

ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

УДК 636.5

Н.В. Донкова

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ МЯСА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ
НА ОСНОВЕ МИКРОСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА

N.V. Donkova

SAFETY ASSESSMENT OF CHICKENS-BROILERS MEAT
ON THE BASIS OF MICROSTRUCTURAL ANALYSIS

Донкова Н.В. – д-р вет. наук, проф., зав. каф. анатомии, патологической анатомии и хирургии Красноярского государственного аграрного университета, г. Красноярск. E-mail: dnv-23@mail.ru

Donkova N.V. – Dr. Vet. Sci., Prof., Head, Chair of Anatomy, Pathological Anatomy and Surgery, Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk. E-mail: dnv-23@mail.ru

Представлены результаты исследований продуктов убоя цыплят-бройлеров методом гистологического анализа с целью оценки их безопасности. Приведены сведения о порядке проведения исследований образцов продукции из мяса птицы и методах испытаний, а также стандартах, применяемых при гистологическом исследовании мяса птицы и продуктов его переработки. Представлены результаты микроструктурных особенностей свежего мяса цыплят-бройлеров, мяса сомнительной свежести и несвежего. Аутолиз характеризуется изменениями клеточных структур мышечной ткани, печени, стенки желудка, сердца, отражающимися на качестве мяса птицы. Мясо и субпродукты цыплят-бройлеров, отобранные для исследований непосредственно в убойном цехе, характеризуются минимальными структурными изменениями и минимальным развитием микрофлоры. При нарушении условий и сроков хранения мяса цыплят-бройлеров в мышечной ткани и внутренних органах развиваются аутолитические процессы, сопровождающиеся кариопикнозом и локальным исчезновением поперечно-полосатой исчерченности в мышечных волокнах скелетных мышц, мышц желудка и сердца, что соответствует категории мяса сомнительной свежести. В несвежем мясе ядра в мышечных волокнах не просматриваются, саркоплазма приобретает слабоокисфильный оттенок, в печени

обнаруживаются очаги клеточного детрита, кардиомиоциты утрачивают интенсивность окраски, вставочные диски и анастомозы исчезают, в легких деструкция респираторного эпителия. Микроструктурный анализ, проводимый гистологическим методом, является высокоточным методом оценки безопасности мяса и субпродуктов птицы.

Ключевые слова: безопасность мяса, цыплята-бройлеры, гистология, мышечная ткань.

The results of studies products of slaughtered broilers by the method of histological analysis to assess their safety are given. The data on the order of carrying out the researches of product samples from fowl and test methods and also the standards applied at histological research of fowl and products of its processing are provided. The results of microstructural features of fresh meat of broilers, meat of doubtful freshness and stale are presented. Autolysis is characterized by the changes of cellular structures of muscular tissue, liver, the wall of stomach, heart reflected in the quality of fowl. The meat and offal of broilers selected for the researches directly in slaughter place are characterized by minimal structural changes and minimal development of microflora. In violation of the terms and conditions of storage of meat of broilers in muscular tissue and internal organs autolytic processes are developing, accompanied by karyopyknosis and local disappearance of cross-striated muscle fibers

of skeletal muscles, the muscles of the stomach and of the heart corresponding to the category of the meat of doubtful freshness. Stale meat kernels in muscle fibers are not visible, the sarcoplasm gets subactivity shade in liver, the centers of cellular detrit are found, cardiomyocytes lose the intensity of coloring of intercalated disks and the anastomoses disappear, in the lungs is the destruction of respiratory epithelium. Microstructural analysis carried out by histological method is high-precision method of the assessment of safety of meat and offal of the poultry.

Keywords: *meat safety, chickens-broilers, histology, muscular tissue.*

Введение. Исходя из требований технического регламента Евразийского экономического союза (ТР ЕАЭС) «О безопасности мяса птицы и продукции ее переработки» (находится на стадии публичного обсуждения с марта 2017 г.), подтверждение соответствия продукции из мяса птицы требованиям безопасности осуществляется путем принятия заявителем декларации о соответствии на основании собственных доказательств и доказательств, полученных с участием органа по сертификации систем менеджмента, аккредитованной испытательной лаборатории, включенной в Единый реестр органов по сертификации и испытательных лабораторий [1].

Одним из этапов оценки соответствия продукции из мяса птицы требованиям безопасности является проведение испытаний (исследований) образцов продукции из мяса птицы.

Методы испытаний (исследований) и измерений устанавливаются во включенных в перечень стандартов, содержащих правила и методы исследований и измерений, в том числе правила отбора образцов, необходимые для применения и исполнения требований безопасности, а также осуществления оценки соответствия продукции.

Перечень стандартов, содержащих правила и методы исследований, в том числе правила отбора образцов, необходимые для применения и исполнения требований технического регламента Таможенного союза «О безопасности мяса и мясной продукции» (ТР ТС 034/2013) [2] и осуществления оценки (подтверждения) соот-

ветствия продукции, утвержден Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26 мая 2014 года № 81.

К межгосударственным и национальным стандартам, позволяющим проводить идентификацию и устанавливать качество мясной продукции гистологическим методам, относятся: ГОСТ Р 51604-2000 «Мясо и мясопродукты. Идентификация состава гистологическим методом»; ГОСТ Р 52480-2005 «Мясо и мясопродукты. Ускоренный гистологический метод установления состава сырьевых компонентов»; ГОСТ Р 53213-2008 «Мясо и мясные продукты. Гистологический метод определения растительных белковых добавок»; ГОСТ Р 53222-2008 «Мясо и мясные продукты. Гистологический метод определения растительных углеводных добавок»; ГОСТ Р 53853-2010 «Мясо птицы. Методы гистологического и микроскопического анализа»; ГОСТ 31796-2012 «Мясо и мясные продукты. Ускоренный гистологический метод определения структурных компонентов состава»; ГОСТ 31479-2012 «Мясо и мясные продукты. Метод гистологической идентификации состава»; ГОСТ 31467-2012 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям»; ГОСТ 19496-2013 «Мясо и мясные продукты. Метод гистологического исследования».

По данным стандартам возможно исследовать мясо птицы (тушки и части тушек кур, цыплят, цыплят-бройлеров, цесарят, цесарок, перепелов, уток, утят, гусей, гусят, индеек, индюшат) методами гистологического и микроскопического анализа при определении свежести мяса в случае сомнения при оценке его качества.

Метод гистологического анализа основан на определении состояния структурных элементов мышечных тканей на гистологических препаратах, локализации и размножения микрофлоры и качественной оценке степени свежести или порчи мяса птицы на основе наблюдаемых микроструктурных характеристик.

В настоящее время гистологические исследования мяса птицы и продуктов его переработки проводят по ГОСТ 19496-13 «Мясо и мясные продукты. Метод гистологического исследования», который распространяется на мясо всех видов убойных животных и птицы, мясо меха-

нической обвалки и дообвалки; мясные и мясо-содержащие полуфабрикаты (кусковые, рубленые, фарши, пельмени), в том числе с использованием мяса птицы; продукты из мяса; колбасные изделия, в том числе с использованием мяса птицы; мясные и мясо-содержащие консервы, в том числе с использованием мяса птицы, и устанавливает гистологический метод определения свежести и степени созревания мяса, а также структуры и состава мясных продуктов [3].

Гистологический метод основан на определении характеристики микроструктурных показателей мясного сырья и готовых мясных продуктов, идентификации компонентов анализируемых образцов в соответствии с их микроструктурными особенностями, а также установлении соотношения этих компонентов на гистологических препаратах.

Преимуществом микроструктурного метода является выявление незначительных начальных изменений структур тканей, отражающихся на качестве мяса.

Цель исследований. Определение безопасности продуктов убоя птицы на основе микроструктурного анализа.

Материал и методы. Исследования проведены в 2017 году на базе АО «ЕнисейАгроСоюз» Сухобузимского района Красноярского края, а также в гистологической лаборатории кафедры анатомии, патологической анатомии и хирургии Красноярского государственного аграрного университета.

Объектом исследования являлись цыплята-бройлеры. Пробы мышц и внутренних органов (печень, почки, легкие, сердце, мышечный желудок) отбирали размерами не менее 1 см² из участков, наиболее быстро подвергающихся порче, на всю глубину: мышцы брюшной стенки, мышцы в области шейного зареза, а также мышцы голени и пекторальные мышцы. Места отбора проб протирали 96% этиловым спиртом. Кусочки органов фиксировали в растворе 10% нейтрального формалина, затем промывали под проточной водой, обезвоживали в спиртах воз-

растающей крепости и заливали в парафин (с добавлением 3–5% воска) согласно общепринятым методам [4]. Гистологические срезы изготавливали толщиной 6–10 мкм на санном микротоме с электроприводом и микропроцессорным управлением МЗП-01 «Техном». После депарафинизации и просветления срезы окрашивали гематоксилином Эрлиха и водным раствором эозина. Микроскопию и морфометрию микроструктурных образований проводили под световыми микроскопами марок МикМед-5, MS-100 (Austria), при увеличении объектива 10х; 40х; 100х. Микрофотографирование окрашенных препаратов проводили фотоаппаратом Canon A630. Полученные изображения обрабатывали с использованием программного обеспечения BioVision 2005.

Для получения достоверных результатов исследования проводили не менее двух срезов с каждого из трех кусочков, отобранных от каждого образца. Полученные цифровые данные подвергали статистической обработке с использованием компьютерной программы Statistica.

Термины и обозначения даны в соответствии с Международной ветеринарной анатомической номенклатурой на латинском и русском языках (Nomina Anatomica Veterinaria, 2013).

Результаты исследований и их обсуждение. С точки зрения степени развивающихся аутолитических процессов в мышечной ткани птиц различают следующие микроструктурные характеристики мяса: свежее мясо, свежее, не подлежащее длительному хранению, сомнительной свежести и несвежее (ГОСТ 19496-13). Согласно стандарту, степень (этапы) созревания (аутолиза) мяса определяют по следующим характеристикам: интенсивность аутолитического распада мышечных волокон на фрагменты; разволокнение фрагментов на миофибриллы и их распад на саркомеры в виде зернистой массы, заключенной в эндомизий; сохранение восприимчивости окраски структурами мышечных волокон основных (ядерных) и кислых (цитоплазматических) красителей (табл.).

Микроструктурные характеристики мяса в зависимости от степени созревания

Этап созревания мяса	Микроструктурная характеристика
1-й	В срезах мяса обнаруживаются поперечно-щелевидные нарушения целостности или фрагментация отдельных мышечных волокон при сохранении во фрагментах структуры ядер, поперечной и продольной исчерченности
2-й	В срезах мяса обнаруживаются множественные поперечно-щелевидные нарушения целостности или фрагментация многих мышечных волокон при сохранении во фрагментах структуры ядер, поперечной и продольной исчерченности
3-й	В срезах мяса обнаруживается распад отдельных фрагментов на миофибриллы, а миофибрилл – на саркомеры в виде зернистой массы, местами заключенной в эндомиозий

Исследование мяса и внутренних органов цыплят-бройлеров гистологическим методом показало, что на различных стадиях аутолиза отмечаются характерные изменения клеточных структур мышечной ткани, печени, стенки желудка, сердца, легких, отражающиеся на качестве мяса птицы.

Анализ микроструктуры мяса цыплят-бройлеров, отобранного в убойном цехе, показал, что для него характерны минимальные структурные изменения и минимальное развитие микрофлоры, что соответствует характеристике свежего мяса. Мышечная ткань в свежем мясе представляет собой совокупность пучков однонаправленных мышечных волокон, представляющих собой многоядерные образования. Отдельное мышечное волокно по всему длиннику неоднородно, диаметр поперечного сечения варьирует от $52 \pm 0,54$ до $64 \pm 1,8$ мкм, что связано с посмертными особенностями сокращения миофибрилл и фрагментарными разрывами сарколеммы. Пучки мышечных волокон разделены прослойками соединительной ткани (рис. 1). Оболочка мышечного волокна представлена собственно цитолеммой и визуально с ней совместимой эластической оболочкой. В саркоплазме, представляющей собой полужидкий золь, содержатся включения жира и гликогена, мембранные органеллы, такие как саркоплазматический ретикулум, митохондрии, а также миофибриллы, состоящие из сократительных белков (миозина, актина, тропонина, тропо-

миозина), определяющие пищевую ценность мяса. Ядра мышечных волокон хорошо выражены, саркоплазма равномерно оксифильна, на ее фоне хорошо просматривается поперечно-полосатая исчерченность, в прослойках соединительной ткани встречаются единичные скопления кокковой и палочковидной микрофлоры. Многочисленные ядра овально-вытянутой формы располагаются по всему объему саркоплазмы, а не только под сарколеммой, как у млекопитающих. Их состояние (кариопикноз, кариорексис, кариолизис) может отражать стадию распада мышечного волокна. Поперечно-полосатая исчерченность, обусловленная чередованием в мышечном волокне актина и миозина, является важным критерием оценки аутолитических процессов. Внутренние органы (желудок, печень, сердце) характеризовались минимальными структурными изменениями и минимальным развитием микрофлоры (рис. 2–4). В почках эпителий всех канальцев корковых и мозговых нефронов, сосудистые клубочки почечных телец хорошо выражены. Ядра базофильны, базальная исчерченность нефроцитов проксимального отдела выражена. Микрофлора в виде единичных очажков наблюдается в собирательных трубчатках мозговой зоны. В легких структуры бронхиальной и альвеолярной части выражены хорошо. Пневмоциты и клетки мерцательного эпителия хорошо дифференцируются. Единичные скопления микрофлоры в просветах бронхиол, мелких и средних бронхов.

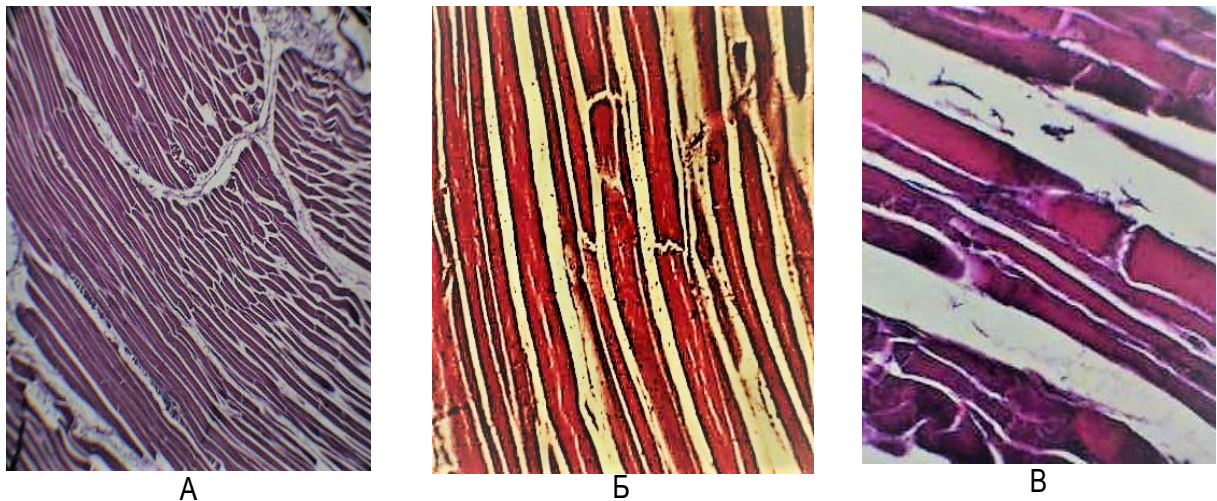


Рис. 1. Мышечная ткань цыпленка-бройлера. Гематоксилин и эозин: А – однонаправленные пучки мышечных волокон, об.10х; Б – прослойки соединительной ткани, разделяющие пучки мышечных волокон, об.40х; В – фрагментарные разрывы сарколеммы (посмертные узлы сокращения), об.100х

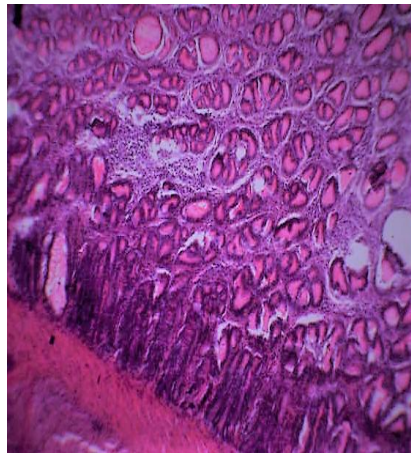


Рис. 2. Стенка желудка. Гематоксилин и эозин. Об. 40х

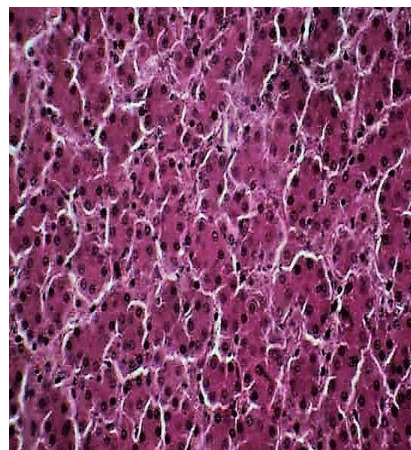


Рис. 3. Печень. Гематоксилин и эозин. Об. 40х

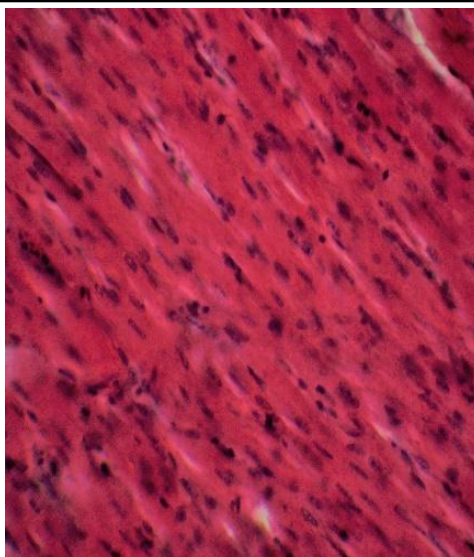
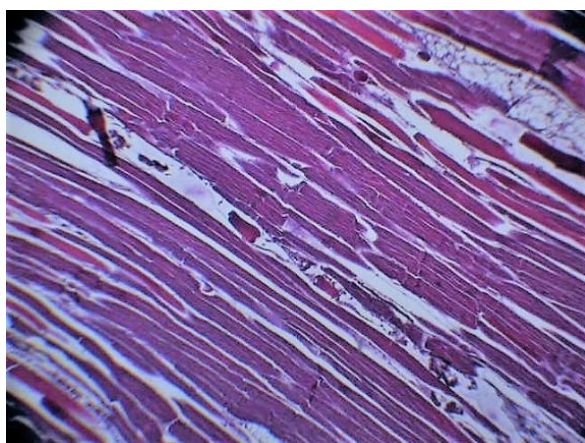


Рис. 4. Сердце. Гематоксилин и эозин. Об. 40х

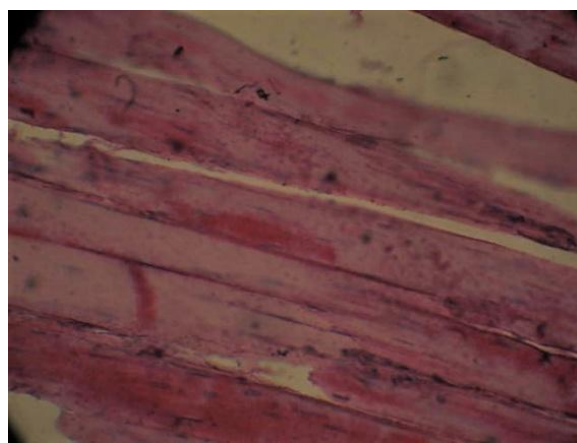
Микроструктура свежего мяса, не подлежащего длительному хранению, характеризовалась локальными структурными изменениями и очаговым развитием микрофлоры.

Микроструктура мяса цыплят-бройлеров сомнительной свежести характеризовалась структурными изменениями в мышечной ткани и внутренних органах. Ядра мышечных волокон находятся в состоянии пикноза, саркоплазма неравномерно оксифильна, поперечно-полосатая исчерченность слабо выражена, в прослойках соединительной ткани встречаются

многочисленные скопления кокковой и палочковидной микрофлоры (рис. 5). Внутренние органы (желудок, печень) имели характерные деструктивные изменения (рис. 6, 7). Почечный эпителий в состоянии частичной деструкции, ядра бледные размытые, частично лизированы. В зоне распада почечной ткани скопление очагов микрофлоры. В легких отмечается деструкция части пневмоцитов, гладкие миоциты бронхов утрачивают продольную исчерченность. Многочисленные очаги микрофлоры в просветах бронхов и альвеолярной части.



А



Б

Рис. 5. Мышечная ткань цыпленка-бройлера. Гематоксилин и эозин: А – локальная деструкция мышечных волокон; Б – неравномерная оксифилия саркоплазмы

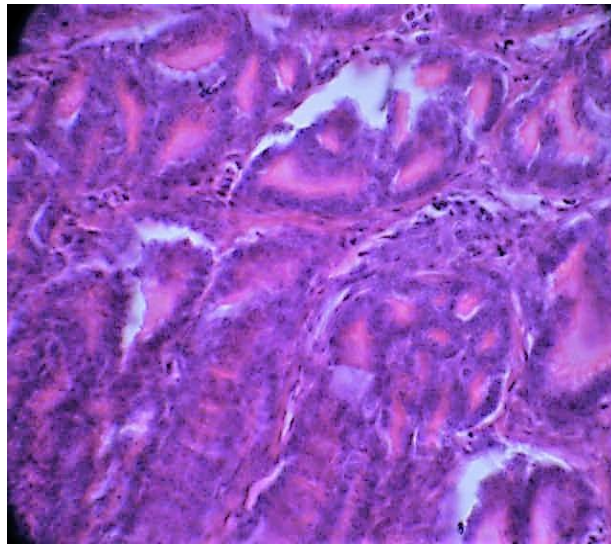


Рис. 6. Стенка желудка. Частичная деструкция эпителия желудочных желез. Гематоксилин и эозин. Об. 40х

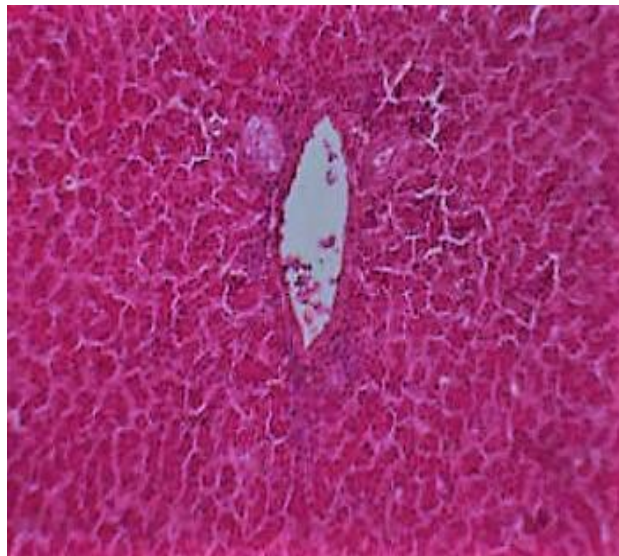


Рис. 7. Печень. Кариопикноз и оксифилия цитоплазмы гепатоцитов. Гематоксилин и эозин. Об. 40х

Микроструктура несвежего мяса характеризовалась обширными структурными изменениями и многочисленным очаговым развитием микрофлоры. Ядра мышечных волокон в состоянии кариорексиса и кариолизиса, окраска саркоплазмы слабо выражена, неравномерно оксифильна, отсутствует поперечно-полосатая исчерченность (рис. 8), встречаются многочисленные скопления кокковой и палочковидной микрофлоры как в прослойках соединительной ткани, так и в саркоплазме мышечных волокон.

В печени, стенке желудка, жировой ткани развиваются характерные для позднего аутолиза изменения (рис. 9, 10). Повсеместный распад почечной ткани, канальцы и почечные тельца не дифференцируются, на их месте обильное скопление очагов микрофлоры. В легких обнаруживаются крупные полости, образовавшиеся вследствие распада респираторного эпителия, деструкция стенки бронхоиол, мелких и средних бронхов, со скоплением на их месте очагов палочковидной микрофлоры.

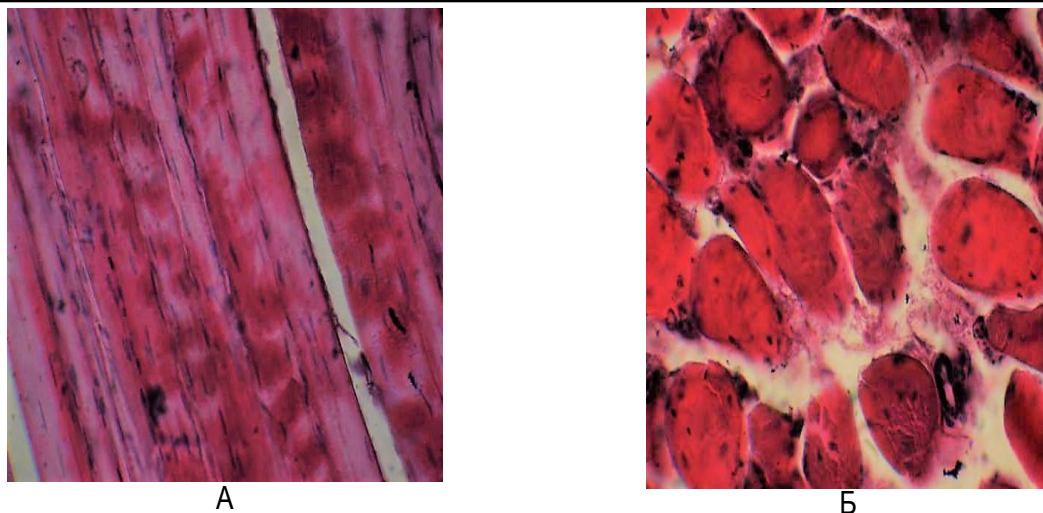


Рис. 8. Структурные изменения в несвежем мясе цыплят-бройлеров: А – неравномерная оксифилия саркоплазмы, кариолизис и кариорексис, продольный срез; Б – неравномерная оксифилия саркоплазмы, кариолизис и кариорексис, поперечный срез

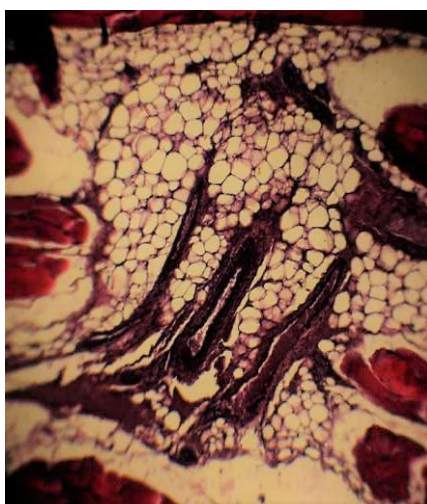


Рис. 9. Кариолизис липоцитов

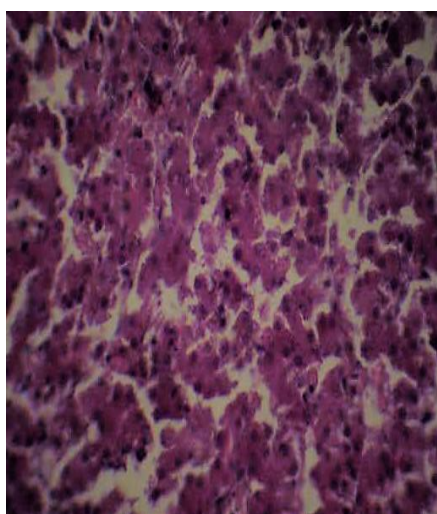


Рис. 10. Распад тканей печени

Поскольку автолитические процессы в мясе птицы протекают быстрее в белых мышцах, чем в красных, необходимо учитывать сроки проведения аналитических исследований. Так, в белых мышцах стадия выраженного созревания наступает к 24 часам после убоя. В красных мышцах автолитические процессы протекают более длительно. Кроме того, необходимо учитывать, что у цыплят-бройлеров автолитические процессы в мясе протекают несколько быстрее, чем у кур-несушек [5, 6]. При этом уровень аутолиза клеток соединительной ткани (фибробластов, гистиоцитов) и мышечных волокон примерно одинаковый. Волокна соединительной ткани (коллагеновые и эластические), напротив, долго сохраняются, что связано с отсутствием в них мембранных структур, через сутки отмечается лишь незначительное набухание фиброзных волокон.

Выводы

1. Преимуществом микроструктурного метода является выявление визуальных изменений клеточных структур мышечной ткани на самых ранних стадиях аутолиза, отражающихся на качестве мяса птицы.

2. Гистологические исследования мяса и субпродуктов цыплят-бройлеров (печень, сердце, мышечный желудок, легкие) позволяют идентифицировать их на видовом, органном, клеточном и внутриклеточном уровне с визуализацией изменений в структуре клеток и тканей.

3. Микроструктурный анализ предполагает подготовку срезов мышечной ткани и внутренних органов толщиной не более 6–8 мкм, их окрашивание основными (ядерными) и кислыми (цитоплазматическими) красителями и исследование под световым микроскопом с увеличением в 100–1000 раз, что позволяет с высокой точностью определять характер изменений в тканях и органах. Кроме того, гистологические препараты подлежат длительному хранению, что важно учитывать при проведении повторных экспертиз при оценке качества и безопасности мяса и субпродуктов птицы.

Литература

1. Технический регламент Евразийского экономического союза (ТР ЕАЭС) «О безопасности мяса птицы и продукции ее переработки». – М., 2017.
2. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности мяса и мясной продукции» (ТР ТС 034/2013). – М., 2013.
3. ГОСТ 19496-2013. Мясо и мясные продукты. Метод гистологического исследования. – М., 2013.
4. Донкова Н.В., Савельева А.Ю. Цитология, гистология и эмбриология: лаборатор. практикум. – М.: Лань, 2014. – 144 с.
5. Хвыля С.И., Гиро Т.М. Оценка качества и биологической безопасности мяса и мясных продуктов микроструктурными методами. – Саратов: Буква, 2015. – 240 с.
6. Хвыля С.И., Пчелкина В.А., Бурлакова С.С. Разработка национальных стандартов на гистологические методы исследования мясных продуктов // Мясная индустрия. – 2010. – № 3. – С. 32–35.

Literatura

1. Tehnicheskij reglament Evrazijskogo jekonomicheskogo sojuza (TR EAJeS) «O bezopasnosti mjaso pticy i produkcii ee pererabotki». – M., 2017.
2. Tehnicheskij reglament Tamozhennogo sojuza «O bezopasnosti mjaso i mjasnoj produkcii» (TR TS 034/2013). – M., 2013.
3. GOST 19496-2013. Mjaso i mjasnye produkty. Metod gistologicheskogo issledovanija. – M., 2013.
4. Donkova N.V., Savel'eva A.Ju. Citologija, gistologija i jembriologija: laborator. praktikum. – M.: Lan', 2014. – 144 s.
5. Hvylja S.I., Giro T.M. Ocenka kachestva i biologicheskoj bezopasnosti mjaso i mjasnyh produktov mikrostrukturnymi metodami. – Saratov: Bukva, 2015. – 240 s.
6. Hvylja S.I., Pchelkina V.A., Burlakova S.S. Razrabotka nacional'nyh standartov na gistologicheskie metody issledovanija mjasnyh produktov // Mjasnaja industrija. – 2010. – № 3. – S. 32–35.