

На правах рукописи

Бурлакова Светлана Сергеевна

**РАЗРАБОТКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО МЕТОДА
ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В МЯСНОМ СЫРЬЕ
И ПРОДУКЦИИ**

Специальность 05.18.04 – технология мясных, молочных,
рыбных продуктов и холодильных
производств

АВТОРЕФЕРАТ
диссертация на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Москва 2011

Работа выполнена в Государственном научном учреждении Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии (ГНУ ВНИИ мясной промышленности им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии).

Научный руководитель: доктор технических наук
Хвыля Сергей Игоревич

Официальные оппоненты: доктор технических наук,
Стефанова Изабелла Львовна.

кандидат технических наук, доцент
Корешков Виктор Николаевич

Ведущая организация: Государственное научное учреждение Научно-исследовательский институт детского питания Российской академии сельскохозяйственных наук (НИИДП Россельхозакадемии).

Защита диссертации состоится « 29 » марта _____ 2011 г. в __13__ часов __00__ мин на заседании диссертационного совета ДМ 006.021.01 при ГНУ ВНИИ мясной промышленности им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии по адресу:
109316, Москва, ул. Талалихина, 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИИМП.

Автореферат разослан и размещен на сайте
www.vniimp.ru « 25 » февраля _____ 2011 г.

Отзыв на автореферат (в двух экземплярах), заверенный печатью, присылать по адресу: 109316, Москва, ул. Талалихина, 26

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат технических наук, с.н.с.

А.Н. Захаров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. За последние годы в нашей стране значительно возросло потребление мяса и мясных продуктов. Но так как современное сельское хозяйство, в частности животноводство, испытывает трудности развития, то и в мясоперерабатывающей отрасли возникают серьезные проблемы с животным сырьем. Это не может не сказаться на качестве мясной продукции, выпускаемой предприятиями. Очень часто, стараясь получить продукт с низкой себестоимостью и удовлетворительными потребительскими характеристиками (вкус, цвет, аромат, сроки хранения), производители начинают использовать в рецептурах некачественное мясное сырье (длительных сроков холодильного хранения) или вовсе производить частичную замену мясного сырья комплексными смесями с использованием сои и животных белков. При этом производитель начинает забывать о важной роли самой мышечной ткани.

Большой вклад в разработку методических основ и проблемы исследования мышечных структур, пищевой и биологической ценности мышечной ткани, внесли российские и зарубежные ученые: Белоусов А.А., Верболович П.А., Гауровиц Ф., Жаринов А.И., Журавская Н.К., Забашта А.Г., Кендрью Дж., Кузнецова Т.Г., Кудряшов Л.С., Писменская В.Н., Перутц М., Соловьев В.И., Хвыля С.И., Danchev S., Kuschfeld R., Hofmann K., Prandl O. и другие. В их работах показано высокое значение мышечной ткани для человека, разработаны методы выявления фальсификации продукции, несоответствия нормативным документам.

Мышечная ткань — важнейшая из гистологических тканей, образующих мясо как пищевой продукт. Без мышечной ткани представление о мясе немыслимо. Мясо служит источником полноценных белков, жира, минеральных и экстрактивных веществ, некоторых витаминов, потребление которых является необходимым для нормального функционирования организма.

В связи с этим следует признать необходимым разработать объективный комплекс методов по определению содержания мышечной ткани в мясном сырье и готовой продукции.

Наиболее перспективным для определения мышечной ткани в мясе и мясопродуктах является гистохимический метод в сочетании с морфометрическим анализом, которые позволят объединить и гистологический и химические методы для количественного выявления животных белков и мышечной ткани в мясном сырье и готовой продукции.

Цель и задачи исследования. Целью диссертационной работы являлась разработка количественного метода определения мышечной ткани в мясном сырье и вырабатываемой из него продукции на основе их комплексного исследования химическими и микроструктурными методами, а так же создание количественной гистологической методики определения животных компонентов с помощью морфометрического анализа.

В соответствии с поставленной целью решали следующие основные задачи:

- разработать контрольную модельную мясную систему и изучить ее морфометрические и химические показатели;
- разработать метод подготовки гистологических препаратов для микроструктурных исследований;
- разработать методику микроструктурного выявления миоглобина в соматической мышечной ткани и провести сравнительный анализ его содержания в сырье и готовых продуктах;
- определить состав различных видов мясных продуктов морфометрическими и химическими методами;
- разработать гистологический метод количественного определения мышечной ткани в мясном сырье и готовых продуктах, провести его адаптацию на группах продуктов и определить экономическую эффективность его применения.

Научная новизна работы состоит в следующем.

Определены особенности формы частиц маркирующих миоглобин в продуктах с видимой мышечной структурой (палочки, гранулы) и для эмульгированных мясных продуктов (звездочки, иголки). Усовершенствована методика обработки гистологических препаратов за счет окраски реактивом Буэна для выявления миоглобина в соматической мышечной ткани.

Для замороженного мяса установлен выход миоглобина через сарколемму из мышечного волокна в межклеточное пространство, что свидетельствует о первичном нарушении клеточной мембраны. Данная зависимость выхода миоглобина в замороженном мясе, позволяет определить различное термическое состояние мяса, а так же на ранних стадиях производства отделить замороженное мясо от охлажденного.

Практическая значимость Разработана гистологическая методика количественного определения содержания мышечной ткани в мясных полуфабрикатах и продуктах из мяса.

Разработан метод фиксации материала для микроструктурных исследований, позволяющий сократить время обработки и существенно улучшить качество получаемых гистологических препаратов.

Создан метод окраски препаратов для получения максимального контраста при выявлении миоглобина в мышечной ткани и мясных продуктах.

Разработана методика перевода из объемных процентов в массовую долю количества мышечной, соединительной и жировой ткани, а так же других компонентов входящих в продукт по комплексу данных морфометрического анализа совместно с содержанием влаги и жира.

Экономическая эффективность применения гистологического метода количественного определения содержания мышечной ткани в мясном сырье, полуфабрикатах и готовых продуктах из мяса составляет в среднем 82,5 тыс. рублей (в ценах 2010 г).

Апробация работы. Основные результаты работы были представлены на 10-й (2007), 11-й (2008) и 12-й Международных научно-практических конференциях памяти Василия Матвеевича Горбатова, Москва, ВНИИМП; Международных научно-практических конференциях, Волгоград, 2008, Углич, 2008, 2009; VI (2007), VII (2008) и VIII (2009) Международных научных конференциях студентов и молодых ученых, Москва, МГУПБ.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора научно-технической литературы, характеристики объектов и методов исследования, результатов исследования с их обсуждением, выводов, списка источников использованной литературы и приложения. Работа изложена на 125 страницах машинописного текста, содержит 43 рисунка, 11 таблиц и 2 приложения. Библиография включает 137 источников, в том числе 36, принадлежащих зарубежным авторам.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертационной работы.

В главе 1 приведен аналитический обзор научно-технических публикаций, посвященных вопросам строения и состава мышечной, соединительной и жировой тканей. Указаны характеристики белков мышечной ткани, более подробно рассмотрены особенности миоглобина и приведены основные методы определения белков мышечной ткани. Обоснована необходимость более глубокого исследования вопросов по методологии выявления мышечной ткани в мясном сырье и

готовых продуктах. Анализ состояния вопроса позволил определить цель и сформулировать задачи исследования.

Глава 2. Организация эксперимента. Объекты и методы исследования.

Проведение исследований осуществляли в несколько этапов в соответствии со схемой, представленной на рис. 1. Объектами исследования являлись:

- мясо птицы механической обвалки;
- охлажденная свинина (вырезка);
- охлажденная говядина (полусухожильная мышца), замороженная свинина (длиннейшая мышца спины); кровяная колбаса; свиное сухожилие; сердце лабораторных животных (крыса);
- полуфабрикаты: котлеты «Д» по ТУ, котлеты «СГ» по ТУ, котлеты «С» по ТУ; пельмени «Ч» из отборной говядины по ТУ, пельмени «К» по ТУ, пельмени «З» по ТУ;

При выполнении работы использовали: стандартизованные методы гистологического исследования мясных продуктов – по ГОСТ Р 51604 – 2000, ГОСТ Р 52480–2005; помимо стандартизованного гистологического метода применяли также химические методы исследования: массовая доля влаги – по ГОСТ 9793 – 74 , жира – по ГОСТ 23042 – 86, хлорида натрия – по ГОСТ 26186 – 84, нитрита натрия – по ГОСТ 8558.1 – 78, белка – по ГОСТ 25011 – 81.

Изучение гистологических препаратов и их фотографирование осуществляли на световом микроскопе «AxioImaiger A1» (Carl Zeiss, Германия) с помощью подключенной видеокамеры «AxioCam MRc 5». Обработку изображений и проведение морфометрических исследований производили с применением компьютерной системы анализа изображений AxioVision 4.7.1.0, адаптированной для гистологических исследований.

Морфометрические исследования проводили в соответствии с принципами системного количественного анализа. Для проведения количественных измерений задавали параметры анализа объекта (площадь). Полученные экспериментальные данные обрабатывали с использованием стандартных математических методов на персональном компьютере при помощи программных средств. Уровень достоверной вероятности 0,95 применялся при проверке статистических гипотез.



Рис.1. Схема проведения исследований

1. гистологические исследования мясных продуктов;
2. определение массовой доли влаги;
3. определение массовой доли жира;
4. определение массовой доли хлорида натрия;
5. определение массовой доли нитрита натрия;
6. определение массовой доли белка;
7. морфометрическое исследование;
8. гистохимическое исследование содержания миоглобина.

Для получения достоверных результатов эксперименты повторяли не менее 3-х раз при 3 – 5-кратной повторности анализов каждого из образцов по всем изучаемым параметрам. С целью соблюдения репрезентативности выборки, отбор проб для качественного и количественного микроструктурного анализа проводили из разных участков анализируемого образца.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Разработка контрольного образца модельной мясной системы и изучение ее морфометрических и химических показателей

При разработке контрольной мясной системы было отобрано десять образцов вырезки свинины через 48 часов после убоя из разных фермерских хозяйств России. Каждый из десяти образцов подвергали жиловке. Затем полученные образцы мышечной, соединительной и жировой тканей взвешивали на аналитических весах. После чего эти образцы помещали в стеклянную тару объемом 1000 см³ и подвергали измельчению блендером до консистенции фарша. Такую процедуру проделывали с каждым из десяти образцов. Затем полученные образцы фарша исследовали по морфометрическим и химическим (массовая доля влаги) показателям.

В результате проведенных морфометрических исследований было выявлено, что все десять образцов по своим морфометрическим показателям практически схожи, основная часть их мышечных волокон полигональной формы. Ядра овальной формы, хорошо окрашиваются и расположены по всему объему мышечного волокна. Границы между отдельными мышечными волокнами отчетливо выявляются. Так же было установлено, что минимальное содержание мышечной ткани содержалось в образце №4 и составило 75,07 об.%, а максимальное в образце №1 – 80,82 об.%. В свою очередь минимальное и максимальное содержание соединительной ткани содержалось в образцах №1 и №4, и составило 12,45 об.% и 16,7 об.%. Минимальное и максимальное содержание жировой ткани было в образцах №10 – 4,69 об.%, №2 – 8,38 об.%. Исследования массовой доли влаги показали, что минимальное содержание находилось в образце №7 и составило 69,8%, а максимальное в образце №2 – 70,9%.

Для получения контрольного образца полученные фарши перемешивали между собой, и полученный контрольный образец исследо-

вали по морфометрическим и химическим (массовая доля влаги) показателям.

В результате проведенных морфометрических исследований контрольный образец имеет следующие показатели: содержание мышечной ткани – 78,5 об.%, соединительной ткани – 14,9 об.%, жировой ткани – 6,4 об.%. Проведение химического исследования выявило, что содержание влаги в контрольном образце составляет – 70,4%.

Разработка метода подготовки гистологических препаратов для микроструктурных исследований

Из традиционных методов фиксации наиболее широко применимым фиксирующим средством является формалин. Однако следует помнить о том, что этот метод довольно продолжителен: время фиксации материала в формалине от суток до двух, за это время в растворах формалина частично растворяются нуклеиновые кислоты, некоторые белки, липиды, инактивируются белковые функциональные группы. Затем промывка материала от нескольких часов до суток. Следующим этапом, который необходим для осуществления более качественных срезов на микротоме, является пропитка раствором желатина в термостате при 35°C, которая занимает около восьми часов. И, несмотря на все потраченное время, срезы, получаемые на микротоме, могут быть довольно низкого качества. В том числе крошиться или ломаться, а во время окрашивания терять свою первоначальную форму, уплывать, разрушаться, сморщиваться при заключении в глицерин-желатин. Это нередко приводит к невозможности получения полноценных гистологических препаратов для дальнейшего исследования. Одной из причин низкого качества препаратов является их подсыхание во время пропитки желатином в термостате, а так же кристаллизация воды, оставшейся после промывки в ткани, при охлаждении материала в микротоме.

Для того чтобы сделать возможным проведение статистически достоверных количественных исследований мясных продуктов, очень важно получить высококачественные гистологические препараты, что не удастся с помощью существующих традиционных методов обработки образцов.

В связи с этим была разработана новая модификация метода фиксации готового гистологического среза формалином, которая позволяет сохранить при окраске целостность получаемых срезов.

Модификация метода состоит в следующем. Сначала исследуемый продукт режут на замораживающем микротоме при температуре -25°C, получая срезы толщиной 20 мкм, которые затем помещают на

предметное стекло. После этого препараты вынимают из микротомы, выкладывают на рабочий стол и полностью покрывают раствором формалина примерно на 15 – 30 минут. Формалин готовят, разведя в соотношении 1:8 (100 мл 37% р-ра формальдегида разводят в 800 мл дистиллированной воды). При такой концентрации формалина довольно быстро происходит фиксация среза на стекле, меньшие концентрации не дают желаемого эффекта и приводят к деформации среза при окрашивании. Затем срезы промывают от формалина в ванночке с дистиллированной водой около 2 минут, меняя воду после каждого образца. После это срезам дают подсохнуть при комнатной температуре до полного испарения жидкости, оставшейся после промывки, или их подсушивают на нагревательном столике при температурах не выше 50⁰С, но в этом случае надо не допустить их пересыхания. Теперь, можно приступать к окраске срезов гематоксилином и эозином, сократив при этом время окрашивания среза с 10 минут до 5 – 7 минут (в зависимости от свежести краски).

После такой фиксации срезов окраска препарата проходит более равномерно, срез не теряет свою первоначальную форму, не сморщивается, не уплывает со стекла в ванночку после промывки от красок, и что очень важно, он не деформируется при дифференциации краски и не расплывается при последующем заключении в глицерин-желатин.

Модифицированный метод позволяет намного улучшить качество получаемых препаратов и, что весьма существенно, сократить время обработки и, вследствие увеличения размера получаемого образца, сроков последующего исследования (рис. 3). Этот метод применим не только для замороженного сырья, но и для любых мясных продуктов: колбас, сосисок, полуфабрикатов и консервов.

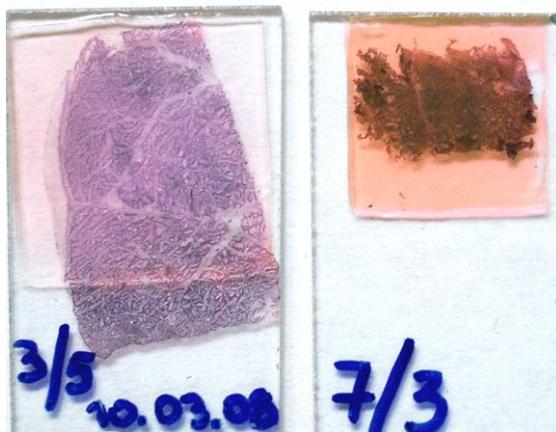


Рис. 2. Гистологические препараты, полученные с помощью модифицированного метода (слева) и обычной обработки (справа).

Таким образом, разработанная модификация метода фиксации готового гистологического среза на стекле формалином позволяет получить лучшие результаты, по сравнению с традиционными подходами. При этом необходимо перенести этап фиксации с начальной стадии на стадию перед окрашиванием. Наиболее эффективно использование метода при проведении работ с применением современного замораживающего гистологического оборудования.

Разработка методики микроструктурного выявления миоглобина в соматической мышечной ткани и проведение сравнительного анализа его содержания в сырье и готовых продуктах

Первым этапом для создания методики микроструктурного выявления миоглобина в соматической мышечной ткани, а так же сырья и готовых мясных продуктов, было выявление различий в форме миоглобина и гемоглобина. Из литературных источников известно, что миоглобин окрашивается в различные оттенки коричневого цвета и имеет характер зернистых отложений, а гемоглобин в свою очередь выявляется в виде коричневых игольчатых образований.

Вторым этапом было проведение исследований на мышечной ткани взятого за основу гистохимического метода выявления миоглобина в сердечной мышце по методу Вербеловича. Данный метод включал в себя: фиксацию образцов в жидкости Беккера - трое суток, приготовление срезов на замораживающем микротоме, окраска срезов на миоглобин бензидиновым реактивом по П.А. Верболовичу.

При проведении данных исследований обнаружилось, что фиксация жидкостью Беккера применяемая в данном методе, не подходит для использования системы анализа изображения, которой необходима фоновая контрастность препарата для четкого различия элементов. В связи с этим бесцветную жидкость Беккера заменили на жидкость Буэна, которая окрашивает срез в желтый цвет, а при взаимодействии с бензидиновым реактивом придает срезу желто-зеленый оттенок, на фоне которого окрашенные в коричневый цвет элементы отлично видны.

При исследовании на миоглобин охлажденной говядины (полу-сухожильной мышцы) наблюдается выпадение коричневых зернистых гранул только на мышечном волокне, в межклеточном пространстве данная реакция не обнаруживается (рис. 3, А). При исследовании на миоглобин замороженной свинины (длиннейшей мышцы спины) наблюдается выпадение коричневых зернистых гранул не только на мышечном волокне, но и в межклеточном пространстве, что свидетельствует о раннем разрушении сарколеммы и выходе мышечных

белков в межклеточное пространство. Так же в межклеточном пространстве обнаруживается присутствие иголочек и звездочек, что объясняется присутствием гемоглобина в мышечной ткани из-за наличия множества капилляров вблизи мышечных волокон, которые повреждаются при замораживании мышечной ткани и гемоглобин распределяется по мясной структуре. Образование звездочек можно объяснить наложением иголок и палочек (рис. 3, Б).

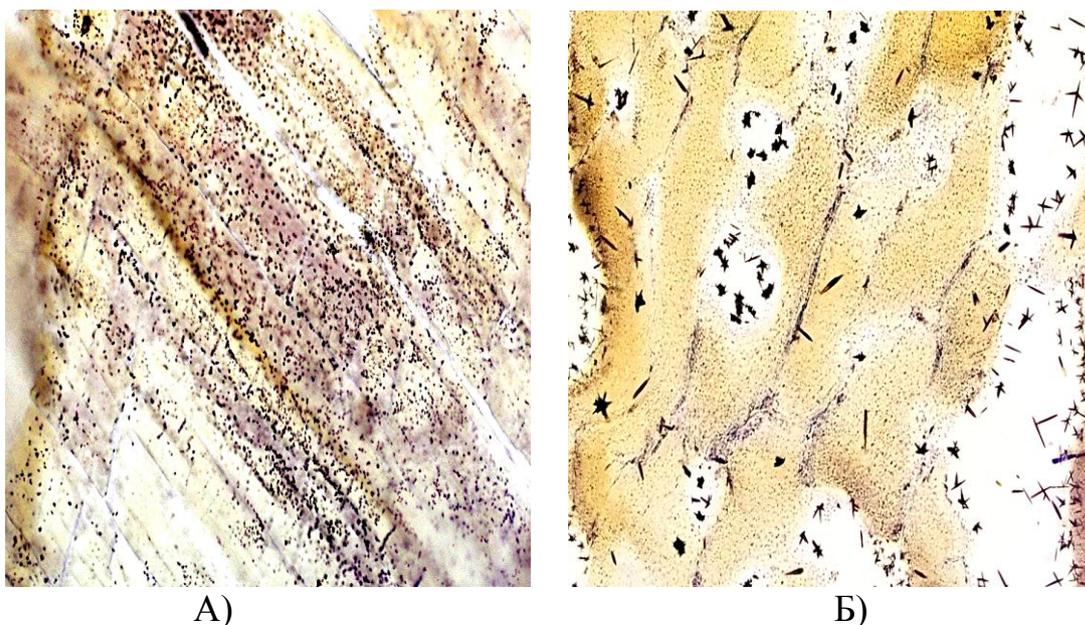


Рис. 3. Исследование мышечной ткани на миоглобин: А – охлажденная говядина. Реактив Буэна с бензидином (об. 20х); Б – замороженная свинина. Реактив Буэна с бензидином (об. 43х);

При исследовании мясных продуктов присутствие красителя было обнаружено на всех компонентах (рис. 4, А), таких как крахмал, соя, коллагеновые волокна и мука. При анализе активности в чистой соединительной ткани какая-либо реакция с появлением красителя полностью отсутствует (рис.4, Б). Исходя из этого, можем утверждать, что элементов, окисляющих бензидин там нет. Следовательно, появление окрашенных элементов было вызвано механическим повреждением мышечных волокон при технологической обработке продуктов и дальнейшим их распределением по всей структуре.

В микроскоп наблюдаются элементы, окрашенные в коричневый цвет. Данные элементы находятся как на мышечных волокнах, так и за их пределами, а также на других компонентах мясных продуктов (коллагеновые волокна, соя, крахмал, мука). Так, например, в поле зрения мы наблюдаем гранулы, палочки, иголки, звездочки.

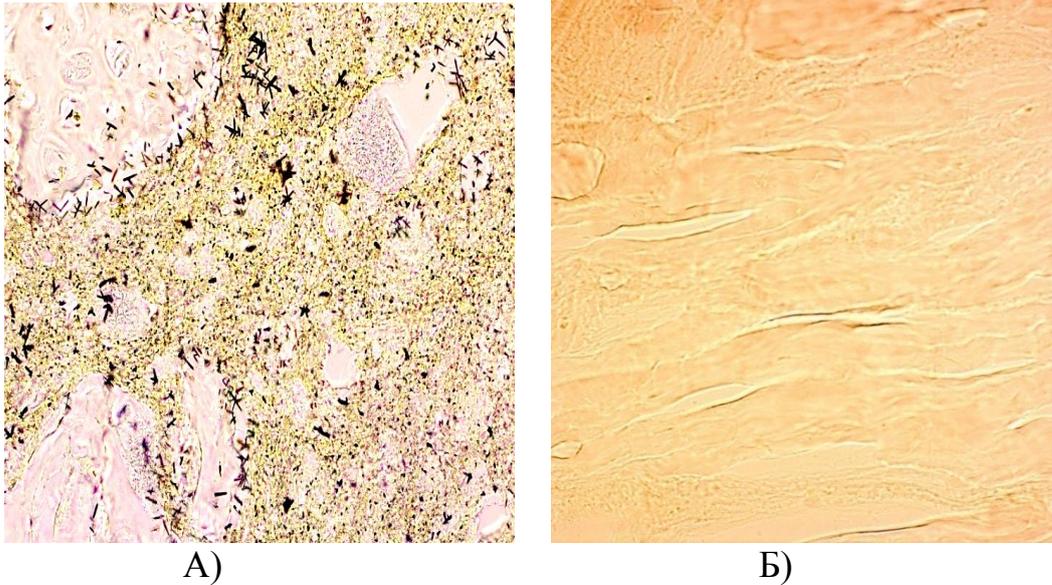


Рис. 3. Исследование мясных продуктов на миоглобин: А – колбаса «Русская». Реактив Буэна с NaOH и бензидином (об. 20х); Б – свиное сухожилие. Реактив Буэна с бензидином (об. 20х)

При проведении данных исследований была подобрана подходящая фиксирующая жидкость для получения более контрастных срезов. Окончательная методика для выявления миоглобина в мышечной ткани и мясных продуктах включает следующие этапы: обработку жидкостью Бекера, затем NaOH $pH=10$ и бензидиновым реактивом по Вербеловичу.

При проведении исследований замороженной мышечной ткани был установлен выход миоглобина через сарколемму из мышечного волокна в межклеточное пространство, что свидетельствует о первичном нарушении клеточной мембраны. А при исследовании охлажденного мясного сырья выход миоглобина в межклеточное пространство не установлен, что свидетельствует о целостности сарколеммы мышечного волокна. Данная зависимость выхода миоглобина в замороженном мясе, позволяет определить различное термическое состояние мяса, а так же на ранних стадиях производства дифференцировать замороженное мясо от охлажденного.

Определение состава различных видов мясных продуктов морфометрическими методами

Проведение морфометрических исследований полуфабрикатов

Помимо морфологической оценки состава и характеристик мясного продукта с помощью методов гистологического анализа можно осуществлять определение содержания большинства компонентов. Представление этих данных может быть реализовано в простейшей форме как словесная характеристика и в строгой математической форме, в объемных процентах с указанием всех необходимых и достаточных статистических параметров.

Количественные исследования полуфабрикатов проводились в сравнении с контрольной мясной системой, которая содержала 78,5 об.% – мышечной ткани, 14,9 об.% – соединительной ткани и 6,4 об.% – жировой ткани. В результате проведенных исследований были получены следующие результаты. При количественном исследовании котлет «Д» было установлено содержание тканей в объемных процентах: мышечной ткани составило – 37,97%; соединительной ткани – 20,88%; жировой ткани – 10,05%; текстурата соевого белка – 31,02%. В котлетах «СГ» установлено содержание тканей в объемных процентах: мышечной ткани – 33,58%; соединительной ткани – 14,56%; жировой ткани – 17,88%; текстурата соевого белка – 21,71%; крахмала – 2,25%. При исследовании котлет «С» установлено содержание тканей в объемных процентах: мышечной ткани – 56,28%; соединительной ткани – 25,24%; жировой ткани – 18,48% (рис.5).

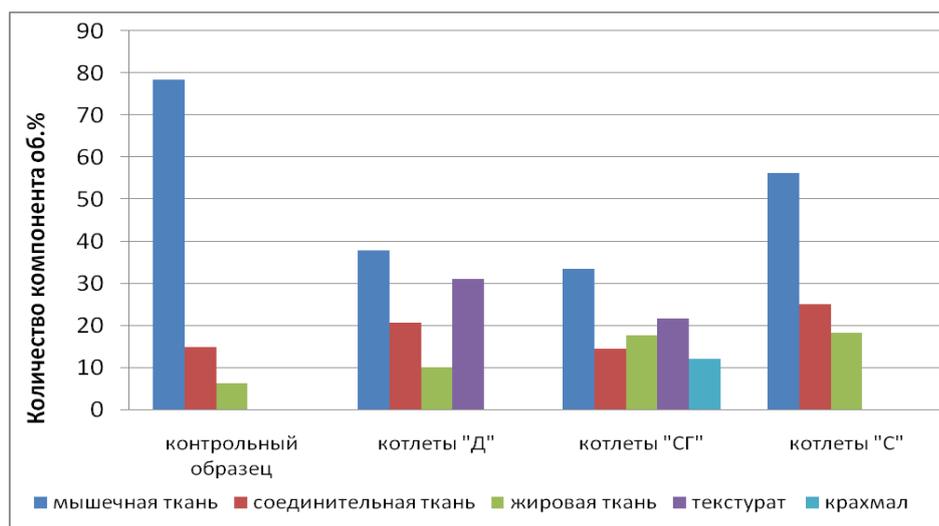


Рис. 5. Содержание вида тканей и растительных компонентов в котлетах (об.%)

При количественном исследовании пельменей «Ч» установлено содержание: мышечной ткани – 39,45%; соединительной ткани – 18,37%; жировой ткани – 14,56%; текстурата соевого белка – 27,42%.

При исследовании пельменей «К» установлено содержание: мышечной ткани – 56,18%; соединительной ткани – 17,64%; жировой ткани – 14,78%; каррагинана – 11,4%. При исследовании пельменей «З» установлено содержание компонентов: мышечной ткани – 66,23%; соединительной ткани – 18,68%; жировой ткани – 15,06% (рис.6).



Рис. 6. Содержание вида тканей и растительных компонентов в пельменях (об.%)

В результате проведенных исследований выявлено, что среднее содержание мышечной ткани в исследуемых образцах по сравнению с контрольным образцом в объемных % составило: для котлет – 42,5%, что на – 36% меньше чем в контрольном образце; для пельменей содержание мышечной ткани по сравнению с контролем меньше на – 24,6% и составило – 53,9%.

Качественные и количественные характеристики мяса механической обвалки

Были проведены морфометрические исследования фаршей мяса птицы механической обвалки, в связи с тем, что в последние годы значительно возросло производство продуктов с использованием этого вида мяса. Проведение данного исследования позволило определить различные типы мяса птицы механической обвалки и условно разделить на четыре группы (рис. 7).

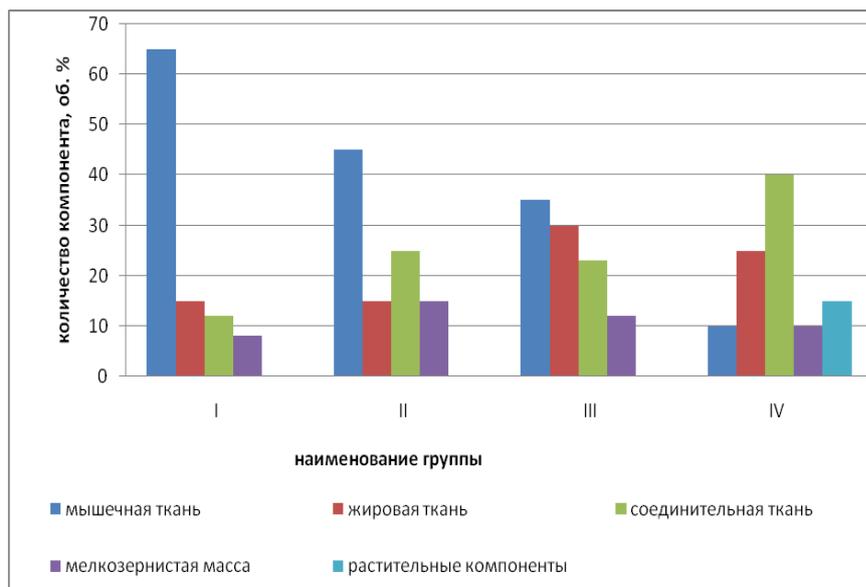


Рис. 7. Состав мяса механической обвалки птицы

К I группе отнесли мясо механической обвалки птицы высокого качества, где содержание мышечной ткани, наиболее ценной в пищевом и технологическом отношении, составило около 65 об. %, соединительной и жировой по 12 об. % и 15 об. % соответственно, а в свою очередь мелкозернистая белковая масса составила 8 об. %.

Ко II и III группам отнесли наиболее часто встречающийся вариант, где содержания мышечной ткани в пределах от 35 до 45 об.%, соединительной ткани в пределах от 20 до 25 об.%, жировой ткани - от 15 до 30 об.%. А содержание мелкозернистой массы колеблется от 12 до 15 об.%.

К IV группе отнесли мясо птицы механической обвалки низкого качества, где содержание наиболее ценного в пищевом отношении компонента мышечной ткани не превышало 10 об.%, а содержание соединительной ткани было превышено в два раза по сравнению с другими группами и составило около 40 об. %. Жировая ткань и мелкозернистая масса составили соответственно 25 и 10 об.%. В то же время преобладающим компонентом становятся растительные добавки - крахмал и мука.

Гистологический анализ с последующей количественной оценкой входящих в его состав тканевых компонентов позволил определить различные типы и случаи фальсификации мяса птицы механической обвалки.

В мясе птицы механической обвалки высокого качества содержание мышечной ткани, наиболее ценной в пищевом и технологическом отношении части, может составлять до 65 об.%. В то же время в случае низкого качества этого вида сырья (полуфабриката) преобла-

дающим компонентом становится соединительная и жировая ткани. Соответственно значительно снижено содержание наиболее ценного в пищевом отношении компонента – мышечной ткани до 10 об.%. Возможны и промежуточные варианты содержания мышечной ткани, наиболее же часто содержание мышечной ткани находится в пределах 35 – 45 объемных процентов.

Разработка количественного метода определения мышечной ткани в мясном сырье и готовых продуктах

Морфометрические исследования мышечной, соединительной, жировой тканей и других компонентов входящих в продукт, проводят после их морфологического анализа на гистологических препаратах. С помощью окуляр-микрометра или системы анализа изображения рассчитывают всю площадь среза на препаратах, включая участки незанятые тканями.

Измерение размеров структуры проводят в несколько этапов. В имеющемся поле зрения произвольно выделяют квадрат, составляющий около третьей части всей площади поля, и измеряют его линейные размеры. После производят измерение всех частиц, входящих в квадрат. При дальнейшей статистической обработке результатов измерений производится сначала поэтапное измерение всех дифференцируемых составных компонентов, входящих в состав продукта. Затем производится суммирование общего количества мышечных волокон, соединительной ткани, жировой ткани, а так же добавок, учитывая линейные размеры поля. Статистическую обработку данных проводят в режиме компьютерных программ типа Excel. Дальнейшая обработка данных и перевод их из об.% в массовые значения осуществляется по формулам вручную или же автоматически через созданную таблицу в программе Excel.

В любом исследуемом образце возможно измерить массовую долю влаги (%) – $\rho_{в.л.}$, из которого мы определяем коэффициент влаги – $\mu_{в.}$:

$$\mu_{в.} = \frac{\rho_{в.л.} \%}{100\%}$$

Зная коэффициент влаги в исследуемом образце $\mu_{в.}$ и массу исследуемого среза – $m_{ис.}$, мы определяем массу всех тканей – $m_{вт.}$ в исследуемом срезе;

$$m_{вт.} = m_{ис.} - m_{в.}$$

где m_b – масса влаги в исследуемом срезе, которая находится по формуле:

$$m_b = m_{ис} - \mu_b$$

Тогда формула для определения массы всех тканей в исследуемом срезе будет следующего вида:

$$m_{вт} = m_{ис} \times (1 - \mu_b);$$

Методом измерения тканей в исследуемом срезе мы определяем их объемные доли в пробе – ($\rho_{вт}\%$), из этого мы получаем коэффициент любой ткани в исследуемой пробе – $v_{вт}$;

$$v_{вт} = \frac{\rho_{вт}\%}{100\%}$$

После этого мы можем рассчитать массу любой ткани или растительного компонента – $m_{вт}$ в исследуемой пробе по формуле:

$$m_{вт} = m_{вт} \times v_{вт}$$

Таким образом, зная соотношение массы мышечной ткани в исследуемой пробе к массе исследуемого продукта можно определить количественно массу любой ткани в исследуемом образце:

$$M_{вт} = M \times m_{вт} / m_{ис} \quad \text{где } M - \text{масса всего образца (г).}$$

Чтобы узнать процентное содержание любой ткани от массы исследуемого продукта, применяем принцип соотношения:

$$x = \frac{M_{вт} \times 100\%}{M}$$

Для мясных продуктов с видимыми мышечными структурами таких как: варено-копченые, сырокопченые колбасы, ветчина, полуфабрикаты, консервы, при определении количества мышечной ткани подходит формула с учетом массовой доли влаги. Для эмульгированных мясных продуктов помимо влаги учитывается и массовая доля жира.

Формулы для эмульгированных мясных продуктов

В любом исследуемом образце возможно измерить процентное содержание влаги и жира (%) – $\rho_{вл}$, $\rho_{ж}$, из которого мы определяем коэффициент влаги и жира – $\mu_{вл}$ и $\mu_{ж}$;

$$\mu_{вл} = \frac{\rho_{вл}\%}{100\%}; \quad \mu_{ж} = \frac{\rho_{ж}\%}{100\%}$$

Зная коэффициент влаги $\mu_{вл}$ и жира $\mu_{ж}$ в исследуемом образце и массу исследуемого среза – $m_{ис}$, мы определяем массу фарша – $m_{ф}$ в исследуемом срезе;

$$m_{ф} = m_{ис} - m_b - m_{ж}$$

где m_b – масса влаги в исследуемом срезе, которая находится по формуле:

$$m_b = m_{ис} - \mu_{вл}$$

$m_{ж}$ – масса жира в исследуемом срезе, которая находится по формуле:

$$m_{ж} = m_{ис} - \mu_{ж}$$

Тогда формула для определения фарша в исследуемом срезе будет следующего вида:

$$m_{ф} = m_{ис} \times (1 - \mu_{вл} - \mu_{ж});$$

Методом морфометрического анализа мы определяем объемную долю добавок в исследованном срезе – ($\rho_{д}^{\circ}$), после этого мы получаем коэффициент любой добавки в исследуемой срезе – $v_{хд}$,

$$v_{хд} = \frac{\rho_{д}^{\circ}}{100\%}$$

После этого мы можем рассчитать массу добавок – $m_{хд}$ в исследуемой срезе по формуле:

$$m_{хд} = m_{ф} \times v_{хд}$$

Таким образом, зная соотношение массы добавок к массе фарша исследуемого продукта, можно определить количественно массу добавок в исследуемом образце:

$$M_{хд} = M \times m_{д} / m_{ф}$$

где M - масса всего образца (г);

Что бы узнать процентное содержание добавок к массе исследуемого продукта, применяем принцип соотношения:

$$x = \frac{M_{хд} \times 100\%}{M}$$

Таким образом, масса чистого фарша – $M_{чф}$ может быть определена по следующей формуле:

$$M_{чф} = M \times \left(1 - \mu_{вл} - \mu_{ж} - \frac{m_{д}}{m_{ф}}\right)$$

Обработка результатов автоматически через таблицу в программе Excel.

Для автоматической обработки результатов необходимо заполнить лишь первый столбец таблицы минуя строку выделенную красным цветом (табл. 1, табл. 2), все остальные значения, выделенные в таблице разными цветами, появляются автоматически при занесении предыдущих данных;

Для получения достоверных результатов необходимо исследовать по три среза из трех проб, отобранных от каждого образца. Для заполнения первого столбца таблицы необходимо произвести действия, как показано на (рис. 8).



Рис. 8. Схема комплексного выбора методов исследования образца

Таблица 1

Таблица перевода из об.% в массовые для мясных продуктов с видимыми мышечными структурами

Масса исследуемого среза (г)	0,1	Масса ткани в срезе (гх10 ⁻³)	Долевое содер- жание ткани в исследуемом об- разце (%)	Масса (г)	Количественное содержание ткани (г)
Массовая доля влаги (%)	61,00%				
Масса среза за вычетом влаги (г)	0,039				
Объемное содержание Мышечной тка- ни (%)	61,00%	23,79	23,79%	400,00	95,16
Объемное содержание Соединительной ткани (%)	24,00%	9,36	9,36%		37,44
Объемное содержание Жировой ткани (%)	10,00%	3,90	3,90%		15,6
Объемное содержание Добавки А (%)	3,00%	1,17	1,17%		4,68
Объемное содержание Добавки Б (%)	2,00%	0,78	0,78%		3,12

Таблица 2

Таблица перевода из об.% в массовые для гомогенизированной продукции

Масса исследуемого среза (г)	0,1	Масса ткани в срезе (гх10 ⁻³)	Долевое содержа- ние фарша в исследуемом образце (%)	Масса (г)	Количественное содержание ткани (г)
Массовая доля влаги (%)	56,00%				
Массовая доля жира (%)	13,00%				
Масса среза за вычетом влаги и жира (г)	0,031				
Объемное содержание Фарша (%)	45,00%	13,950	13,950%	800,00	111,6
Объемное содержание Добавки А (%)	24,50%	7,595	7,595%		60,76
Объемное содержание Добавки Б (%)	13,50%	4,185	4,185%		33,48
Объемное содержание Добавки С (%)	17,00%	5,270	5,270%		42,16

Использование предложенной методики количественного определения мышечной ткани в мясном сырье и готовой продукции предоставляет возможность оценки показателей их качества, и выявления фальсификации состава. Разработанный метод позволяет составить достоверную картину о количественном содержании мышечной, соединительной жировой тканей, а так же других компонентов входящих в состав продукта.

Представленные таблицы для автоматического пересчета позволяют сократить время исследования, а использованный технический прием фиксации гистологического среза после монтирования на предметное стекло существенно улучшает качество.

Применение разработанного метода при исследовании готовой продукции

В течение 2008 – 2009 гг. проводили гистологический и количественный анализ, состава полуфабрикатов который показал, что в последнее время большое число продукции содержит в своем составе различные компоненты растительного происхождения, как правило, данная продукция выпускается по ТУ разработанным производителем. Выявить такие случаи возможно только методами гистологического анализа с использованием количественного метода. Данная проблема особенно актуальна, так как при использовании в производстве фальсифицированного сырья состав готового продукта также не будет соответствовать рецептуре. Было исследовано 150 полуфабрикатов, выработанных на 82 мясоперерабатывающих предприятиях, и получены следующие результаты (рис. 9).

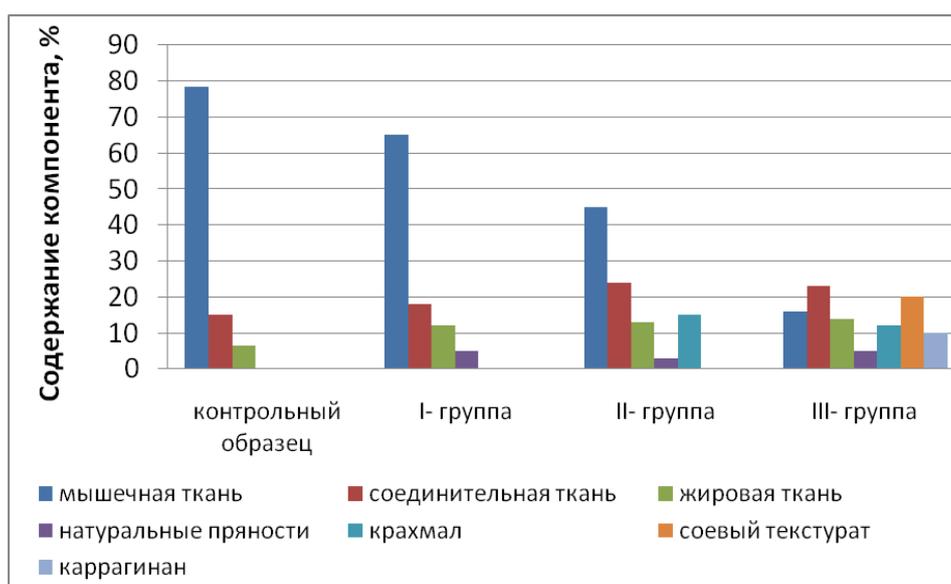


Рис. 9. Содержание компонентов в полуфабрикатах, %

Исследованные полуфабрикаты при сравнении с контрольным образцом условно разделили на три основные группы:

- 1) полуфабрикаты с высоким содержанием мышечной ткани (более 50%), и полным соответствием состава заявленного на этикетке;
- 2) полуфабрикаты со средним содержанием мышечной ткани (не более 50%), и не соответствием состава заявленного на этикетке на 6%;
- 3) полуфабрикаты со средним содержанием мышечной ткани (не более 20%), и не соответствием состава заявленного на этикетке на 40%;

Как показали исследования полуфабрикатов I группы, содержание соединительной и жировой ткани 21% и 13% соответственно, подмена мясного сырья на белковые и углеводные добавки не происходит. Число таких производителей составило около 20% от общего их числа. Во II группе содержание соединительной и жировой тканей 25% и 10%, соответственно, было выявлено использование углеводных добавок в количестве около 17%. Таких производителей было около 25% от общего их числа. В III группе содержание соединительной и жировой тканей около 18%, соответственно, было выявлено использование белковых и углеводных добавок в количестве около 33%. Таких производителей было около 55% от общего их числа.

В ходе проведенных исследований было установлено, что разработанная методика количественного определения мышечной ткани в мясном сырье и готовой продукции дает возможность быстро и объективно оценить качество и состав готовых продуктов, а так же соответствие его фактического состава с действующей документацией (ГОСТ, ТУ) и на этикетке.

Выводы

1. Разработана контрольная модельная мясная система образца, позволяющая определить фактическое количество мышечной, соединительной и жировой тканей входящих в состав продукта. Изучены ее морфометрические и химические показатели.

2. Разработан метод подготовки гистологических препаратов для микроструктурных исследований с возможностью более эффективного проведения количественной оценки состава анализируемого материала.

3. Разработана методика гистохимического выявления миоглобина в соматической мышечной ткани и проведен сравнительный анализ его содержания в мясном сырье и готовых продуктах. Установлен выход миоглобина через сарколемму из мышечного волокна в межклеточное пространство для замороженного мяса, однако при исследовании охлажденного мяса выхода миоглобина через сарколемму из мышечного волокна в межклеточное пространство не наблюдалось. В связи с этим данное явление позволяет определить различное термическое состояние мяса.

4 . Определен состав различных видов мясных продуктов при сравнении их с контрольным образцом. Определены различные группы мяса птицы механической обвалки при проведении морфометрических исследований.

5. Создан гистологический метод количественного определения содержания мышечной ткани в мясных полуфабрикатах и продуктах из мяса основанный на данных химических (массовая доля), гистологических и морфометрических исследований. При применении гистологического метода количественного определения содержания мышечной ткани в мясном сырье и продукции годовая экономия затрат составит в среднем 82,5 тыс. рублей (на 550 исследований), в ценах 2010 года.

**По материалам диссертации опубликованы
следующие работы:**

1. Хвыля С.И. Разработка новой модификации обработки мясных продуктов для гистологического исследования / С.И. Хвыля, С.С. Бурлакова, В.А. Пчелкина // Совершенствование технологий производства продуктов питания в свете государственной программы развития сельского хозяйства на 2008-2012 гг.: материалы научно-практической конференции. – М., 2008. – С.55-57.
2. Хвыля С.И. Применение животных белков в производстве мясных продуктов / С.И. Хвыля, С.С. Бурлакова, В.А. Пчелкина //Мясная индустрия. – 2008. – №10. – С. 64-66.
3. Лисицын А.Б. Результаты мониторинга мясных продуктов за 2008 год / А.Б. Лисицын, С.И. Хвыля, С.С. Бурлакова, В.А. Пчелкина //Тенденции и перспективы развития инновационных и информационных технологий мясной промышленности: сборник докладов 11-й Международной научной конференции памяти В.М. Горбатова. – М., 2008. – С.97-101.

4. Бурлакова С.С. Изучение методов определения мышечной ткани в мясном сырье и готовой продукции / С.С. Бурлакова, С.И. Хвыля // Совершенствование технологий производства продуктов питания в свете государственной программы развития сельского хозяйства на 2008-2012 гг.: Мат. МНПК «Вестник РАСХН». – М., 2008. ч.2. – С. 55-57.
5. Бурлакова С.С. Экология пищи и методы определения мышечной ткани в мясном сырье и продуктах / С.С. Бурлакова, С.И. Хвыля // Научно-практические аспекты экологизации продуктов питания: мат. Всероссийской конференции РАСХН. – Углич, 2008. – С.39-42.
6. Хвыля С.И. Метод ПЦР – современный инструмент для установления видовой принадлежности растительного и животного сырья / С.И. Хвыля, М.Ю. Минаев, Т.А. Фомина, С.С. Бурлакова // Мясной бизнес. – 2009. – №2. – С. 22-28.
7. Бурлакова С.С. Усовершенствование метода обработки замороженного мяса для гистологического исследования / С.С. Бурлакова // Все о мясе. – 2009. – №4. – С.46-47.
8. Бурлакова С.С. Новый эффективный метод приготовления высококачественных гистологических препаратов мясного сырья и продукции / С.С. Бурлакова, В.А. Пчелкина // Живые системы и биологическая безопасность населения: материалы VII международной научной конференции студентов и молодых ученых. – М., 2008. – С.269-270.
9. Хвыля С.И. Результаты мониторинга традиционных отечественных мясных продуктов / С.И. Хвыля, С.С. Бурлакова, В.А. Пчелкина // Мясные технологии. – 2009. – № 3. – С.18-21.
10. Хвыля С.И. Определение качества и сроков хранения замороженного мясного сырья / С.И. Хвыля, С.С. Бурлакова // Мясные технологии. – 2009. – №4. – С. 36-40.
11. Хвыля С.И. Животные белки - направления использования и проблемы идентификации / С.И. Хвыля, С.С. Бурлакова // Мясные технологии. – 2009. – №11. – С.32-35.
12. Хвыля С.И. Результаты мониторинга мясных продуктов за 2009 год / С.И. Хвыля, С.С. Бурлакова, В.А. Пчелкина // Обеспечение продовольственной безопасности России через наукоемкие технологии переработки мясного сырья: 12-я Международная НК памяти В.М.Горбатова. – М.; 2009. – С. 230-236.
13. Хвыля С.И. Оценка качества мяса механической обвалки и его обнаружение в мясных продуктах / С.И. Хвыля, С.С. Бурлакова, В.А. Пчелкина // Мясной бизнес. – 2010. – №3. – С.28-30.

14. Хвыля С.И. Оценка фактического состава мясных продуктов за 2009 г / С.И. Хвыля, С.С. Бурлакова, В.А. Пчелкина // Все о мясе. – 2009. – №6. – С. 12-14.
15. Хвыля С.И. Разработка национальных стандартов на гистологические методы исследования мясных продуктов / С.И. Хвыля, В.А. Пчелкина, С.С. Бурлакова // Мясная индустрия. – 2010. – №3. – С. 32-35.
16. Хвыля С.И. Определение качества и оценки сроков хранения замороженного мясного сырья по гистологическим показателям / С.И. Хвыля, С.С. Бурлакова // Мясной бизнес. – 2010. – №4. – С.76-78.

Бум. тип

Тираж 100 экз.

Заказ №

ООО «Полиграф»
109316 Москва, ул. Талалихина, 26