

УДК: 639.2.067.597.555.5.611.018.6

Посмертные изменения мышечной ткани минтая*Е. Н. Харенко, К. А. Жукова*

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГБНУ «ВНИРО»), г. Москва
E-mail: harenko@vniro.ru

Исследования посмертных изменений мышечной ткани минтая различными методами выявили потерю массы рыбы в среднем на 1,0%. При этом максимальные потери массы рыбы установлены при отделении слизи и максимального окоченения, которые составляли до 1,6%. Динамика угла прогиба минтая на различных стадиях посмертного окоченения изменялась по классической схеме от 90° у свежей рыбы до появления первых признаков окоченения, 30° — в период окоченения и 45° — при расслаблении мышц вследствие размягчения рыбы после окоченения, не достигая первоначальной величины. Гистологический анализ показал отслоение соединительнотканной оболочки от мышечного волокна, сжатие миоцитов и изменение структуры миофиламентов актина и миозина. Окочевшие мышцы минтая после их размягчения не возвращались в то же состояние, что у свежеевыловленной рыбы. Для минтая посмертные изменения структуры мышечной ткани необратимы, поэтому регулирование времени траления, объемов уловов и переработки рыбного сырья должны быть четко регламентированы.

Ключевые слова: минтай *Theragra chalcogramma*, мышцы, гистология, угол прогиба тела рыбы, посмертное окоченение.

ВВЕДЕНИЕ

Для получения высококачественных продуктов важно тщательно выполнять различные требования, регулирующие качество продукции. Вылов, передача, транспортировка и допроизводственная обработка уловов являются начальными стадиями в производственной линии. Различия в способах лова и обработки оказывают существенное воздействие на свойства сырья, что в свою очередь влияет на выход продукта, качество, срок хранения и рентабельность производства. Во время вылова и обработки рыба подвергается нескольким типам и уровням физиологического стресса, что связано с понижением её качества. Таким

образом, улучшение качества продукта может быть получено за счёт уменьшения физического ущерба во время вылова и предварительной обработки.

Для решения этих задач важны знания об изменении структуры мышечной ткани на различных стадиях посмертного окоченения рыбы. После смерти рыбы выделяют несколько этапов: отделения слизи, посмертное окоченение, разрешение окоченения и бактериальное разложение. Для каждого вида рыбы время прохождения стадий посмертного окоченения различно и зависит от размерно-массовых характеристик, жирности, структуры мышечной ткани, температуры среды обитания и темпе-

ратуры помещения, в котором находится рыба после вылова, и др. Рыба в стадии посмертного окоченения нетехнологична, ее невозможно правильно разделить и обработать. Особенно эта проблема возникает при филетировании. Поскольку в настоящее время минтай занимает первую строку среди добываемых биоресурсов, работы были проведены на данном объекте.

Целью работы являлось исследование посмертных изменений мышечной ткани минтая на макро- и микроскопическом уровнях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Сбор проб осуществляли в феврале и марте 2013 и 2015 гг. в Западно-Камчатской подзоне Охотского моря на БМРТ «Механик Брызгалин», МРКТ «Владимир Старжинский» и МРКТ «Капитан Кайзер».

Для исследования использовали свежесловленных условно живых особей минтая *Theragra chalcogramma* (Pallas, 1814). Причиной этого являлось то, что рыба поднималась тралом с глубины более 400 м, вследствие чего получала баротравму. У таких особей отмечалось движение плавников, жаберных крышек, при этом рыбы характеризовались вывалившимися глазами и увеличенным плавательным пузырем, поскольку закрытопузырные рыбы, к которым относится минтай, не могут быстро привести в равновесие давление газа в плавательном пузыре с давлением окружающей среды и их трансформация значительно снижает выживание [Павлов, 1999].

Пробы отбирали у минтая обоих полов длиной около 40 см с гонадами IV стадии зрелости (преднерестовые) в начале выливки рыбы в бункер с транспортера в цехе по переработке. Поскольку в дальнейшем не было отмечено различий в качестве образцов по половым признакам, этот фактор не учитывался. Стадии посмертного окоченения определяли при температуре воздуха 15–16 °С. Для выявления потерь массы рыбы проводили взвешивания контрольной партии рыбы в момент максимального окоченения, которое у минтая наступает через 4,5–5 часов, и в момент полного разрешения окоченения (тендеризации) через 10–11 часов.

Угол прогиба (УП) рыбы на различных стадиях посмертного окоченения определяли по классической методике В. П. Быкова [1987].

Сбор материала для гистологических исследований проводили от рыб разных стадий посмертного окоченения: свежесловленных, в стадии максимального окоченения и после разрешения окоченения. В каждом варианте было отобрано по 10 образцов размером около 1 см³ длиннейшей мышцы спины на уровне начала первого спинного плавника и зафиксировано в 6–7% растворе формальдегида.

При гистологических исследованиях для ксилольно-спиртовой проводки использовали автоматическую станцию MicromSTP 120, заливка в парафин проводилась на установке Microm EC350–1. Срезы толщиной 4–5 мкм были сделаны на микротоме HM 440E и последовательно окрашены гематоксилином по Эрлиху с докраской эозином [Ромейс, 1953; Микодина и др., 2009]. Изучение и фотографирование срезов проводили в световом микроскопе Leica DMLC с фотокамерой Leica DC100.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Потери массы рыбы в момент максимального окоченения составляли от 0,2 до 1,6%. Потери на этапе отделения слизи — от 0,1 до 1,4%. Потери после разрешения посмертного окоченения — от 0,05 до 1,0% (рис. 1).

Таким образом, допроизводственные потери массы рыбы, обусловленные физико-химическими изменениями, в среднем составляли около 1,0%.

Динамика угла прогиба минтая на различных стадиях посмертного окоченения различалась (рис. 2). Свежая рыба вплоть до появления первых признаков окоченения характеризовалась большим углом прогиба до 90° и высокой эластичностью мышечной ткани. С началом наступления окоченения наблюдалось резкое уменьшение эластичности, при этом УП составлял в среднем 30°. При ослаблении мышц вследствие размягчения рыбы после окоченения угол прогиба и эластичность мышечной ткани несколько повышались, однако, они не достигали первоначальной величины — УП составлял 45°. Возможно, при дальнейшем хранении угол прогиба увеличивается, но до начала бактериального разложения рыбу не доводили, поскольку в этом состоянии она не пригодна для промышленной переработки.

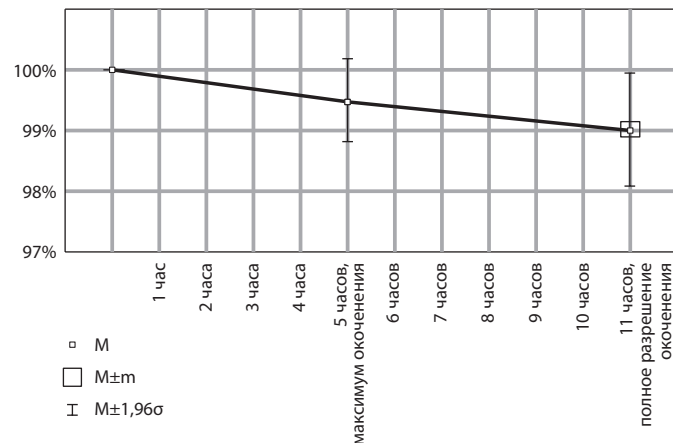


Рис. 1. Изменения массы минтая в результате посмертного окоченения

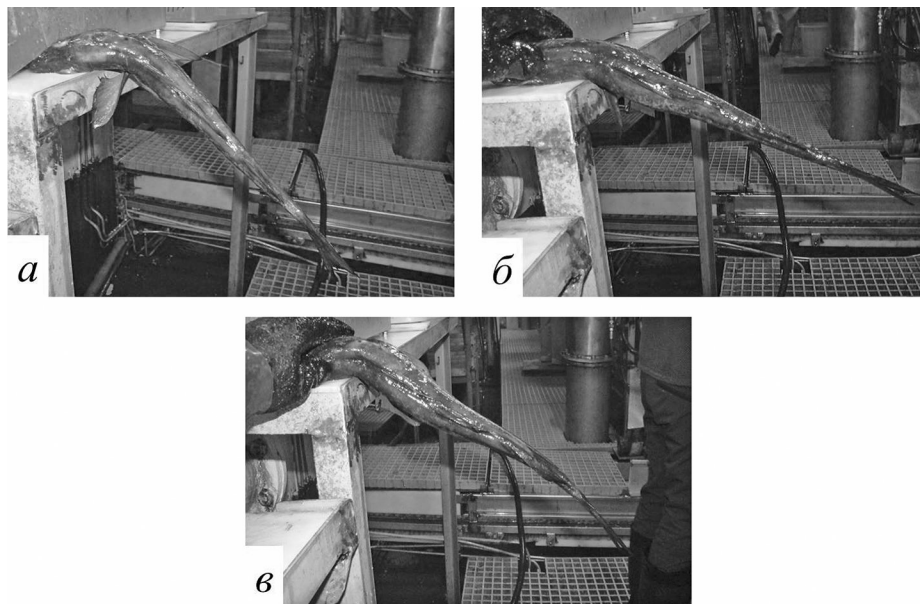


Рис. 2. Изменения угла прогиба минтая на различных стадиях посмертного окоченения:

а — рыба условно живая УП 80°; *б* — рыба в стадии посмертного окоченения УП 30°; *в* — рыба в стадии разрешения посмертного окоченения УП 45° (фото А.Г. Новосадова)

Гистологические исследования рыбы на различных стадиях посмертного окоченения показали следующее: у живых особей соединительная ткань, окружающая миоциты, плотно прилегала к ним (рис. 3 *а*). Миофибриллы, представляющие собой миофиламенты актина и миозина, в расслабленных мышцах располагались равномерно в продольном направлении внутри рабдомиоцитов (рис. 3 *б*). В миоцитах в сокращённом состоянии миофиламенты актина и миозина смещались равномерно, вследствие чего на гистологических

срезах отмечали частые и однородные волны по всей длине мышечного волокна (рис. 3 *в*).

В миоцитах окоченевших особей в периферических областях цитоплазмы миофибриллы выстраивались практически перпендикулярно оболочке (рис. 3 *г*). В подавляющем большинстве случаев мышцы находились в сокращённом состоянии. При этом характер «волн» на гистологических препаратах становился неравномерным и более редким, чем у живых рыб (рис. 3 *д-е*). Соединительная ткань, окружающая мышечные волокна, начинала отслаиваться (рис. 3 *з*).

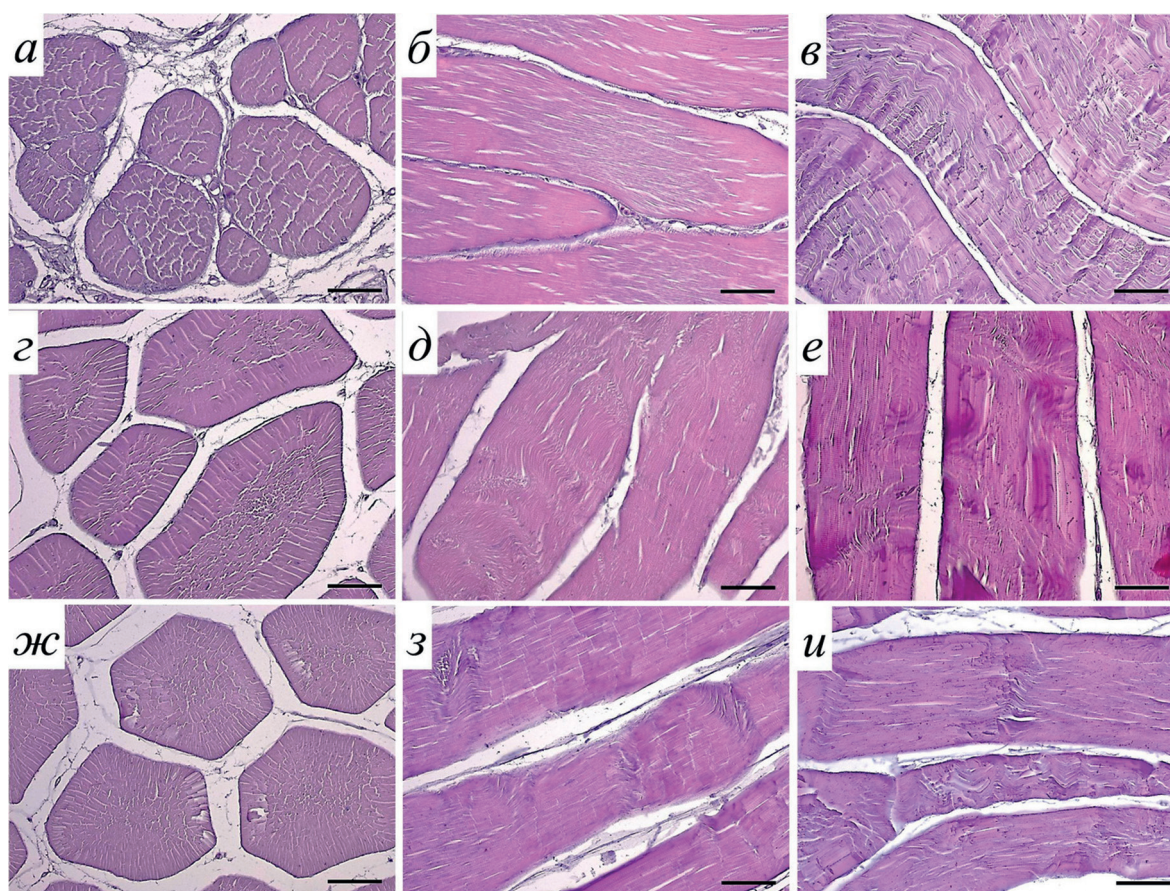


Рис. 3. Гистологические срезы живого (а-в), окоченевшего (г-е) и размороженного (ж-и) минтая *Theragra chalcogramma*. Масштаб 50 мкм

У размороженных рыб мышечные волокна сжимались, теряя связь с соединительнотканной оболочкой (рис. 3 ж-и). На поперечных срезах расслабленных миоцитов в периферических областях мышечных волокон миофибриллы располагались практически перпендикулярно оболочке, также как и у окоченевших мышц (рис. 3 ж). Сокращённые мышечные волокна оставались, при этом сокращённые участки распределялись по миоцитам неравномерно и более редко, чем у живых особей. В волокнах появлялись уплотнения, более интенсивно окрашенные. Скорее всего, это было связано с тем, что миофиламенты теряли чёткую равномерную структуру (становились путанными), то есть начиналась их деградация (рис. 3 з-и). В ряде миоцитов наблюдалось расщепление на отдельные миофибриллы. Это явление не носило массового характера, но встречалось чаще в мышцах у размороженных особей (рис. 3 з).

Гистологический анализ показал явные изменения в структуре мышц после окоченения: сжатие миоцитов, отслоение соединительнотканной оболочки, изменение структуры миофиламентов актина и миозина. Окоченевшие мышцы после их размораживания не возвращались в то же состояние, что и у живой рыбы. Это связано с необратимыми изменениями, происходящими как внутри миоцитов, так и в окружающей их соединительной ткани.

Многими авторами были показаны сильные необратимые изменения в мышечной ткани различных рыб после смерти. Отслоение соединительнотканной оболочки вследствие распада коллагеновых фибрилл в клетках соединительной ткани, окружающей мышечные волокна, отмечалось у радужной форели *Oncorhynchus mykiss*, японской сирололы *Seriola quinqueradiata*, азиатского паралихта *Paralichthys olivaceus*, бурого скалозуба

Takifugu rubripes и красного пагра *Pagrus major* [Ando et al., 1993].

Причинами посмертной тендеризации (размягчения после окоченения) мышц рыб могли служить следующие процессы: ослабление Z-дисков миофибрилл [Tachibana, Tsuchimoto, 1990; Seki, Tsuchiya, 1991], изменения в коннектине, участвующем в сокращении поперечно-полосатых мышц [Seki, Watanabe, 1984], ослабление соединений актиновых и миозиновых миофиламентов [Yamanoue, Takahashi, 1988], постепенный распад структуры внеклеточного матрикса [Ando et al., 1991] и коллагеновых волокон соединительной ткани, окружающей мышечные клетки [Ando et al., 1992, 1995].

Процесс распада миофибрил и деградация миофиламентов начинался сразу после смерти независимо от посмертного увеличения Ca^{2+} , вызывающего окоченение [Tachibana, Tsuchimoto, 1990].

Таким образом, классический подход к переработке рыбного сырья можно сформулировать «чем быстрее — тем лучше» — чем более свежее сырье, тем выше качество вырабатываемой продукции.

Наряду с этим существует гипотеза Гусевой и Богданова [2011] о тиксотропном характере посмертных изменений рыбы. Исследования динамики угла прогиба, проведенные на морской малоротой корюшке *Hypomesus japonicus*, сайре *Cololabis saira* и дальневосточной сардине *Sardinops sagax*, показали, что для них характерна определенная общность неклассического характера развития посмертных изменений, проявляющаяся в периодическом восстановлении технологических свойств рыбного сырья при его хранении после вылова на определенных стадиях посмертного окоченения. В этом случае первый период наступал при разрешении истинного посмертного окоченения, а второй — после повторного увеличения прочности мышечной ткани рыбы. Это подтверждали биохимические исследования сайры при хранении, которые выражались в изменениях актомиозина, содержания АТФ, гликогена, креатинфосфата и неорганического фосфора [Гусева, Богданов, 2011].

По мнению Антиповой и др. [2009, 2012], существует положительный «эффект созрева-

вания» после разрешения посмертного окоченения, отмеченный у прудовых рыб — карпа, толстолобика, белого амура, сазана и щуки. Однако по причине более высокой скорости автолитических превращений по сравнению с мясом наземных животных задача продления периода посмертного окоченения рыбы при минимальной потере своих натуральных свойств сохраняется. После разрешения посмертного окоченения процесс «созревания» должен быть жестко регламентирован временем и температурными условиями. В противном случае вместо нежной консистенции, сочности, специфического вкуса и аромата происходит автолитический распад тканей и бактериальная порча. При этом рыба ранней стадии «созревания» с высоким уровнем активности тканевых ферментов может быть направлена на производство полуфабрикатов и кулинарных изделий. На поздней стадии при накоплении низкомолекулярных продуктов гидролиза — только на производство кормовых продуктов. Вырабатывать солёную продукцию из «созревшей» рыбы не рекомендуется. Кроме того, на основании изучения микроструктуры толстолобика и карпа выявлена разная скорость автолитических превращений на ранней стадии автолиза, что подтверждает необходимость дифференцированного подхода к каждому объекту промысла или аквакультуры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Минтай при посмертном окоченении и после него характеризовался потерей массы и сильным уменьшением угла прогиба тела. Гистологический анализ мышечной ткани минтая на различных стадиях посмертного окоченения показал явные изменения в структуре мышц уже на стадии окоченения: сжатие миоцитов, отслоение соединительнотканной оболочки, изменение структуры миофиламентов актина и миозина. Окочевшие мышцы минтая после их размягчения не возвращаются в то же состояние, что и у живой рыбы. Это связано с необратимыми изменениями, происходящими как внутри миоцитов, так и в окружающей их соединительной ткани.

Так называемый «тиксотропный» характер посмертных изменений, выявленный для жирных видов рыб, для минтая не установлен. Для

этого вида рыбы посмертные изменения структуры мышечной ткани необратимы, поэтому регулирование времени траления, объемов уловов и производительности фабрики, которая должна переработать улов до наступления посмертного окоченения, является основополагающим критерием как при осуществлении промышленного рыболовства, так и при строительстве новых рыбопромысловых судов.

Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность сотруднику лаборатории нормирования ФГБНУ «ВНИРО» к.б.н. А. Г. Новосадову за сбор проб мышц минтая и иллюстрации, выполненные на борту судна.

ЛИТЕРАТУРА

- Антипова Л. В., Алехина А. В., Дворянинова О. П. 2009. Биохимические изменения мяса пресноводных рыб в процессе автолиза // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. № 5–6. С. 18–21.
- Антипова Л. В., Дворянинова О. П., Чудинова Л. П. 2012. Прудовые рыбы: биотехнологический потенциал и основы рационального использования ресурсов. Воронеж: ВГУИТ. 404 с.
- Быков В. П. 1987. Изменения мяса рыбы при холодильной обработке. М.: Агропромиздат. С. 95–97.
- Гусева Л. Б., Богданов В. Д. 2011. Особенности посмертных изменений рыбного сырья // Известия ТИНРО. Т. 164. С. 392–402.
- Микодина Е. В., Седова М. А., Чмилевский Д. А., Микунин А. Е., Пьянова С. В., Полуэктова О. Г. 2009. Гистология для ихтиологов. Опыт и советы. М.: Изд-во ВНИРО. 111 с.
- Павлов Д. С., Лупандин А. И., Костин В. В. 1999. Покатная миграция рыб через плотины ГЭС. М.: Наука. 255 с.
- Ромейс Б. 1953. Микроскопическая техника. М.: ИЛ. 718 с. (Romeis B. 1948. Mikroskopische Technik. München: Leibniz-Verlag. 159 p.)
- Ando M., Toyohara H., Shimizu Y., Sakaguchi M. 1991. Post-mortem tenderization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle caused by gradual disintegration of the extracellular matrix structure // J. Sc. Food and Agriculture. V. 55. P. 589–597.
- Ando M., Toyohara H., Sakaguchi M. 1992. Post-mortem tenderization of rainbow trout muscle caused by the disintegration of collagen fibers in the pericellular connective tissue // Nippon Suisan Gakkaishi. V. 58. P. 567–570.

- Ando M., Toyohara H., Shimizu Y., Sakaguchi M. 1993. Post-mortem tenderization of fish muscle due to weakening of pericellular connective tissue // Nippon Suisan Gakkaishi. V. 59. № 6. P. 1073–1076.
- Ando M., Yoshimoto Y., Inabu K., Nakagawa T., Makinodan Y. 1995. Post-mortem change of three-dimensional structure of collagen fibrillar network in fish muscle pericellular connective tissues corresponding to post-mortem tenderization // Fisheries science. V. 61. № 2. P. 327–330.
- Seki N., Tsuchiya H. 1991. Extensive changes during storage in carp myofibrillar proteins in relation to fragmentation // Nippon Suisan Gakkaishi. V. 57. № 5. P. 927–933.
- Seki N., Watanabe T. 1984. Connectin content and its postmortem changes in fish muscle // The Journal of Biochemistry. V. 95. P. 1161–1167.
- Tachibana K., Tsuchimoto M. 1990. Red sea bream // Price formation and quality control of mariculture products. Tokyo: Kouseisya Kouseikaku. P. 48–54.
- Yamanoue M., Takahashi K. 1988. Effect of paratropomyosin on the increase in sarcomere length of rigor-shortened skeletal muscles // The Journal of Biochemistry. V. 103. P. 843–847.

REFERENCE

- Antipova L. V., Alekhina A. V., Dvoryaninova O. P. 2009. Biohimicheskie izmeneniya myasa presnovodnykh ryb v processe avtoliza [Biochemical changes of meat of fresh-water fishes in the course of autolysis] // Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Pishhevaya tekhnologiya. № 5–6. S. 18–21.
- Antipova L. V., Dvoryaninova O. P., Chudinova L. P. 2012. Prudovye ryby: biotekhnologicheskii potencial i osnovy racional'nogo ispol'zovaniya resursov [Pond fishes: biotechnological potential and bases of rational use of resources]. Voronezh: VGUIT. 404 s.
- Bykov V. P. 1987. Izmeneniya myasa ryby pri holodil'noy obrabotke [Changes in fish meat under refrigeration processing]. M.: Agropromizdat. S. 95–97.
- Guseva L. B., Bogdanov V. D. 2011. Osobennosti posmertnykh izmeneniy rybnogo syr'ya [Features of post-vital changes of raw fish] // Izvestiya TINRO. T. 164. S. 392–402.
- Mikodina E. V., Sedova M. A., Chmylevskiy D. A., Mikulin A. E., P'yanova S. V., Poluektova O. G. 2009. Gistologiya dlya ihtologov. Opyt i sovety [Histology for Ichthyologists. Experience and Advice.]. M.: Izd-vo VNIRO. 111 s.
- Pavlov D. S., Lupandin A. I., Kostin V. V. 1999. Pokatnaya migraciya ryb cherez plotiny GES [Downstream migration of fish through hydroelectric dam.]. M.: Nauka. 255 s.

Поступила в редакцию 01.03.2017 г.
Принята после рецензии 10.03.2017 г.

Post-mortem changes of the muscle tissue in walleye pollock

E.N. Kharenko, K.A. Zhukova

Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography (FSBSI «VNIRO»), Moscow

Investigations of the muscle tissue post-mortem changes in walleye pollock using various methods determined a weight loss on average 1,0%. The maximum fish weight loss noted at mucus separation and the maximum rigor mortis, which accounted for 1,6%. Dynamics of fish angle at different stages of rigor mortis changed from 90° in fresh-caught walleye pollock before the first signs of rigor mortis to 30° during rigor mortis and 45° during the post-mortem tenderization, i.e. these fish angle after tenderization not reaching the initial (fresh-caught) value. Histological analysis indicated pericellular connective tissue detachment of myofibers, myocyte contraction and the actin and myosin myofilaments structure changes. Rigor muscle tissue after tenderization did not return to the same state that fresh-caught fish. For walleye pollock post-mortem changes in muscle structure are irreversible, therefore, the time trawling, the size of catches and fish processing technologies should be clearly regulated.

Key words: walleye pollock *Theragra chalcogramma*, muscle, histology, fish angle, post-mortem tenderization.