

## STRESZCZENIE POPULARNONAUKOWE PROJEKTU

Celem projektu będzie określenie wpływu wybranych szczepów grzybów na przemiany zachodzące w mięsie wołowym podczas jego dojrzewania metodą na sucho, w ujęciu kompleksowym z wykorzystaniem badań metabolomicznych.

Dane literaturowe dotyczące metod dojrzewania mięsa wołowego zarówno metodą na mokro, jak i na sucho wskazują, że wołowina poddana procesowi dojrzewania metodą na sucho charakteryzuje się korzystniejszym profilem smakowo-zapachowym oraz teksturą, w porównaniu do mięsa dojrzewanego metodą na mokro. W procesie tym bierze udział złożona mikrobiota, w skład której oprócz licznych gatunków bakterii wchodzi również grzyby. Ich aktywność enzymatyczna może przyczyniać się do wykształcania między innymi unikalnego profilu smakowo-zapachowego wołowiny dojrzewającej tą metodą oraz kształtować jej kruchość. Jak dotąd brakuje jednak wiedzy z zakresu kompleksowej oceny indywidualnego wpływu każdego z grzybów na zmiany zachodzące w dojrzewanej wołowinie. Brakuje również danych z zakresu oceny różnic w ich metabolomie, czyli różnic w profilu wytworzonych metabolitów, które mogą być substratami reakcji oraz pośrednimi i końcowymi produktami metabolizmu. Również kwestia bezpieczeństwa wołowiny dojrzewanej metodą na sucho nie jest poznana zważywszy na fakt, że grzyby mogą być źródłem toksycznych wtórnych metabolitów grzybowych (np. mykotoksyn), co jest szczególnie ważne z punktu widzenia zdrowia publicznego. Niektóre powstałe metabolity mogą być także istotne z powodu inhibitowania rozwoju mikrobioty konkurencyjnej. Wychodząc naprzeciw oczekiwaniom dotyczącym zrozumienia roli poszczególnych grzybów w kształtowaniu jakości wołowiny dojrzewanej metodą na sucho proponuje się w niniejszym projekcie określenie ich indywidualnego wpływu na profil metabolomiczny. Dzięki wykorzystaniu nowoczesnych technik chromatograficznych połączonych z wysokorozdzielczym spektrometrem mas wraz z kompatybilnym oprogramowaniem do analizy danych możliwe będzie mapowanie szlaków metabolicznych grzybów biorących udział w dojrzewaniu mięsa wołowego. Zakłada się, że tylko kompleksowe badania związane z poznaniem roli metabolomu charakterystycznego dla indywidualnego mikroorganizmu w czasie dojrzewania wołowiny metodą na sucho, pozwolą na zrozumienie tego złożonego procesu. Jest to nowością w skali krajowej i światowej.

Pierwszym etapem planowanych badań będzie określenie profilu metabolomicznego oraz metagenomicznego, a także jakości (w tym sensorycznej) wołowiny dojrzewanej na sucho dostępnej w handlu. W kolejnym etapie dwa szczepy grzybów (szczep A, szczep B) skorelowane z unikatową jakością takiego mięsa zostaną wybrane i wyizolowane, a następnie zostanie przeprowadzona ich pełna charakterystyka (charakterystyka morfologiczna, warunki wzrostu, aktywność enzymów zewnątrzkomórkowych zarówno białkowych, jak i lipidowych). Z każdego szczepu wybranych grzybów przygotowane zostaną inokula (roztwory szczepionki), które zostaną wykorzystane w pozostałych etapach niniejszego projektu. W etapie trzecim oraz czwartym planowane jest prowadzenie dwóch doświadczeń równoległe, tj. doświadczenia kontrolnego, w którym proces dojrzewania mięsa wołowego metodą na sucho prowadzony będzie bez inokulacji oraz doświadczenia właściwego, gdzie proces dojrzewania surowca prowadzony będzie z inokulacją odpowiednio szczepem grzyba A lub B. Surowcem do badań będzie ligawa (wołowina o niskiej marmurkowatości, czyli przetłuszczeniu śródmięśniowym - dotychczasowe badania koncentrowały się na wykorzystaniu surowca o znacznej marmurkowatości). Surowiec pozyskiwany będzie od buhajków rasy holendersko-fryzyjskiej, czyli najpopularniejszej w Polsce rasy hodowlanej bydła. Proces dojrzewania surowca prowadzony będzie przez 63 dni w komorach klimatycznych, w kontrolowanych warunkach, typowych dla dojrzewania wołowiny metodą na sucho, tj. temperatura: 0-4°C, wilgotność względna powietrza: 75-85%, prędkość przepływu powietrza: 0,2-2,5 m/s.

W etapach trzecim i czwartym przeprowadzone zostaną analizy mające na celu określenie roli metabolitów (np. amin biogennych, kwasów tłuszczowych, związków lotnych) wybranych szczepów grzybów w procesie dojrzewania wołowiny. Analizy te wykonywane będą na kilku poziomach (tj. analitycznym, mikrobiologicznym, fizyko-chemicznym, a także sensorycznym). Profilowanie metabolomu wykonywane będzie w 7 dniowych interwałach, od 1 do 63 dnia prowadzenia procesu. Charakterystyka metaboliczna realizowana będzie na każdym etapie procesu dojrzewania, poprzez porównanie profilu metabolomicznego w mięsie przed dojrzewaniem oraz podczas dojrzewania metodą na sucho bez inokulacji (kontrolne) z profilami metabolomicznymi mięsa inokulowanego odpowiednim szczepem grzyba. Ponadto, co 7 dni trwania procesu dojrzewania surowca prowadzone będą badania dotyczące oceny szeroko pojętej jakości mięsa, obejmującej pomiar pH, określenie zmian masy podczas dojrzewania, składu chemicznego, w tym zmian w tłuszczach, pomiar barwy oraz tekstury oceny oraz jego jakości mikrobiologicznej. W odstępach 14 dniowych przeprowadzona zostanie także ocena sensoryczna badanego mięsa oraz określony jego profil metagenomiczny. Uzyskane wyniki pozwolą na odpowiedź w jaki sposób profil metabolomiczny wybranych szczepów grzybów determinuje jakość, w tym smakowość oraz kruchość wołowiny dojrzewanej metodą na sucho, oraz pozwolą ocenić jej bezpieczeństwo.