

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-253-262>

Поступила 10.05.2024

Поступила после рецензирования 24.05.2024

Принята в печать 27.05.2024

© Пчелкина В. А., 2024



<https://www.fsjour.com/jour>

Обзорная статья

Open access

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА МЯСА И МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ

Пчелкина В. А.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

гистология,
гистохимия,
световая
микроскопия,
электронная
микроскопия,
фальсификация,
морфометрия, анализ
изображения

Для обеспечения высокого качества мясной продукции необходима достоверная информация о качестве мяса на всех этапах производственного процесса. В формировании качества мяса непосредственную роль играет структура мышечной, соединительной и жировой тканей. Методы микроскопии позволяют исследовать структуру мяса, а также определять ее изменение в зависимости от ряда эндо- и экзогенных факторов (вид животного, порода, пол, условия выращивания и убоя) и от вида технологической обработки. В статье представлены основные направления применения микроскопического анализа в исследованиях мяса и готовых мясных продуктов. Преимуществом микроскопии является представление результатов в наглядной форме, а также возможность проведения морфометрии, в том числе с использованием компьютерных систем анализа изображения, и получение количественных характеристик структур. Наиболее распространенными являются световая и электронная микроскопии. Световая микроскопия благодаря разнообразным процедурам окрашивания позволяет определять различные компоненты образца, изучать топографию и морфологию тканей и клеток. Электронная микроскопия предоставляет информацию об ультраструктуре клеток, а также об их химическом составе. В статье рассмотрены возможности микроскопии в оценке состава и выявлении фальсификации готовых мясных продуктов. Отмечено, что применение нескольких подходов и методов окрашивания позволяет достоверно идентифицировать большее количество компонентов, в том числе растительного происхождения. Гистологические методы могут обеспечить выявление фальсификации и контроль состава мясных продуктов на государственном уровне.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова», № FGUS-2024-0002.

Received 10.05.2024

Accepted in revised 24.05.2024

Accepted for publication 27.05.2024

© Pchelkina V. A., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Review article

Open access

MICROSCOPIC METHODS TO STUDY MEAT AND MEAT PRODUCT QUALITY

Viktoriya A. Pchelkina

V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

KEY WORDS:

histology,
histochemistry,
light microscopy,
electron microscopy,
falsification,
morphometry,
image analysis

ABSTRACT

Reliable information about meat quality at all stages of the production process is necessary to ensure high quality of meat products. The structure of muscle, connective and fat tissues plays a direct role in formation of meat quality. Microscopic methods allow investigating the meat structure and determining its change depending on a range of endo- and exogenous factors (animal species, breed, sex, conditions of raising and slaughter) and on a type of technological processing. The paper presents the main directions of using microscopic analysis in investigation of meat and finished meat products. An advantage of microscopy is presentation of results in a visual form as well as a possibility of performing morphometry, including with the use of computer systems of image analysis, and obtaining quantitative characteristics of structures. Most common are light microscopy and electron microscopy. Due to various staining procedures, light microscopy enables detecting different components of a sample, studying topography and morphology of tissues and cells. Electron microscopy gives information about the ultrastructure of cells and their chemical composition. The paper discusses possibilities of microscopy in assessment of composition and detection of falsification of finished meat products. It has been noted that the use of several approaches and methods of staining allows reliable identification of many components, including components of plant origin. Histological methods can ensure detection of falsification and control of meat product composition at the state level.

FUNDING: This research was funded by state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, No. № FGUS-2024-0002.

1. Введение

Мясо и мясные продукты в рационе человека являются важными источниками энергии и полноценных животных белков, а также витаминов группы В и ряда минеральных веществ [1]. С каждым годом потребление мяса растет как в России, так и во всем мире [2,3]. Одной из задач, стоящих перед мясной промышленностью, является получение достоверной информации о качестве используемого сырья на протяжении всего производственного процесса, что обеспечит гарантированное качество готовой продукции. Для решения этой задачи требуются быстрые и точные методы оценки. Актуальным является контроль качества как самого мясного

сырья, так и продуктов из него. Для этого применяют два основных подхода: субъективный, включающий органолептическую оценку, и объективный, куда относят различные лабораторные исследования, оценивающие физические и химические свойства [4]. Методы микроскопии (греч. *μικρός* — мелкий, маленький и *σκοπέω* — вижу), наряду с физико-химическими, протеомными и молекулярными подходами, представляют собой ценный инструмент исследования, позволяющий получать результаты за короткий промежуток времени без использования сложного и дорогостоящего оборудования [5]. Данные методы относятся к старейшим способам анализа пищевых продуктов. Их применение началось с 1850 года, когда уче-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Пчелкина, В. А. (2024). Применение микроскопических методов в исследованиях мяса и мясных продуктов. *Пищевые системы*, 7(2), 253–262. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-253-262>

FOR CITATION: Pchelkina, V. A. (2024). Microscopic methods to study meat and meat product quality. *Food Systems*, 7(2), 253–262. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-253-262>

ный Arthur Hassall с помощью микроскопа отличил кофе от цикория.

В отношении мяса и мясных продуктов микроскопические методы применяют, как правило, в нескольких направлениях:

- определение микроструктурных особенностей мясного сырья [6];
- изучение влияния технологических режимов обработки на структуру мяса [7];
- анализ качества и состава готовых мясных продуктов [8].

Существует множество способов подготовки образцов для микроскопических исследований, а сама процедура включает как классические подходы, так и использование современного оборудования и программного обеспечения. К преимуществам микроскопии можно отнести представление результатов в наглядной и понятной форме (фотографии структур), а также возможность дополнения качественного анализа рядом морфометрических (числовых) данных, которые легко поддаются статистической обработке [9].

Целью данной работы было рассмотрение основных видов микроскопии, используемых при анализе мяса, а также изучение их возможностей при оценке качества сырья и в процессе исследования состава готовых мясных продуктов.

2. Объекты и методы

Объектом исследования стали научные публикации российских и зарубежных ученых, посвященные микроскопическому анализу пищевых продуктов, в частности, определению качества мяса. Поиск научной литературы проводили в библиографических базах PubMed, Scopus, Web of Science, ResearchGate и в Научной электронной библиотеке (eLIBRARY.RU), а также в открытых интернет-источниках. Основное внимание уделялось полнотекстовым статьям, опубликованным с 2010 года. При выполнении работы использовали следующие научные методы: поиск и скрининг научной литературы, извлечение и анализ полученных данных, систематизация и обобщение результатов. При отборе публикаций приоритет имели высоко цитируемые источники. Для поисковых запросов использовали несколько комбинаций ключевых слов, включая следующие: на русском языке — виды микроскопии, микроскопия мяса, микроструктура мяса, структура мясных продуктов, гистология, гистохимия, иммуногистохимия мяса, световая микроскопия, электронная микроскопия, фальсификация мясных продуктов, гисто(морфо-)метрия, анализ изображения; на английском языке — types of microscopy, microscopy of meat, microstructure of meat, structure of meat products, histology, histochemistry, immunohistochemistry of meat, light microscopy, electron microscopy, falsification of meat products, histo(morpho-)metry, image analysis.

Критерии включения статей:

1. Статья соответствует теме исследования;
2. Тип анализируемых статей — оригинальная исследовательская статья, обзорная статья, краткий отчет;
3. Публикация посвящена использованию микроскопии для анализа мяса и мясных продуктов. В работе рассматриваются такие вопросы, как определение структурных особенностей тканей, выявление компонентного состава, обнаружение фальсификации мясных продуктов и анализ гистологических изображений;
4. Приведены данные о методике микроскопического анализа.

Критерии исключения:

1. Статья не соответствует теме данной работы;
2. Исследование посвящено применению микроскопии для изучения пищевых продуктов агропромышленного комплекса, не относящихся к мясному сырью;
3. Исследования, предполагающие применение микроскопии для изучения неорганических материалов;
4. Исследования, предполагающие применение микроскопии для изучения клеток и тканей животного и человека, а также микроорганизмов.

На первом этапе провели анализ наименования статей, полученных в результате поиска. Часть публикаций исключили ввиду несоответствия критериям включения. Далее были проанализированы рефераты работ, после чего осуществлялось второе исключение. Затем из каждой публикации, включенной в обзор, была отобрана следующая информация: автор(ы), год публикации, страна; цель и методика исследования; полученные результаты. Детальный анализ каждой включенной в обзор публикации проводили на основе конкретных элементов исследовательских вопросов и цели обзора.

3. Виды микроскопии

Микроскопию можно разделить на две области: оптическую и электронную. В зависимости от типа излучения выделяют следующие виды микроскопии: (а) микроскопические методы с использованием светового излучения (классическая световая микроскопия, поляризационная микроскопия); (б) флуоресцентная микроскопия; (в) микроскопические методы с использованием энергии пучка электронов (просвечивающая электронная микроскопия, сканирующая электронная микроскопия); (г) микроскопические методы с использованием других видов излучения; (д) микроскопические методы с использованием сканирующего зонда [10]. В мясной промышленности наиболее распространенным является использование световой (в различных модификациях) и электронной микроскопии.

3.1. Световая микроскопия

Световая микроскопия является самым простым методом получения изображения препарата и используется в пищевой промышленности с момента создания световых микроскопов. Ее основное применение заключается в определении составных компонентов, которое возможно благодаря различным процедурам окрашивания. Данный метод дает возможность изучения топографии и морфологии тканей и клеток, а с применением молекулярно-биологических подходов позволяет выявлять локализацию отдельных химических веществ. В настоящий момент используется целый ряд микроскопов и гистологических техник окрашивания, позволяющих понять взаимодействие компонентов мясных продуктов, влияние технологических процессов на их структуру, идентифицировать отдельные ингредиенты [11,12].

Классическая световая микроскопия позволяет получить изображения с увеличением в 1000 раз, однако для изучения структуры мяса обычно достаточно увеличения в 100–400 раз [5]. Увеличение в 400–1000 раз необходимо для работы с сильно измельченным сырьем, эмульсиями, для оценки наличия микроорганизмов. Современные модифицированные световые микроскопы способны обеспечивать увеличение в 3000 раз. Для проведения анализа необ-

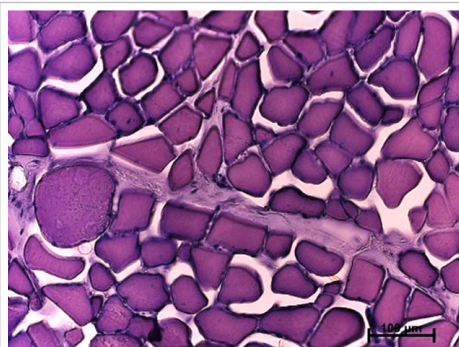


Рисунок 1. Микроструктура *m. L. Dorsi*, поперечный срез, окрашивание гематоксилином и эозином (масштаб 100 мкм)

Figure 1. Microstructure of *m. L. dorsi*, cross section, staining with hematoxylin and eosin (scale bar 100 μm)

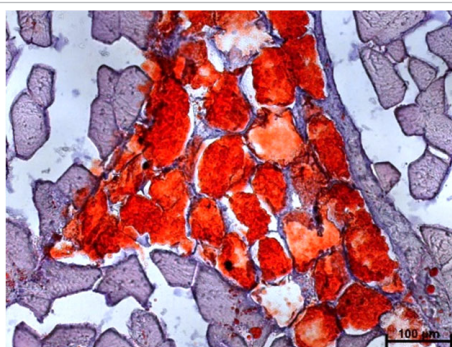


Рисунок 2. Микроструктура *m. L. Dorsi*, поперечный срез, окрашивание Oil Red O (масштаб 100 мкм)

Figure 2. Microstructure of *m. L. dorsi*, cross section, staining with Oil Red O (scale bar 100 μm)

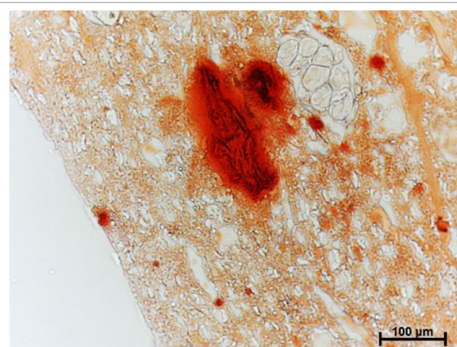


Рисунок 3. Костный фрагмент в структуре вареной колбасы, окрашивание ализариновым красным S (масштаб 100 мкм)

Figure 3. Bone fragment in the structure of cooked sausage, staining with alizarin red S (scale bar 100 μm)

ходимо получить гистологический препарат — тонкий срез (около 5–20 мкм) образца, окрашенный гистологическими / гистохимическими красителями.

Для выявления и дифференциации отдельных структур образца разработаны различные методы окрашивания. При изучении структуры мяса и мясных продуктов наиболее распространенным является классическое окрашивание гематоксилином и эозином [13] (Рисунок 1). Селективные процедуры окрашивания позволяют целенаправленно выделять отдельные компоненты на препарате. В основном это гистохимические методы, основанные на химической реакции красителя с молекулой вещества, например, окрашивание жира красителем *Oil Red O* [14] (Рисунок 2) или костных фрагментов ализариновым красным S [15] (Рисунок 3).

К дифференцирующему окрашиванию относят и иммуногистохимические процедуры (ИГХ), которые основаны на реакции антиген-антитело [16]. По сравнению с гистохимическими, ИГХ методы обладают большей специфичностью и подходят для идентификации различных белков (соединительнотканых, мышечных, растительных) с помощью цветового контраста или флуоресценции [17]. Специфическое связывание антитела с антигеном будет происходить, даже если антиген встроен в организационную структуру клетки или является частью многокомпонентного мясного продукта, прошедшего термообработку [18]. Прямой метод ИГХ предусматривает использование меченых антител и применяется в основном тогда, когда концентрация антигена в исследуемом образце достаточно высока. Более сложными, но и более чувствительными являются непрямые ИГХ процедуры окрашивания [19]. ИГХ служит основным селективным методом выявления нервной ткани ЦНС в мясных продуктах, которая является основным инфекционным источником при губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота [20].

3.1.1. Модификации световой микроскопии

Поляризационная микроскопия предназначена для наблюдения анизотропных (двулучепреломляющих) частиц, к которым относятся волокна (коллагеновые, эластиновые), кристаллические включения (соль, сахар) или крахмал [12] (Рисунок 4). Поляризационная микроскопия применяется также и для изучения структуры и состава упаковки (с содержанием коллагена, целлюлозы и т. д.), применяемой в мясной промышленности [21,22].

Фазово-контрастная микроскопия. Человеческий глаз способен воспринимать различия в амплитуде световых волн как разную интенсивность света и различия в длине волны как разные цвета света. С помощью устройства для фазового контраста можно добиться того, что одновременно с изменением фазы волны изменяется и ее амплитуда: лучи, проходящие сквозь объект, и прямые лучи, проходящие за пределы объекта, разделяются, а затем рекомбинируются в линзе. При проведении фазово-контрастной микроскопии исследуемый препарат не окрашивается [12]. Авторы Liu et al. [23] использовали фазово-контрастную микроскопию для изучения качества свинины, подвергнутой окислительному стрессу в различных условиях технологической обработки. Наблюдаемые динамические ультраструктурные изменения в миофибриллах позволили лучше понять воздействие окисления на гидратацию мяса и связывание воды.

Интерференционная микроскопия объединяет в себе подходы поляризационной и фазово-контрастной микроскопии и позволяет получать контрастные трехмерные изображения неокрашенных объектов. В данной микроскопии используют два отдельных луча света, а в комбинированном пучке происходит интерференция световых волн, которая вызывает изменения в их амплитуде. Таким образом, создаются контрасты оптической плотности, что проявляется в видимости прозрачного фазового объекта. Этот метод позволяет изучать особенно мелкие клеточные структуры [12].

Флуоресцентная микроскопия основана на знании того, что некоторые вещества после поглощения энергии ультрафиолетового света испускают излучение с большей длиной волны, как правило, в видимом диапазоне спектра. Многие компоненты растительных и животных тканей проявляют автофлуоресценцию (хлорофилл, каротиноиды, эластин, липиды, витамины) [10]. При проведении данного вида микроскопии применяют селективные флуоресцентные красители (флуорохромы) для достижения высокой контрастности в образце. На одном гистологическом срезе можно использовать несколько видов флуорохромов, которые можно просматривать с помощью различных фильтров микроскопа, в результате получая структуры с цветовой кодировкой [12].

Вещества антигенной природы (например, соевый белок, пшеничный белок) можно контрастировать с использованием иммуногистофлуоресцентных красителей, обладающих высокой специфичностью и чувствительностью [24]. Swartz et al. [25] использовали флуоресцентную микроскопию для изучения миофибрилл в мышцах крупного рогатого скота (*M. rectus abdominis* и *M. cutaneus trunci*) во время трупного окоченения благодаря разработанным флуоресцентным зондам на основе субфрагментов миозина-1 (S1), актина и альфа-актинина.

В работе [26] применили данный метод для обнаружения и локализации белковых карбониллов, образующихся в бычьей *m. Rectus abdominis* во время воздействия химической системы, генерирующей свободные радикалы, а также при хранении и термообработке. Было установлено, что накопление окисленных белков, наблюдаемое на периферии клетки, связано с окислением мембранных белков, а не с окислением соединительной ткани.

Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия является разновидностью флуоресцентной микроскопии и позволяет с помощью лазерного пучка выполнять трехмерные реконструкции сложных образцов. Метод используется для изучения клеточных структур и тканей. В отличие от других микроскопических методов, он не требует тонких срезов, так как видимость объекта зависит от флуоресценции, которую можно усилить с помощью специальных красителей. Исследователи Straadt et al. [27] применили метод для характеристики микроструктурных изменений и с целью изучения распределения воды в свежей и приготовленной свинине в течение 14-дневной выдержки. Полученные изображения позволили выявить набухание миофибрилл, деградацию и усадку мышечных волокон при варке. Данная микроскопия может быть полезным инструментом для изучения структурных взаимоотношений между элементами соединительной ткани в скелетных мышцах [28].

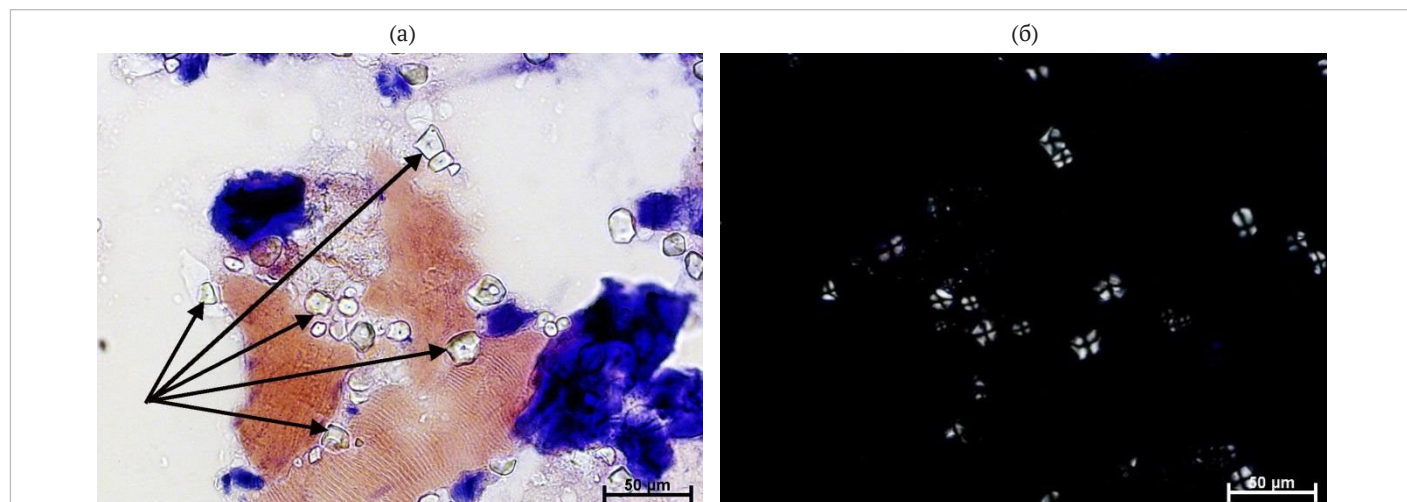


Рисунок 4. Зерна кукурузного крахмала: (а) — окрашивание гематоксилином и эозином; (б) — поляризационная микроскопия (масштаб 50 мкм)

Figure 4. Grains of corn starch: (a) staining with hematoxylin and eosin; (b) polarization microscopy (scale bar 50 µm)

3.2. Электронная микроскопия

Для анализа структур менее 1 мкм из-за недостаточного пропускания света использовать классическую световую микроскопию недостаточно и необходимо выбирать излучение с более высокой проникаемостью — энергию электронов. Электронные микроскопы могут предоставлять исследователям исчерпывающую информацию об ультраструктуре и о химическом составе образца [10]. Соединение рентгеновского зонда с электронным микроскопом дает возможность проводить рентгеновский микроанализ, то есть локально измерять на микроскопическом уровне рентгеновский спектр [29].

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) для создания изображения использует электронный пучок, образуемый катодом в камере микроскопа, который взаимодействует с атомами образца, в результате чего генерируются низкоэнергетичные вторичные электроны, собираемые детектором. Таким образом получается карта рельефа проанализированной зоны. Интенсивность электрического сигнала детектора зависит как от природы образца, так и от топографии образца в области взаимодействия. На мониторе компьютера мы наблюдаем увеличенное изображение отсканированной области (Рисунок 5). Основная проблема заключается в том, что образец находится в вакууме, он не должен содержать воды, а его поверхность должна быть электропроводной [10]. Наиболее распространенными факторами, влияющим на качество получаемого изображения, являются выбор напряжения, угол наклона образца, заряд образца и рабочее расстояние.

Tornberg в своей работе [30] рассматривал влияние нагревания на изменение вторичной, третичной и четвертичной структуры белков и показал, что СЭМ является мощным инструментом для лучшего понимания взаимосвязи между структурой белков и качеством мяса. Метод также применяли для изучения влияния протеолитических ферментов на внутримышечную соединительную ткань [31]. В статье [32] приведены результаты влияния солезаменителей и желатиновой камеди на структуру мясных кларов, полученные при использовании СЭМ.

Криосканирующая электронная микроскопия заключается в наблюдении образца с помощью СЭМ после предварительной криофиксации. Метод хорошо адаптирован к биологическим тканям, на которые относительно не влияет такая подготовка. Криофиксация — это способ визуализации электролитов, которые подавляются при классической подготовке и дегидратации. С использованием крио-СЭМ оценивали микроструктуру эндомизия и перимизия при изучении влияния температуры и времени приготовления на потери, цвет и текстуру говядины [33]. С помощью этого метода также исследовали ультраструктуру мышечных волокон свинины в зависимости от скорости замораживания и времени хранения [34]. В работе [35] при изучении ультраструктурных изменений в ветчине сравнили результаты, полученные с помощью СЭМ, крио-СЭМ и трансмиссионной электронной микроскопии, и пришли к выводу о взаимодополнительности этих методов.

Сканирующая электронная микроскопия окружающей среды (СЭМОС, или электронная микроскопия с переменным давлением — ПД-СЭМ) представляет собой новую разработку в области электронной микроскопии и позволяет наблюдать образцы при

почти нормальном атмосферном давлении (в отличие от классического СЭМ) без необходимости их обезвоживания или замораживания. Авторы Yarmand et al. [36] использовали СЭМОС для изучения изменения структуры телячьей *m. Semimembranosus* при нагревании, а в работе [37] метод применяли для изучения растяжения *m. Semitendinosus* говядины *in situ* после различных предварительных обработок (замораживание, термообработка), что позволило получить изображения разрушения структуры мышцы в режиме реального времени. Несмотря на то, что данный метод предлагает многообещающие возможности для наблюдения за неповрежденными образцами, контраст изображения часто бывает хуже, чем при традиционном СЭМ.

При просвечивающей (трансмиссионной) электронной микроскопии (ПЭМ) электронный пучок проходит через образец (ультратонкий срез толщиной менее 0,1 мкм, окрашенный тяжелыми металлами), при этом происходит неоднородное поглощение электронов разными его частями образца, и далее фокусируется магнитными электронными линзами на регистрирующей поверхности (флуоресцентные экраны со слоем люминофора, фотопленка или фотопластинки, приборы с зарядовой связью (ПЗС-матрицы)) в увеличенном размере. Таким образом, получается двумерная картина распределения плотности электронного потока. Этот метод применяли для наблюдения изменений структуры саркомеров во время обработки говядины протеолитическими ферментами [38] и хлоридом кальция [39]; для изучения влияния электрической стимуляции бычьих туш на посмертные изменения в скелетных мышцах [40]; с целью выявления изменений ультраструктуры мышц буйвола при замораживании / оттаивании [41].

Разработана также иммуноэлектронная микроскопия, позволяющая обнаружить специфические белки в ультратонких срезах тканей [42], однако данное направление не нашло дальнейшего широкого применения в исследованиях мяса.

3.3. Другие виды микроскопии

Атомно-силовая микроскопия относится к группе методов, называемых в совокупности сканирующей зондовой микроскопией. Микрозонд перемещается в области ближнего поля образца, то есть располагается на расстоянии до 100 нм и сканирует рельеф исследуемого образца и его физико-химические свойства (электропроводность, магнитные свойства, температура), а также позволяет обнаружить наличие функциональных групп в некоторых молекулах. Метод использовали для выявления распределения воды в свинине при посоле [43].

Рентгеновская микроскопия работает по тому же принципу, что и рентгеновская компьютерная томография, используя технологию контрастной визуализации изменения поглощения рентгеновского излучения при прохождении через образец. Прошедшая часть излучения отображается на поверхности детектора. Современные рентгеновские микроскопы способны создавать 3D-изображения, анализировать различные по структуре образцы, а также проводить количественные измерения. В области исследований мяса и мясопродуктов этот метод подходит для определения содержания костей [44], мышечной ткани и жира [45–47].

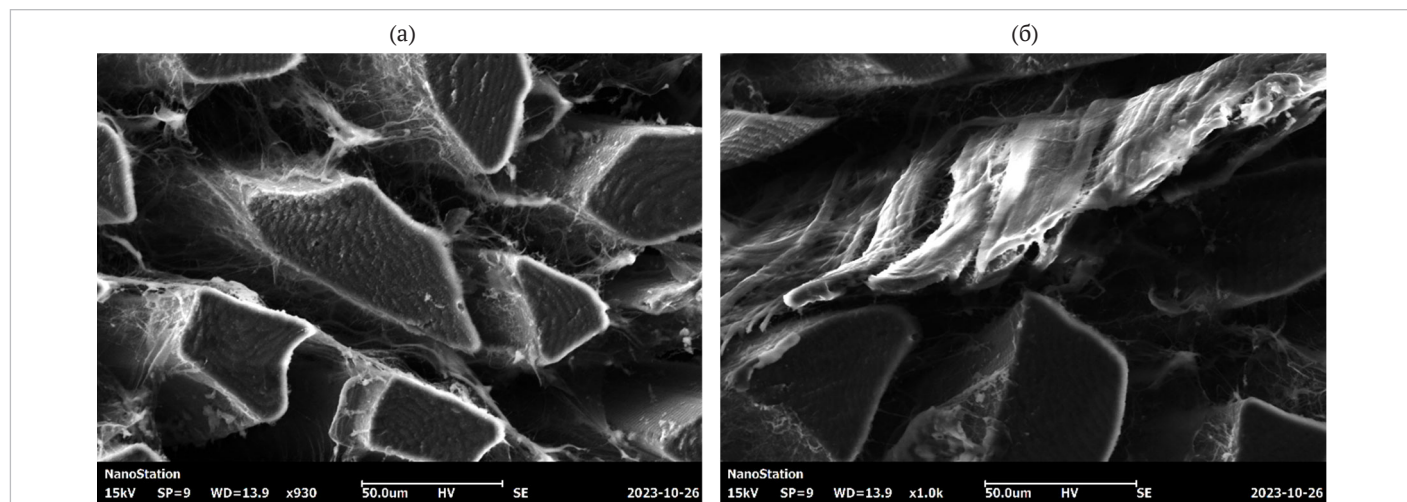


Рисунок 5. Структура *m. L. Dorsi*, поперечный срез, СЭМ (масштаб 50 мкм): (а) — мышечные волокна; (б) — соединительная ткань перимизия

Figure 5. Structure of *m. L. dorsi*, cross section, SEM (scale bar 50 µm): (a) — muscle fibers; (b) — connective tissue of the perimysium

Инфракрасная микроскопия использует инфракрасный свет для изучения образов малых размеров (несколько мкм) и предназначена в первую очередь для идентификации органических и неорганических веществ. Практическое применение метод нашел для дифференциации компонентов в трудноразделяемых смесях. В работе [48] благодаря сочетанию световой и ИК-Фурье-микроскопии продемонстрирована взаимосвязь между микроструктурой, содержанием соли и влаги и вторичной структурой белка (амидной области белка I) в образцах свинины.

Акустическая микроскопия относится к неразрушающим методам исследования и использует сверхвысокую частоту ультразвука. К преимуществам можно отнести возможность получения изображений под поверхностью оптически непрозрачных материалов. Применение данного метода для определения содержания жира в образцах ветчины и салами чоризо показано в работе Watson N. et al. [49].

4. Применение микроскопических методов для определения качественных показателей мясного сырья

Структура мышечной ткани играет непосредственную роль в формировании качества мяса [6,50]. Известно, что площадь поперечного сечения и соотношение типов мышечных волокон влияют на мышечный метаболизм, на цвет, на водоудерживающую способность, на нежность и на органолептические характеристики сырья [51,52]. Молекулярная архитектура саркомера, определяемая взаимодействием актин-миозиновых филаментов и границ между Z-дисками, оказывает непосредственное влияние не только на структурные свойства сырого мяса, но и на качество вареного продукта, на его цвет, вкус [53].

При изучении структуры мышечной ткани чаще всего применяют световую микроскопию с различными вариантами окрашивания, позволяющими наиболее полно охарактеризовать строение мышечных волокон. В работе [54] показано влияние стресса во время предубойного содержания на микроструктуру *m. L. dorsi* свиней. Авторы использовали окрашивание гематоксилином и эозином и получили статистически значимые различия между отдельными группами животных с разной предубойной выдержкой по диаметру мышечных волокон, количеству и площади гигантских волокон, длине саркомера.

При изучении взаимосвязи между микроструктурой и технологическими свойствами разных частей *m. Semitendinosus* свиней для типирования волокон ученые Semenova et al. [55] использовали окрашивание суданом В (черным) и ШИК-реакцию в модификации Шабадаша. Исследование показало, что темная часть мышцы характеризовалась более высокой плотностью расположения волокон и большей длиной саркомеров и имела более высокие значения pH ($6,15 \pm 0,05$). Напротив, светлая часть характеризовалась большим диаметром мышечных волокон, более рыхлой консистенцией и низкими значениями pH ($5,80 \pm 0,02$).

Для типирования волокон можно применять иммуногистохимическое окрашивание, используя антитела к разным изоформам тяжелых цепей миозина, что показано на примере *m. Semimembranosus* и *m. Semitendinosus* [56]. Такое окрашивание позволило показать взаимосвязь саркоплазматических и миофибриллярных белков с качеством мяса в пределах одной мышцы.

Гистохимическое окрашивание на акто-миозиновую АТФазу для различения сократительных типов I, IIA и IIB, а также окрашивание на сукцинодегидрогеназу для идентификации красных окислительных и белых гликолитических мышечных волокон приведены в работе [57]. Авторы установили, что генетические факторы и система выращивания оказывают разное влияние на структуру мышц, при этом содержание внутримышечного жира и типовой состав волокон не взаимосвязаны.

Применение гистохимии (окрашивание на АТФ-азу и НАДФ-тетразолийредуктазу) для типирования волокон при изучении качества мяса показано также в работах [58–60]. Разный профиль мышечных волокон характерен для разных мышц одного животного, а также для разных пород, линий и гибридов и оказывает влияние не только на функциональный характер мышцы, но и на ее функционально-технологические и потребительские характеристики [61,62].

На качество мясного сырья влияет не только строение непосредственно самих мышечных волокон, но и внутримышечная соединительная ткань и внутримышечный жир [63]. Соединительная ткань, располагающаяся как между пучками мышечных волокон (перимизий), так и между отдельными мышечными волокнами (эндомизий) представляет собой трехмерную сеть, морфология и состав которой

варьируются от одного вида (включая вид, пол, возраст) животного к другому и от одной мышцы к другой в зависимости от ее положения и функции, при этом имея сложную связь с нежностью мяса [64]. Внутримышечная соединительная ткань выполняет широкий спектр функций, в том числе координирует деформации между соседними мышечными волокнами, поддерживает связь саркомеров друг с другом, организует и обслуживает каждое мышечное волокно [65].

Структурные изменения внутримышечной соединительной ткани при развитии *m. Semitendinosus* крупного рогатого скота исследовали методом сканирующей электронной микроскопии, позволяющей элиминировать клеточные элементы и выявлять коллагеновые фибриллы и волокна [66]. Результаты работы продемонстрировали, что расположение коллагеновых фибрилл и волокон тесно связано с увеличением механической прочности внутримышечной соединительной ткани в процессе развития скелетной мускулатуры.

Авторы Dubost et al. использовали световую микроскопию и анализ изображения при изучении влияния структурных особенностей внутримышечной соединительной ткани на качество говядины на примере трех мышц (*Longissimus thoracis*, *Semimembranosus* и *Biceps femoris*) [67,68]. Для визуализации перимизия и эндомизия авторы окрашивали срезы по методу Пикро-Сириус красный. Результаты показали, что содержание коллагена в прослойках перимизия отрицательно влияет на сочность, в то время как внутримышечный жир положительно связан с нежностью и вкусом при дальнейшей технологической обработке мяса.

Микроструктурные характеристики мышечной ткани и их изменения в процессе автолиза мясного сырья, устанавливаемые в помощью микроскопических методов, находят свое отражение при проведении протеомных и спектрометрических исследований [69].

5. Применение микроскопии при изучении влияния технологических режимов обработки на структуру мяса

На структуру мяса непосредственное влияние оказывают различные виды технологической обработки: замораживание, посол, созревание, термообработка и др. Замороженное мясо обычно используется в промышленности в качестве сырья для различных мясных продуктов. В зависимости от ряда факторов (температура, влажность и др.) замораживание вызывает химические и структурные изменения тканей, в основном в результате изменения характеристик белка, приводя к снижению их функциональности, что отрицательно сказывается на качестве готовых продуктов [70]. Медленное замораживание приводит к образованию небольшого количества крупных внеклеточных кристаллов льда, в то время как быстрое замораживание производит множество мелких кристаллов, распределенных по всему объему сырья. Одним из последствий образования кристаллов льда является физическое повреждение микроструктур, которое продолжается на протяжении всего периода хранения и размораживания из-за непрерывной рекристаллизации [7]. Использование как оптической, так и электронной микроскопии позволяет наиболее наглядно оценить степень повреждения клеток впоследствии замораживания и размораживания, а также установить размеры и расположение кристаллов льда.

В работе [71] применяли СЭМ для изучения структурных изменений в свинине при различных методах размораживания. Микроволновое размораживание индуцировало заметно больший зазор между мышечными волокнами и приводило к разрывам большего числа пучков по сравнению с другими методами размораживания, а размораживание в холодильнике (4 °C) оказывало наименьшее негативное влияние на микроструктуру мышцы.

Ученые Oliveira et al. [72] оценивали влияние разных способов размораживания на структуру куриной грудки с помощью световой микроскопии и окрашивания гематоксилином и эозином. Размораживание погружением в холодную воду (в полиэтиленовых пакетах) было методом, который показал наилучшие результаты из-за меньшего повреждения мышечных волокон, что привело к меньшим капельным потерям и большей нежности образцов.

ПЭМ совместно со световой микроскопией использовали при изучении влияния многократного замораживания-размораживания на структуру *m. L. dorsi* овец [73]. Изображения электронной микроскопии позволили установить, что многократное замораживание-оттаивание привело к ослаблению связей между тонкими нитями актина и Z-линиями, к ослаблению M-линий, к распаду миофибрилл и к изменению размеров саркомеров (уменьшение с 1,71 мкм до 1,49 мкм в течение первых 10 циклов и дальнейшее увеличение до 1,54 мкм между 10 и 15 циклами). Результаты световой микроскопии показали, что многократное замораживание-размораживание индуцировало разрыв эндомизия, появление промежутков между воло-

нами, а также уменьшение диаметра мышечных волокон с 30,93 мкм до 21,87 мкм после 15 циклов.

Крио-СЭМ применяли для исследования изменений микроstructures гонимых мышц, подвергнутых различным циклам замораживания-размораживания [74]. Результаты показали, что увеличение циклов замораживания-размораживания вызывало усиление разрывов эндомизия, увеличение промежутков между волокнами и полостей внутри волокон. Изменения микроstructures могут служить доказательством, объясняющим уменьшение количества иммобилизованной воды после нескольких циклов замораживания-размораживания.

Таким образом, применение микроскопии позволило установить основные структурные изменения, происходящие в мясе в процессе замораживания: уменьшение диаметра мышечного волокна и длины саркомеров, увеличение межклеточных пространств, распад миофибрилл и характерной исчерченности мышечных волокон, признаки клеточной дезорганизации. Условия замораживания и размораживания оказывают большое влияние на степень разрушения микроstructures, однако основным недостатком микроскопического анализа при дифференциации охлажденного и размороженного мяса является то, что при определенных условиях замораживания-размораживания не наблюдаются явные структурные повреждения мышечных волокон, в связи с чем требуется применение других аналитических методов [7].

Способ и время хранения мясного сырья также влияют на его структуру и, как следствие, на качество. Кратковременное хранение в замороженном виде приводит к менее выраженным структурным изменениям, чем хранение в микрозаморозке и при температуре льда [75].

Влияние процессов инъектирования, массирования и термообработки (72 °C) на гистологические показатели двух мышц свинины *m. Semimembranosus* и *m. Quadriceps femoris* показано в работе [76]. Авторы использовали световую микроскопию и окрашивание гематоксилином и эозином, а полученные препараты оценивали с помощью компьютерного анализа изображений. Было установлено, что четырехглавая мышца бедра проявляет большую динамику изменения структурных элементов по сравнению с полуперепончатой мышцей. Инъектирование приводило к округлению контуров мышечных волокон, а также к увеличению площади их поперечного сечения, а термообработка выравнивала размеры клеток и уменьшала межклеточные пространства.

Ученые Larrea et al. провели комплексные исследования микроstructures свинины, используя Крио-СЭМ, СЭМ и ПЭМ, на разных этапах производства сыровяленной ветчины: от охлажденного сырья до конца созревания [77]. В *m. Semimembranosus* после посола наблюдались более выраженные, чем в *m. Biceps femoris*, изменения, проявляющиеся в ослаблении Z-линий и в деградации клеточных мембран, а также в разделении миофибриллярных пучков. В готовом продукте в обеих мышцах наблюдалось накопление продуктов протеолиза, образующихся преимущественно на последней стадии созревания.

Изменения микро- и ультраструктуры мышечных волокон говядины после добавления хлорида натрия и лактата калия оценивали с помощью оптической гистологии и методов ПЭМ [78]. Добавление соли приводило к появлению аморфных зон, где несколько волокон сливались с исчезновением внеклеточных пространств и утратой сарколеммы, но с сохранением миофибриллярной структуры. Добавление лактата калия усиливало действие NaCl, увеличивая солилизацию Z-линии и набухание митохондрий и цистерн саркоплазматического ретикула.

Влияние технологических процедур (замораживание и нагревание) на микроstructure и агрегацию мышечных белков в *m. Longissimus dorsi* показано в работе [79]. Авторы сравнили данные, полученные с помощью оптической микроскопии и СЭМ, с результатами электрофореза. Нагревание приводило к увеличению молекулярной массы агрегатов, тогда как замораживание оказывало аддитивный эффект на агрегаты, при этом полоса актина уменьшалась по мере увеличения времени приготовления. Полученные изображения структур позволили определить размер агрегатов и их количество. Результаты были дополнены качественной информацией с помощью электронной сканирующей микроскопии.

Обработка протеолитическими ферментами является одним из популярных методов размягчения мяса, оказывая влияние на структуру мышечных волокон. Основные изменения, выявленные с помощью СЭМ, связаны с фрагментацией миофибрилл (особенно в первые 24 ч) из-за протеолиза Z-линий, а также с деформацией и нарушением структуры эндомизия [80]. Папаин вызывает сильные повреждения мышечных волокон, разрывы с высвобождением

клеточного содержимого, увеличение внутриклеточных пространств и разрывы сарколеммы, в результате чего волокна приобретают булабовидную структуру, что хорошо выявляется при световой микроскопии и обзорном окрашивании гематоксилином и эозином [81].

6. Микроскопия в анализе качества и состава готовых мясных продуктов

Основное применение микроскопических методов при анализе готовых мясных продуктов сосредоточено на качественных исследованиях состава и на выявлении отдельных компонентов и тканей. Использование внутренних органов убойных животных, а также хрящей, костей, кожи вместо заявленного на этикетке готового продукта мяса рассматривается как фальсификация [82]. Фальсификация мясных продуктов является серьезной проблемой во многих странах с точки зрения рисков для здоровья потребителя и экономических последствий. Гистологические методы могут обеспечить выявление фальсификации и контроль качества и состава мясных продуктов на государственном уровне [83].

Использование микроскопии широко распространено при анализе мясных продуктов во всем мире [84,85]. Авторы Cetin et al. сообщили, что 21 из 127 исследованных образцов готовых мясных продуктов содержали незаявленные компоненты, такие как фрагменты костей и мясо механической обвалки [86]. Гистологическое исследование, проведенное в США на различных марках гамбургеров и хот-догов, показало наличие не только скелетных мышц, но и различных тканей, включая соединительную, жировую, а также выявило присутствие кровеносных сосудов, периферических нервов, растительных компонентов, хрящей и костей [87,88]. Авторы применяли как световую микроскопию с окрашиванием срезов гематоксилин-эозином, так и селективное окрашивание жира, иммуногистохимию и электронную микроскопию.

Состав сыровяленных колбас с применением окрашивания *Calleja* и программного анализа изображений исследовали в работе [89]. Помимо скелетной мускулатуры, жировой и соединительной тканей были выявлены железистая и нервная ткани. Однако авторы отметили, что результаты количественной оценки содержания тканей, полученные при автоматизированном анализе изображений, рекомендуются проверять альтернативными методами.

Применение сканирующей электронной микроскопии наряду со световой для анализа состава 105 различных мясных бутербродов («Кофта», «Хавауши» и «Шаверма») показало, что помимо скелетных мышц в составе образцов присутствовали другие типы тканей, включая соединительную, легкие, желудок жвачных, крупные кровеносные сосуды, сердечную мышечную ткань, жировую ткань, хрящи и губчатые кости, лимфатическую ткань (селезенку), а также растительные компоненты и частицы песка. При окрашивании АТФ-азой обнаружили эмбриональную ткань в мясе «Хавауши» [90].

Исследователи Abd-Elhafeez et al. использовали световую, флуоресцентную и сканирующую электронную микроскопию при исследовании 400 образцов мясных продуктов [91]. Были выявлены затылочные связки, кости, гиалиновые хрящи, фиброзные хрящи, крупные и средние артерии, сердечная мышца, сухожилия, коллагеновая соединительная ткань. Сканирующая электронная микроскопия позволила обнаружить кристаллы пищевых добавок, которые нельзя идентифицировать при световой микроскопии.

Авторы Gajdov et al. [92] с помощью световой микроскопии, применяя гистологические и гистохимические методы окрашивания совместно с гистоморфометрией, анализировали состав кулена. В изученных образцах были выявлены мышечная, жировая и соединительная ткани, кровеносные сосуды, железистый эпителий, периферические нервы, хрящевая и растительная ткани. Проведенный количественный анализ образцов показал $56 \pm 2,52\%$ мышечной ткани, $7,27 \pm 1,38\%$ соединительной ткани и $19,82 \pm 3,24\%$ жировой ткани.

Во всех исследованных образцах традиционных турецких ферментированных колбас с помощью гистологических и иммуногистохимических методов были обнаружены ткани животного происхождения, не разрешенные к применению [93]. А в образцах колбасных изделий с рынков северо-востока Ирана помимо скелетной мышечной и жировой тканей, а также растительных компонентов с помощью световой микроскопии и четырех вариантов окрашивания срезов был обнаружен широкий спектр несанкционированных компонентов, включая плотную соединительную, хрящи, кости, кожу, гладкую мускулатуру и кровеносные сосуды [94]. Результаты исследования подтвердили возможность применения трихромного окрашивания по Массону для рутинной оценки состава мясных продуктов, которое также было использовано в работах [95,96] для выявления тканей и органов животного в готовых мясных продуктах.

В аналогичном исследовании [97] мясных продуктов в дополнение к нескольким вариантам окрашивания применили стереологическую методику оценки процентного содержания идентифицируемых компонентов. Стереология представляет собой трехмерные измерения микроскопических структур, а при гистологическом исследовании используется для извлечения трехмерных данных из двумерных изображений срезов тканей [98]. Авторы отметили наличие тканей желудка, что подтверждает примесь соответствующих субпродуктов, присутствие железистой ткани, а именно слюнной железы, которая отражает использование в производстве мяса голов. Большое количество жировой ткани без соответствующей маркировки также было отнесено к мошенничеству. Стереологические результаты показали отчетливую разницу в процентном соотношении мяса по сравнению с указанным на этикетке.

Пищевые нуклеиновые кислоты все чаще признаются важными компонентами готовых продуктов, имеющими пищевую ценность. Для их выявления можно использовать окрашивание ДНК-селективными флуоресцентными красителями, что позволит визуализировать дезоксирибонуклеиновую кислоту на гистологических препаратах при микроскопировании [99]. С помощью соответствующего биоинформационного анализа полученные в ходе такого окрашивания изображения помогут проводить прямую полуколичественную оценку этих макромолекул в мясных продуктах.

При проведении исследований результаты микроскопии можно дополнить данными ДНК [100] и химического анализа [101]. Аналитический подход с использованием нескольких методов позволяет получить больше информации о содержании отдельных компонентов в составе готового мясного продукта [102]. В некоторых случаях микроскопия имеет преимущество, например, при выявлении мяса механической обвалки в составе готовых продуктов. Химический анализ основан на обнаружении кальция, содержание которого зависит от многих факторов (возраст животного, порода, тип кости), а гистологический — на идентификации характерных структур тканей, в частности костной и хрящевой [103]. Отмечено, что при проведении исследований целесообразно использовать несколько селективных методик окрашивания для достижения наилучших результатов [104].

7. Количественные исследования и применение современных компьютерных технологий в микроструктурном анализе мяса и мясных продуктов

Развитие микроскопии пищевой промышленности, в частности мяса и мясных продуктов, привело к необходимости дополнения качественных исследований количественными результатами. Вначале гистометрию применяли для описания отдельных структур образца; позднее, благодаря углубленному анализу и объективным процедурам пробоподготовки, окрашивания и оценки результатов, стал возможным количественный подсчет содержания компонента [9].

В настоящее время количественные исследования могут быть выполнены: (1) в виде приблизительного результата, выражающего частоту возникновения случая (например, присутствия определенного компонента в структуре образца) в устной форме (умеренное количество, среднее, незначительное и т. д.) или с помощью графических символов (например, +, ++, +++ и т. д.); (2) в виде точного выражения результатов, полученных с помощью гистометрии (количество частиц, площадь измеренных объектов, их линейные характеристики).

Вопрос о целесообразности использования гистологических методов для количественного определения компонентов мясных продуктов изучается в научной литературе с восьмидесятых годов прошлого века. Авторы *Koolmees et al.* обсудили преимущества и недостатки использования гистометрических методов для определения процентного содержания фиброзной ткани и коллагена в копченых колбасах [105]. Результаты, полученные с помощью гистометрических процедур, показали корреляцию от 0,88 до 0,96 с результатами химического анализа. Гистометрия позволяет получить более полное представление о составе продукта, поскольку при микроскопии каждая ткань определяется непосредственно по характерным структурным особенностям, а ее поверхность на гистологическом препарате считается пропорциональной ее объему в исходном образце. В то время как в химическом анализе компонент оценивается косвенно, например, выявление коллагена основано на оксипролине, а содержание мышечного белка определяют, вычитая количество коллагена из общего белка (рассчитанного по количеству азота) [106].

В работе [107] гистометрию применяли для анализа количества мышечного желудка и соевой муки в составе говяжьего фарша. Существенной разницы между расчетным содержанием обоих ком-

понентов и их реальным количеством не было — для соевой муки коэффициент корреляции составил 0,70–0,74. Отмечено, что количественная оценка животных компонентов зависит от вида исследуемого продукта, от степени измельчения и от термообработки [108,109].

Для проведения ручной морфометрии используют специальные измерительные сетки (например, сетка Автандилова), вставляемые в окуляр микроскопа, либо интеграционные окуляры (окуляры с измерительной сеткой), а линейные характеристики частиц определяют с помощью окулярного микрометра. В этом случае работа требует высокой квалификации специалиста и отличается значительными временными и трудовыми затратами. На современном этапе развития программного обеспечения для микроскопического оборудования используются компьютерные системы анализа изображений, позволяющие существенно сократить время исследования, одновременно расширив набор определяемых показателей.

Компьютерный анализ изображений — это простой в использовании и гибкий программный инструмент, который позволяет проводить точные измерения, а также автоматически обнаруживать объекты по форме, размеру, цвету и по другим критериям. Он дает возможность количественно описать и конкретизировать информацию, полученную при микроскопическом исследовании. Процедура заключается в создании фотографий и в их последующем анализе с помощью компьютерной программы [110]. Большинство программ предусматривает создание шаблонов с фиксированными алгоритмами обработки снимков и идентификации выбранного компонента на основе цветовых характеристик с последующим измерением необходимых геометрических параметров структур. В результате получается набор числовых данных, которые могут быть оценены с помощью статистических методов, что позволит проводить сравнение различных образцов не только на качественном, но и на количественном уровне.

Анализ изображений используется в мясной промышленности при оценке морфологических особенностей продукта: для определения содержания жира и внутримышечной соединительной ткани [67], скелетной мускулатуры [111], костных включений [9]. Он позволяет получить объективные результаты, так как предусматривает использование большого количества изображений и помогает избежать одного из главных «подводных камней» микроскопии, когда отбираются и публикуются только лучшие снимки для демонстрации результатов в качестве «репрезентативной» выборки [10]. Полученные при анализе микроскопических изображений результаты сопоставимы с данными химических методов. Количественное определение содержания соевого белка с помощью комбинации иммуногистохимических методов и компьютерного анализа изображений продемонстрировано в работе [112], а в аналогичном исследовании [113] были получены коэффициенты корреляции от 0,81 до 1,00 для разных концентраций соевого белка (0,1–3,0%).

Разработка экспертной системы контроля качества мяса и готовых мясных продуктов на микроструктурном уровне с использованием интеллектуальных технологий является актуальным направлением исследований. В настоящее время проводятся работы по автоматизации процессов визуализации и по внедрению искусственной нейронной сети в рутинную работу гистологов [114]. Разработка искусственной нейронной сети позволит ускорить процесс анализа гистологических препаратов, а также существенно повысить объективность получаемых результатов.

8. Выводы

Использование микроскопических подходов для анализа качества мяса и мясных продуктов благодаря своей простоте и наглядности широко распространено во всем мире. Наибольшее применение в исследованиях мяса нашли оптическая и сканирующая электронная микроскопия. При этом использование разных техник в одном исследовании позволяет существенно расширить набор определяемых микроструктурных показателей. При проведении анализа состава готовых мясных продуктов целесообразно применять световую микроскопию с различными вариантами гистологического и гистохимического окрашивания, позволяющими дифференцировать различные структурные компоненты образца. Использование микроскопии имеет особое преимущество перед другими методами анализа, поскольку обеспечивает прямую идентификацию компонентов и позволяет выявлять различные ткани и клетки не только животного, но и растительного происхождения. Несмотря на то, что гистологический анализ традиционно считается качественным методом, в настоящее время все более широкое применение находит морфометрическая оценка, дающая возможность получения

количественных результатов. Компьютерный анализ изображений позволяет проводить точные измерения, в том числе в автоматическом режиме, а полученные результаты по содержанию отдельных компонентов в образце сопоставимы с данными химического анализа. Таким образом, методы микроскопии имеют значительный

потенциал и являются незаменимым инструментом, позволяющим изучать структуру мяса, ее изменения в процессе технологической обработки, оценивать качество готового мясного продукта, а в сочетании с современным оборудованием и программным обеспечением дают возможность получать объективные результаты.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Keck, L.-E. Proteins and Meat. Oxford Research Encyclopedia of Food Studies. (An advance summary of a forthcoming article) <https://doi.org/10.1093/acrefore/9780197762530.013.134>
- Shahbandeh, M. (2021). Meat consumption worldwide 1990–2020, by meat type. Retrieved from <https://www.statista.com/statistics/274522/global-per-capita-consumption-of-meat/> Accessed April 24, 2024.
- Кравченко, В. (2022). Рынок мяса: развитие продолжается. *Животноводство в России*, 1, 11–13. [Kravchenko, V. (2022). Meat market: Development continues. *Animal Husbandry of Russia* 1, 11–13. (In Russian)]
- Khaled, A.Y., Parrish, C.A., Adedeji, A. (2021). Emerging nondestructive approaches for meat quality and safety evaluation — A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 3438–3463. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12781>
- Pospiech, M., Lukaskova, Z.R., Tremlova, B., Randulová, Z., Bartl, P. (2011). Microscopic methods in food analysis. *Maso International Brno*, 1, 27–34.
- Joo, S.T., Kim, G.D., Hwang, Y.H., Ryu, Y.C. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95(4), 828–836. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.044>
- Ballin, N.Z., Lametsch, R. (2008). Analytical methods for authentication of fresh vs. thawed meat — A review. *Meat Science*, 80(2), 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.12.024>
- Ballin, N.Z. (2010). Authentication of meat and meat products. *Meat Science*, 86(3), 577–587. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.001>
- Tremlová, B., Štarha, P. (2018). Histometric evaluation of meat products — determination of area and comparison of results obtained by histology and chemistry. *Czech Journal of Food Sciences*, 21(3), 101–106. <https://doi.org/10.17221/3484-CJFS>
- Kaláb, M., Allan-Wojtas, P., Miller, S.S. (1995). Microscopy and other imaging techniques in food structure analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 6(6), 177–186. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)89052-4](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89052-4)
- Holgate, J.H., Webb, J. (2003). Light microscopy and histochemical methods. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, 2nd Edition. Academic Press, 2003. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00778-1>
- Exbrayat, J.-M. (2016). Light Microscopy and Histochemical Methods. Encyclopedia of Food and Health, Academic Press, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00460-8>
- Aesch, E., Büchl-Zimmermann, S., Burmester, A., Dänhardt-Pfeiffer, S., Desel, C., Hamers, C. et al. (2010). Coloring. Chapter in a book: Romei's microscopic technique. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2010. https://doi.org/10.1007/978-3-8274-2254-5_3 (In German)
- Flint, F.O., McCrone, W.C., Windram, V.A., Threlfall, T.L., Clark, D.A. (1992). Extending your vision — why not use a microscope? *Analytical Proceedings*, 29, 106–111. <https://doi.org/10.1039/AP9922900106>
- Pospiech, M., Tremlová, B., Eliášová, M., Talandová M. (2013). The optimisation of the bone fragment content determination in histological sections. *Maso International*, 2, 155–159.
- Chilosi, M., Lestani, M., Pedron, S., Montagna, L., Benedetti, A., Pizzolo, G. et al. (1994). A rapid Immunostaining method for frozen sections. *Biotechnic and Histochemistry*, 69(4), 235–239. <https://doi.org/10.3109/10520299409106292>
- Pospiech, M., Tremlová, B., Renčová, E., Randulová Z. (2009). Immunohistochemical detection of soya protein — optimisation and verification of the method. *Czech Journal of Food Sciences*, 27, 11–19. <https://doi.org/10.17221/2848-CJFS>
- Egelandsdal, B., Kidman, S., and Hermansson, A.-M. (1991). Immunohistochemical techniques applied to raw and mildly heat treated meat systems. *Food Structure*, 10(4), Article 4.
- Lukášková, Z.R., Tremlová, B., Pospiech, M., Renčová, E., Randulová, Z., Steinhäuser, L. et al. (2011). Comparison of immunohistochemical, histochemical and immunochemical methods for the detection of wheat protein allergens in meat samples and cooked, dry, raw and fermented sausage samples. *Food Additives and Contaminants. Part A*, 28(7), 817–825. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.572292>
- Tersteeg, M.H.G., Koolmees, P.A., van Knapen, F. (2002). Immunohistochemical detection of brain tissue in heated meat products. *Meat Science*, 61(1), 67–72. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00164-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00164-4)
- Harper, B.A., Barbut, S., Lim, L.-T., Marcone, M.F. (2012). Microstructural and textural investigation of various manufactured collagen sausage casings. *Food Research International*, 49(1), 494–500. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.043>
- Barbut, S., Ioi, M., Marcone, M. (2020). Co-extrusion of collagen casings. Effects of preparation, brining, and heating on strength, rheology and microstructure. *Italian Journal of Food Science*, 32(1), 91–106. <https://doi.org/10.14674/IJFS-1557>
- Liu, Z.L., Xiong, Y.L., Chen, J. (2011). Morphological examination of oxidatively stressed pork muscle and myofibrils upon salt marination and cooking to elucidate the water-binding potential. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(24), 13026–13034. <https://doi.org/10.1021/jf2041017>
- Petrášová, M., Zichová, E., Pospiech, M., Tremlová, B. (2014). Immunofluorescent determination of wheat protein in meat products. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 8(1), 82–86. <https://doi.org/10.5219/340>
- Swartz, D.R., Greaser, M.L., Bruce Marsh, B. (1993). Structural studies of rigor bovine myofibrils using fluorescence microscopy. I. Procedures for purification and modification of bovine muscle proteins for use in fluorescence microscopy. *Meat Science*, 33(2), 139–155. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(93\)90057-O](https://doi.org/10.1016/0309-1740(93)90057-O)
- Astruc, T., Marinova, P., Labas, R., Gatellier, P., Santé-Lhoutellier, V. (2007). Detection and localization of oxidized proteins in muscle cells by fluorescence microscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), 9554–9558. <https://doi.org/10.1021/jf0717586>
- Straadt, I.K., Rasmussen, M., Andersen, H.J., Bertram, H.C. (2007). Aging-induced changes in microstructure and water distribution in fresh and cooked pork in relation to water-holding capacity and cooking loss — A combined confocal laser scanning microscopy (CLSM) and low-field nuclear magnetic resonance relaxation study. *Meat Science*, 75(4), 687–695. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.09.019>
- Nakamura, Y.-N., Iwamoto, H., Etoh, T., Shiotsuka, Y., Yamaguchi, T., Ono, Y., et al. (2007). Three-dimensional observation of connective tissue of bovine M. semitendinosus muscle under concentrate — and roughage-fed conditions by using immunohistochemical/confocal laser-scanning microscopic methods. *Journal of Food Science*, 72(6), E375–E381. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00415.x>
- Damez, J.-L., Clerjon, S. (2008). Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. *Meat Science*, 80(1), 132–149. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.039>
- Törnberg, E. (2005). Effects of heat on meat proteins — Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70(3), 493–508. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.11.021>
- Qihe, C., Guoqing, H., Yingchun, J., Hui, N. (2006). Effects of elastase from a *Bacillus* strain on the tenderization of beef meat. *Food Chemistry*, 98(4), 624–629. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.04>
- Totosaus, A., Pérez-Chabela, M.L. (2009). Textural properties and microstructure of low-fat and sodium-reduced meat batters formulated with gellan gum and dicationic salts. *LWT — Food Science and Technology*, 42(2), 563–569. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.07.016>
- García-Segovia, P., Andrés-Bello, A., Martínez-Monzó, J. (2007). Effect of cooking method on mechanical properties, color and structure of beef muscle (*M. pectoralis*). *Journal of Food Engineering*, 80(3), 813–821. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.07.010>
- Ngapo, T.M., Babare, I.H., Reynolds, J., Mawson, R.F. (1999). Freezing rate and frozen storage effects on the ultrastructure of samples of pork. *Meat Science*, 53(3), 159–168. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00051-0](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00051-0)
- Larrea, V., Perez-Munuera, I., Hernandez, I., Quiles, A., Llorca, E., Lluch, M.A. (2007). Microstructural changes in Teruel dry-cured ham during processing. *Meat Science*, 76(3), 574–582. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.013>
- Yarmand, M.S., Baumgartner, P.A. (2000). Environmental scanning electron microscopy of raw and heated veal semimembranosus muscle. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2(3), 217–214.
- James, B., Yang, S. W. (2011). Testing meat tenderness using an in situ straining stage with variable pressure scanning electron microscopy. *Procedia Food Science*, 1, 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.041>
- Gerelt, B., Ikeuchi, Y., Suzuki, A. (2000). Meat tenderization by proteolytic enzymes after osmotic dehydration. *Meat Science*, 56(3), 311–318. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00060-7)
- Gerelt, B., Ikeuchi, Y., Nishiumi, T., Suzuki, A. (2002). Meat tenderization by calcium chloride after osmotic dehydration. *Meat Science*, 60(3), 237–244. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00126-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00126-7)
- Ho, C.Y., Stromer, M.H., Robson, R.M. (1996). Effect of electrical stimulation on postmortem titin, nebulin, desmin, and troponin-T degradation and ultrastructural changes in bovine longissimus muscle. *Journal of Animal Science*, 74(7), 1563–1575. <https://doi.org/10.2527/1996.7471563x>
- Sen, A.R., Sharma, N. (2004). Effect of freezing and thawing on the histology and ultrastructure of buffalo muscle. *Asia-Australasian Journal of Animal Sciences*, 17(9), 1291–1295. <https://doi.org/10.5713/ajas.2004.1291>
- Takahashi, K. (1996). Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: The non-enzymatic mechanism of meat tenderization. *Meat Science*, 43(Suppl 1), S67–S80. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(96\)00056-3](https://doi.org/10.1016/0309-1740(96)00056-3)
- Bertram, H.C., Meyer, R.L., Wu, Z., Zhou, X., Andersen, H.J. (2008). Water distribution and microstructure in enhanced pork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 7201–7207. <https://doi.org/10.1021/jf8007426>
- McFarlane, N.J.B., Speller, R.D., Bull, C.R., Tillett, R.D. (2003). Detection of bone fragments in chicken meat using X-ray backscatter. *Biosystems Engineering*, 85(2), 185–199. [https://doi.org/10.1016/S1537-5110\(03\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S1537-5110(03)00036-9)
- Anderson, F., Cook, J., Williams, A., Gardner, G.E. (2018). Computed tomography has improved precision for prediction of intramuscular fat percent in the *M. longissimus thoracis et lumborum* in cattle compared to manual grading. *Meat Science*, 145, 425–430. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.025>
- Picouet, P.A., Teran, F., Gispert, M., Font i Furnols, M. (2010). Lean content prediction in pig carcass, loin and ham by computed tomography (CT) using a density model. *Meat Science*, 86(3), 616–622. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.039>
- Prieto, N., Navajas, E., Richardson, R., Ross, D., Hyslop, J., Simm, G. et al. (2010). Predicting beef cuts composition, fatty acids and meat quality characteristics by spiral computed tomography. *Meat Science*, 86(3), 770–779. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.020>

48. Böcker, U., Ofstad, R., Bertram, H. C., Egelanddal, B., Kohler, A. (2006). Salt-induced changes in pork myofibrillar tissue investigated by FT-IR Microspectroscopy and Light Microscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6733–6740. <https://doi.org/10.1021/jf060178q>
49. Watson, N., Povey, M., Corona, E., Benedito, J., Parker, N. (2012). Acoustic microscopy in the food industry. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 42, Article 012006. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/42/1/012006>
50. Kasprzyk, A., Bogucka, J. (2020). Meat quality of Pulawska breed pigs and image of longissimus lumborum muscle microstructure compared to commercial DanBred and Naima hybrids. *Archives Animal Breeding*, 63, 293–301. <https://doi.org/10.5194/aab-63-293-2020>
51. Kim, G.-D., Jeong, J.-Y., Jung, E.-Y., Yang, H.-S., Lim, H.-T., Joo, S.-T. (2013). The influence of fiber size distribution of type IIB on carcass traits and meat quality in pigs. *Meat Science*, 94(2), 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.02.001>
52. LeMaster, M.N., Warner, R.D., Chauhan, S.S., D'Souza, D.N., Dunshea, F.R. (2023). Meta-Regression analysis of relationships between fibre type and meat quality in beef and pork — Focus on Pork. *Foods*, 12(11), Article 2215. <https://doi.org/10.3390/foods12112215>
53. Ertbjerg, P., Puolanne, E. (2017). Muscle structure, sarcomere length and influences on meat quality: A review. *Meat Science*, 132, 139–152. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.261>
54. Semenova, A.A., Pchelkina, V.A., Nasonova, V.V., Kuznetsova, T.G., Sinichkina, A.I., Loskutov, S.I. et al. (2022). Postslaughter state of muscle tissue of pigs depending on the duration of pre-slaughter fasting. *Theory and Practice of Meat Processing*, 7(3), 156–163. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2022-7-3-156-163>
55. Semenova, A.A., Pchelkina, V.A., Nasonova, V.V., Loskutov, S.I., Bogolyubova, N.V., Nekrasov, R.V. et al. (2023). Histological characteristics and functional properties of red and white parts of m. Semitendinosus of slaughter pigs. *Theory and Practice of Meat Processing*, 8(3), 191–202. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2023-8-3-191-202>
56. Kim, G.-D., Yang, H.-S., Jeong, J.-Y. (2018). Intramuscular variations of proteome and muscle fiber type distribution in semimembranosus and semitendinosus muscles associated with pork quality. *Food Chemistry*, 244, 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.046>
57. Lefaucheur, L., Lebret, B. (2020). The rearing system modulates biochemical and histological differences in loin and ham muscles between Basque and Large White pigs. *Animal*, 14(9), 1976–1986. <https://doi.org/10.1017/S17517312000066X>
58. Fiedler, I., Nürnberg, K., Hardge, T., Nürnberg, G., Ender, K. (2003). Phenotypic variations of muscle fiber and intramuscular fat traits in Longissimus muscle of F₂ population Duroc×Berlin Miniature Pig and relationships to meat quality. *Meat Science*, 63(1), 131–139. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00075-x](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00075-x)
59. Schubert-Schoppmeyer, A., Fiedler, I., Nürnberg, G., Jonas, L., Ender, K., Maak, S. et al. (2008). Simulation of giant fibre development in biopsy samples from pig longissimus muscle. *Meat Science*, 80(4), 1297–1303. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.06.008>
60. Hwang, Y.-H., Kim, G.-D., Jeong, J.-Y., Hur, S.-J., Joo, S.-T. (2010). The relationship between muscle fiber characteristics and meat quality traits of highly marbled Hanwoo (Korean native cattle) steers. *Meat Science*, 86(2), 456–461. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.034>
61. Szulc, K., Wojtysiak, D., Migdał, Ł., Migdał, W. (2022). The muscle fibre characteristics and the meat quality of m. longissimus thoracis from polish native złotnicka spotted pigs and the crossbreed fatteners from the crossing of Duroc and polish large white boars. *Applied Sciences*, 12(6), Article 3051. <https://doi.org/10.3390/app12063051>
62. LeMaster, M.N., Ha, M., Dunshea, F.R., Chauhan, S., D'Souza, D., Warner, R.D. (2024). Impact of cooking temperature on pork longissimus, and muscle fibre type, on quality traits and protein denaturation of four pork muscles. *Meat Science*, 209, Article 109395. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109395>
63. Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L. et al. (2016). How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. *The Scientific World Journal*, Article 3182746. <https://doi.org/10.1155/2016/3182746>
64. Purslow, P.P. (2005). Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Science*, 70(3), 435–447. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.028>
65. Purslow, P.P. (2020). The structure and role of intramuscular connective tissue in muscle function. *Frontiers in Physiology*, 11, Article 495. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00495>
66. Nishimura, T., Ojima, K., Liu, A., Hattori, A., Takahashi, K. (1996). Structural changes in the intramuscular connective tissue during development of bovine semitendinosus muscle. *Tissue and Cell*, 28(5), 527–536. [https://doi.org/10.1016/S0040-8166\(96\)80055-3](https://doi.org/10.1016/S0040-8166(96)80055-3)
67. Dubost, A., Micol, D., Meunier, B., Lethias, C., Listrat, A. (2013). Relationships between structural characteristics of bovine intramuscular connective tissue assessed by image analysis and collagen and proteoglycan content. *Meat Science*, 93(3), 378–386. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.020>
68. Dubost, A., Micol, D., Picard, B., Lethias, C., Andueza, D., Bauchart, D. et al. (2013). Structural and biochemical characteristics of bovine intramuscular connective tissue and beef quality. *Meat Science*, 95(3), 555–561. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.040>
69. Shkabrou, A.U., Chernukha, I.M., Raznichenka, V.D., Lazovikava, L.U. (2023). Optical-spectroscopic analysis of colorimetric changes in meat during its storage. *Theory and Practice of Meat Processing*, 8(2), 152–161. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2023-8-2-152-161>
70. Carballo, J., Cofrades, S., Solas, M.T., Jiménez-Colmenero, F. (2000). High pressure/thermal treatment of meat batters prepared from freeze-thawed pork. *Meat Science*, 54(4), 357–364. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00110-2](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00110-2)
71. Xia, X., Kong, B., Liu, J., Diao, X., Liu, Q. (2012). Influence of different thawing methods on physicochemical changes and protein oxidation of porcine longissimus muscle. *LWT — Food Science and Technology*, 46(1), 280–286. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.09.018>
72. Oliveira, M.R., Gubert, G., Roman, S.S., Kempka, A.P. (2015). Meat quality of chicken breast subjected to different thawing methods. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 17(2), 165–171. <https://doi.org/10.1590/1516-635x1702165-172>
73. Qi, J., Li, C., Chen, Y., Gao, F., Xu, X., Zhou, G. (2012). Changes in meat quality of ovine longissimus dorsi muscle in response to repeated freeze and thaw. *Meat Science*, 92(4), 619–626. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.06.009>
74. Cheng, S., Wang, X., Li, R., Yang, H., Wang, H., Wang, H. et al. (2019). Influence of multiple freeze-thaw cycles on quality characteristics of beef semimembranosus muscle: With emphasis on water status and distribution by LF-NMR and MRI. *Meat Science*, 147, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.08.020>
75. Cao, R., Yan, L., Xiao, S., Hou, B., Zhou, X., Wang, W. et al. (2023). Effects of different low-temperature storage methods on the quality and processing characteristics of fresh beef. *Foods*, 12(4), Article 782. <https://doi.org/10.3390/foods12040782>
76. Gajewska-Szczerbal, H., Krzywdzińska-Bartkowiak, M., Korabik, T. (2007). Analysis of changes of the histological structure of ham muscles as affected by curing and thermal treatment. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(2), 227–232.
77. Larrea, V., Pérez-Munuera, I., Hernando, I., Quiles, A., Llorca, E., Lluch, M.A. (2007). Microstructural changes in Teruel dry-cured ham during processing. *Meat Science*, 76(3), 574–582. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.013>
78. Astruc, T., Labas, R., Vendevure, J.L., Martin, J.L., Taylor, R.G. (2008). Beef sausage structure affected by sodium chloride and potassium lactate. *Meat Science*, 80(4), 1092–1099. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.007>
79. Kajak-Siemaszko, K., Aubry, L., Peyrin, F., Bax, M.-L., Gatellier, P., Astruc, T. et al. (2011). Characterization of protein aggregates following a heating and freezing process. *Food Research International*, 44(10), 3160–3166. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.043>
80. Gerelt, B., Ikeuchi, Y., Suzuki, A. (2000). Meat tenderization by proteolytic enzymes after osmotic dehydration. *Meat Science*, 56(3), 311–318. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00060-7)
81. Barekat, S., Soltanizadeh, N. (2017). Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.009>
82. Latorre, R., Sadeghinezhad, J., Hajimohammadi B., Izadi F., Sheibani M. T. (2015). Application of morphological method for detection of unauthorized tissues in processed meat products. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 2, 71–74.
83. Asadi, M.R., Taghavi, M., Kalantari-Hesari, A., Ghorbanzadeh, B. (2020). The role of histological test in reducing the use of unauthorized tissues in meat products between years of 2014 and 2017. *Veterinary Researches and Biological Products*, 33(3), 31–40. <https://doi.org/10.22092/vj.2019.116357.1387> (In Persian)
84. Avinee, G., Charfi, S., Stocker, N., Gyde, E., Hebert, A., Mabile, M. P., Sevestre, H., Chatelain, D. (2010). Pathological analysis, an original way to study food-stuffs. *Annales de Pathologie*, 30(5), 344–349. <https://doi.org/10.1016/j.anpat.2010.07.016> (In French)
85. Moghtaderi, A., Raji, A., Khanzadi, S., Nabipour, A. (2019). Application of histological method for detection of unauthorized tissues in meat sausage. *Veterinary Research Forum*, 10(4), 357–360. <https://doi.org/10.30466/vrf.2018.89154.2160>
86. Cetin, O., Bingol, E. B., Civan, E., Turgay, S. I., Ergun, O. (2016). Identification of animal species and foreign tissues in ready-to-sell fresh processed meat products. *Acta Alimentaria*, 45(2), 198–205. <http://doi.org/10.1556/AAlim.2015.0008>
87. Prayson, B.E., McMahon, J.T., Prayson, R.A. (2008). Fast food hamburgers: What are we really eating? *Annals of Diagnostic Pathology*, 12(6), 406–409. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2008.06.002>
88. Prayson, B.E., McMahon, J.T., Prayson, R.A. (2008). Applying morphologic techniques to evaluate hotdogs: What is in the hotdogs we eat? *Annals of diagnostic pathology*, 12(2), 98–102. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2007.04.012>
89. Malakauskienė, S., Alionienė, I., Džiugienė, D., Babrauskienė, V., Riedel, C., Alter, T. et al. (2016). Histological analysis for quality evaluation of cured meat sausages. *Veterinarija ir Zootechnika*, 74(96), 23–26.
90. Hafeez HH, A., RS, Z., Mageed DS, A. E. (2016). Applying light, histochemical and scanning histological methods for the detection of unauthorized animal and herbal content in street meat sandwich: What is in the sandwich we eat? *Journal of Food Processing and Technology*, 7(12), Article 643. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000643>
91. Abd-Elhafeez, H.H., El-Sayed, A.M., Ahmed, A.M., Soliman, S.A., Zaki, R.S., Abd El-Mageed, D.S. (2022). Detection of food fraud of meat products from the different brands by application of histological methods. *Microscopy Research and Technique*, 85(4), 1538–1556. <https://doi.org/10.1002/jemt.24016>
92. Gajdov, V., Radovanović, A., Lužajčić-Božinovski, T., Marković, D., Stajković, S., Milošević, I. (2021). Histological and histochemical analysis of dry fermented sausage of kulen composition. *Meat Technology*, 62(2), 104–112. <https://doi.org/10.18485/meattech.2021.62.2.3>
93. Gürbüz, S., Ekebaş, G., Çakır Bayram, I., Kaplan, Y.Z. (2020). Quality Determination of Traditional Fermented Sausages by Histological and Immunohistochemical Analyses. *Akademik Gıda*, 18(3), 288–295. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.818134>
94. Moghtaderi, A., Raji, A., Khanzadi S., Nabipour A. (2019). Application of histological method for detection of unauthorized tissues in meat sausage. *Veterinary Research Forum*, 10(4), 357–360. <https://doi.org/10.30466/vrf.2018.89154.2160>
95. Rokni, N., Rezaian, M., Dayani Dardashti, A. (1997). Histological histomeltrical study of different heated sausages. *Journal of Veterinary Medicine, Tehran University*, 52(1), 95–103.
96. Reza, S., Shalazar-Jalali, A., Karimi, A., Shirvani, Z. (2018). Qualitative and quantitative analysis of unauthorized tissues in heated meat products (sausage) with histological method. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 15(78), 255–262. (In Persian)
97. Darban Maghami, N., Nabipour, A., Mohsenzadeh, M., Torabi, M. (2022). Histological and stereological approaches for detection of tissues and fraud in some meat products. *Veterinary Research Forum: An International Quarterly Journal*, 13(1), 47–53. <https://doi.org/10.30466/vrf.2020.115238.2742>

98. Gundersen, H. J. G., Bendtsen, T. F., Korbo, L., Marcussen, N., Møller, A., Nielsen, K. et al. (1988). Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS*, 96(1–6), 379–394. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1988.tb05320.x>
99. Kościelak, A., Koziara, Z., Maria, A.P., Platek, R., Bartoszek, A. (2023). Microscopic imaging to visualize the distribution of dietary nucleic acids in food products of various origins. *Foods*, 12(21), Article 3942. <https://doi.org/10.3390/foods12213942>
100. Sohrabi, H., Cannizzo, F.T., Pregel, P., Scaglione, F.E., Beltramo, C., Acutis, P. et al. (2020). Tissue and species identification in minced meat and meat products from Italian commercial markets by DNA microarray and histological approach. *Veterinaria Italiana*, 56, 77–85. <https://doi.org/10.12834/VetIt.1669.8871.3>
101. Malak, N., Ahmed, Y., Zaki, H. (2020). Using histological and chemical methods for detection of unauthorized tissues addition in emulsion type meat product. *International Journal of Veterinary Science*, 9(3), 438–442. <http://doi.org/10.37422/IJVS/033>
102. Botka-Petrak, K., Hraste, A., Lucić, H., Zeljko, G., Gomerčić, M.D., Jakšić S. et al. (2011). Histological and chemical characteristics of mechanically deboned meat of broiler chickens. *Veterinarski Arhiv*, 81(2), 273–283.
103. Tremlova, B., Starha, P. (2003). Histometric evaluation of meat products — determination of area and comparison of results obtained by histology and chemistry. *Czech Journal of Food Sciences*, 21(3), 101–106. <https://doi.org/10.17221/3484-CJFS>
104. Lakehal, S., Bennoune, O., Ammar, A. (2019). Application of histological and physico-chemical analyses for evaluation of meat product — Cachir. *Meat Technology*, 60(1), 24–29. <https://doi.org/10.18485/meattech.2019.60.1.4>
105. Koolmees, P.A., Bijker, P.G.H. (1985). Histometric and chemical methods for determining collagen in meats. *Veterinary Quarterly*, 7(2), 84–90. <https://doi.org/10.1080/01652176.1985.9693962>
106. Colgrave, M.L., Allingham, P.G., Jones, A. (2008). Hydroxyproline quantification for the estimation of collagen in tissue using multiple reaction monitoring mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1212(1–2), 150–153. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.10.011>
107. Sadeghinezhad, J., Hajimohammadi, B., Izadi, F., Yarmahmoudi, F., Latorre, R. (2015). Evaluation of the morphologic method for the detection of animal and herbal content in minced meat. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(6), 564–569. <https://doi.org/10.17221/167/2015-CJFS>
108. Sadeghinezhad, J., Morovvati, H., Yekta, Z.K., Fattahi, K., Hajimohammadi, B., Basti, A. A. et al. (2019). Evaluation of the histological method in quantitative detection of unauthorized tissues (chicken skin and bone) in reconstructed Kabab loghme and kielbasa. *The Journal of Toloeebehdasht*, 18(2), 57–69. <https://doi.org/10.18502/tbj.v18i2.1264> (In Persian)
109. Hajimohammadi, B., Fattahi, K., Yekta, Z., Sadeghinezhad, J., Morovvati, H., Akhondzadeh Basti, A.A. (2019). Experimental study of the histological method for quantitative detection of meat in kabab and cooked sausage model. *Journal of Veterinary Research*, 75(3), 366–370. <https://doi.org/10.22059/jvr.2020.239180.2681> (In Persian)
110. Пчелкина, В.А. (2016). Возможности применения системы анализа изображений при исследовании мясного сырья и продуктов. *Техника и технология пищевых производств*, 43(4), 70–75. [Pchelkina, V.A. (2016). Application of image analysis systems in the study on raw materials and meat products. *Food Processing: Techniques and Technology*, 43(4), 70–75. (In Russian)]
111. Ghisleni, G., Stella, S., Radaelli, E., Mattiello, S., Scanziani, E. (2010). Qualitative evaluation of tortellini meat filling by histology and image analysis. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 265–270. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02130.x>
112. Boutten, B. (1999). Quantification of soy proteins by association of immunohistochemistry and video image analysis. *Food and Agricultural Immunology*, 11(1), 51–59. <https://doi.org/10.1080/095401099999915>
113. Randulová, Z., Tremlová, B., Řezáčová-Lukášková, Z., Pospiech, M., Straka, I. (2011). Determination of soya protein in model meat products using image analysis. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(4), 318–321. <https://doi.org/10.17221/57/2009-CJFS>
114. Lisitsyn, A.B., Chernukha, I.M., Xiao, X., Nikitina, M.A., Pchelkina, V.A. (2023). Application of machine learning technology to management methods. *Meat Technology*, 64(1), 61–70. <https://doi.org/10.18485/meattech.2023.64.1.6>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Пчелкина Виктория Александровна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, Экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 тел.: +7-495-676-95-11 (242), E-mail: v.pchelkina@fnccps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-8923-8661	Viktoriya A. Pchelkina, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Experimental Clinic-Laboratory of Biologically Active Substances of Animal Origin, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (242) E-mail: v.pchelkina@fnccps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-8923-8661
Критерии авторства	Contribution
Автор имеет единоличное отношение к написанию рукописи и несет ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.	The author declare no conflict of interest.