

The effect of structural and biochemical changes of muscles during *post-mortem* process on meat tenderness

Utjecaj strukturnih i biokemijskih promjena mišića *post mortem* na mekoću mesa

Ana KAIĆ^{1*} and Silvester ŽGUR²

¹University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science and Technology, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb, Croatia, *correspondence: akaic@agr.hr

²University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Animal Science, Groblje 3, SI-1230 Domžale, Slovenia

Abstract

The aim of this paper was to describe the main structural and biochemical changes of muscles during *post-mortem* process implicated with meat tenderness. Taking into account complexity of biochemical and structural changes in muscles, meat tenderness is associated with the amount and quality of connective tissue, intramuscular lipid content (marbling), sarcomere length, and myofibrillar protein degradation. In short, more tender meat is associated with lower connective tissue content, higher collagen solubility, greater intramuscular lipid content, longer sarcomeres and greater myofibrillar protein degradation. However, it must be considered that the interactions among the listed factors are complex and dependent on numerous processes during *post-mortem* such as chilling regime, electrical stimulation, carcass suspension, aging, mechanical tenderization, different marinades, and thermal processing conditions.

Keywords: connective tissue, marbling, myofibrillar protein degradation, sarcomere length, tenderness

Sažetak

Cilj ovog rada je opisati glavne strukturne i biokemijske promjene u mišićima *post mortem* te postupke koje se direktno povezuje sa mekoćom mesa. S obzirom na kompleksnost, strukturne i biokemijske promjene koje utječu na mekoću mesa mogu se ugrubo podijeliti na one vezane uz sadržaj i svojstva vezivnog tkiva, sadržaj intramuskularne masti, dužinu sarkomere te degradaciju miofibrilarnih proteina. Ukratko, mekanije meso se povezuje sa manjim sadržajem vezivnog tkiva, boljom topljivošću kolagena, većim sadržajem intramuskularne masti, dužom sarkomerom i većom degradacijom miofibrilarnih proteina. Njihove interakcije su kompleksne i

odatno ovisne o brojnim *post mortem* postupcima kao što su hlađenje, električna stimulacija, način vješanja polovica, zrenje, mehaničko omekšavanje mesa, različiti tipovi marinada i uvjeti tijekom termičke obrade.

Ključne riječi: degradacija miofibrilarnih proteina, dužina sarkomere, mekoća, mramoriranost, vezivno tkivo

Detailed abstract

The tenderness of meat could be expressed as a resistance to tooth pressure, or how much force is required to bite throughout a piece of meat. It can be also described with numerous textural descriptors such as crumbly, mushy, mealy, or springy. The measurement of meat tenderness could be performed by an instrument or by humans (as a sensory panel group or consumer group). Among the instrumental methods, the commonly used in research are devices based on a shear force. Sensory approach uses trained group of individuals that are constantly refining their precision in evaluation of certain properties, whereas consumers could be useful when there is a need for monitoring differences in products that they can detect.

Eating satisfaction of meat is determined by the perceived value of juiciness, flavour and tenderness. Among them, tenderness is one of the most important contributor to consumer eating satisfaction. Numerous investigations had evidenced that the consumers have the ability to discern differences in tenderness and are willing to pay much more for the meat they are convinced is tender. Therefore, the researches and industry are subjected to a challenge of how to achieve and ensure consumer desires.

Taking into account complexity of structural and biochemical changes in muscles, meat tenderness is associated with the amount and quality of connective tissue, intramuscular lipid content (marbling), sarcomere length, and myofibrillar protein degradation.

Connective tissue provides structural support to muscles and transfers the force during muscle contraction on the skeleton. It is predominantly comprised from collagen which amount and cross-linking is highly related to meat tenderness. In general, muscles that are used for locomotion have higher amount of collagen and are tougher than muscles used for support or finely adjusted movements with very low amount of collagen. Increased animal age is correlated with lower collagen solubility and higher muscle toughness. Although greater amount of collagen can result in less tender meat, it has been shown that thermal processing conditions (use of lower temperatures and moist environment) can melt collagen and finally, finished product could be very tender regardless to the greater collagen content. Furthermore, as animal mature, the percentage of insoluble collagen cross links is increased and meat is tougher. This meat could be tenderized using blades or needles which are used to disrupt muscle fibers and connective tissue. As a result of this tenderization process meat needs less shearing in the mouth during chewing and is perceived as a tender.

Intramuscular fat content (marbling) does not affect only meat cut appearance but also its tenderness. Altogether, there are four theories on why meat with higher intramuscular fat content is tenderer; bulk density (bite effect), the lubrication effect, the insurance theory, and the strain theory. Although these theories are difficult to prove, meat with a higher fat content tends to be tender and provides some insurance against toughening and drying when is cooked at higher temperatures.

Longer sarcomeres indicate that there is less overlapping between thin and thick filament, and that the number of actomyosin cross bridges is decreased resulting in more tender meat. Biochemical and environmental factors can highly affect the final state of sarcomere length. One of the major problems that could occur is cold-shortening of muscles. If early *post-mortem* (during conversion of glycogen to lactic acid and before muscle enters to rigor) the temperature is highly reduced (below 10 °C), this results in tougher meat. Such muscles have shorter sarcomere length (up to 50%) which leads to a significant increase in muscle toughness. Therefore, any procedure that could be taken prior to *rigor mortis* completion and results in longer sarcomeres could improve meat tenderness. Electrical stimulation applied to muscles early *post-mortem* causes their contraction that rapidly depletes glycogen stores in muscles before chilling and prevent excessive sarcomere shortening. Another method that could be used for changing sarcomere length in some muscles is carcass suspension; the half-carcass is hung by the pelvis at the aitchbone (Tenderstretch) or the cut is made through the thoracic vertebrae between the 12th and 13th ribs (Tendercut).

Myofibrillar degradation leads to many of the structural changes in muscles and consequently tenderization of meat. These changes include loss of Z-disk and sarcomere integrity resulting from degradation of numerous proteins such as titin, nebulin, desmin, vinculin, dystrophin and troponin-T. Most of these proteins break down in the presence of endogenous enzymes, mainly cathepsins and calpains. Degrading these proteins results in a weakening of the myofibril structure and meat tenderization. Although, soon after slaughter the calpain system begins degrading proteins the overall aging period needed for optimum tenderness is very different across the muscles and may also depend on the amount of myofibrillar proteins in muscles, type of the muscle, microbiological and aging conditions, packaging, etc. Besides endogenous enzymes, tenderness of meat could be enhanced by using different types of marinades containing exogenous enzymes (e.g. papain, bromelain, ficin), salts (e.g. sodium chloride), water-binders (e.g. sodium phosphates), and/or antioxidants (e.g. rosemary).

It could be concluded that the amount and quality of connective tissue, intramuscular lipid content (marbling), sarcomere length, and degradation of myofibrillar proteins can largely explain the majority of the changes in meat tenderness. However, it must be considered that their interactions are complex and could be influenced by numerous *post-mortem* processes such as chilling regime, electrical stimulation, carcass suspension, aging, mechanical tenderization, different marinades, and thermal processing conditions. Knowing structural and biochemical changes in meat, their interactions and processes implicated with meat tenderness can contribute to a better understanding and improving tenderness of meat found in the market.

Uvod

Svojstvo mekoće mesa koje se čini vrlo jednostavno za shvatiti, a čije se vrijednosti mogu opisati ugrubo kao nešto što je ili mekano ili tvrdo, vrlo brzo dovodi do spoznaja da su njegov opis i razumijevanje zapravo poprilično teški. Naime, od svih svojstava koje se povezuju sa kakvoćom mesa, jedno od najkompleksnijih je svakako njegova mekoća (Kerth, 2013). Uz boju i izgled mesa, smatra se da je mekoća drugo najvažnije svojstvo koje odlučuje pri ponovnoj kupnji mesa (Feiner, 2006; Lomiwes i sur., 2014). Mekoću se najčešće opisuje kao otpor pritisku tijekom žvakanja ili kao silu koja je potrebna da bi se pregrizao/prekinuo komad mesa (Kerth, 2013). Iako je takva definicija opće prihvaćena, Kerth (2013) navodi da ona samo djelomično opisuje mekoću. Naime, autor ističe da mekoća može biti opisana i brojnim deskriptorima tekture pojedinog komada mesa kao što je npr. elastičnost, gnjecavost, rastresitost, mrvljivost i dr. Mortensen i sur. (2012) ističu da su deskriptori poput žilavo, tvrdo, kruto, mekano, gnjecavo i čvrsto samo neki pomoću kojih se može opisati razina (stupanj) mekoće. Zbog brojnih deskriptora svakako treba uzeti u obzir da je objektivno mjerenje mekoće poprilično teško. Pojedine deskriptore je moguće precizno izraziti mjernim uređajem, dok je mjerenje pojedinih svakako upitno. Kerth (2013) i Topel i sur. (2013) ističu da je ljudski organizam upravo onaj uređaj kojeg se može najbolje iskoristiti u utvrđivanju brojnih deskriptora mekoće, neovisno dali je riječ o dobro utreniranoj senzornoj skupini (panelu) ocjenjivača ili o potrošačima. Uz to, brojna istraživanja potvrđuju da potrošači mogu utvrditi postojanje razlika u mekoći mesa te su spremni platiti znatno više pri njegovoj kupnji ukoliko su uvjereni, odnosno smatraju da je ono mekano (Boleman i sur., 1997; Lusk i sur., 2001; Prieto i sur., 2008a; Prieto i sur., 2008b; Polkinghorne i Thompson, 2010). S obzirom da potrošači žele kupovati proizvode čija je mekoća ujednačena i zajamčena (Luciano i sur., 2007) znanstvenici i industrija svakako podliježu izazovu kako ostvariti i osigurati želje potrošača.

Poznato je da brojne strukturne i biokemijske promjene mišića direktno utječu na svojstva svježeg mesa, a samim time na njegovu manipulaciju i iskoristivost, odnosno prerađivačka svojstva (Herrera-Mendez i sur., 2006). Brzinu i način odvijanja strukturnih i biokemijskih promjena ponajprije se izravno povezuje sa svojstvima kao što su sposobnost zadržavanja vode, boja i mekoća mesa. S obzirom na kompleksnost, biokemijske i strukturne promjene se mogu ugrubo podijeliti na one vezane uz sadržaj vezivnog tkiva i sadržaj intramuskularne masti, dužinu sarkomere i degradaciju miofibrilarnih proteina (Warriss, 2000; King i sur., 2009; Kerth, 2013; Topel i sur., 2013). Stoga je cilj ovog rada opisati glavne strukturne i biokemijske promjene u mišićima *post mortem* te postupke koje se izravno povezuje sa mekoćom mesa.

Vezivno tkivo

Vezivno tkivo prekriva površinu mišićnih vlakana, mišićnih snopića i mišića u cjelini. Povezuje susjedne mišiće međusobno te mišiće s ostalim organima, kostima i hrskavicama dajući organizmu na taj način oblik i čvrstoću (King i sur., 2009; Topel i sur., 2013). Struktura i količina, odnosno sadržaj vezivnog tkiva u mesu je izuzetno važna jer utječe na njegova brojna svojstva, prvenstveno ona vezana uz njegovu mekoću (Kerth, 2013). Vezivno tkivo je sastavljeno od tzv. osnovne supstance te

vlakana kolagena i elastina. Vlaknaste tvorevine vezivnog tkiva su sastavljene od bjelančevina kolagena i elastina. Svaki dio mišića i mišić u cjelini prekriven je vezivnim tkivom. U vezivno-tkivnim ovojnica, odnosno endomizijumu, perimizijumu i epimizijumu skeletnih mišića nalaze se pretežno kolagena vlakna (Topel i sur., 2013). Kolagena vlakna nastaju povezivanjem molekula tropokolagena, a prema načinu njihova povezivanja razlikujemo fibrilarne, nefibrilarne i filamentozne tipove kolagena (Vuković, 1998). Veze između molekula tropokolagena nastaju oksidativnom dezaminacijom terminalnih ostataka lizina (Vuković, 1998; Kerth, 2013). Broj nastalih veza između molekula tropokolagena i njihova čvrstoća te ukupni sadržaj kolagena u mišiću se izravno povezuje sa njegovom mekoćom (King i sur., 2009). Naime, poznato je da starije životinje imaju znatno tvrđe meso od mlađih životinja. Broj i čvrstoća nastalih veza između molekula tropokolagena usko se povezuju sa dobi životinje. Mlađe životinje imaju manji broj slabijih veza između molekula tropokolagena, kolagen ima veću topivost i rastresitije je strukture što je jedan od osnovnih uzroka finije teksture i mekanijeg mesa mlađih životinja. Suprotno tome, starenjem se povećava čvrstoća i broj poprečnih veza između molekula tropokolagena, kolagen postaje čvršći, a meso je grublje teksture i tvrđe (Vuković, 1998; King i sur., 2009; Kerth, 2013).

Sadržaj kolagena ovisi o funkciji mišića i također značajno doprinosi mekoći mesa (Topel i sur., 2013). Opće je prihvaćeno da mišići koji imaju ulogu u lokomotornom sustavu sadrže znatno više kolagena dok mišići koji imaju potpornu ulogu i oni za fino podešene pokrete (npr. za pokrete oka) sadrže manje kolagena. Topel i sur. (2013) ističu da *psoas major* i *longissimus thoracis* mišići sadrže manje kolagena te su mekaniji od *triceps brachii*, *serratus ventralis*, *semimembranosus* i *biceps femoris* mišića koji sadrže znatno više kolagena i samim time su tvrdi.

Neovisno o tome, svakako treba uzeti u obzir da i uvjeti termičke obrade mogu utjecati na percepciju mekoće mesa. Kerth (2013) ističe da termička obrada pri nižoj temperaturi i većoj vlažnosti može dovesti do topljenja kolagena tako da meso sa njegovim većim sadržajem također može biti percipirano kao mekanije. Kao izuzetno dobar primjer autor navodi *pectoralis profundi* mišić čiji je sadržaj vezivnog tkiva i kolagena velik, ali kad se isti pripremi u odgovarajućim uvjetima praćenim nižom temperaturom i većom vlagom mišićje je izuzetno mekano.

Nadalje, Feiner (2006) i Pen (2012) navode da se kolagena vlakna mogu prekinuti i mehaničkim putem. Komadi mesa (najčešće mišićje buta i/ili ramenog dijela) u industriji prolaze kroz uređaj na kojem se nalaze oštrice noževa ili setovi naoštrenih igala pri čemu se prekidaju mišićna, odnosno kolagena vlakna nakon čega je meso mekanije (Juárez i sur., 2012; Pen, 2012). Pietrasik i sur. (2010) ističu kako je sadržaj vezivnog tkiva mehanički omekšanog mesa slabije senzorski percipiran te je meso u konačnici ocijenjeno kao izuzetno mekano. Stoga, autori ističu da je mehanički postupak omekšavanja mesa izuzetno pogodan za meso no pri tome treba svakako uzeti u obzir različit sadržaj vezivnog tkiva u pojedinim mišićima. Tako su npr. Jeremiah i sur. (1999) utvrdili da se mehaničko omekšavanje *semitendinosus* mišića (veći sadržaj vezivnog tkiva) nije pokazalo učinkovitim metodom kod 32% uzoraka. Upravo zbog toga se mehaničko omekšavanje mesa u pojedinim mišićima može poboljšati na način da meso više puta prolazi kroz uređaj za omekšavanje ili kombinacijom mehaničkog omekšavanja i različitih drugih postupaka koji su se pokazali učinkovitim u omekšavanju mesa (Pietrasik i sur., 2010). Naime, Pietrasik i

sur. (2010) su utvrdili da se mehaničko omekšavanje *semitendinosus* mišića u kombinaciji sa egzogenim proteolitičkim otopinama enzima pokazalo vrlo učinkovitim metodom u postizanju zadovoljavajuće mekoće mesa.

Sadržaj intramuskularne masti (mramoriranost)

Mramoriranost, odnosno pojavu manjih ili većih nakupina intramuskularnog masnog tkiva u vezivnom tkivu između snopića mišićnih vlakana, se povezuje sa brojnim svojstvima kakvoće mesa među kojima se prvenstveno ističu okus, mekoća i sočnost (Topel i sur., 2013). U osnovi su četiri teorije koje opisuju način na koji sadržaj intramuskularne masti utječe na mekoću mesa. Pri tome se najčešće ističu teorije koje povezuju djelovanje sadržaja intramuskularne masti sa mekoćom mesa kroz njegovu gustoću i učinak podmazivanja (Kerth, 2013). Naime, intramuskularna masnoća je slabije gustoće od mišićnog tkiva (cca $0,9 \text{ g} \cdot \text{cm}^3$ vs. $1,1 \text{ g} \cdot \text{cm}^3$) zbog čega se smatra da veći sadržaj intramuskularne masti pridonosi manjoj krutosti i lakšem zagrizu komada mesa te ostavlja dojam je ono mekanije (Miller, 1994; Kerth, 2013).

Nadalje, smatra se da sadržaj intramuskularne masti služi kao sredstvo za podmazivanje koje osigurava lakši zagriz, odnosno prolazak kroz komad mesa. Povećanje sadržaja intramuskularne masti u mesu vodi ka tome da mišićna vlakna postaju većim dijelom okružena masnim tkivom, odnosno ovisno o sadržaju stječe se dojam da su ona zapravo uronjena u masno tkivo. Žvakanje takvog termički obrađenog mesa dovodi do otpuštanja masti koja pri tome potiče izlučivanje sline u usnoj šupljini. Upravo se uloga masti kroz učinak podmazivanja tijekom žvakanja u usnoj šupljini smatra ključnom jer je dokazano da se takvo meso percipira kao sočnije i mekanije (Miller, 2014).

Osim toga, uloga sadržaja intramuskularne masti u percepciji mekoće mesa objašnjava se i tzv. teorijom osiguranja. Otprilike 17% proteina sadržanih u mišićnoj stanici prvenstveno ima ulogu zadržavanja vode unutar mišića (Miller, 2014). Međutim, termička obrada u većoj ili manjoj mjeri dovodi do denaturacije proteina te samim time i njihove manje sposobnosti da zadrže vodu unutar mišića (Kaić i Simčić, 2014). Ovisno o stupnju denaturacije proteina tijekom termičke obrade, meso otpušta veću ili manju količinu tekućine poznatu kao kolo termičke obrade. Uslijed denaturacije dolazi do kontrakcije proteina koja dovodi do znatnih gubitaka (20 - 40% od početne mase) tekućine mesa u čijem sastavu prevladava voda i lipidi (Desmond i Troy, 2004; Oroszvári i sur., 2005; Zheng i sur., 2007; Toldrá, 2010). Miller (2014) ističe da upravo pri tome važnu ulogu preuzima sadržaj intramuskularne masti koji može usporiti ili spriječiti pojavu stvrdnjavanja mesa tijekom termičke obrade. S obzirom na ulogu masnog tkiva kao izolatora, smatra se da meso sa većim sadržajem masnog tkiva ima sporiji i slabiji prijenos topline tijekom termičke obrade. Pri tome veći sadržaj masnog tkiva osigurava sporiju i slabiju denaturaciju proteina čime je pri termičkoj obradi sadržaj izgubljene vode manji, a meso u konačnici mekanije.

Posljednja, četvrta teorija poznata je kao teorija naprezanja. Naime, smatra se da uslijed povećanja sadržaja stanica adipoznog tkiva ugrađenih u vezivno tkivo

perimizija dolazi do slabljenja tkiva uslijed čega je meso mekanije (Miller, 1994; Miller, 2014).

Miller (2014) ističe da su navedene teorije koje povezuju sadržaj intramuskularne masti i mekoću mesa međusobno povezane te ih je teško pojedinačno istražiti i samim time dokazati. Nadalje, istraživanja su pokazala da je izravna veza sadržaja intramuskularne masti sa objektivnim mjerenjem mekoće mesa (npr. poprečnom silom, engl. shear force) poprilično slaba, odnosno da ukupnoj varijabilnosti mekoće sadržaj intramuskularne masti doprinosi svega 10% (Kerth, 2013). Uz to, utvrđeno je da povećanje sadržaja intramuskularne masti značajno utječe na percepciju kakvoće mesa samo do određene razine nakon koje se njegov učinak znatno umanjuje. Wood i sur. (1995) navode da je mekoća *longissimus dorsi* mišića sa 1,8% intramuskularne masti senzorskom analizom (u rasponu ocjena od 1 - izuzetno tvrdo do 10 - izuzetno mekano) ocijenjena sa 4,1, dok je mekoća istog mišića sa 3,4% intramuskularne masti ocijenjena sa 7,1. Istovremeno, autori ističu kako je daljnje povećanje sadržaja intramuskularne masti istog mišića na 10,4% utjecalo na njegovu mekoću samo neznatno, odnosno mekoća mu je ocijenjena sa svega 0,7 boda više (7,8) u odnosu na mišić sa 3,4% masti (7,1). Autori smatraju da mramoriranost koja odgovara sadržaju ekstrahirane masti od 3% predstavlja onu vrijednost koja može osigurati zadovoljavajuću kakvoću mesa.

Neovisno o tome, intramuskularnu mast treba uzeti u obzir i kao tzv. „policu osiguranja“ koja će mesu sa svojim većim sadržajem povećati sočnost i intenzivirati mu okus (Kerth, 2013). Uz to, svakako treba napomenuti da iako sadržaj intramuskularne masti povećava mekoću, moguće je da meso sa njegovim manjim sadržajem također bude mekano kao što je npr. u mlađih životinja (Topel i sur., 2013). Sadržaj intramuskularne masti treba uzeti u obzir i kao pomoć kod osiguranja kakvoće mesa neovisno o stupnju termičke obrade (Kerth, 2013; Miller, 2014). Naime, poznato je da povećanje stupnja termičke obrade postignute u središtu mesa (~80 °C = srednje pečeno; ~90 °C = dobro pečeno) dovodi do znatnih razlika u gubicima vode i suhoći mesa. U tom slučaju sadržaj intramuskularne masti osigurava da meso i pri većim temperaturama termičke obrade zadrži odgovarajuću sočnost i okus.

Dužina sarkomere

Dužina sarkomere određuje koliko se miozinskih glava na debelim filamentima može povezati s aktinom na tankim filamentima. Dužina sarkomere *post mortem* prvenstveno ovisi o metabolizmu mišića i njihovom hlađenju (Aaslyng, 2002). Naime, uslijed mišićne kontrakcije miozinski filamenti se uvlače između aktinskih filamenata. Ovisno o stupnju uvučenosti miozinskih filamenata između aktinskih povećava se i broj veza između molekula bjelančevina tih filamenata. Veći broj poprečno formiranih veza dovodi do skraćivanja sarkomere i pojave znatno tvrđeg mesa (Warriss, 2000). Warriss (2000) ističe da mišići koji se nalaze u opuštenom i istegnutom stanju ulaskom u *rigor mortis* imaju duže sarkomere te su u odnosu na one koji su u istoj fazi kontrahirani znatno mekaniji.

Jedan od glavnih problema koji može nastati prilikom hlađenja je hladno skraćivanje mišića (engl. cold shortening). Nagli pad temperature u mišiću (ispod 10 °C), uz

istovremenu visoku razinu energije (adenozin trifosfata, ATP-a) prije ulaska u potpuno *rigor mortis* stanje dovodi do pojave hladnog skraćivanja mišića (Braden, 2013). Hladno skraćivanje mišića uzrokuje ujedno i ireverzibilno skraćivanje sarkomere (do 50%) čime je tvrdoća mesa znatno pogoršana, odnosno meso je nakon termičke obrade tvrđe (Honikel, 2014). Weaver i sur. (2009) navode da postupci koji mogu povećati dužinu sarkomere prije razvoja *rigor mortis*-a imaju pozitivan učinak na mekoću mesa. King i sur. (2009) ističu da brzina pada temperature u mišićima ima značajnu ulogu u proteolitičkoj degradaciji te se pojava hladnog skraćivanja može umanjiti na način da se odgovarajućim sustavom hlađenja spriječi nagli pad temperature u mišićima (ispod 10 °C) sve dok im se pH vrijednost ne spusti ispod 6,2.

Aaslyng (2002) i Kerth (2013) prvenstveno ističu da se dužina sarkomere može povećati primjenom električne stimulacije mišića i načinom vješanja polovica tijekom hlađenja. Električna stimulacija dovodi do intenzivne kontrakcije mišića i brze potrošnje energetske rezerve (ATP-a). Obzirom da energetske rezerve više nisu raspoložive za *post mortem* mišićnu kontrakciju, pojava hladnog skraćivanja mišića je spriječena (Adeyemi i Sazili, 2014). Kako je navedeno, dužina sarkomere može se povećati i načinom vješanja polovica/četvrti tijekom hlađenja. Naime, umjesto za ahilovu tetivu polovicu se vješa u ligamentu iznad zdjeličnih kostiju (dovodi polovicu u tzv. prirodni položaj koji životinja ima *ante mortem*), u obturatnom otvoru (engl. Tenderstretch) ili se radi rez u razini između dvanaestog i trinaestog prsnog kralješka (engl. Tendercut) (Ahnström i sur., 2006; Feiner, 2006; Kerth, 2013). U prvom i drugom slučaju uporišna točka za povećanje sile pritiska i ujedno povećanja dužine sarkomere mišića je zdjelična kost, dok u trećem slučaju sama težina četvrti isteže mišiće te na taj način poboljšava mekoću mesa. Međutim, pri tome treba svakako uzeti u obzir da učinak vješanja nije jednak za sve mišiće. Ahnström i sur. (2012) su istražili učinak vješanja (ahilova tetiva vs. zdjelična suspenzija) govedskih polovica na dužinu sarkomere i mekoću *psaos major*, *longissimus dorsi*, *semimembranosus*, *adductor* i *gluteus medius* mišića. Utvrđeno je da zdjelična suspenzija značajno skraćuje sarkomeru *psaos major* mišića i produžuje sarkomeru *adductor* mišića, dok njezin učinak na mekoću istih mišića nije utvrđen. Nasuprot tome, zdjelična suspenzija skraćuje sarkomere *longissimus dorsi*, *semimembranosus* i *gluteus medius* mišića te im ujedno i povećava mekoću. Neovisno o tome, smatra se da postupci kojima je dužina mišića i sarkomere zadržana ili se povećava svakako pridonose postizanju odgovarajuće mekoće mesa.

Degradacija miofibrilarnih proteina

Mekoću mesa se tijekom zrenja najčešće povezuje sa degradacijom miofibrilarnih proteina (Kerth, 2013). U miofibrilarne proteine, uz aktin i miozin, ubrajamo ponajprije tropomiozin, m-protein, α -aktinin, β -aktinin, c-protein, troponin T, I i C, dok su ostali proteini u miofibrilima prisutni u vrlo maloj količini (Kerth, 2013; Topel i sur., 2013; Kang i Singh, 2015). Pri tome u ukupnom proteinu mesa miozin i aktin čine 65%, tropomiozin i troponini svaki pojedinačno sljedećih 5%, dok preostalih 25% čine ostali regulacijski i strukturni proteini (Kang i Singh, 2015). Izuzetno su kompleksno građeni i organizirani čime im je omogućeno da ispunjavaju svoju funkciju. Miofibrilarni proteini imaju ulogu u mišićnoj kontrakciji i popratnoj čvrstoći mišića, ligamenata,

tetiva i kostiju. Upravo zbog svoje funkcije vrlo je važno da struktura mišića bude čvrsta i dobro povezana. Međutim, Kerth (2013) ističe da se mekoća mesa percipirana tijekom žvakanja u ustima povezuje sa slabijom strukturom mesa (u osnovi strukturom proteina) čime je ujedno omogućen lakši prekid komada mesa. Struktura proteina u mesu može oslabiti tijekom zrenja djelovanjem endogenih proteolitičkih enzima (katepsina i kalpaina) koji dovode do njihove degradacije. Većina proteina koji se degradiraju djelovanjem proteolitičkih enzima smještena je na ili u blizini Z membrane i uglavnom ima strukturnu funkciju (izuzev troponina T). Troponin T je regulatorni protein koji se nalazi na tankim miofilamentima na mjestima gdje se spajaju molekule tropomiozina i ujedno se smatra indikatorom ukupne proteolize u mišićima (Kerth, 2013). Degradacija proteina dovodi do slabljenja miofibrilarne strukture te posljedično do omekšavanja mesa (King i sur., 2009). Degradacija započinje djelovanjem endogenih enzima katepsina i kalpaina (μ -kalpaina i m-kalpaina) na najvažnije miofibrilarne proteine, stvarajući proteinske ostatke i polipeptide srednje veličine, što je prvenstveno rezultat hidrolize, odnosno razgradnje strukture Z-membrane i proteina titina, nebulina, dezmina, vinkulina, distrofina i troponina T, te sarkoplazmatskih proteina (Toldrá, 2010; Kerth, 2013).

Izuzev toga, svakako treba uzeti u obzir i vremenski period koji je potreban da bi meso bilo zadovoljavajuće mekoće. Koohmaraie (1996) preporuča da bi se postigla odgovarajuća mekoća govedsko meso bi trebalo držati na zrenju 10 do 14 dana, janjeće meso 7 do 10 dana, a svinjsko meso 5 dana. Feiner (2006) navodi da svježe meso, ovisno o mikrobiološkom statusu i temperaturi, može biti držano na zrenju do 14 dana, dok se istovremeno meso pakirano u vakuum može držati na zrenju i do 3 mjeseca. Nasuprot tome, Kerth (2013) navodi samo općenito da se meso obično drži na zrenju od 7 do 14 dana, pa sve do najviše 35 dana. Međutim, pri tome svakako treba uzeti u obzir i brojne druge čimbenike koji mogu utjecati na samu učinkovitost zrenja kao što su vrsta životinje, odnosno količina miofibrilarnih proteina, anatomska lokacija mišića, mikrobiološki status, uvjeti tijekom zrenja (temperatura, relativna vlaga zraka, brzina strujanja zraka), pakiranje mesa i dr. Tako se npr. smatra da će peradsko i svinjsko meso, zbog visokog sadržaja proteolitičkih enzima, biti zadovoljavajuće mekoće ukoliko se drži 1 do 2 dana, odnosno 2 do 3 dana na zrenju, dok se za govedsko meso, koje ima znatno manji sadržaj proteolitičkih enzima, smatra da će biti zadovoljavajuće mekoće ukoliko se drži na zrenju minimalno 14 dana (Feiner, 2006).

Nadalje, svakako je potrebno napomenuti da duljina zrenja ne utječe jednako na mekoću svih mišića. Tako su Gruber i sur. (2006) mekoću deset govedskih mišića nakon zrenja od 28 dana podijelili u pet kategorija, ovisno o sili potrebnoj da se prekine pojedini mišić („visoka“ $\geq 2,2$ kg; „umjereno visoka“ 2,1 - 1,8 kg; „umjerena“ 1,7 - 1,1 kg; „umjereno niska“ 1 - 0,7 kg; „niska“ $\leq 0,6$ kg). Iako je uvriježeno mišljenje da duži period zrenja pozitivno utječe na mekoću mesa (Johnston i sur., 2001), istraživanja su pokazala da se mekoća pojedinih mišića tijekom dužeg zrenja može i pogoršati (Aalhus i sur., 2004; Janz i sur., 2004). Aalhus i su. (2004) su istražili učinak trajanja zrenja (1 do 21 dan) na mekoću govedskih mišića (*longissimus thoracis* vs. *semimembranosus*). Pri tome je utvrđeno da se mekoća *longissimus thoracis* mišića tijekom zrenja od 21 dan značajno povećava. Nasuprot tome, mekoća *semimembranosus* mišića se povećava do 14-og dana zrenja nakon kojeg se do 21-og dana zrenja značajno smanjuje.

Osim endogenih enzima koje se koristi za poboljšanje mekoće mesa, svakako treba uzeti u obzir i egzogene enzime porijeklom iz biljaka, gljiva i bakterija koje se koristi u različitim kombinacijama marinada. „Općenito priznati kao sigurni“ od strane Američkog inspeksijskog servisa za sigurnost hrane smatraju se papain, ficin, bromelin, *Aspergillus oryzae* proteaza i *Bacillus subtilis* proteaza (Istrati i sur., 2012). Većina od navedenih egzogenih enzima djeluje optimalno na temperaturama između 50 i 70 °C, odnosno tijekom termičke obrade. Njihova optimalna pH vrijednost najčešće odgovara „normalnim“ pH vrijednostima u mesu, iako je kod nekih optimalna degradacija proteina učinkovitija u kiseloj ili lužnatoj sredini. Dodatak soli može, ovisno o djelovanju, imati i pozitivan i negativan učinak na njihovu aktivnost. Neki od enzima slabije ulaze u strukturu mesa tako da način na koji se nanose svakako može pridonijeti njihovom lakšem prolasku, a samim time i djelovanju u mesu. Uz to svakako treba navesti da prevelika količina i preduga izloženost mesa navedenim egzogenim enzimima može dovesti do snažnog uništenja strukture mišićnih vlakana čime je meso gnjecave teksture (Feiner, 2006). Osim njih, marinade mogu biti sastavljene i od različitih kombinacija soli (npr. NaCl), aditiva koji vežu vodu (npr. natrijev fosfat) i/ili antioksidanata (npr. ružmarin) (King i sur., 2009).

Zaključak

Sadržaj i kakvoća vezivnog tkiva, količina intramuskularne masti, dužina sarkomere i degradacija miofibrilarnih proteina mogu u znatnoj mjeri objasniti većinu promjena u mekoći mesa. Pri tome treba uzeti u obzir da su njihove interakcije kompleksne i ovisne o *post mortem* postupcima kao što su hlađenje, električna stimulacija, način vješanja polovica, zrenje, mehaničko omekšavanje mesa, različiti tipovi marinada te uvjeti tijekom termičke obrade. Poznavanje strukturnih i biokemijskih promjena, njihovih interakcija u mišićima te postupaka kojima se može na njih utjecati pridonosi boljem razumijevanju i poboljšanju mekoće mesa kojeg se može naći na tržištu.

Literatura

- Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., Robertson, W.M., Best, D.R., Larsen, I.L. (2004) A within-animal examination of postmortem ageing for up to 21 d on tenderness in the bovine longissimus thoracis and semimembranosus muscles. *Canadian Journal of Animal Science*, 84, 301-304.
- Aaslyng, M.D. (2002) Quality indicators for raw meat. In: J. Kerry, J. Kerry, D. Ledward, eds. (2002) *Meat processing. Improving quality*. New York: CRC Press, 157-174.
- Adeyemi, K.D., Sazili, A.Q. (2014) Efficacy of carcass electrical stimulation in meat quality enhancement: a review. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 27 (3), 447-456. DOI: [10.5713/ajas.2013.13463](https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13463)
- Ahnström, M.L., Enfält, A-C., Hansson, I., Lundström, L. (2006) Pelvic suspension improves quality characteristics in M. semimembranosus from *Swedish dual purpose young bulls*. *Meat Science*, 72, 555-559. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.09.003>

- Ahnström, M.L., Hunt, M.C., Lundström, K. (2012) Effects of pelvic suspension of beef carcasses on quality and physical traits of five muscles from four gender–age groups. *Meat Science*, 90, 528-535.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.09.003>
- Boleman, S.J., Boleman, S.L., Mille, R.K., Taylor, J.F., Cross, H.R., Wheeler, T.L. (1997) Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. *Journal of Animal Science*, 75, 1521-1524.
- Braden, K. (2013) Converting muscle to meat: The physiology of rigor. In: C.R. Kerth, ed. (2013) *The science of meat quality*. Iowa: WileyBlackwell, 79-94.
- Desmond, E., Troy, D.J. (2004) Nutrient claims on packaging. In: W.K. Jensen, C. Dawine, M. Dikeman, eds. (2004) *Encyclopaedia of meat sciences*. San Diego: Elsevier Academic Press, 903-910.
- Feiner, G. (2006) *Meat products handbook - Practical science and technology*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Gruber, S.L., Belk, K.E., Tatum, J.D., Scanga, J.A., Smith, G.C. (2006) *Industry guide for beef aging*. Centennial: National Cattlemen's Beef Association.
- Herrera-Mendez, C.H., Becila, S., Boudjellal, A., Ouali, A. (2006) Meat aging: reconsideration of the current concept. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 394-405. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2006.01.011>
- Honikel, K.O. (2014) Rigor mortis, cold, and rigor shortening. In: M. Dikeman, C. Devine, eds. (2014) *Encyclopaedia of meat sciences*. Second edition. San Diego: Elsevier Academic Press, 318-323.
- Istrati, D., Vizireanu, C., Dinică, R. (2012) Influence of post-mortem treatment with proteolytic enzymes on tenderness of beef muscle. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 18 (1), 70-75.
- Janz, J.A.M., Aalhus, J.L., Robertson, W.M., Dugan, M.E.R., Larsen, I.L, Landry, S. (2004) The effects of modified carcass chilling on beef carcass grade and quality of several muscles. *Canadian Journal of Animal Science*, 84, 377-384.
- Jeremiah, L.E., Gibson, L.L., Cunningham, B. (1999) The influence of mechanical tenderization on the palatability of certain bovine muscles. *Food Research International*, 32, 585-591.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969\(99\)00134-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00134-9)
- Johnston, D.J., Reverter, A., Robinson, D.L., Ferguson, D.M. (2001) Sources of variation in mechanical shear force measures of tenderness in beef from tropically adapted genotypes, effects of data editing and their implications for genetic parameter estimation. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41, 991-996.
- Juárez, M., Aldai, N., López-Campos, O., Dugan, M.E.R., Uttaro, B., Aalhus, J.L. (2012) Beef texture and juiciness. In: Y.H. Hui, ed. (2012) *Handbook of meat and meat processing*. New York: CRC Press, 177-207.
- Kaić, A., Simčič, M. (2014) Kalo i ostale promjene mesa nastale tijekom termičke obrade. *Meso-prvi hrvatski časopis o mesu*, 16 (6), 502-513.

- Kang, I., Singh, P. (2015) Muscle proteins. In: Z. Ustunol, ed. (2015) Applied food protein chemistry. Iowa: John Wiley & Sons, 363-393.
- Kerth, C.R. (2013) Meat tenderness. In: C.R. Kerth, ed. (2013) The science of meat quality. Iowa: John Wiley & Sons, 99-116.
- King, D.A., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M. (2009) Fresh meat texture and tenderness. In: P. Kerry, D. Ledward, eds. (2009) Improving the sensory and nutritional quality of fresh meat. New York: CRC Press, 61-88.
- Koohmaraie, M. (1996) Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat. *Meat Science*, 43, S193-S201.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(96\)00065-4](https://doi.org/10.1016/0309-1740(96)00065-4)
- Lomiwes, D., Farouk, M.M., Wiklund, E., Young, O.A. (2014) Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review. *Meat Science*, 96 (1), 26-40. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.06.008>
- Luciano, F.B., Anton, A.A., Rosa, C.F. (2007) Biochemical aspects of meat tenderness: a brief review. *Revista arquivos de zootecnia*, 56 (R), 1-8.
- Lusk, J.L., Fox, J.A., Schroeder, T.C., Mintert, J., Koohmaraie, M. (2001) In-store valuation of steak tenderness. *American Journal of Agricultural Economics*, 83 (3), 539-550.
- Miller, R.K. (1994) Quality characteristics. In: D.M. Kinsman, A.W. Kotula, B.C. Breidenstein, eds. (1994) *Muscle foods: Meat poultry and seafood technology*. Netherlands: Springer Science+Business Media, 296-333.
- Miller, R.K. (2014) Chemical and physical characteristics of meat. Palatability. In: M. Dikeman, C. Devine, eds. (2014) *Encyclopaedia of meat sciences*. Second edition. San Diego: Elsevier Academic Press, 252-262.
- Mortensen, L.M., Frøst, M.B., Skibsted, L.H., Risbo, J. (2012) Effect of time and temperature on sensory properties in low-temperature long-time *sous-vide* cooking of beef. *Journal of Culinary Science & Technology*, 10, 75-90.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/15428052.2012.651024>
- Oroszvári, B.K., Bayod, E., Sjöholm, I., Tornberg, E. (2005) The mechanisms controlling heat and mass transfer on frying of beef burgers. Part 2: the influence of the pan temperature and patty diameter. *Journal of Food Engineering*, 71, 18-27.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.013>
- Pen, S. (2012) Effect of automated pre rigor stretching on beef tenderness development. Thesis. New Zealand: Auckland University of Technology.
- Pietrasik, Z., Aalhus, J.L., Gibson, L.L., Shand, P.J. (2010) Influence of blade tenderization, moisture enhancement and pancreatin enzyme treatment on the processing characteristics and tenderness of beef semitendinosus muscle. *Meat Science*, 84 (3), 512-517.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.10.006>
- Polkinhorne, R.J., Thompson, J.M. (2010) Meat standards and grading – a world view. *Meat Science*, 86 (2), 227-235.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.010>

- Prieto, N., Andrés, S., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R., Lavín, P. (2008a) Ability of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to estimate physical parameters of adult steers (oxen) and young cattle meat samples. *Meat Science*, 79, 692-699. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.10.035>
- Prieto, N., Andrés, S., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R., Lavín, P. (2008b) Discrimination of adult steers (oxen) and young cattle ground meat samples by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Meat Science*, 79, 198-201. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.08.001>
- Toldrá, F. (2010) *Handbook of meat processing*. First Edition. Iowa: Blackwell Publishing.
- Topel, D.G., Marple, D.N., Lonergan, S.M., Parrish Jr., F.C. (2013) *The science of animal growth & meat technology*. Iowa: Meat Science Press.
- Vuković, I.K. (1998) *Osnove tehnologije mesa*. Drugo dopunjeno izdanje. Beograd: Veterinarska komora Srbije.
- Warriss, P.D. (2000) *Meat science. An introductory text*. New York: CABI Publishing.
- Wood, J.D. (1995) The influence of carcass composition on meat quality. In: S.D.M. Jones, ed. (1995) *Quality and grading of carcasses of meat animals*. Florida: CRC Press, 131-156.
- Weaver, A.D., Bowker, B.C., Gerrard, D.E. (2009) Sarcomere length influences u-calpain-mediated proteolysis of bovine myofibrils. *Journal of Animal Science*, 87, 2096-2103. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1317>
- Zheng, C.H., Sun, D-W., Zheng, I. (2007) Predicting shrinkage of ellipsoid beef joints as affected by water immersion cooking using image analysis and neural network. *Journal of Food Engineering*, 79, 1243-1249. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.04.010>