującej, powodowały większe obniżenie aktywności GOT w masie mięsnej, w porównaniu z grupą kontrolną i z grupą z 1% dodatkiem

NaCl. Porównując aktywność GOT w próbkach mięsa zawierających dodatek 2% NaCl można zauważyć, że w większości grup dodatek azotynu sodu działał stabilizująco na aktywność enzymu.

Ogrzewanie masy mięsnej do temperatury 80°C, powodowało prawie całkowitą inaktywację GOT. Niezależnie od czasu ogrzewania pomiar aktywności GOT w masie mięsnej ogrzewanej do temperatury wyższej niż 75°C, może służyć jako dokładny wskaźnik dogrzenia masy mięsnej.

Tabela 1

Wpływ temperatury, czasu ogrzewania w danej temperaturze oraz dodatku soli lub mieszanki peklującej na aktywność aminotransferazy asparaginianowej (GOT) rozdrobnionego mięsa wieprzowego w jednostkach RF [ $\times 10^5$ ]

Grupa	Czas ogrzewania <sup>a)</sup> [min]	Temperatura ogrzewania				NIR <sup>b)</sup>
		65°C	70°C	75°C	80°C	
I - kontrolna	0	1,49±0,05	1,48±0,05	1,36±0,06	0,21±0,11	0,24
	20	1,56±0,11	1,46±0,06	0,58±0,11	0,02±0,02	0,29
II - dodatek 1% NaCl	0	1,55±0,07	1,55±0,08	1,35±0,05	0,12±0,01	0,20
	20	1,53±0,05	1,57±0,01	0,40±0,02	0,12±0,01	0,11
III - dodatek 2% NaCl	0	1,35±0,02	1,35±0,02	0,79±0,13	0,06±0,03	0,23
	20	1,33±0,05	1,29±0,04	0,27±0,04	0,00±0,00	0,12
IV - dodatek 3% NaCl	0	1,67±0,05	1,57±0,06	0,82±0,12	0,05±0,03	0,22
	20	1,66±0,03	1,45±0,06	0,17±0,01	0,00±0,00	0,12
V - dodatek 2% mieszanki peklującej	0	1,73±0,04	1,58±0,05	1,08±0,07	0,10±0,03	0,17
	20	1,71±0,04	1,54±0,03	0,21±0,03	0,05±0,03	0,11

<sup>a)</sup> - czas ogrzewania w minutach po osiągnięciu przez próbkę określonej temperatury dogrzewania.

<sup>b)</sup> - najmniejsza istotna różnica między średnimi przy  $P < 0,05$ .

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy, są zgodne z badaniami Townsend'a i Davis'a [15], którzy badali aktywność enzymu w ekstraktach mielonego mięsa wołowego ogrzewanego z różną szybkością do temperatury 79°C.

Wyniki pomiarów aktywności GPT podano w Tabeli 2, natomiast wyniki analizy wariancji przedstawiono w Tabeli 4.

Aktywność GPT wyrażona w jednostkach RF była zbliżona do aktywności GOT podanej w tych samych jednostkach. Wyniki analizy wariancji wykazały wysoko istotny wpływ wszystkich analizowanych czynników oraz interakcji pomiędzy temperaturą a czasem ogrzewania na aktywność GPT w mięsie.

Tabela 2

Wpływ temperatury, czasu ogrzewania w danej temperaturze oraz dodatku soli lub mieszanki peklującej na aktywność aminotransferazy alaninowej (GPT) rozdrobnionego mięsa wieprzowego w jednostkach RF [  $\times 10^5$  ]

Grupa	Czas ogrzewania <sup>a)</sup> [min]	Temperatura ogrzewania				NIR <sup>b)</sup>
		65° C	70° C	75° C	80° C	
I - kontrolna	0	2,01±0,08	1,32±0,02	0,42±0,04	0,12±0,06	0,18
	20	1,70±0,05	0,90±0,08	0,11±0,02	0,15±0,03	0,18
II - dodatek 1% NaCl	0	2,02±0,05	1,72±0,02	0,29±0,04	0,09±0,05	0,14
	20	2,04±0,03	0,48±0,05	0,07±0,04	0,05±0,02	0,12
III - dodatek 2% NaCl	0	1,93±0,04	1,55±0,05	0,25±0,03	0,12±0,03	0,13
	20	1,86±0,06	0,59±0,03	0,06±0,03	0,05±0,02	0,13
IV - dodatek 3% NaCl	0	1,99±0,07	1,64±0,04	0,13±0,04	0,02±0,02	0,15
	20	1,73±0,02	0,39±0,01	0,03±0,03	0,04±0,04	0,10
V - dodatek 2% mieszanki peklującej	0	1,96±0,05	1,43±0,09	0,13±0,01	0,04±0,02	0,17
	20	1,77±0,02	0,39±0,05	0,07±0,03	0,02±0,02	0,28

<sup>a)</sup> - czas ogrzewania w minutach po osiągnięciu przez próbkę określonej temperatury dogrzewania.

<sup>b)</sup> - najmniejsza istotna różnica między średnimi przy  $P < 0,05$ .

Tabela 3

Analiza wariancji aktywności GOT w masie mięsnej w zależności od temperatury ogrzewania, czasu ogrzewania w danej temperaturze oraz dodatku soli

Rodzaj zmienności	Liczba stopni swobody	Suma kwadratów odchyień	Średni kwadrat odchyień	F
Ogólna	119	5160,00·10 <sup>8</sup>		
Temperatura ogrzewania	3	4440,00·10 <sup>8</sup>	1480,00·10 <sup>8</sup>	1644,44**
Czas ogrzewania	1	130,00·10 <sup>8</sup>	130,00·10 <sup>8</sup>	144,44**
Dodatek soli	4	80,00·10 <sup>8</sup>	20,00·10 <sup>8</sup>	22,22**
Interakcja : temperatura x czas ogrzewania	3	290,00·10 <sup>8</sup>	90,00·10 <sup>8</sup>	100,00**
Temperatura x dodatek soli	12	410,00·10 <sup>8</sup>	30,00·10 <sup>8</sup>	33,33**
Czas ogrzewania x dodatek soli	4	2,00·10 <sup>8</sup>	0,50·10 <sup>8</sup>	0,55*
Temperatura ogrzewania x czas ogrzewania x dodatek soli	2	20,00·10 <sup>8</sup>	10,00·10 <sup>8</sup>	11,11**
Błąd	90	80,00·10 <sup>8</sup>	0,90·10 <sup>8</sup>	

\*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$

Tabela 4

Analiza wariancji aktywności GPT w masie mięsnej w zależności od temperatury ogrzewania, czasu ogrzewania w danej temperaturze oraz dodatku soli

Rodzaj zmienności	Liczba stopni swobody	Suma kwadratów odchyłeń	Średni kwadrat odchyłeń	F
Ogólna	119	7580,00·10 <sup>8</sup>		
Temperatura ogrzewania	3	6640,00·10 <sup>8</sup>	2210,00·10 <sup>8</sup>	4420,00**
Czas ogrzewania	1	330,00·10 <sup>8</sup>	330,00·10 <sup>8</sup>	660,00**
Dodatek soli	4	20,00·10 <sup>8</sup>	7,00·10 <sup>8</sup>	14,00**
Interakcja: temperatura x czas ogrzewania	3	420,00·10 <sup>8</sup>	140,00·10 <sup>8</sup>	280,00**
Temperatura x dodatek soli	12	10,00·10 <sup>8</sup>	1,00·10 <sup>8</sup>	2,00*
Czas ogrzewania x dodatek soli	4	7,00·10 <sup>8</sup>	1,00·10 <sup>8</sup>	2,00*
Temperatura ogrzewania x czas ogrzewania x dodatek soli	2	70,00·10 <sup>8</sup>	30,00·10 <sup>8</sup>	60,00**
Błąd	90	50,00·10 <sup>8</sup>	0,50·10 <sup>8</sup>	

\* P<0,05; \*\* P<0,01

Aktywność GPT, niezależnie od czasu ogrzewania oraz ilości dodanej soli, systematycznie malała wraz z wyższą temperaturą ogrzewania. Dłuższy czas ogrzewania powodował znaczne obniżenie aktywności GPT w każdej z badanych temperatur, niezależnie od rodzaju i ilości dodanej soli (z wyjątkiem mięsa ogrzewanego w temperaturze 65°C, zawierającego 1% dodatek NaCl). Aktywność GPT w masie mięsnej ogrzewanej przez dłuższy okres czasu w temperaturze 75°C była bardzo niska i zbliżona do aktywności enzymu w masie mięsnej ogrzewanej w temperaturze 80°C. Dodatek soli w ilości większej niż 1% i mieszanki peklującej powodował większą inaktywację GPT w próbkach mięsa ogrzewanego do temperatury wyższej niż 70°C. Wyniki wskazują, że aktywność GPT może być dobrym wskaźnikiem końcowej temperatury ogrzewania mięsa do temperatury wewnętrznej wyższej niż 70°C, szczególnie jeśli czas ogrzewania jest dłuższy w danej temperaturze. W porównaniu z GOT, aktywność GPT może być wskaźnikiem ogrzewania masy mięsnej do niższej temperatury wewnętrznej.

Z badań Townsend'a i Davis'a [15] wynikało, że aktywność GPT w mielonej wołowinie obniża się wraz z temperaturą ogrzewania. Dłuższy czas ogrzewania (30 min.) powodował znacznie większe obniżenie aktywności enzymu, niż ogrzanie tylko do końcowej temperatury ogrzewania, chociaż uzyskano zmienne wartości zależnie od rodzaju roztworu użytego do ekstrakcji mięsa. Według Townsend'a i Davis'a [15]

pomimo niskiej aktywności GPT w masie mięsnej ogrzewanej do temperatury 71°C i wyższej, z uwagi na stosunkowo wysoką jeszcze resztkową aktywność enzymu, pomiar GPT nie może być użyty jako wskaźnik końcowego dogrzenia produktu mięsnego, zgodnie z wymogami USDA. W przeciwieństwie do ich sugestii, wyniki uzyskane w niniejszej pracy wskazują, że pomiar aktywności GPT może być lepszym wskaźnikiem ogrzewania masy mięsnej niż pomiar aktywności GOT.

## Wnioski

1. Temperatura i czas ogrzewania w danej temperaturze, jak i dodatek soli mają istotny wpływ na aktywność enzymów GOT i GPT.
2. Pomiar aktywności GPT może być dobrym wskaźnikiem dogrzenia produktów mięsnych do temperatury wyższej niż 70°C.
3. Pomiar aktywności GOT w masie mięsnej może służyć jako dokładny wskaźnik temperatury dogrzewania do temperatury wyższej niż 75°C.

## LITERATURA

- [1] Abouzied M. M., Wang C. H., Pestka J. J., Smith D. M.: Lactate dehydrogenase as safe endpoint cooking indicator in poultry breast rolls: development of monoclonal antibodies and application to sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *J. Food Prot.*, **65**, 1993, 120.
- [2] Bogin E., Sommer H.: Enzyme profile of heart, skeletal muscle, liver and kidney of cows and pigs. *Zbl. Vet. Med.*, **A 23**, 1976, 394.
- [3] Collins S. S., Keeton J. T., Smith S. B.: Lactate dehydrogenase activity in bovine muscle as a potential heat point indicator. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1991, 1291.
- [4] Cornelius C.E., Bishop S., Switzer S., Rhode E.A.: Serum and tissue transaminase activities in domestic animals. *Cornell Vet.*, **49**, 1959, 12.
- [5] Davis C. E., Searcy G. K., Blankenship L. C., Townsend W. E.: Pyruvate kinase activity as an indicator of temperature attainment during cooking of cured pork. *J. Food Prot.*, **51**, 1988, 773.
- [6] Hamm R.: Changes in muscle proteins during the heating of meat. In *Physical, Chemical and Biological Changes in Food Caused by Thermal Processing*, T. Hoyem and O. Kvale, 1977, 101-134. Applied Science Publishers, Ltd., London.
- [7] Hamm R., Kormendy L., Gantner G.: Transaminases of skeletal muscle 1. The activity of transaminase in post-mortem bovine and porcine muscles. *J. Food Sci.*, **34**, 1969, 446.
- [8] Kormendy L., Gantner G., Hamm R.: Isozyme der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase im skelettmuskel von schwein und rind. *Biochem. Zeitschr.*, **342**, 1965, 39.
- [9] Kormendy L., Rekasi E., Fetter I.: Determination of the extent of heat treatment in canned hams by use of the phosphatase test. *Meat Sci.*, **19**, 1987, 77.
- [10] Pezacki W.: Technologiczne odchylenia jakości wyrobów mięsnych. PWRiL, Warszawa, 1968.
- [11] Searcy G. K., Senter S. D., Wilson R. L.: Glutamic-oxaloacetic transaminase activity: a potential end-point-temperature indicator for imported cooked beef. *J. Food Prot.*, **58**, 1995, 686.
- [12] Senter S. D., Searcy G. K., Wilson R. L.: Residual glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) activity in thermally processed poultry and poultry products as an indicator of end-point temperatures. *J. Sci. Food Agric.*, **68**, 1995, 19.

- [13] Senter S. D., Townsend W. E., Searcy G. K.: Variability in residual myoglobin content and glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) activity in cooked bovine semimembranosus tissue as related to temperature of cooking media above end-point-temperature and sample size. *J. Food Prot.*, **57**, 1994, 502.
- [14] Townsend W. E., Blankenship L. C.: Assessment of previous heat treatment of laboratory heat-processed meat and poultry using a commercial enzyme system. *J. Food Sci.*, **52**, 1987, 1445.
- [15] Townsend W. E., Davis C. E.: Transaminase (AST/GOT and ALT/ GPT) activity in ground beef as a means of determining end-point temperature. *J. Food Sci.*, **57**, 1992, 555.
- [16] Tyszkiewicz S., Krysiak A.: Przydatność testu fosfatazowego do określania temperatury w centrum konserw w czasie obróbki cieplnej. *Gosp. Mięsna*, **7**, 1976, 20.

### **EFFECT OF TEMPERATURE HEATING AND SALT CONTENT ON GLUTAMIC OXALACETIC TRANSAMINASE (GOT) AND GLUTAMIC PYRUVIC TRANSAMINASE (GPT) ACTIVITIES OF GROUND MEAT**

#### **S u m m a r y**

The aim of the work was to investigate an effect of temperature in the range of 65°C–80°C, time of heating, as well as effects of the sodium chloride and sodium nitrite additions on the activity of GOT and GPT enzymes of ground pork loin. It was demonstrated that all studied factors had significant influence on activity of both enzymes, however the temperature had strongest influence. It was concluded that the measurement of GPT and GOT activities may be used as indicators of the end-point temperatures of the ground meat in temperature higher than 70°C and 75°C, respectively. ❧