

Joanna Bogucka^{1,2}, Dominika Roszko-Permus², Ariel Zawadka¹

¹ Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy

² Niezależne Laboratorium Badawcze „STANLAB”

ANALIZA MIKROSKOPOWA SKŁADU TKANKOWEGO WYBRANYCH PRZETWORÓW MIĘSNYCH

Celem pracy była ocena składu tkankowego wybranych przetworów mięsnych przy użyciu metod histologicznych. Próbki do badań stanowiło 20 różnych produktów mięsnych, np.: salami, mortadela, mięso mielone, golonka wieprzowa, wątrobianka, podudzie indycze, mięśnie piersiowe kurcząt i indyków. Po pobraniu próbek z różnych części produktu sporządzono preparaty mikroskopowe, a następnie wybarwiono je dwoma technikami: Alizarin S, w celu rozpoznania części kostnych, oraz Calleja-Lugol, w celu rozpoznania poszczególnych tkanek w produkcie. Na podstawie przeprowadzonych analiz mikroskopowych nie odnotowano żadnych nieprawidłowości w składzie badanych przetworów mięsnych. Próbki przebadane pod kątem zawartości części kostnych nie wskazywały na to, że badany produkt został wykonany przy użyciu MOM.

Słowa kluczowe: przetwory mięsne, mięso odkostnione mechanicznie, analiza histologiczna

WSTĘP

Mikrostruktura żywności jest ściśle związana z jej właściwościami sensorycznymi. Podstawowym komponentem mięsa jest tkanka mięśniowa, która ma bardzo złożoną budowę. W skład mięsa, oprócz tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej szkieletowej, wchodzi inne struktury, takie jak tkanka łączna (*endomysium* i *perimysium*), tłuszczowa, naczynia krwionośne i włókna nerwowe [8]. Ocena mikroskopową stosuje się do analizy zmian zachodzących *post mortem* w strukturze tkanki mięśniowej, a następnie w czasie jej dojrzewania, zamrażania, solenia i przetwarzania. Badanie histologiczne stosuje się także do wykrywania obecności różnego rodzaju wypełniaczy, których zadaniem jest wiązanie cząstek mięsa i tłuszczu w przetworach mięsnych [15]. Metody histologiczne jednakże należą do rzadziej stosowanych metod oceny jakości surowców pochodzenia zwierzęcego. Podstawą tych technik są proste zasady, ale badanie, jak również ocena wyników wymaga doświadczenia. Identyfikacja różnych tkanek w przetworach mięsnych w obrazie mikroskopowym oparta jest przede wszystkim na znajomości podstawowej architektury i struktury tkanek zwierzęcych [14].

Celem niniejszej pracy była ocena składu tkankowego oraz zawartości części kostnych w wybranych przetworach mięsnych przy użyciu metod histologicznych.

1. MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Materiał do badań stanowiło 20 różnych produktów mięsnych, takich jak: mięśnie piersiowe kurcząt i indyków, mięso mielone, salami, podudzie indycze odścięgnięone, golonka wieprzowa, mortadela, farsz mięsny, produkt drobno rozdrobniony a'la mortadela, wątrobianka z cebulą, wątrobianka z mięsem drobiowym. Do badań histologicznych pobierano fragmenty z różnych miejsc produktu, aby były one jak najbardziej reprezentatywne. W pierwszym etapie formowano bloki do skrawania. Sposób przygotowania próbki do skrawania zależy od rodzaju produktu. Z drobnorozdrobnionych produktów parzonych o stabilnej, zwartej konsystencji (np.: mortadela) wycinano wymaganą ilość bloków i umieszczano w 10-procentowym roztworze formaldehydu w celu utrwalenia materiału. Pozostałe produkty przygotowywano poprzez homogenizację lub rozdrobnienie na cząstki o wymiarach ok. 5×7 mm. Rozdrobnionym lub zhomogenizowanym materiałem nadziewano odpowiednie formy (o pojemności 10 ml), dodawano ciepłej żelatyny i całą zawartość dokładnie mieszano. Żelatynę dodawano w ilości pozwalającej na zestalenie rozdrobnionego materiału. Powinna ona stanowić ok. 1/3 objętości formowanego bloku, a ok. 2/3 powinien stanowić materiał mięsny. Po zastygnięciu uformowane bloki przekładano do szklanych naczyń i zalewano 10-procentowym roztworem formaldehydu (na ok. 10 godz.). Następnie utrwalony materiał wkładano na 10 min do wody. Przy użyciu kriostatu firmy Leica z zamrożonego materiału wykonano odpowiednią ilość wykrojów (o grubości $12 \mu\text{m}$ każdy) z różnych płaszczyzn bloków. Uzyskane wykroje umieszczano na powierzchni szkiełek podstawowych. Do każdego z oznaczeń wykonywano 6 preparatów mikroskopowych o łącznej powierzchni min. 24 cm^2 . Tak przygotowane preparaty barwiono następującymi technikami: Alizarin S – w celu rozpoznania części kostnych, oraz Calleja-Lugol – w celu rozpoznania poszczególnych tkanek. Następnie wybarwione preparaty histologiczne poddawano ocenie mikroskopowej. W celu określenia ilości części kostnych w produktach mięsnych zastosowano odpowiedni wzór:

$$\frac{\Sigma \text{cząstek mineralnych kości}}{\text{łączna powierzchnia wykrojów danej}} = \text{liczba cząstek mineralnych kości/cm}^2$$

Sposób obliczania powierzchni wykroju zależał od sposobu wykonania preparatu. W przypadku, gdy preparat wykonano poprzez bezpośrednie wycięcie z próbki bloków, powierzchnia wyciętego bloku równała się powierzchni wykroju produktu mięsnego. Jeżeli natomiast preparat wykonano z użyciem żelatyny, to powierzchnię samego wykroju mięsnego bez substancji wiążącej obliczano ze wzoru: $2/3 \times$ powierzchnia bloku. Interpretacja wyników dla określenia ilości części kostnych/ cm^2 przedstawia się następująco [12]:

$< 0,3$ – jest to naturalna zawartość części kostnych w produktach mięsnych, będąca wynikiem normalnych procesów obróbki mięsa;

0,3–1,5 – zawartość części kostnych graniczna;

> 1,5 – zawartość części kostnych wskazująca na to, że próbkę stanowi mięso odkostnione mechanicznie bądź produkt został wykonany przy zastosowaniu mięsa odkostnionego mechanicznie.

W celu określenia poszczególnych tkanek w produkcie mięsny wykorzystano program komputerowy Multiscan 14.02 (*Computer Scanning Systems II*, Warszawa). Procentowy udział poszczególnych tkanek w produkcie oszacowano na podstawie następujących klas częstotliwości [1]: przeważająca ilość (> 50%), średnia ilość (36–50%), umiarkowana ilość (21–35%), mała ilość (5–20%), sporadycznie (< 5%), ilości śladowe (< 1%).

2. WYNIKI BADAŃ I DISKUSJA

Badanie histologiczne przeprowadza się w celu ewentualnego wykrycia zafałszowań na etykietach produktów mięsnych. Badanie to oprócz analizy chemicznej daje ważne informacje na temat składu i jakości finalnego produktu [13]. Z raportów Inspekcji Handlowej UOKiK [4, 10, 11] wynika szereg nieprawidłowości dotyczących produkcji mięsa i jego przetworów. Wielu producentów fałszuje parametry fizykochemiczne (skład) przetworów mięsnych, coraz częściej w branży wędliniarskiej produkuje się wyroby o bardzo niskiej jakości. Surowcem stosowanym w wyrobie różnego rodzaju przetworów mięsnych jest MOM, czyli mięso odkostnione mechanicznie. Mięso to w istotny sposób różni się od wyobrażenia mięsa, jakie funkcjonuje w świadomości konsumenta. Z tego powodu wyłączono je z zakresu definicji mięsa określonej w dyrektywie Komisji 2001/101/WE regulującej kwestię definicji mięsa na potrzeby etykietowania. W rezultacie wymagane jest wyraźne określenie produktu jako MOM i wskazanie gatunku zwierzęcia, z którego zostało uzyskane. Wyróżnia się dwie metody produkcji MOM: nisko- i wysokociśnieniową. W technice niskociśnieniowej otrzymuje się produkt, który przypomina mięso mielone. Pod względem wizualnym MOM produkowane w procesie wysokociśnieniowym cechuje charakterystyczna, przypominająca ciasto konsystencja wynikająca z utraty lub modyfikacji pierwotnej struktury tkanki mięśniowej. Utratę lub modyfikację struktury włókien mięśniowych można stwierdzić, analizując próbki mięsa pod mikroskopem. Obserwowany zakres modyfikacji struktury produktu może być bardzo duży, w zależności od zastosowanych parametrów technologicznych produkcji [6].

W tabelach 1 i 2 przedstawiono wyniki oceny mikroskopowej badanych produktów mięsnych, a na fotografiach 1–6 uwidoczniono zarówno wybarwione części kostne, jak i rodzaje poszczególnych tkanek wchodzących w skład mięsa i jego przetworów. Tabela 1 obrazuje wyniki oceny zawartości części kostnych w badanych produktach. Największą ilość fragmentów kostnych stwierdzono w mortadeli 1 i 2 (odpowiednio: 0,58 i 0,56 części kostnych/cm²). Jednak wyniki te nie wskazują na to, że próbkę stanowi mięso odkostnione mechanicznie lub

produkt został wykonany przy zastosowaniu MOM-u. Z pozostałych analizowanych produktów jedna tylko próbka (podudzie indycze odścięgnięone 1) plasowała się nieco powyżej naturalnej zawartości części kostnych i wynosiła 0,34 części kostnych/cm². Pozostałe oceniane produkty zawierały poniżej wartości 0,3 części kostnych/cm² (jest to wartość będąca wynikiem normalnych procesów obróbki mięsa), a 2 produkty nie zawierały ich wcale (podudzie indycze odścięgnięone 2 i 3). Podobnie Prayson i współpracownicy [9] właśnie za pomocą technik histologicznych dokonali analizy składu hamburgerów – produktów mięsnych bardzo popularnych w USA. Wykazali oni stosunkowo niską zawartość mięsa, obserwowali ponadto części kostne, chrząstki, materiał roślinny, a nawet pasożyty *Sarkocystis*. Ocena histologiczna mięsa i jego przetworów nie tylko daje możliwość rozpoznania części kostnych, ale pozwala na bezpośrednią identyfikację i zróżnicowanie poszczególnych komponentów (tkanek) w przetworach mięsnych [13].

Tabela 1. Zawartość części kostnych w badanych produktach mięsnych ($n = 10$)

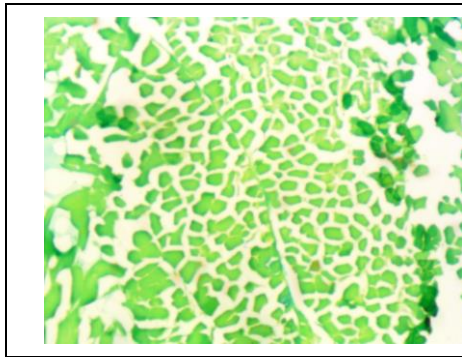
Table 1. Composition of bone parts in the examined meat products

Produkt	Liczba części kostnych/cm ²
Mortadela z bloku 1	0,58
Mortadela z bloku 2	0,56
Podudzie indycze odścięgnięone 1	0,34
Salami	< 0,3 (5 części kostnych/6 preparatów)
Produkt drobno rozdrobniony a'la mortadela	< 0,3 (3 części kostne/6 preparatów)
Mięso mielone 1	< 0,3 (1 część kostna/6 preparatów)
Mięso mielone 2	< 0,3 (1 część kostna/6 preparatów)
Wątrobianka z mięsem drobiowym	< 0,3 (1 część kostna/6 preparatów)
Podudzie indycze odścięgnięone 2	0
Podudzie indycze odścięgnięone 3	0

Tabela 2 przedstawia wyniki oceny histometrycznej 10 wybranych produktów mięsnych. Skład tkankowy wszystkich badanych próbek nie odbiegał od powszechnie obowiązujących norm [1]. W większości badanych produktów mięsnych w przeważającej ilości (> 50%) występowała tkanka mięśniowa poprzecznie prążkowana szkieletowa wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami. W niektórych z nich na przeważającą część, oprócz tkanki mięśniowej, składały się również tkanka tłuszczowa (golonka wieprzowa, mięso mielone) lub tkanka tłuszczowa i wątrobowa (wątrobianka z cebulą). Pozostały skład tkankowy uzależniony był od rodzaju ocenianego produktu.

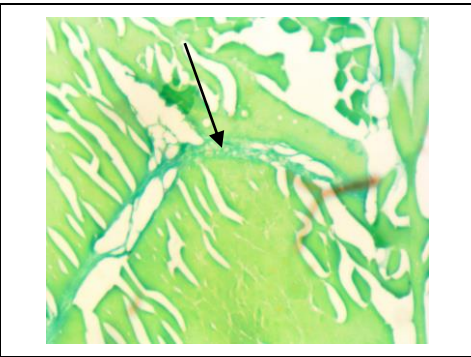
Tabela 2. Skład tkankowy badanych produktów mięsnych ($n = 10$)
Table 2. Tissue composition of examined meat products

Produkt	Wynik oceny						ilości śladowe (< 1%)
	przeważająca ilość (> 50%)	średnia ilość (35–50%)	umiarkowana ilość (20–35%)	mała ilość (5–20%)	sporadycznie (< 5%)		
Wątrobianka z cebulą	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa, tkanka wątrobowa	–	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	skoagulowane białko mięśniowe	tkanka chrzęstna	cebula	
Farsz mięsny	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami	–	tkanka tłuszczowa	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	–	–	
Golonka wieprzowa	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa	–	skoagulowane białko mięśniowe	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	przyprawy	–	
Mięso mielone	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	–	–	przyprawy	–	
Mięsień piersiowy kurcząt 1, 2	mięsień szkieletowy z zachowaną strukturą anatomiczną wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami	–	–	skoagulowane białko mięśniowe	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	–	
Mięsień piersiowy indyka 1, 2, 3, 4	mięsień szkieletowy z zachowaną strukturą anatomiczną wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami	–	–	skoagulowane białko mięśniowe	tkanka łączna (włókna kolagenowe), tkanka tłuszczowa	skrobia	



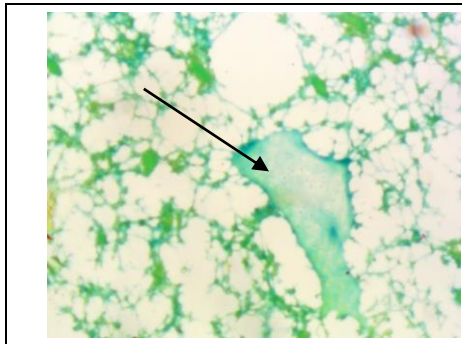
Rys. 1. Barwienie Calleja-Lugol. Przekrój poprzeczny włókien mięśniowych. Pow. 4,0 x 10

Fig. 1. Calleja-Lugol staining. Cross section of muscle fibres. Mag. 4.0 x 10



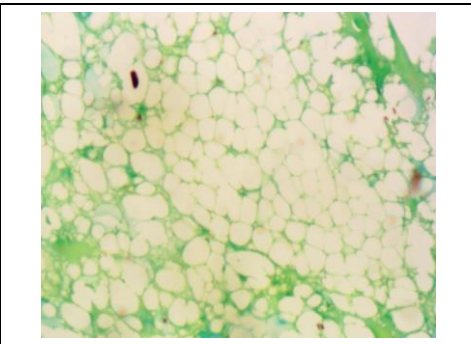
Rys. 2. Barwienie Calleja-Lugol. Tkanka łączna – kolagenowa (strzałka). Pow. 4,0 x 10

Fig. 2. Calleja-Lugol staining. Collagenous connective tissue (arrow) Mag. 4.0 x 10



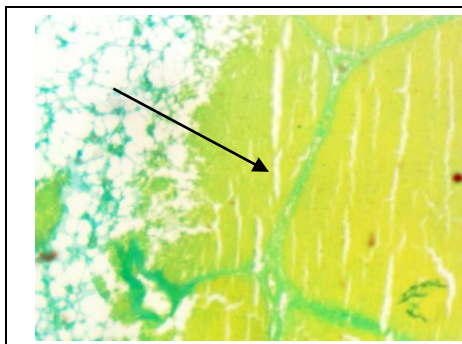
Rys. 3. Barwienie Calleja-Lugol. Tkanka chrzęstna (strzałka). Pow. 4,0 x 10

Fig. 3. Calleja-Lugol staining. Cartilage tissue (arrow) Mag. 4.0 x 10



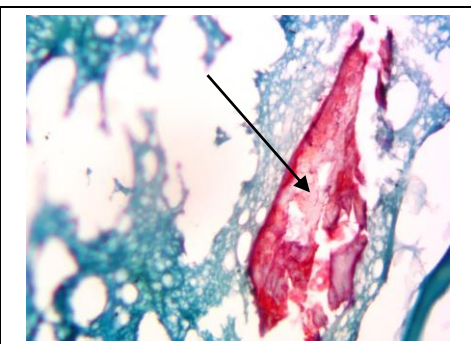
Rys. 4. Barwienie Calleja-Lugol. Tkanka tłuszczowa. Pow. 4,0 x 10

Fig. 4. Calleja-Lugol staining. Fatty tissue. Mag. 4.0 x 10



Rys. 5. Barwienie Calleja-Lugol. Tkanka wątrobowa (strzałka). Pow. 4,0 x 10

Fig. 5. Calleja-Lugol staining. Liver tissue (arrow) Mag. 4.0 x 10



Rys. 6. Barwienie Alizarin S. Część kostna (strzałka). Pow. 4,0 x 10

Fig. 6. Alizarin S staining. Bone particle (arrow.) Mag. 4.0 x 10

Dla pełnego zobrazowania analizowanego materiału na fotografiach mikroskopowych (rys. 1–6) zaprezentowano przykłady rozpoznanych różnych rodzajów tkanek w przetworach mięsnych.

Reasumując, należy stwierdzić, że analiza mikroskopowa przetworów mięsnych jest metodą obiektywną. Wyniki analizy histologicznej są zgodne z testami chemicznymi, o czym świadczą wysokie współczynniki korelacji [3, 5, 7]. Równoległe (chemiczne i histologiczne) analityczne podejście do oceny jakości produktu może dać kompletny wgląd w skład surowców, które bezpośrednio wpływają na jakość produktów końcowych [2].

WNIOSKI

1. W badanych produktach mięsnych nie odnotowano żadnych nieprawidłowości w składzie tkankowym.
2. W produktach wykonanych z elementów kulinarnych udział części kostnych był niski, co świadczy o braku zanieczyszczeń powstałych podczas produkcji.
3. Próbkę przebadane pod kątem zawartości części kostnych nie wskazywały na to, że badane produkty zostały wykonane przy użyciu mięsa odkostnionego mechanicznie.

LITERATURA

1. *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG (1989). ASU L06.00-13 1989-12 Untersuchung von Lebensmitteln. Bestimmung der geweblichen Zusammensetzung von Fleisch, Fleischerzeugnissen und Wurstwaren. ASU L07.00-18 1989-12 Untersuchung von Lebensmitteln. Bestimmung der geweblichen Zusammensetzung von Fleischerzeugnissen. ASU L08.00-20 1989-12 Untersuchung von Lebensmitteln. Bestimmung der geweblichen Zusammensetzung von Wurstwaren.*
2. Botka-Petrak, K., Hraste A., Lucić H., Gottstein Ž. et al., *Histological and chemical characteristics of mechanically deboned meat of broiler chickens*, Vet. Arhiv, 2011, no. 81, p. 273–283.
3. Hildebrandt G., Hirst L., *Determination of the collagen, elastin and bone content in meat products using television image analyse*, J. of Food Sci., 1985, no. 50, p. 568–570.
4. *Informacja o zafatszowanych produktach żywnościowych wykrytych w trakcie kontroli inspekcji handlowej w 2010 roku*, Departament Inspekcji Handlowej UOKiK, Warszawa, grudzień 2010.
5. Komrska P., Tremlová B., Štarha P., Simeonovova J., Randulova Z., *A comparison of histological and chemical analysis in mechanically separated meat*, Acta Univ. Agric. et Silv. Mendel. Brun., 2011, vol. LIX, no. 1, p. 145–152.
6. *Komunikat Komisji do Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie przyszłego zapotrzebowania na mięso odkostnione mechanicznie i jego wykorzystywania w UE, w tym polityki informacyjnej wobec konsumentów*, 2010.
7. Koolmees P.A., Bijker P.G., *Histometric and chemical methods for determining collagen in meat*, Vet. Quart., 1985, no. 7, p. 84–90.
8. *Mięso – podstawy nauki i technologii*, red. A. Pisula, E. Pospiecha, SGGW, Warszawa 2011.

9. Prayson B., McMahon J.T., Prayson R.A., *Fast food hamburgers: what are we really eating?*, *Ann. Diagn. Path.*, 2008, no. 12, p. 406–409.
10. *Raport „Konsument na rynku artykułów żywnościowych” (w świetle wyników kontroli produktów mlecznych, mięsnych, rybnych i miodu)*, Departament Inspekcji Handlowej UOKiK, Warszawa grudzień, 2009.
11. *Raport „Produkty żywnościowe oferowane pod własną marką sieci handlowych”. Kontrole przeprowadzone przez Inspekcję Handlową w roku 2011*, Departament Inspekcji Handlowej UOKiK, Warszawa, grudzień 2011.
12. Schulte-Sutrum M., Horn D., *Separatorenfleisch: Eignungsprüfung*, *Fleischwirtschaft*, 2003, Jg. 83, H. 1, S. 78–81.
13. Tremlová B., Štarha P., *Histometric evaluation of meat products – determination of area and comparison of results obtained by histology and chemistry*, *Czech J. Food Sci.*, 2003, vol. 21, no. 3, p. 101–106.
14. Tremlová B., Štarha P., Pospiech M., Buchtová H., Randulová Z., *Histological analysis of different kinds of mechanically recovered meat*, *Arch. Lebensmittelhyg.*, 2006, Jg. 57, H. 5/6, S. 85–91.
15. Twyman R.M., *Microscopy applications: Food*, [in:] *Encyclopedia of Analytical Science*, eds. P. Worsfold, A. Townshend, C. Poole, vol. 6, Elsevier Science, London (UK) 2005.

MICROSCOPIC ANALYSIS THE TISSUE COMPOSITION OF SOME MEAT PRODUCTS

Summary

The aim of the study was to evaluate the tissue composition of selected meat products using histological methods. The test samples consisted of 20 different meat products such as salami, mortadella, minced meat, pork knuckle, liver sausage, turkey drumstick, pectoral muscles of chickens and turkeys. After collecting the samples from different parts of the product microscopic slides were prepared and then stained using two techniques: Alizarin S, to recognize parts of bone and Calleeja-Lugol, to identify the different tissues in the product. Based on microscopic analysis, there were no abnormalities in the composition of the examined meat products. The samples which were tested for the content parts of bone did not indicate that the test product was produced by using MSM.

Keywords: *meat products, mechanically separated meat, histological analysis*