МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 19496— 2013

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод гистологического исследования

Издание официальное

**Москва
Стандартинформ
2014**

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0–92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом мясной промышленности имени В. М. Горбатова Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИМП им. В. М. Горбатова Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (ТК 226)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 44 от 14 ноября 2013 г.)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 1877–ст межгосударственный стандарт ГОСТ19496—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

5 ВЗАМЕН ГОСТ 19496–93

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2014

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод гистологического исследования

Meat and meat products.
The method of histological investigation

Дата введения — 2015—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо всех видов убойных животных и птицы, мясо механической обвалки и дообвалки; мясные и мясосодержащие полуфабрикаты (кусковые, рубленые, фарши, пельмени), в том числе с использованием мяса птицы; продукты из мяса; колбасные изделия, в том числе с использованием мяса птицы; мясные и мясосодержащие консервы, в том числе с использованием мяса птицы, и устанавливает гистологический метод определения свежести и степени созревания мяса, а также структуры и состава мясных продуктов.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 9–92 Аммиак водный технический. Технические условия

ГОСТ 12.1.004–91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007–76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.018–93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 61–75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 597–73 Бумага чертежная. Технические условия

ГОСТ 1625–89 Формалин технический. Технические условия

ГОСТ 3118–77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4288–76 Изделия кулинарные и полуфабрикаты из рубленого мяса. Правила приемки и методы испытаний

ГОСТ 4329–77 Реактивы. Квасцы алюмокалиевые. Технические условия

ГОСТ 5962–2013 Спирт этиловый ректификованный. Технические условия

ГОСТ 6309–93 Нитки швейные хлопчатобумажные и синтетические. Технические условия

ГОСТ 6672–75 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 6824–96 Глицерин дистиллированный. Технические условия

ГОСТ 7269–79 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести

ГОСТ 8030–80 Иглы для шитья вручную. Технические условия

ГОСТ 8756.0–70 Продукты пищевые консервированные. Отбор проб и подготовка их к испытанию

ГОСТ 9284–75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 9412–93 Марля медицинская. Общие технические условия

ГОСТ 9792–73 Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 10752–79 Бумага фотографическая «Унибром». Технические условия

ГОСТ 11293–89 Желатин. Технические условия

ГОСТ 12026–76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 17435–72 Линейки чертежные. Технические условия

ГОСТ 19126–2007 Инструменты медицинские металлические. Общие технические условия

ГОСТ 19445.1–95 (ИСО 9177-2–89) Механические карандаши. Черные грифели. Классификация и размеры

ГОСТ 21239–93 (ИСО 7741–86) Инструменты хирургические. Ножницы. Общие требования и методы испытаний

ГОСТ 21240–89 Скальпели и ножи медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 21241–89 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 23932–90 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 24226–80 Пасты чернильные. Технические условия

ГОСТ 25336–82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26678–85 Холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда. Общие технические условия

ГОСТ 28498–90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 31654–2012 Яйца куриные пищевые. Технические условия

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **проба:** Продукт или его часть, направляемая на исследование.

3.2 **образец:** Часть пробы размером 30 × 30 × 30 мм, используемая для дальнейших исследований.

3.3 **кусочек:** Часть образца размером 15 × 15 × 4 мм, используемая для изготовления гистологического препарата.

3.4 **гистологический препарат:** Тонкий срез кусочка, помещенный на предметное стекло (под покровное стекло), окрашенный дифференцирующими красителями для выявления особенностей его структуры и доступный для исследования в проходящем свете микроскопа.

4 Сущность метода

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

5 Требования безопасности

Помещение, в котором проводят измерения, должно быть оснащено приточно-вытяжной вентиляцией.

При выполнении работ необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004, ГОСТ 12.1.018 и электробезопасности при работе с электроустановками по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт, а также требования, изложенные в технических документах на микротом и микроскоп.

6 Требования к квалификации оператора

К проведению гистологических исследований допускаются специалисты, имеющие высшее или среднее специальное медицинское, биологическое, ветеринарное или техническое образование, владеющие техникой гистологического анализа, умеющие работать с персональным компьютером и системой анализа изображения.

7 Отбор проб и подготовка образцов

7.1 Отбор проб проводят по ГОСТ 7269, ГОСТ 4288, ГОСТ 8756.0, ГОСТ 9792, мяса птицы – по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

7.2 Для гистологического исследования отбирают не менее трех туш, полутуш, четвертин или отрубов. Отбор проб осуществляет ветеринарный врач-гистолог или ветеринарный врач.

Пробы мяса вырезают из мест, наиболее быстро подвергающихся порче, не нарушая товарного вида:

- из шейной части, включая зарез;
- у мест разруба грудной кости – из глубокой грудной мышцы на уровне 4–5-го ребра;
- из мест разруба лонного сращения (в области заднего прохода для баранины);
- из других мест туши или ее частей по усмотрению ветеринарного врача.

7.3 При исследовании замороженных блоков от партии отбирают не менее трех блоков и после их размораживания от каждого из них берут три куска мяса, наиболее сомнительных по свежести.

7.4 Для гистологического исследования мясопродуктов отбирают не менее трех единиц мясных полуфабрикатов, колбасных изделий и банок консервов. Общая масса пробы должна быть не менее 400 г и не превышать 5 кг. От блоков мяса механической обвалки (дообвалки) и фарша отбирают не менее трех проб из разных мест общей массой не менее 500 г.

7.5 Пробы, взятые для исследования, сопровождают документом, в котором должны быть указаны:

- наименование продукции;
- номер и дата отбора пробы;
- наименование изготовителя и поставщика продукции;
- номер партии;
- место отбора пробы;
- цель исследования;
- фамилия лица, отбиравшего пробы.

7.6 Пробы, поступившие на исследование, предварительно проходят осмотр внешнего вида продукта и поверхности его среза.

7.7 Пробы мяса для исследования вырезают в направлении, перпендикулярном к поверхности туши, полутуши, четвертины, отруба, куска мяса вглубь мышц так, чтобы одна из сторон пробы соответствовала наружной поверхности туши или ее части, а другая – поверхности разруба, распила или разреза.

Образцы мясопродуктов для исследования вырезают как из глубоких слоев пробы, так и с захватом ее поверхности. При этом необходимо учитывать неоднородность пробы по цвету, структуре и т. д.

7.8 Образцы фарша, мяса механической обвалки (дообвалки) или другого продукта со значительной рыхлостью, пастообразного и неустойчиво удерживающего форму, отбирают в том же объеме и тотчас помещают в марлевые мешочки, изготовленные из квадратных кусочков марли. Оставшиеся свободными участки марли завязывают ниткой для уплотнения образца.

7.9 К каждому образцу или марлевому мешочку иголкой с ниткой прикрепляют этикетки из плотной бумаги (чертежной, фотобумаги и др.), на которых простым карандашом указывают дату взятия пробы и номер образца.

7.10 Пробы хранят в холодильнике при температуре от 0 °С до 5 °С до полного завершения испытаний. Образцы хранят при комнатной температуре в плотно закрытой посуде в растворе формалина с массовой долей формальдегида 10 % в течение трех лет.

Примечание — Пробы мяса от туш, полутуш, четвертин, отрубов или их частей, замороженных блоков отбирают из мест, наиболее сомнительных по свежести.

8 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы

Микротом замораживающий с набором микротомных ножей и принадлежностей для точки микротомных ножей (два камня – арканзас и аспидный, ремень для правки бритв, шлифовальная паста) или станком для затачивания микротомных ножей.

Микроскоп биологический световой в комплекте с осветителем или отдельно.

Система компьютерная анализа изображения с программным обеспечением, адаптированным для проведения морфометрического анализа.

Окуляр-микрометр, 10 мм/100 делений, диаметром 20,4 мм.

Объект-микрометр типа ОМО с ценой деления 0,01 мм.

Шкаф вытяжной.

Весы лабораторные по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт, с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,01 мг.

Холодильник по ГОСТ 26678.

Термостат, позволяющий поддерживать температуру (37 ± 1) °С.

Шкаф сушильный лабораторный электрический с терморегулятором, обеспечивающим поддержание температуры (103 ± 2) °С.

Баня комбинированная лабораторная, позволяющая поддерживать температуру 100 °С.

Ножницы медицинские по ГОСТ 21239.

Нож по ГОСТ 21240.

Термометр жидкостной стеклянный по ГОСТ 28498.

Спиртовка по ГОСТ 23932.

Секундомер механический по ГОСТ 8423.

Линейки чертежные по ГОСТ 17435.

Пинцеты медицинские по ГОСТ 21241.

Иглы препаровальные или зубоврачебные по ГОСТ 19126.

Колбы конические Кн-2-100, Кн-2-250-29/32 ТХС по ГОСТ 25336.

Стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284.

Стекла покровные для микропрепаратов по ГОСТ 6672.

Стаканы В-1-250 ТС, В-1-500 ТС по ГОСТ 25336.

Стаканчики для взвешивания (бюксы) типа СВ 34/12 по ГОСТ 25336.

Воронки В-1-56(75)-80 ХС по ГОСТ 25336.

Чашки Петри по ГОСТ 25336.

Чашки кристаллизационные цилиндрические ЧКЦ-1(2)-100 по ГОСТ 25336.

Бумага чертежная по ГОСТ 597.

Бумага фотографическая по ГОСТ 10752.

Марля медицинская ГОСТ 9412.

Иглы швейные по ГОСТ 8030.

Нитки белые хлопчатобумажные швейные по ГОСТ 6309.

Карандаш простой графитный 2М–4М по ГОСТ 19445.1.

Тушь черная по ГОСТ 24226.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Яйца куриные по ГОСТ 31654 и нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Желатин пищевой по ГОСТ 11293.

Гематоксилин.

Глицерин дистиллированный по ГОСТ 6824.

Фенол, ч. д. а.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, ч. д. а., плотностью 1,19 г/см^3, 1 %-ный раствор.

Аммиак водный технический по ГОСТ 9.

Кислота уксусная ледяная по ГОСТ 61, х. ч.

Квасцы алюмокалиевые по ГОСТ 4329.

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962.

Камфара.

Формалин технический по ГОСТ 1625.

Эозин Н водорастворимый, ч. д. а.

Эозин спирторастворимый, ч. д. а.

Судан III, IV.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими и вспомогательного оборудования с техническими характеристиками, а также материалов и реактивов по качеству не ниже указанных в настоящем стандарте.

9 Подготовка к исследованию

9.1 Приготовление растворов

9.1.1 Приготовление смеси яичного белка с глицерином и обработка предметных стекол

Свежий яичный белок (без примеси желтка) взбивают до состояния пены, выливают на большой бумажный фильтр, предварительно смоченный дистиллированной водой и вложенный в воронку диаметром 7,5 см, и фильтруют в стакан вместимостью 500 $см^3$ при комнатной температуре в течение суток. К профильтрованному белку прибавляют глицерин в соотношении 2:1, размешивают и добавляют 0,05 г камфары для предупреждения загнивания.

Полученную смесь наносят на обезжиренные предметные стекла, растирают с помощью марлевого тампона и высушивают над пламенем горелки.

Готовят перед использованием.

9.1.2 Приготовление 25 %-ного раствора желатина

В стакане вместимостью 250 $см^3$ смешивают 25 г желатина и 75 $см^3$

1 %-ного водного раствора фенола (карболовая вода), затем полученную смесь переливают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 100 $см^3$, помещают в термостат и выдерживают при температуре 37 °С до полного растворения желатина.

9.1.3 Приготовление 12,5 %-ного раствора желатина

12,5 %-ный раствор желатина получают путем разбавления в стакане вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 25336 части 25 %-ного раствора желатина 1 частью карболовой воды.

Срок хранения растворов желатина в холодильнике при температуре от 0 °С до 5 °С – 3 мес. Повторное использование растворов не допускается.

9.1.4 Приготовление раствора глицерин-желатина

В стакан вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 25336 помещают 7 г желатина и добавляют 42 $см^3$ дистиллированной воды. Затем выдерживают в термостате при температуре 37 °С до полного растворения. После растворения добавляют 50 $см^3$ глицерина и 0,05 г камфары. Полученную смесь нагревают на комбинированной бане при постоянном помешивании до получения однородного раствора, который в горячем состоянии фильтруют через марлю.

Перед использованием глицерин-желатин разогревают на комбинированной бане до плавления.

Срок хранения раствора в холодильнике при температуре от 0 °С до 5 °С – 4 мес.

9.1.5 Приготовление гематоксилина Эрлиха

Гематоксилин Эрлиха готовят в стакане вместимостью 500 $см^3$ по ГОСТ 25336, смешивая 20 $см^3$ 10 %-ного спиртового раствора гематоксилина, 80 $см^3$ 96 %-ного спирта, 100 $см^3$ глицерина, 100 $см^3$ дистиллированной воды, 10 $см^3$ ледяной уксусной кислоты и 3 г алюмокалиевых квасцов. Стакан завязывают марлей и в таком виде оставляют стоять на свету для созревания в течение 1–3 мес. Созревший раствор (цвет раствора – темно-вишневый) фильтруют и хранят при комнатной температуре в плотно закрытом сосуде (без доступа кислорода) до трех лет.

9.1.6 Приготовление 1 %-ного раствора эозина

1 г водорастворимого эозина растворяют при постоянном помешивании в 100 $см^3$ дистиллированной воды.

Одновременно готовят спиртовой раствор эозина. Для этого 1 г спирторастворимого эозина растворяют в 100 $см^3$ 70 %-ного спирта.

Срок хранения раствора в сосуде с притертой пробкой при комнатной температуре – 6 мес.

Перед использованием готовят водно-спиртовой раствор эозина, смешивая раствор водорастворимого эозина и раствор спирторастворимого эозина в соотношении 1:1.

9.1.7 Приготовление раствора формалина с массовой долей формальдегида 10 %

В стакане вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 25336 к одной части формалина с массовой долей формальдегида 40 % добавляют 3 части дистиллированной воды и перемешивают.

9.1.8 Приготовление раствора формалина с массовой долей формальдегида 20 %

В стакане вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 25336 к одной части формалина с массовой долей формальдегида 40 % добавляют одну часть дистиллированной воды и перемешивают.

Срок хранения растворов формалина в сосуде с притертой пробкой при комнатной температуре – 6 мес.

9.1.9 Приготовление 1 %-ного раствора аммиака

В стакане вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 25336 смешивают 8 $см^3$ 25 %-ного водного раствора аммиака и 192 $см^3$ дистиллированной воды.

Срок хранения раствора в сосуде с притертой пробкой при комнатной температуре – 6 мес.

9.1.10 Приготовление раствора Судана

0,3 г сухого Судана III или IV помещают в стакан объемом 150 $см^3$, растворяют в 100 $см^3$ 70 %-ного спирта и нагревают на комбинированной бане до закипания. Кипятят не более 5 мин, затем охлаждают и фильтруют. Рекомендуется выдержать раствор в течение нескольких дней при температуре 37 °С.

Срок хранения раствора в сосуде с притертой пробкой при комнатной температуре – 6 мес.

Примечание — Приготовление реактивов и красителей, не приведенных в настоящем стандарте, проводят по общепринятым методикам.

9.2 Подготовка образцов к исследованию

Отобранные образцы перед исследованием подвергают обработке в следующей последовательности: фиксация, промывка проточной водой, уплотнение образцов, изготовление срезов, окраска срезов, заключение срезов под покровное стекло.

9.2.1 Фиксация образцов

Отобранные образцы с этикетками помещают в раствор формалина с массовой долей формальдегида 10 %, взятый в десятикратном объеме к объему фиксируемых образцов, и плотно укупоривают. Время фиксации при температуре (22 ± 1) °С составляет 24 ч. Понижение температуры фиксации на 10 °С увеличивает продолжительность фиксации в два раза.

Образец, фиксированный в достаточной степени, должен быть равномерно уплотненным и иметь одинаковый вид как на внешней поверхности, так и на свежем разрезе.

Фиксированные образцы хранят при температуре (22 ± 1) °С в плотно закрытой посуде в растворе формалина с массовой долей формальдегида 10 % в течение трех лет.

9.2.2 Промывка образцов

Зафиксированные образцы помещают в колбу или стакан по ГОСТ 25336 и через вставленную стеклянную воронку промывают холодной проточной водой в течение 15 мин. Если материал достаточно плотный, срезы изготавливают на замораживающем микротоме сразу же после промывки.

9.2.3 Уплотнение образцов

При получении срезов из образцов мясопродуктов высокой рыхлости (неустойчиво удерживающие форму) используют их пропитывание в желатине. Для этого после завершения фиксации из образцов вырезают кусочки размером 15 × 15 × 4 мм и промывают водой.

Хорошо промытые кусочки пропитывают 12,5 %-ным раствором желатина в течение 6 ч, потом 25 %-ным раствором желатина в течение 12 ч в термостате при температуре 37 °С. Затем кусочки раскладывают в чашки Петри по ГОСТ 25336, заливают их свежим 25 %-ным раствором желатина и быстро охлаждают в холодильнике при температуре (5 ± 1) °С. После охлаждения кусочки уплотняют в растворе формалина с массовой долей формальдегида 20 % в течение 12 ч. Перед резкой на микротоме кусочки промывают в соответствии с 9.2.2.

Срок хранения кусочков в растворе формалина с массовой долей формальдегида 10 % при комнатной температуре – 1 год.

9.2.4 Изготовление срезов

Из фиксированных образцов из разных участков вырезают не менее трех кусочков размером около 15 × 15 × 4 мм. На замораживающем микротоме готовят срезы толщиной от 10 до 30 мкм.

С микротомного ножа с помощью тонкой кисточки срезы переносят в кристаллизационную чашку по ГОСТ 25336 или чашку Петри по ГОСТ 25336 с водопроводной водой. Под неповрежденный срез быстро подводят предметное стекло, обработанное яичным белком с глицерином. Срез извлекают из воды на середину стекла, удерживая его там препаровальной иглой. Срез должен быть неповрежденным.

9.2.5 Окрашивание срезов гематоксилин-эозином (общая окраска)

На первом этапе срезы окрашивают квасцовым гематоксилином Эрлиха в течение 3–4 мин и промывают 2 мин в воде. Для удаления избытка гематоксилина срезы опускают в 1 %-ный раствор соляной кислоты (солянокислая вода) по ГОСТ 3118 до появления розовой окраски, затем в 1 %-ный раствор аммиака до появления синего окрашивания и промывают водой в течение 2 мин. Докрашивают срезы 1 %-ным водно-спиртовым раствором эозина в течение 1 мин и ополаскивают водопроводной водой. После этого срезы заключают под покровное стекло.

Результаты окраски: в животных тканях ядра клеток – темно-синие, цитоплазма принимает красные тона различной интенсивности и оттенка. В растительных тканях выделяются клеточные оболочки, цитоплазма светлая.

9.2.6 Окрашивание срезов Суданом III, IV для выявления жира

Срезы выдерживают в 70 %-ном спирте в течение 0,5–1 мин. После этого помещают в свежепрофильтрованный раствор Судана до 25 мин. Затем ополаскивают в 70 %-ном спирте от 1 до 5 с. Окрашенные таким образом срезы докрашивают гематоксилин-эозином в соответствии с 9.2.5.

Результаты окраски: жир – оранжево-красного цвета, ядра клеток – синие, цитоплазма – разные тона красного цвета.

9.2.7 Заключение срезов под покровное стекло

Для заключения окрашенных срезов под покровное стекло применяют глицерин-желатин, при этом обезвоживания срезов не требуется.

10 Проведение исследования и обработка результатов

10.1 Приготовленные гистологические препараты рассматривают под любым световым микроскопом проходящего света. Сначала используют обзорный план-объектив – 10-кратный или меньше, а затем объективы с увеличением – до 40-кратного. Окуляры применяют с 10- или 16-кратным увеличением. Для получения достоверных результатов необходимо исследовать не менее двух срезов с каждого из трех кусочков, отобранных от каждого образца.

10.2 Степень свежести мяса определяют по показателям, указанным в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Микроструктурная характеристика мяса			
	свежего	свежего, не подлежащего длительному хранению	сомнительной свежести	несвежего
Состояние структуры ядер мышечных волокон	Структура четко выражена, окраска хорошая, равномерная	Структура неразличима. Изменение ядер может распространиться на глубину до 3 мм от поверхности мяса, окраска хорошая равномерная	Ядра в состоянии распада-растворения, их окраска неравномерная, слабая, теневидная	Почти полное исчезновение ядер, окраска отсутствует или едва различима
Состояние поперечной и продольной исчерченности мышечных волокон	Исчерченность мышечных волокон ясно и четко выражена, окраска хорошая, равномерная	Исчерченность мышечных волокон ясно и четко выражена, окраска хорошая, равномерная	Исчерченность мышечных волокон слабо различима. Изменение мышечных волокон распространяется на глубину до 15 мм от поверхности мяса. Окраска ослаблена и неравномерная. Ослизненные участки поверхности мяса принимают темно-фиолетовую окраску (базофильную)	Полное исчезновение исчерченности мышечных волокон. Изменение мышечных волокон распространяется на глубину до 30 мм и больше от поверхности мяса. Окраска отсутствует или едва различима. Поверхность мяса принимает темно-фиолетовую окраску (базофильную)

Окончание таблицы 1

Наименование показателя	Микроструктурная характеристика мяса			
	свежего	свежего, не подлежащего длительному хранению	сомнительной свежести	несвежего
Локализация микрофлоры и границы ее распространения	На поверхности разруба и в рыхлой соединительной ткани поверхностных фасций могут встречаться отдельные очажки кокковой микрофлоры	На поверхности разруба и в рыхлой соединительной ткани поверхностных фасций в перимизии и эндомизии наличие кокковой и палочковидной микрофлоры в виде множественных очажков и диффузных наложений, распространившихся на глубину до 3 мм от поверхности мяса	На поверхности разруба и в рыхлой соединительной ткани поверхностных фасций в перимизии и эндомизии наличие кокковой и палочковидной микрофлоры в виде множественных очажков и диффузных наложений, распространившихся на глубину до 5 мм от поверхности мяса	На всей поверхности разруба и в рыхлой соединительной ткани поверхностных фасций в перимизии и эндомизии диффузные наложения преимущественно палочковидной микрофлоры, распространившейся на глубину до 10 мм от поверхности мяса

10.3 Степень (этапы) созревания мяса определяют по:

- интенсивности автолитического распада мышечных волокон на фрагменты;
- разволокнению фрагментов на миофибриллы и их распаду на саркомеры в виде зернистой массы, заключенной в эндомизий;
- сохранению восприятия окраски составными элементами волокна.

Микроструктурные характеристики мяса в зависимости от степени созревания приведены в таблице 2.

Таблица 2

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

10.4 При проведении идентификации состава анализируемого продукта следует придерживаться следующей последовательности.

В первую очередь оценивают количество и состояние скелетной мускулатуры, жировой ткани и элементов соединительной ткани. При этом необходимо учитывать как особенности микроструктуры этих тканевых элементов, так и степень их измельчения и равномерность распределения по всей массе образца.

На следующем этапе устанавливают наличие в анализируемой пробе других мышечных тканей – сердечной и гладкой. Скелетная мускулатура млекопитающих и птицы дифференцируется на основании локализации клеточных ядер (в мышечных волокнах млекопитающих ядра имеют периферическое расположение, в мышечных волокнах птицы ядра имеют не только периферическое, но и центральное расположение).

В дальнейшем устанавливают присутствие покровных эпителиальных структур, а также плотной соединительной ткани и субпродуктов. На отдельных срезах, сразу же после окрашивания прово-

дится обнаружение присутствия крахмала. Выявление и идентификацию растительных компонентов проводят на тех же срезах, что и для анализа животных компонентов.

10.5 Одновременно с качественной оценкой состава образца может возникнуть необходимость установить количество того или иного компонента. Для этого следует использовать либо окуляр-микрометр, либо прилагаемые к световым микроскопам специальные окулярные вставки с нанесенной на них решеткой. В соответствии с принципами полуколичественной оценки применяют следующие оценочные классы встречаемости:

- преимущественно – когда данный компонент является преобладающим во всем объеме исследуемой пробы;
- в достаточном количестве – когда данный компонент составляет в образце больше половины его объема;
- в среднем количестве – когда данный компонент занимает в анализируемом образце около половины объема;
- в умеренном количестве – когда данный компонент составляет в образце меньше половины его объема;
- в незначительном количестве – когда данный компонент равномерно распределен хотя бы в незначительном количестве в каждом срезе образца;
- в отдельных случаях – если данный компонент выявляется в единичных полях зрения или срезах образца.

10.6 На основании данных, полученных в результате гистологического анализа, выявляют входящие с состав компоненты и проводят выяснение соответствия реального состава образца указанному в действующей документации или на этикетке.

10.7 После проведения исследования препараты с окраской срезов гематоксилином Эрлиха и эозином хранят при комнатной температуре в течение трех лет.

УДК 637.5.04/.07:611.018:006.032 МКС 67.120.10 Н19

Ключевые слова: мясо, мясные продукты, гистологический метод, определение свежести мяса, идентификация состава, полуколичественный анализ

Подписано в печать 01.04.2014. Формат 60x84 1/8.

Усл. печ. л. 1,40. Тираж 31 экз. Зак. 1477

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru