

METODY HISTOMETRYCZNE W OCENIE MIĘSA I PRZETWORÓW MIĘSNYCH

Joanna Bogucka¹, Dominika Roszko-Permus²

¹Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy,
Katedra Biotechnologii i Histologii Zwierząt, ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz,
²Niezależne Laboratorium Badawcze „Stanlab”, 89-100 Nakło nad Notecią, ul. Bydgoska 1a
bogucka@utp.edu.pl,

Streszczenie

Jedną z metod oceny mięsa i jego przetworów jest ocena histologiczna. Metoda ta umożliwia bezpośrednią identyfikację poszczególnych tkanek w przetworach mięsnych, stopień modyfikacji włókien mięśniowych oraz daje możliwość rozpoznania obecności części chrzęstnych i kostnych w produkcie finalnym. Barwienie histologiczne w celu rozpoznania części kostnych ma szczególne znaczenie w przypadku produktów mięsnych z dodatkiem MOM (mięsa odkostnianego mechanicznie), przede wszystkim w przemyśle drobiarskim. Podstawą badania histologicznego jest badanie jakościowe, czyli identyfikacja poszczególnych tkanek w obrazie mikroskopowym. Jednakże rozwój przetwórstwa mięsnego i wykorzystanie do oceny komputerowego systemu analizy obrazu mikroskopowego doprowadziły do wypracowania metody oceny poszczególnych składników w produkcie na podstawie badania ilościowego (procentowa zawartość poszczególnych tkanek). Dało to początek ocenie histometrycznej mięsa i przetworów mięsnych. Ocena histometryczna, obok analizy chemicznej, dostarcza cennych informacji na temat składu i jakości produktu.

Słowa kluczowe: ocena histometryczna, produkty mięsne, mięso odkostnione mechanicznie

HISTOMETRIC METHODS IN EVALUATION OF MEAT AND MEAT PRODUCTS

Summary

One of the methods of evaluation of meat and meat products is a histological examination. This method enables the direct identification of individual components in meat products, allows to define degree of modification of the muscle fibers and gives the possibility to recognize the presence of cartilage and bone in the final product. Histological staining to identify the bone has special significance in the case of meat products containing MSM (mechanically separated meat), especially in the poultry industry. Based on histological examination is the qualitative investigation i.e. identification of the different tissues in the

microscope image. The development of meat-processing and use of computer analysis system to evaluate the microscopic image has led to the development of methods for the evaluation of individual ingredients in the product on the basis of a quantitative study (percentage of each tissues). This gave the beginning the histometric evaluation of meat and meat products. Histometric examination in addition to the chemical analysis gives valuable information about the composition and quality of the final product.

Key words: histometric evaluation, meat products, mechanically separated meat

WSTĘP

Ocena histologiczna jest jedną z najstarszych metod używanych w analizie produktów spożywczych, pozwalającą na wykrycie różnego rodzaju zanieczyszczeń, a także celowych zafałszowań. Metoda mikroskopowej oceny mięsa i jego przetworów umożliwia bezpośrednią identyfikację poszczególnych tkanek w przetworach mięsnych, stopień modyfikacji włókien mięśniowych oraz daje możliwość rozpoznania obecności części chrzęstnych i kostnych, kolagenu itp. w produkcie finalnym. Podstawą badania histologicznego jest analiza jakościowa, czyli identyfikacja poszczególnych tkanek w obrazie mikroskopowym. Jednakże rozwój przetwórstwa mięsnego i wykorzystanie do oceny komputerowego systemu analizy obrazu mikroskopowego doprowadziły do wypracowania metody oceny poszczególnych składników w produkcie na podstawie badania ilościowego (procentowa zawartość poszczególnych tkanek). Dało to początek ocenie histometrycznej mięsa i przetworów mięsnych. Ocena histometryczna, obok analizy chemicznej, dostarcza cennych informacji na temat składu i jakości produktu [Prändl 1961; Tremlová, Štarha 2003]. Według Górskiej-Warsewicz (2006) rynek mięsa i jego przetworów jest przykładem rynku zmieniającego się pod względem budowy marek i wzrostu znaczenia działań marketingowych. Wzrost znaczenia marki należy wiązać jednak z jej funkcją gwarancyjną w zakresie jakości, bezpieczeństwa i właściwego składu produktów. Ważnym surowcem stosowanym w wyrobieniu produktów i przetworów mięsnych jest MOM, czyli mięso odkostnione mechanicznie. Jest to produkt uzyskiwany poprzez usunięcie mięsa z tkanek przylegających do kości po ich oddzieleniu od tuszy lub z tuszek drobiowych z zastosowaniem metod mechanicznych, w wyniku czego normalna struktura tkanki mięśniowej zostaje w przeważającym stopniu utracona lub zmieniona w taki sposób, że nie jest ono porównywalne ze zwykłym mięsem. Ocena histologiczna przydatna jest także do wykrywania fragmentów kostnych i chrząstek w przetworach, do produkcji których używa się mięsa odkostnionego mechanicznie

[Branscheid 2007; Branscheid i in. 2009; Koolmees i in. 1986], szczególnie w przypadku tzw. MDOM, czyli mięsa drobiowego odkostnionego mechanicznie [Hildebrandt i in. 2006]. Tremlová i in. (2006) są zdania, że MOM jest surowcem nieznormalizowanym i mimo wyższego poziomu części kostnych ma cechy strukturalne mięsa mielonego. Z tego powodu stosunkowo łatwo włączona bywa do technologii przetwórstwa mięsnego. Należy podkreślić również, że metody mikroskopowe, oprócz wykrywania podstawowych tkanek, dają także możliwość wykrywania obecności różnych dodatków stosowanych w przetwórstwie mięsa – tzw. wypełniaczy, np. mąki, skrobi, glutenu, białka pochodzenia roślinnego [Twyman 2005].

Celem pracy jest prezentacja metod oceny jakości mięsa i produktów mięsnych przy użyciu metod histometrycznych.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiał badawczy stanowiło 45 różnych produktów mięsnych (tj. mięso mielone wieprzowe i drobiowe, mięso gulaszowe, kiełbasa wędzona, filet z kurcząt smażony, szynka gotowana, salami, kabanosy, parówki, paszтет, mortadela). Próbkę do badań histologicznych pobierano z różnych części produktu. Drobną rozdrobnioną produkty parzone o zwartej konsystencji, takie jak parówka, mortadela itp., przygotowano przez wycięcie z produktu wymaganej ilości bloczków (o długościach boków 1,5 x 3,5 cm) i umieszczenie ich w 10% roztworze formaldehydu w celu utrwalenia materiału. Pozostałe produkty przygotowano poprzez homogenizację lub rozdrobnienie na cząstki o wymiarach ok. 5 x 7 mm. Z rozdrobnionego materiału, przy użyciu substancji wiążącej (żelatyna), formowano bloczki lub kulki. Rozdrobnionym lub zhomogenizowanym materiałem nadziewano odpowiednie formy (o pojemności 10 ml), dodawano ciepłej żelatyny i całą zawartość dokładnie mieszano bagietką. Po zastygnięciu uformowane bloczki przekładano do słoiczek i zalewano 10% roztworem formaldehydu (na ok. 10 godzin). Następnie utrwalony materiał wkładano na 10 minut do wody. Przy użyciu kriostatu firmy Leica z zamrożonego materiału wykonano odpowiednią ilość skrawków histologicznych (o grubości 12 µm) z różnych płaszczyzn bloczków. Uzyskane skrawki umieszczano na powierzchni szkiełek podstawowych. Powierzchnię szkiełek, dla zwiększenia przyczepności, pokrywano cienką warstwą gliceryny białkowej. Do każdego z oznaczeń wykonywano 6 preparatów mikroskopowych o łącznej powierzchni min. 24 cm². Tak przygotowane preparaty poddawano następującym technikom barwienia według metodyki stosowanej w Niezależnym Laboratorium Badawczym „Stanlab”: – barwienie Calleja-Lugol – w celu rozpoznania poszczególnych tkanek,

– barwienie Alizarin S – w celu rozpoznania części kostnych.

Następnie wybarwione preparaty histologiczne poddawano ocenie mikroskopowej.

W celu określenia udziału poszczególnych tkanek w produkcie mięsnym (barwienie Calleja-Lugol) wykorzystano program komputerowy Multiscan 14.02 [*Computer Scanning Systems II*, Warszawa]. Procentowy udział poszczególnych tkanek (ocena histometryczna) w produkcie oszacowano na podstawie następujących klas częstotliwości występowania [Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG 1989]:

- przeważająca ilość (>50%),
- średnia ilość (36–50%),
- umiarkowana ilość (21–35%),
- mała ilość (5–20%),
- sporadycznie (<5%),
- ilości śladowe (<1%).

W celu określenia ilości części kostnych w produktach mięsnych (barwienie Alizarin S) stosowano odpowiedni wzór:

$$\frac{\text{suma cząstek mineralnych kości}}{\text{łącna powierzchnia skrawków danej}} = \text{liczba cząstek mineralnych kości/cm}^2$$

Sposób obliczania powierzchni skrawka zależał od sposobu wykonania preparatu. Jeżeli preparat wykonany był poprzez bezpośrednie wycięcie z próbki bloczków, bez używania substancji wiążącej, to powierzchnia przekroju poprzecznego bloczka równała się powierzchni skrawka. Jeżeli preparat wykonany był z użyciem substancji wiążącej (żelatyna), to powierzchnię samego skrawka mięsnego bez substancji wiążącej obliczano ze wzoru: $2/3 \times$ powierzchnia bloczka. Interpretacja wyników dla określenia ilości części kostnych/cm² przedstawia się następująco [Schulte-Sutrum M., Horn D. 2003]:

- <0,3 – jest to naturalna zawartość części kostnych w produktach mięsnych, będąca wynikiem normalnych procesów obróbki mięsa,
- 0,3–1,5 – zawartość części kostnych graniczna,
- >1,5 – zawartość części kostnych wskazująca na to, że próbkę stanowi mięso odkostnione mechanicznie bądź produkt został wykonany przy użyciu mięsa odkostnionego mechanicznie.

WYNIKI I DYSKUSJA

Zebrane w tabeli 1 wyniki oceny histometrycznej wskazują na to, że badane produkty mięsne nie odbiegały swoim składem tkankowym od ogólnie przyjętych norm. Podobną analizę, ale przy zastosowaniu innych barwień histologicznych, przeprowadzili Prayson i in. [2008], badając jakość hamburgerów.

Tabela 1. Ocena histometryczna (skład tkankowy) badanych produktów mięsnych
Histometric evaluation (tissue composition) of examined meat products

Produkt	Wynik oceny					
	przeważająca ilość (>50%)	średnia ilość (36-50%)	umiarkowana ilość (21-35%)	mała ilość (5-20%)	sporadycznie (<5%)	ilości śladowe (<1%)
mięso mielone wieprzowe 1	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	-	przyprawy	-	-
mięso mielone wieprzowe 2	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	-	-	przyprawy	-
mięso mielone wieprzowe 3	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	-	-	przyprawy	-
mięso gulaszowe	mięsień szkieletowy z zachowaną strukturą anatomiczną wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami	struktura farszu mięsnego	tkanka tłuszczowa	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	włókna elastyczne tkanki łącznej	-
kielbasa wędzona	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa	-	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	-	przyprawy	-
filet z kurcząt (smażony)	mięsień szkieletowy z zachowaną strukturą anatomiczną wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, skrobia	-	-	skoagulowane białko mięśniowe	tkanka łączna (włókna kolagenowe), tkanka tłuszczowa, skóra drobiowa	-

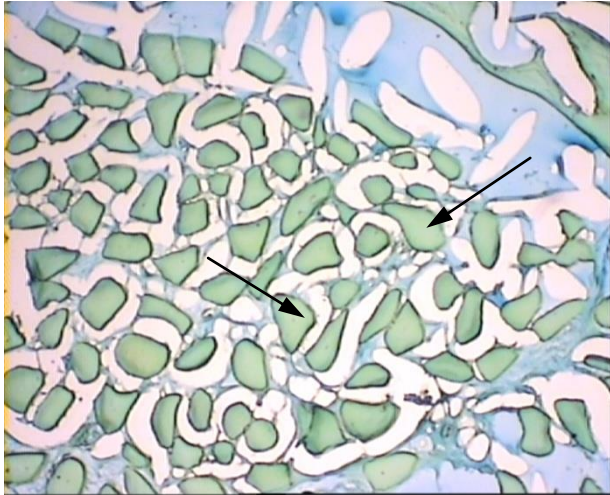
szynka gotowana 1	mięsień szkieletowy z zachowaną strukturą anatomiczną wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami	-	skoagulowane białko mięśniowe	tkanka łączna (włókna kolagenowe), tkanka tłuszczowa	-	-
szynka gotowana 2	mięsień szkieletowy z zachowaną strukturą anatomiczną wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami	-	skoagulowane białko mięśniowe	tkanka łączna (włókna kolagenowe), tkanka tłuszczowa	-	-
szynka gotowana 3	mięsień szkieletowy z zachowaną strukturą anatomiczną wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, skoagulowane białko mięśniowe	-	-	-	tkanka łączna (włókna kolagenowe), tkanka tłuszczowa	-
szynka gotowana 4	mięsień szkieletowy z zachowaną strukturą anatomiczną wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, skoagulowane białko mięśniowe	-	-	-	-	tkanka łączna (włókna kolagenowe), tkanka tłuszczowa
salami	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa	-	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	przyprawy	-	-
kabanos	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa	-	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	przyprawy	-	tkanka gruczołowa
parówka 1	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa, struktura farszu mięsnego	-	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	-	-	-

parówka 2	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa, struktura farszu mięsnego	-	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	przyprawy	-	-
parówka 3	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa, struktura farszu mięsnego	-	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	-	tkanka gruczołowa	-
parówka 4	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa, struktura farszu mięsnego	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	-	-	tkanka gruczołowa, przyprawy	-
parówka 5	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa, struktura farszu mięsnego	-	tkanka łączna (włókna kolagenowe), skóra drobiowa	przyprawy	tkanka chrzęstna	-
parówka 6	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa, struktura farszu mięsnego	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	-	-	-	tkanka gruczołowa, przyprawy
pasztet 1	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa, tkanka wątrobowa	-	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	skóra drobiowa	przyprawy	-
pasztet 2	mięsień szkieletowy wraz z naczyniami krwionośnymi i nerwami, tkanka tłuszczowa, tkanka wątrobowa	-	tkanka łączna (włókna kolagenowe)	-	-	przyprawy

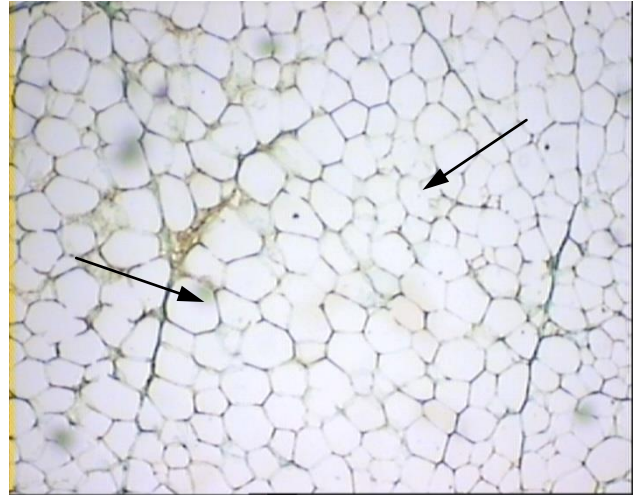
Dla pełnego zobrazowania analizowanego materiału na fotografiach mikroskopowych (1–8) przedstawiono przykłady zidentyfikowanych różnych typów tkanek w mięsie i jego przetworach.

3. Fotografie mikroskopowe:

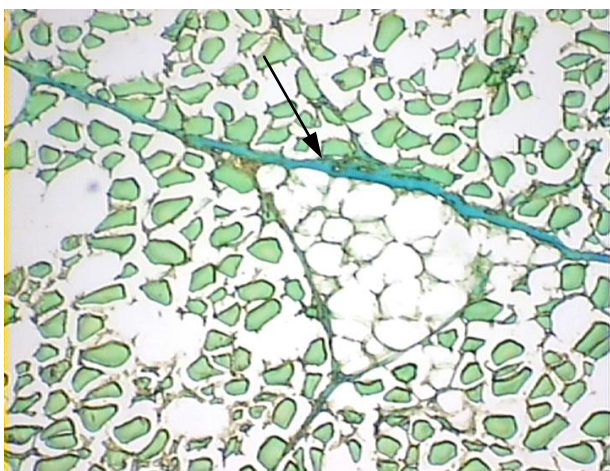
Microscopic images:



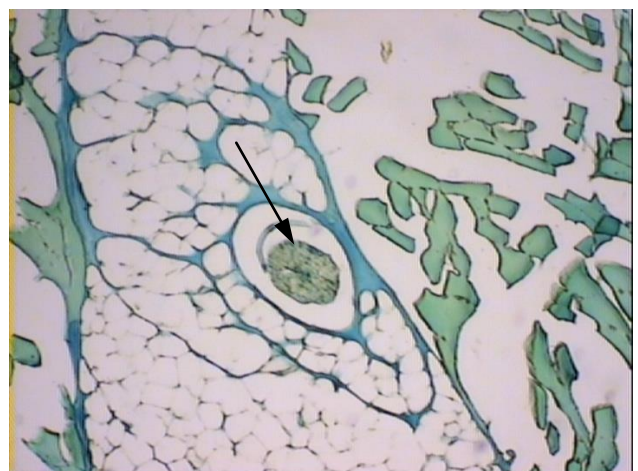
1. Barwienie Calleja-Lugol. Pow. 3,2 x 10.
Tkanka mięśniowa – przekrój poprzeczny
włókien (strzałki)
Calleja-Lugol staining. Mag. 3,2 x 10.
Muscle tissue – cross section of muscle fibres
(arrows)



2. Barwienie Calleja-Lugol. Pow. 3,2 x 10.
Tkanka tłuszczowa – komórki tłuszczowe
(strzałki)
Calleja-Lugol staining. Mag. 3,2 x 10.
Fatty tissue – adipocytes (arrows)



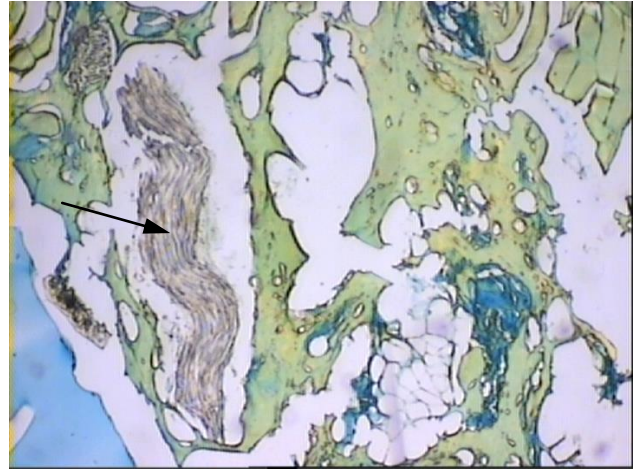
3. Barwienie Calleja-Lugol. Pow. 3,2 x 10.
Tkanka łączna kolagenowa (strzałka)
Calleja-Lugol staining. Mag. 3,2 x 10.
Collagenous connective tissue (arrow)



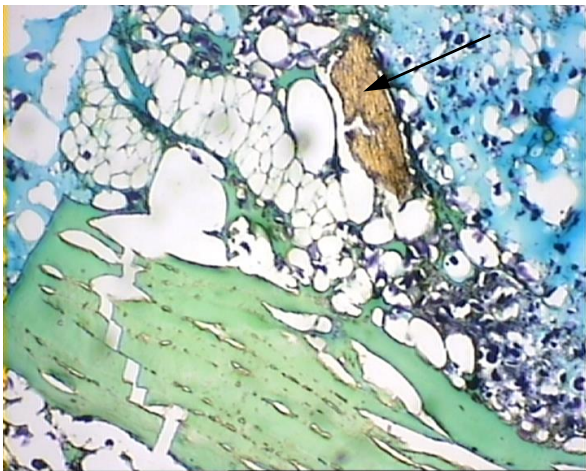
4. Barwienie Calleja-Lugol. Pow. 3,2 x 10.
Nerw (strzałka)
Calleja-Lugol staining. Mag. 3,2 x 10.
Nerve (arrow)



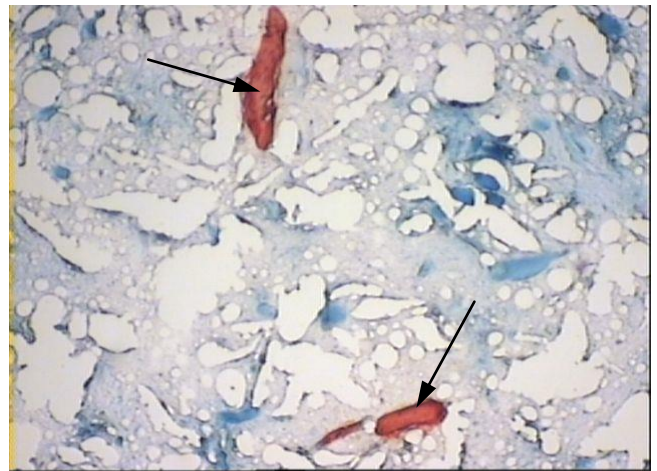
5. Barwienie Calleja-Lugol. Pow. 3,2 x 10.
Tkanka chrzęstna (strzałka)
*Calleja-Lugol staining. Mag. 3,2 x 10.
Cartilage tissue (arrow)*



6. Barwienie Calleja-Lugol. Pow. 3,2 x 10.
Tkanka łączna elastyczna (strzałka)
*Calleja-Lugol staining. Mag. 3,2 x 10. Elastic
connective tissue (arrow)*



7. Barwienie Calleja-Lugol. Pow. 3,2 x 10.
Przyprawa (strzałka)
*Calleja-Lugol staining. Mag. 3,2 x 10. Spice
(arrow)*



8. Barwienie Alizarin S. Pow. 3,2 x 10. Części
kostne (strzałki)
*Alizaris S staining. Mag. 3,2 x 10. Bone
particles (arrows)*

W tabeli 2 zamieszczono wyniki oceny zawartości fragmentów kostnych w badanych produktach.

Tabela 2. Zawartość części kostnych w badanych produktach mięsnych
Composition of bone parts in the examined meat products

Produkt	Ilość części kostnych/cm²
mięso mielone wieprzowe 1	3,6
mięso mielone wieprzowe 2	5,8
mięso mielone wieprzowe 3	< 0,3 (1 część kostna/6 preparatów)
mięso mielone wieprzowe 4	< 0,3 (3 części kostne/6 preparatów)
mięso mielone wieprzowe 5	3,0
mięso mielone wieprzowe 6	< 0,3 (1 część kostna/6 preparatów)
mięso mielone wieprzowe 7	0
mięso mielone wieprzowe 8	0
mięso mielone drobiowe	< 0,3 (2 części kostne/6 preparatów)
kabanos	< 0,3 (1 część kostna/6 preparatów)
salami	< 0,3 (3 części kostne/6 preparatów)
mortadela 1	< 0,3 (7 części kostnych/6 preparatów)
mortadela 2	< 0,3 (3 części kostne/6 preparatów)
mortadela 3	< 0,3 (7 części kostnych/6 preparatów)
mortadela 4	< 0,3 (2 części kostne/6 preparatów)
mortadela 5	< 0,3 (1 część kostna/6 preparatów)
mortadela 6	0,9
mortadela 7	0,8
parówka 1	0,5
parówka 2	0,5
parówka 3	< 0,3 (4 części kostne/6 preparatów)
parówka 4	0,8
parówka 5	0,4
parówka 6	< 0,3 (3 części kostne/6 preparatów)
parówka 7	1,0

Na 25 przeanalizowanych próbek, 3 wskazują na to, że próbkę stanowi mięso odkostnione mechanicznie, bądź też produkt został wykonany przy użyciu MOM. Ocena histologiczna produktów mięsnych jest metodą obiektywną, która daje porównywalne wyniki

z testami chemicznymi, o czym świadczą wysokie współczynniki korelacji (od 0,67 do 0,88 dla określenia zawartości kolagenu i od 0,72 do 0,78 dla określenia zawartości tkanki kostnej) [Komrska i in. 2011; Koolmees, Bijker 1985; Tremlová, Štarha 2003; Tremlová i in. 2006]. Podobnie Hildebrandt i Hirst [1985] porównywali dwie metody: histologiczną i chemiczną w ocenie produktów mięsnych. Doszli oni do wniosku, że analiza obrazu mikroskopowego jest alternatywą dla analiz chemicznych (współczynnik korelacji ponad 0,9). Badanie histologiczne jest więc metodą wspomagającą oraz weryfikującą inne sposoby oceny. Daje możliwość uzyskania bardziej pełnego obrazu składu i jakości mięsa i jego przetworów [Koolmees, Bijker 1985]. Badania Botki-Petrak i in. [2011] wykazały, że analiza histologiczna w połączeniu z chemiczną zapewnia niezawodny wgląd w skład i jakość produktów mięsnych. Takie analizy mogą stworzyć nową koncepcję dla branży mięsnej w zakresie wytwarzania i rozwoju nowych produktów, szczególnie z wykorzystaniem MOM. Zdaniem Damez i Clerjon [2008] przemysł mięsny potrzebuje wiarygodnych informacji o jakości mięsa, jakie może dać analiza histometryczna, w celu zapewnienia wysokiego gatunku produktów i przetworów mięsnych dla konsumentów.

WNIOSKI

1. Analizowane produkty mięsne swoim składem tkankowym nie odbiegały od ogólnie przyjętych norm.
2. Spośród 25 próbek różnych produktów mięsnych, 3 wskazują na to, że próbkę stanowi mięso odkostnione mechanicznie, bądź też produkt został wykonany przy użyciu MOM.
3. Histologiczna ocena mięsa i przetworów mięsnych jest obiektywną metodą wspomagającą i weryfikującą dotychczasowe sposoby oceny. Daje pełny obraz składu i jakości finalnego produktu.

PIŚMIENNICTWO

1. Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG (1989). ASU L06.00-13 1989-12 Untersuchung von Lebensmitteln. Bestimmung der geweblichen Zusammensetzung von Fleisch, Fleischerzeugnissen und Wurstwaren. ASU L07.00-18 1989-12 Untersuchung von Lebensmitteln. Bestimmung der geweblichen Zusammensetzung von Fleischerzeugnissen. ASU L08.00-20 1989-12 Untersuchung von Lebensmitteln. Bestimmung der geweblichen Zusammensetzung von Wurstwaren.

2. Botka-Petrak, K., Hraste A., Lucić H., Gottstein Ž., Duras M., Gomerčić S., Jakšić, Petrak T. (2011). Histological and chemical characteristics of mechanically deboned meat of broiler chickens. *Vet. Arhiv*, 81, 273-283
3. Branscheid W. (2007). Histologische Untersuchung von Fleischerzeugnissen mit Gemengecharakter. W: Branscheid W., Honikel K.O., v. Lengerken G., Troeger K., *Qualität von Fleisch und Fleischwaren*, 2, 907-916. Frankfurt: Deutscher Fachverlag
4. Branscheid W., Judas M., Höreth R. (2009). The morphological detection of bone and cartilage particles in mechanically separated meat. *Meat Sci.*, 81, 46-50
5. Damez J.L., Clerjon S. (2008). Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. *Meat Sci.*, 80, 132-149
6. Górska-Warsewicz H. (2006). Konsument na rynku mięsa i jego przetworów. *Przem. Spoż.*, 3, 41
7. Hildebrandt G., Hirst L. (1985). Determination of the collagen, elastin and bone content in meat products using television image analyse. *J. Food Sci.*, 50, 568-570
8. Hildebrandt G., Raucher K., Stenzel W.R. (2006). Analysenmerkmale zum Nachweis von Separatorenfleisch 2 Mikroskopische Untersuchung. *Fleischwirtschaft*, 86(6), 111-114
9. Komrska P., Tremlová B., Štarha P., Simeonovova J., Randulova Z. (2011). A comparison of histological and chemical analysis in mechanically separated meat. *Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun.*, LIX, 1, 145-152
10. Koolmees P.A., Bijker P. (1985). Histometric and chemical methods for determining collagen in meat. *Vet. Quart.*, 7, 84-90
11. Koolmees P.A., Bijker P.G., van Logtestijn J.G., Tuinstra-Melgers J. (1986). Histometrical and chemical analysis of mechanically deboned pork, poultry and veal. *J. Anim. Sci.*, 63, 1830-1837
12. Prändl O. (1961). Die histologische Analyse von Wurstwaren. Grundlagen für die quantitative Auswertung histologischer Präparate. München: Gerhard Röttger Verlag
13. Prayson B., McMahon J.T., Prayson R.A. (2008). Fast food hamburgers: what are we really eating? *Ann. Diagn. Path.*, 12, 406-409
14. Schulte-Sutrum M., Horn D. (2003). Separatorenfleisch: Eignungsprüfung. *Fleischwirtschaft*, 83, 1, 78-81
15. Tremlová B., Štarha P. (2003). Histometric evaluation of meat products – determination of area and comparison of results obtained by histology and chemistry. *Czech J. Food Sci.*, 21, 3, 101-106

16. Tremlová B., Štarha P., Pospiech M., Buchtová H., Randulová Z. (2006). Histological analysis of different kinds of mechanically recovered meat. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 57, Heft 5/6, 85-91
17. Twyman R.M. (2005). *Microscopy applications: Food*. W: Worsfold P., Townshend A., Poole C. (red.) *Encyclopedia of Analytical Science* (2nd edition), Volume 6. London: UK Elsevier Science, 50-57