

# Virkningsmekanismer for elektrisk stimulering av storfekjøtt

KRISTIN HOLLUNG <sup>1</sup>, EVA VEISETH-KENT <sup>1</sup>, HARALD GROVE <sup>1</sup>, BARBARA GROCHOWALSKA <sup>1</sup>, LAILA AASS <sup>2</sup>, KJELL IVAR HILDRUM <sup>1</sup>  
Nofima Mat <sup>1</sup>, Institutt for husdyr og akvakultur, Universitetet for miljø og biovitenskap <sup>2</sup>

## Introduksjon

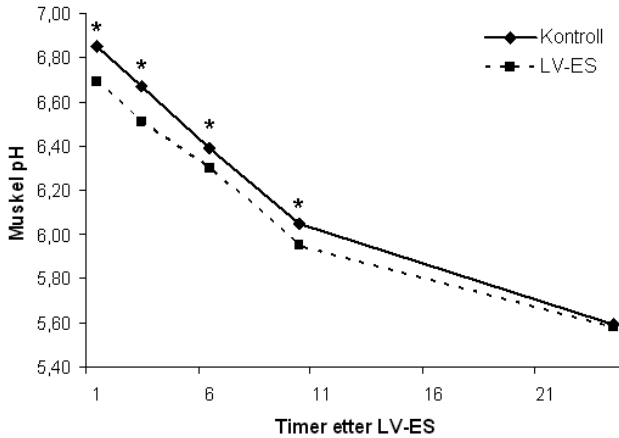
Variasjon i mørhet i storfekjøtt er en utfordring for kjøttindustrien. Lav-volts elektrisk stimulering (LV-ES) av slaktet brukes for å minske forekomsten av seigt kjøtt, men virkningsmekanismene for dette er uklare. Både raskere pH fall som resultat av økning av glykolysehastigheten og mekanisk induserte brudd i muskelfibrene har vært foreslått som mulige forklaringer på forbedring i mørhet etter LV-ES av slaktet. Vi har brukt ulike teknikker for å studere proteaseaktivitet, muskelfiberbrudd og endringer i proteinsammensetning i ytrefilet (M.longissimus dorsi) etter LV-ES av storfe slakt.

## Metoder

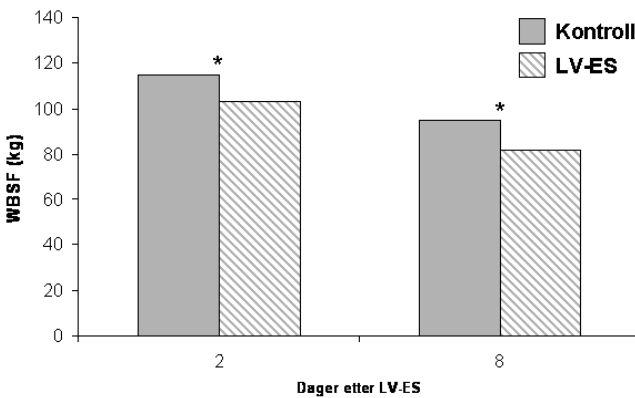
Fjorten NRF okser (13 mnd alder) fra GENO's testingsstasjon på Øyer ble slaktet over to ulike slaktedager i 2005. Etter kløyving av slaktet ble den ene halvdel stimulert med LV-ES (95V i 40sek, 14.5Hz) ca 30-40 min etter avliving. Den andre halvdel ble ikke stimulert. Muskel pH ble målt ved 1, 3, 6, 10 og 24 t etter LV-ES. Prøver til  $\mu$ -calpainaktivitet og proteomanalyser ble frosset på flytende nitrogen 1, 3, 6, 10 og 24 t etter LV-ES. Prøver til Cathepsin B+L aktivitet ble frosset ned 2 og 8 dager etter LV-ES. Mørhet ble målt med Warner Bratzler shear force (WBSF) metoden ved 2 og 8 dager etter LV-ES. Kjøttet ble vakuumpakket og avkjølt ved 10°C de første 10 timene etter LV-ES og deretter lagret ved 4°C i resten av mørningstiden.  $\mu$ -Calpainaktivitet er målt med casein zymografi. Cathepsin B+L aktivitet er målt ved et fargeassay. Muskelfiberbrudd og kontraksjon er kvantifisert med lysmikroskopi av plastinnstøpte muskelprøver preparert. Fra hvert dyr ble 90 muskelfibre evaluert, og forekomsten av brudd og kontraksjoner per 30 muskelfibre ble beregnet.

## Resultater og diskusjon

Det var signifikant lavere pH i ytrefiletene som hadde fått LV-ES sammenlignet med kontrollene fra de ustimulerte halvdelene (Figur 1). Det var også signifikant mørere kjøtt etter både 2 og 8 dagers lagring i gruppen med LV-ES (Figur 2).



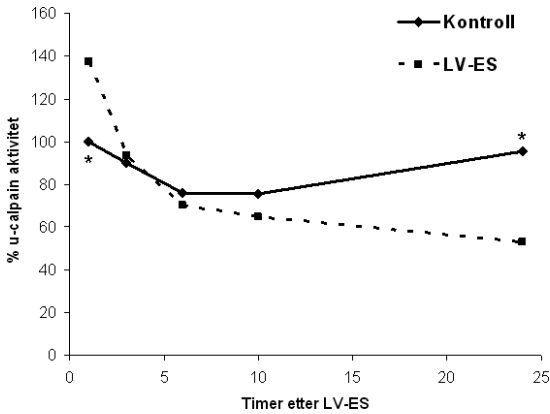
Figur 1. pH i ytrefilet de første 24 t etter LV-ES (n=14). En halvdel av slaktet er stimulert (LV-ES) og den andre halvdel er ustimulert kontroll. \* indikerer signifikant forskjell ( $p < 0.05$ ) mellom kontroll og LV-ES.



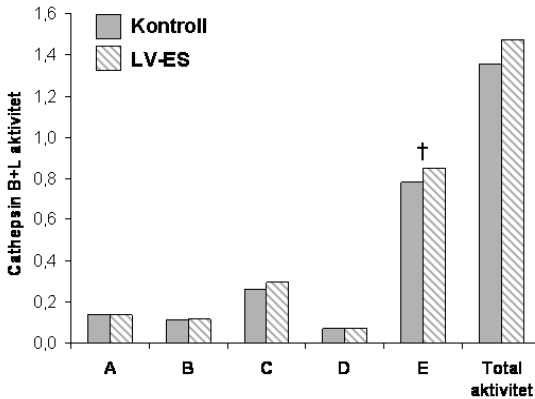
Figur 2. Mørhet i ytrefilet målt ved WBSF 2 og 8 dager etter LV-ES (n=14). En halvdel av slaktet er stimulert (LV-ES) og den andre halvdel er ustimulert kontroll. \* indikerer signifikant forskjell ( $p < 0.05$ ) mellom kontroll og LV-ES.

Vi undersøkte effekten av LV-ES på aktivitet av muskelproteaser ( $\mu$ -calpain and cathepsin B+L) for å se om disse kunne være involvert i forbedringen av mørhet. Vi observerte en signifikant effekt av LV-ES på  $\mu$ -calpain aktivitet ved 1 og 24 t etter LV-ES (Figur 3). Det er grunn til å anta at disse endringene ville føre til økt post mortem proteolyse av strukturelle proteiner og derigjennom lede til forbedring i mørhet. Ingen signifikant endring av Cathepsin B+L aktivitet ble

funnet i denne studien, noe som kan tyde på at disse proteasene trolig ikke spiller noen avgjørende rolle i forhold til LV-ES forbedring av mørhet (Figur 4). Det var likevel en tendens ( $P=0.052$ ) til økt aktivitet i den løselige proteinfraksjonen, slik at deres rolle ikke helt kan avskrives.



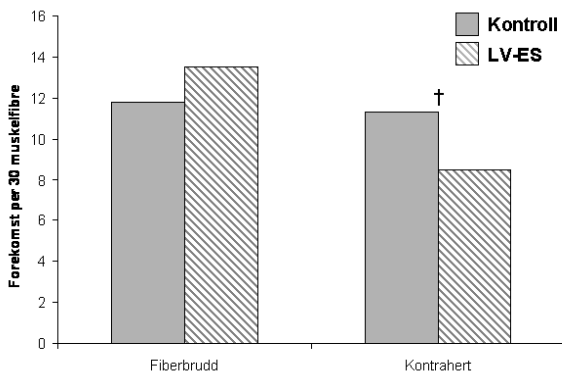
Figur 3.  $\mu$ -Calpain aktivitet i ytrefilet målt ved ulike tider etter LV-ES ( $n=10$ ). En halvdel av slaktet er stimulert (LV-ES) og den andre halvdel er ustimulert kontroll. \* indikerer signifikant forskjell ( $p<0.05$ ) mellom kontroll og LV-ES.



Figur 4. Cathepsin B+L aktivitet i ytrefilet målt i prøver tatt 2 og 8 dager etter LV-ES ( $n=4$ ). En halvdel av slaktet er stimulert (LV-ES) og den andre halvdel er ustimulert kontroll. † indikerer tendens til forskjell mellom kontroll og LV-ES.

Vi undersøkte også effekten av LV-ES på forekomsten av muskelfiberbrudd og kontraherte muskelfibre. Det var en tendens til flere muskelfiberbrudd og færre kontraherte muskelfibre i prøvene etter LV-ES og dette vil i så fall stemme

overens med forbedret mørhet i disse prøvene (Figur 5). Dette bekrefter også resultatene på proteaseaktivitet som er beskrevet foran ved at man trolig har en økt proteolyse av strukturelle proteiner før rigor i prøvene som er stimulert.



Figur 5. Fiberbrudd og kontraksjon av muskelfibre i ytrefilet målt 8 dager etter LV-ES ( $n=10$ ). En halvdel av slaktet er stimulert (LV-ES) og den andre halvdel er ustimulert kontroll. † indikerer tendens til forskjell mellom kontroll og LV-ES.

Sarcoplasmiske muskelproteiner fra prøver som var samlet ved 1 og 3 timer etter LV-ES fra 8 dyr ble analysert for å se om vi kunne observere endringer i proteinsammensetningen som følge av LV-ES. Til sammen 12 proteinflekker var uttrykt på lavere nivå etter LV-ES. Vi har identifisert 7 av disse proteinene og det viser seg at disse er involvert i ulike biokjemiske reaksjonsveier. Flere av proteinflekkene ble identifisert som hsp27, et stress- og forsvarsprotein som tidligere er postulert å være en markør for mørhet. Et annet stress- og forsvarsprotein crystallin alpha ble også identifisert. En nedgang i pyruvat dehydrogenase som er involvert i overgangen mellom glykolysen og den oksidative metabolismen i sitronsyresyklusen etter LV-ES kan reflektere en raskere overgang til anaerob ATP-produksjon, noe som også støttes av et raskere pH fall forårsaket av anaerob produksjon av laktat.

## Konklusjoner

LV-ES gir en forbedring i mørhet i ytrefilet. Dette gjelder spesielt kjøtt som i utgangspunktet er seigt. Resultatene tyder på at proteaseaktiviteten er økt etter LV-ES og dette kan være med på å forklare tendensene til økt antall fiberbrudd i det stimulerede kjøttet. Endringer i proteinsammensetningen tyder også på at det er metabolske forandringer etter LV-ES som kan være med å forklare et raskere pH fall og forbedring i mørhet.