

بررسی کمی و کیفی بافت های غیرمجاز در فرآورده های گوشتی حرارت دیده (سوسیس) با استفاده از روش بافت شناسی

رضا صیرفی^{۱*}، علی شالیزار جلالی^۲، علی کریمی^۳، زلیخا شیروانی^۴

۱- دکترای تخصصی، استادیار، گروه علوم پایه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

۲- دکترای تخصصی، استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳- دکترای تخصصی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۴- کارشناس ارشد، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۶/۱۴)

چکیده

نظر به مصرف بالای فرآورده های گوشتی، گزارشاتی مبنی بر انجام تقلبات در برخی از تولیدات وجود دارد. با توجه به اهمیت روش های بافت شناسی در شناسایی نوع بافت های بکار رفته در این فرآورده ها، این تحقیق جهت بررسی کمی و کیفی بافت های غیرمجاز احتمالی به کار رفته در سوسیس های موجود در بازار با استفاده از دو روش رنگ آمیزی معمولی و اختصاصی بافت شناسی انجام گرفت. در این تحقیق نمونه های مختلف سوسیس خریداری و ۱۲ قطعه از هر نمونه در محلول فرمالین ۱۰٪ بافری تثبیت گردید. پس از انجام مراحل معمول بافت شناسی برای آماده سازی بافت ها، مقاطع با استفاده از روش رنگ آمیزی همتاکسیلین-اوتوزین و روش تری کروم ماسون، رنگ آمیزی شدند. بافت های غیرمجازی از قبیل غده بزاقی، کام نرم، عضله قلبی، آئورت، مو، پوست، استخوان و غضروف، در برخی از نمونه ها مشاهده گردید. دو بافت استخوان و غضروف شفاف به ترتیب با فراوانی ۴۱/۷ و ۵۴/۲ درصد، بیشترین فراوانی را داشتند. با استفاده از رنگ آمیزی اختصاصی تری کروم ماسون تشخیص بسیاری از بافت ها به خصوص بافت های همبندی و قطعات کوچک آنها، بهتر امکان پذیر بود. بر طبق این نتایج، استفاده از روش های بافت شناسی، بخصوص روش رنگ آمیزی تری کروم ماسون، روش منسبی جهت تشخیص کیفی و کمی بافت های غیر مجاز در فرآورده های گوشتی حرارت دیده می باشد.

کلید واژگان: سوسیس، بافت شناسی، بافت غیرمجاز

* مسئول مکاتبات: reza.sayrafi@gmail.com

۱- مقدمه

گوشت به عنوان یک منبع تامین کننده پروتئین در بسیاری از فرآورده های گوشتی استفاده می شود. لیکن تقلبات گوناگونی در ارتباط با کیفیت و کمیت فرآورده های گوشتی به دلیل تقاضای بالا و ارزش اقتصادی آن، مشاهده شده است [۱-۳]. در تهیه سوسیس های حرارت دیده در ایران معمولاً از مخلوطی از گوشت، چربی، سویا، آرد گندم و بسیاری از مواد افزودنی دیگر استفاده می شود. در طی فرآیند تولید این نوع از فرآورده ها، ساختمان بافت عضلانی گوشت کاملاً خرد شده و شکل آن کاملاً تغییر می یابد. در مورد بافت های غیرمجازی که به جای گوشت ممکن است به کار روند نیز همین فرآیند اتفاق می افتد [۴-۵]. همچنین فرآیند حرارت دهی باعث تغییرات قابل توجهی در ساختار مواد متشکله فرآورده های گوشتی حرارت دیده می گردد [۵]. از این رو تشخیص تقلبات در فرآورده های گوشتی حرارت دیده به سادگی امکان پذیر نمی باشد. به همین دلیل جهت کنترل کیفی فرآورده های گوشتی از روش های شناسایی تقلبات در فرآورده های گوشتی مانند روش های مختلف شیمیایی، واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)، الایزا و بافت شناسی استفاده می شود [۶-۸ و ۱-۳].

آزمون بافت شناسی یکی از روش هایی می باشد که با استفاده از آن تشخیص بافت ها و اجزاء مختلف و همچنین ارزیابی های کمی و کیفی در فرآورده های گوشتی امکان پذیر می گردد. بر اساس گزارش های موجود مبنی بر استفاده از برخی از بافت های غیر مجاز در این نوع از فرآورده ها، نظیر اندام های درون حفره شکمی و سینه ای، اندام های ادراری و تناسلی، غضروف و بافت های غده ای، طراحی و به کارگیری روش های دقیق آزمون بافت شناسی ضروری می باشد [۹-۱۰].

بافت های غیر مجاز ارزش تغذیه ای پایینی داشته، از لحاظ بهداشتی نسبت به بافت عضلانی دارای بار میکروبی بالاتری بوده و در انتقال میکروارگانیسم های بیماری زا می توانند نقش داشته باشند. همچنین برخی از افزودنی های گیاهی در فرآورده های گوشتی، به عنوان مواد آلرژی زا مطرح شده اند [۱۱ و ۴].

با توجه به اینکه حضور بافت های غیرمجاز در این نوع از فرآورده های گوشتی، تهدید جدی برای سلامت مصرف کنندگان می باشد، به کارگیری روش های تشخیصی اختصاصی برای تشخیص این بافت ها ضروری می باشد. لیکن غالب مطالعات بافت شناسی صورت گرفته در این ارتباط، با استفاده

از روش معمول رنگ آمیزی بافت ها (هماتوکسیلین-ئوزین) بوده است. از این رو در مطالعه حاضر علاوه بر ارزیابی کمی و کیفی بافت های غیرمجاز در نمونه های سوسیس عرضه شده در بازار، به مقایسه استفاده از یک روش رنگ آمیزی هیستوشیمیایی (رنگ آمیزی تری کروم ماسون) با روش معمول رنگ آمیزی بافت شناسی در تشخیص این بافت ها پرداخته شد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه نمونه ها

در این مطالعه به منظور ارزیابی استفاده از روش بافت شناسی جهت تشخیص بافت های غیرمجاز استفاده شده در سوسیس های موجود در بازار، تعداد ۲۴ نمونه مختلف سوسیس (از ۱۵ شرکت مختلف)، با درصد های مختلف گوشت (از ۳۰ درصد تا ۸۰ درصد)، از فروشگاه های عرضه کننده مواد غذایی در استان های تهران و مازندران تهیه گردید.

۲-۲- آزمون بافت شناسی

نمونه ها پس از تهیه به آزمایشگاه بافت شناسی انتقال داده شدند و در دمای یخچالی (1 ± 4 درجه سانتی گراد) نگهداری شدند. هر نمونه به چهار قسمت مساوی تقسیم و از هر قسمت سه برش به ابعاد یک سانتی متر تهیه شد که در مجموع از هر نمونه سوسیس، ۱۲ عدد برش نمونه برداری گردید. نمونه های برداشت شده جهت تثبیت در محلول فرمالین ۱۰ درصد بافری قرار داده شدند. از نمونه ها پس از تثبیت کامل و پس از انجام مراحل معمول آزمایشگاه بافت شناسی، قالب های پارافینی تهیه گردید. برش های بافتی به ضخامت ۴ الی ۶ میکرومتری توسط دستگاه میکروتوم تهیه و با استفاده از روش های رنگ آمیزی هِماتوکسیلین-ئوزین و تری کروم ماسون، رنگ آمیزی شدند [۱۲]. جهت رنگ آمیزی هیستوشیمیایی، از کیت رنگ آمیزی تری کروم ماسون (تهیه شده از شرکت شیمی پژوهش آسیا، ایران) استفاده گردید.

اسلاید های تهیه شده با میکروسکوپ نوری (Olympus CX21, Japan) مورد مطالعه قرار گرفت و با استفاده از دوربین دیجیتالی (TrueChrome II, China) از بافت های مختلف تشخیص داده شده، فتومیکروگراف تهیه شد. بر اساس استاندارد ملی ایران استفاده از اندام ها و بافت هایی مانند: اندرون های سینه ای و شکمی دام و طیور (مانند

بررسی کیفی مقاطع بافتی مشخص کرد که در رنگ آمیزی به روش همتوکسیلین - ائوزین، رشته های کلاژن که در بافت های همبندی به فراوانی وجود دارد، قرمز یا صورتی رنگ گرفت و از بافت عضلانی، تفاوت قابل ملاحظه ای را نشان نداد. بافت عضله مخطط اسکلتی در هر دو جهت طولی و عرضی در مقاطع قابل تشخیص بود، ولی هسته سلول ها در اغلب موارد مشخص نبودند (شکل ۲).

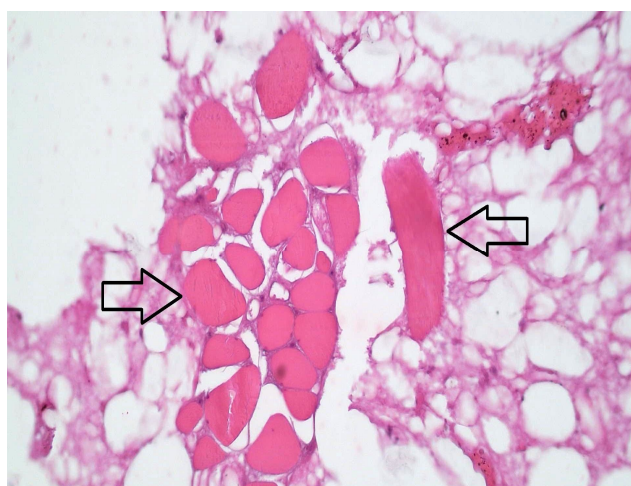


Fig 2 Photomicrograph of skeletal muscle (arrows) in sausage (H&E staining, $\times 400$)

همچنین با بزرگنمایی بالا، خطوط تاریک و روشن در برش های طولی عضله اسکلتی قابل رویت بودند. بافت های گیاهی نیز به اشکال مختلفی در مقاطع مشاهده گردیدند (شکل ۳). در روش رنگ آمیزی تری کروم ماسون، بافت همبندی به رنگ آبی و متفاوت از بافت عضلانی رنگ گرفت و سبب تشخیص آسانتر قطعات کوچک بافت هایی مانند غضروف یا استخوان گردید و تفکیک بهتر بافت ها از یکدیگر را موجب شد (شکل های ۴ و ۵). در بافت عضله قلبی خطوط تاریک و روشن مشخص نبودند، لیکن هسته سلول ها در مقایسه با بافت عضله اسکلتی، مشخص تر بودند و هسته ها در اغلب سلول ها مشاهده شدند. خطوط پلکانی نیز در مقاطع طولی عضله قلبی در رنگ آمیزی با روش تری کروم ماسون مشخص بودند (شکل های ۶ و ۷). تصاویر برخی از بافت های قابل تشخیص در اسلاید ها، در شکل های ۲ الی ۸ آمده است.

قلب، کبد، کلیه، ریه و طحال)، اندام های ادراری و تناسلی (مانند مثانه و پستان)، گوشت سر و صورت (گوشت کله)، زبان، نخاع، مغز، بافت های غده ای مانند غدد بزاقی، گره های لنفاوی، غضروف شفاف، چربی های صفاقی، پوست، دنبه، بافت های استخوانی، خمیر گوشت و خمیر مرغ در تولید فرآورده های سوسیس و کالباس مجاز نمی باشد [۱۳]. از این رو در نمونه ها وجود و فراوانی هر یک از بافت های غیرمجاز تشخیص داده شده به همراه بافت عضله مخطط اسکلتی و بافت های گیاهی ثبت گردید.

۳- نتایج و بحث

نتایج مربوط به درصد فراوانی بافت های تشخیص داده شده در نمونه های سوسیس، در شکل یک آورده شده است. با بررسی مقاطع بافتی مشخص گردید که بافت ماهیچه اسکلتی در ۹۵/۸ درصد از نمونه ها وجود داشت و در ۴/۲ درصد از نمونه ها این بافت مشاهده نشد. در ۱۰۰ درصد از نمونه ها نیز بافت های گیاهی مشاهده گردید. بافت های غیرمجاز تشخیص داده شده در نمونه ها شامل غضروف شفاف، استخوان، پوست، مو، آئورت، عضله قلبی، غده بزاقی و کام نرم بودند. نتایج بدست آمده نشان داد که از بین بافت های غیر مجاز مشاهده شده، بافت غضروف شفاف در ۵۴/۲ درصد نمونه ها یافت شد و بافت استخوان در ۴۱/۷ درصد نمونه ها وجود داشت. فراوانی حضور بافت های پوست و مو ۸/۳ درصد و فراوانی حضور هریک از بافت های غده بزاقی، عضله قلبی، کام نرم و آئورت ۴/۲ درصد بود (شکل ۱).

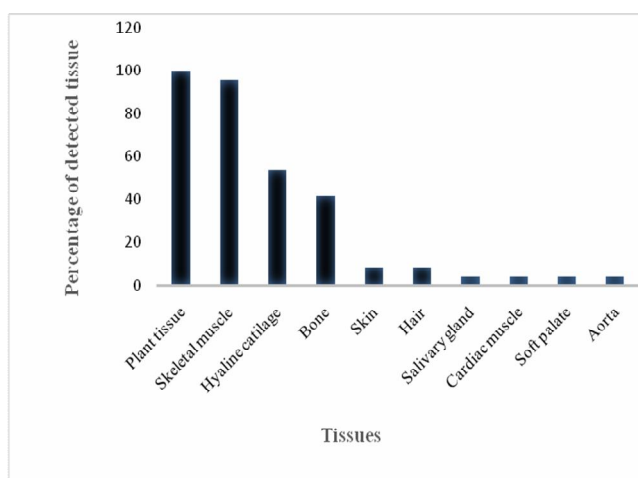


Fig 1 Different tissues detected in sausages based on histological examination

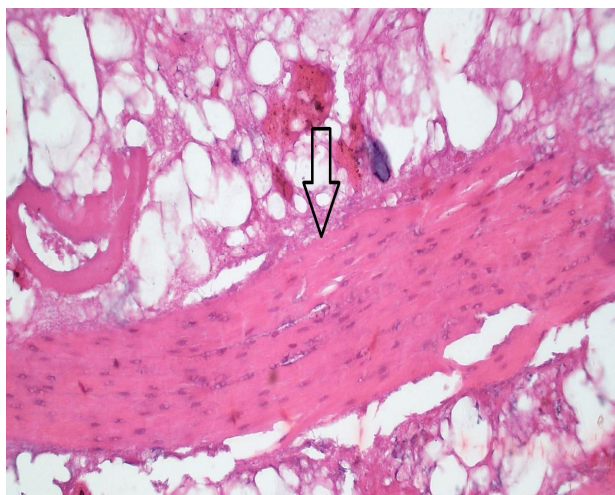


Fig 6 Photomicrograph of cardiac muscle (arrow) fibers in sausage (H&E staining, ×400)

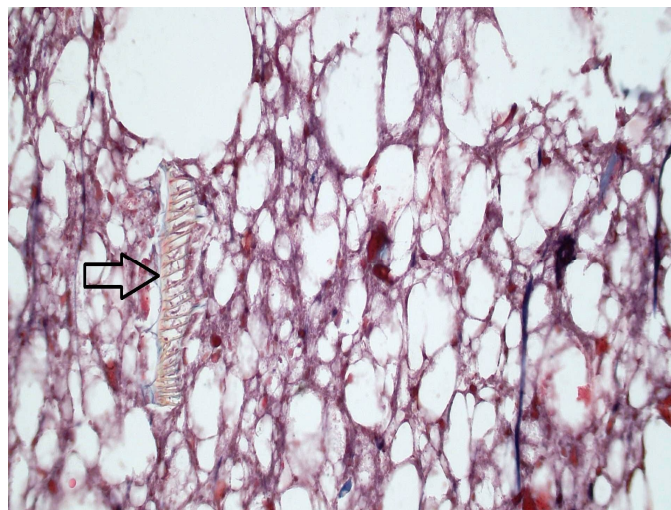


Fig 3 photomicrograph shows plant tissue (arrow) in sausage (Masson trichrome staining, ×400)

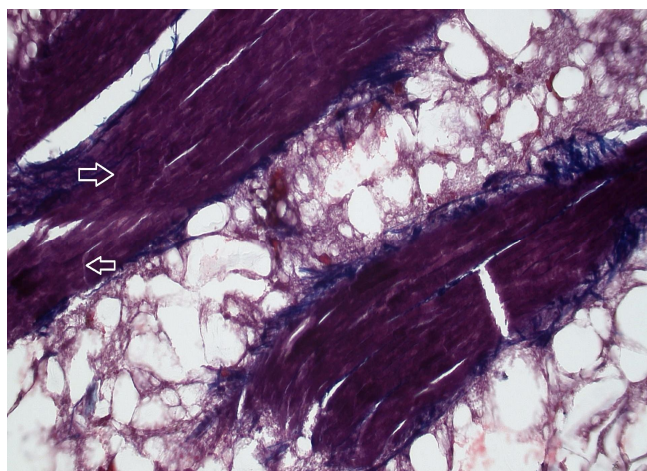


Fig 7 photomicrograph shows intercalated disc (arrows) of cardiac muscle fibers in sausage (Masson trichrome staining, ×400)

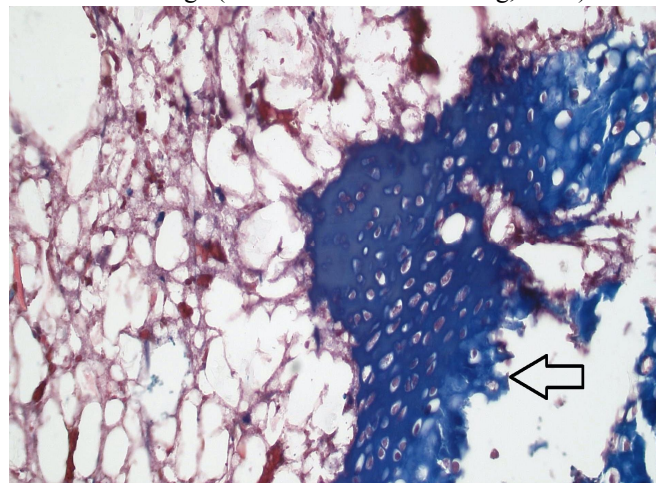


Fig 4 Photomicrograph of hyaline cartilage (arrow) in sausage (Masson trichrome staining, ×400)



Fig 8 Photomicrograph of salivary gland (asterisk) in sausage (H&E staining, ×100)

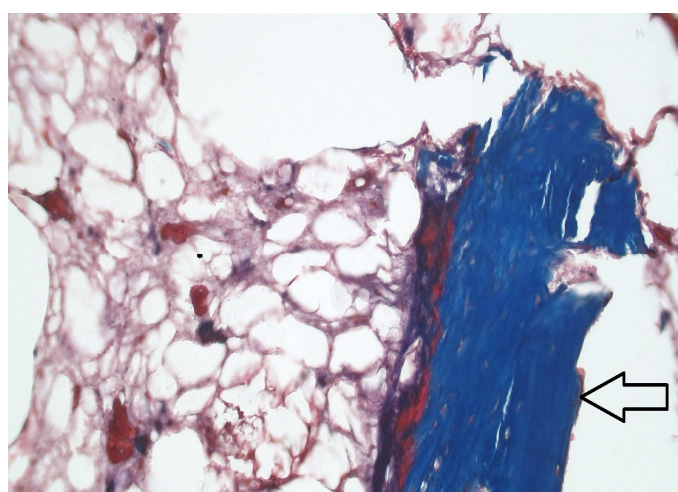


Fig 5 Photomicrograph of bone (arrow) in sausage (Masson trichrome staining, ×400)

به منظور کنترل کیفی فرآورده های گوشتی از روش های مختلف میکروبیولوژیک، شیمیایی و بافت شناسی استفاده می گردد. لیکن هیچکدام از این روش ها به تنهایی جهت کنترل کمی و کیفی تقلبات احتمالی صورت گرفته در این فرآورده ها کفایت نمی کنند. مزیت استفاده از آزمون های بافت شناسی آن است که مشاهده مستقیم نوع بافت به کار رفته را امکان پذیر می سازد. لیکن دو عامل کاتریزاسیون و حرارت دهی در فرآیند تولید فرآورده های گوشتی حرارت دیده، سبب تغییرات قابل توجهی در ساختار بافت های به کار رفته در این نوع از فرآورده ها می گردند. در تولید سوسیس و کالباس، خردشدن در مرحله چرخ کردن گوشت و همچنین در دستگاه کاتر رخ می دهد. در طی کاتریزاسیون، مجموعه ای از تغییرات فیزیکی و شیمیایی رخ می دهد که در میان آن ها خرد شدن و کاهش اندازه مواد بکار رفته در درجه اول اهمیت قرار دارد [۱۴]. فرآیند حرارت دهی و پخت نیز موجب ایجاد تغییرات شیمیایی و فیزیکی در مواد بکار رفته می شود [۵]. از این رو به نظر می رسد که با توجه به تغییرات قابل توجهی که در ساختار بافت های مختلف ایجاد می گردد، استفاده از روش های رنگ آمیزی اختصاصی بافت شناسی، بتواند به تشخیص آسان تر و دقیق تر این بافت ها کمک شایان توجهی نماید.

در روش رنگ آمیزی تری کروم ماسون، بافت همبندی به رنگ آبی و متفاوت از بافت عضلانی رنگ می گیرد [۱۲] و در تحقیق حاضر نیز استفاده از این روش، سبب تفکیک بهتر بافت ها از یکدیگر و همچنین تشخیص بهتر قطعات کوچک بافت هایی مانند غضروف یا استخوان گردید. همچنین رشته های کلاژن، که در بافت های همبندی به فراوانی یافت می شوند، در رنگ آمیزی به روش همتوکسیلین - ائوزین به رنگ صورتی تا قرمز رنگ گرفته و از بافت عضلانی که صورتی رنگ می گیرد، تفاوت قابل ملاحظه ای را نشان ندادند. بنابراین برای تشخیص و تمایز اجزاء مختلف تشکیل دهنده در این نوع از فرآورده ها، استفاده از روش معمول رنگ آمیزی بافت ها (هماتوکسیلین - ائوزین) کافی به نظر نمی رسد. از این رو استفاده از روش های اختصاصی بافت شناسی مانند روش رنگ آمیزی تری کروم ماسون، که در مطالعه حاضر به کار رفت، می تواند در تشخیص بهتر و دقیق تر بافت های مختلف مفید واقع گردد.

در این راستا مطالعات مختلفی به جهت بررسی وجود و شناسایی بافت های غیر مجاز در فرآورده های گوشتی به انجام رسیده است. لاتوره و همکاران (۲۰۱۵)، به بررسی بافت های غیرمجاز موجود در فرآورده های گوشتی ایران مانند سوسیس، همبرگر، کباب لقمه و کباب کوبیده با استفاده از روش بافت شناسی و رنگ آمیزی همتوکسیلین - ائوزین پرداختند. نتایج نشان داد که بافت عضله اسکلتی در تمامی محصولات وجود داشت و این بافت در نمونه های سوسیس با توجه به تغییرات ایجاد شده در ساختمان آن، قابل تشخیص بود. همچنین بافت های سنگدان، چربی، سویا، غضروف شفاف، گره لمفاوی، غده ای و تخمدان در این محصولات مشاهده گردید. آن ها در اسلایدهای بررسی شده مربوط به پنج نمونه سوسیس، بافت های غضروف شفاف، سویا و گره لمفاوی را به ترتیب در پنج، چهار و یک مورد از نمونه ها گزارش نمودند. بافت های غیر مجاز دیگری هم که آن ها گزارش کردند، در اسلایدهای مربوط به نمونه های غیر از سوسیس مشاهده گردیده بود [۱۵]. در مطالعه حاضر نیز بیشترین فراوانی در بین بافت های غیر مجاز مشاهده شده، مربوط به بافت غضروف شفاف بود. در تحقیق دیگری پرایسون و همکاران (۲۰۰۸)، تعداد هشت برند هات داگ را در آمریکا مورد آزمون بافت شناسی قرار دادند. آن ها مشاهده نمودند که بافت های عضله اسکلتی، عروق خونی، مواد گیاهی و استخوان در تمامی نمونه های بررسی شده وجود داشت. لیکن میزان بافت عضله اسکلتی، در اغلب نمونه ها، کمتر از ۱۰ درصد گزارش گردید. در مشاهدات آن ها نیز در اغلب موارد (همانند نتایج مطالعه حاضر) هسته در سلول های عضلانی اسکلتی مشخص نبود. آن ها همچنین بافت های عصب محیطی، چربی، غضروف و پوست را در نمونه ها مشاهده نمودند [۱۶]. در مطالعه دیگری رکنی و همکاران (۱۳۷۶)، تعداد ۶۰ نمونه کالباس حرارت دیده را با استفاده از رنگ آمیزی معمول بافت شناسی مورد بررسی قرار دادند. در یک نمونه بافت غده بزاقی و در یک نمونه هم لیگامنت پس سری شناسایی گردید که وجود این بافت ها در نمونه ها، نشان دهنده استفاده از گوشت ناحیه سر می باشد [۱۷]. فکری و همکاران نیز (۱۳۹۲)، با مطالعه بافت شناسی تعداد ۳۰ نمونه سوسیس با استفاده از رنگ آمیزی همتوکسیلین - ائوزین و بررسی بافت های غیر مجاز آن ها، مشاهده نمودند که ۵۳/۳ درصد از کل نمونه های سوسیس

کروم ماسون، به دلیل تفکیک بهتر بافت همبندی از سایر بافت ها، تشخیص آن ها دقیق تر و آسان تر میسر بود.

۴- نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می توان بیان نمود که فرآورده های گوشتی حرارت دیده (سوسیس) عرضه شده در استان های تهران و مازندران دارای بافت های غیر مجاز فراوانی می باشند. از آنجا که حضور این بافت های غیر مجاز تهدیدی جدی برای سلامت افراد جامعه می باشد، پیشنهاد می شود که سازمان ها و دستگاه های نظارتی و بهداشتی جهت شناسایی تقلبات در فرآورده های گوشتی، اعمال کنترلی و نظارتی دقیق تر مبتنی بر آزمون های اختصاصی و هیستوشیمیایی بافت شناسی را مدنظر قرار دهند.

۵- قدردانی

این پژوهش با استفاده از اعتبارات ویژه پژوهشی (گرنه) دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل انجام گردیده است.

۶- منابع

- [1] Ballin, N. Z. (2010). Authentication of meat and meat products. *Meat Science*, 86(3): 577-587.
- [2] Rahmati, S., Julkapli, N. M., Yehye, W. A., and Basirun, W. J. (2016). Identification of meat origin in food products—A review. *Food Control*, 68(3): 379-390.
- [3] Soares, S., Amaral, J. S., Oliveira, M. B., and Mafra, I. (2014). Quantitative detection of soybean in meat products by a TaqMan real-time PCR assay. *Meat Science*, 98(1): 41-46.
- [4] Kamkar, A., Bokaei, S., Behrozi, M., and Rokni, N. (2005). Determination of hydroxyproline as measure of collagen content in meat Product by colorimetric method. *Journal of Veterinary Research*, 60(1): 25-30 [In Persian].
- [5] Rokni, N. (2014). Science & Technology of Meat. Tehran, Iran: University of Tehran Press. [In Persian].
- [6] Botka-Petrak, K., Hraste, A., Lucic, H., Gottstein, Z., Gomercic, M. D., and Jaksic, S., and Petrak T. (2011). Histological and chemical characteristics of mechanically

مورد مطالعه، دارای بافت غیر مجاز خوراکی (غضروف شفاف، پوست، چربی های صفافی و کلیه) بودند [۹]. مالاکسین و همکاران (۲۰۱۶) نیز به بررسی کیفی سوسیس های گوشت خام پرداختند و با روش بافت شناسی توانستند حضور بافت هایی مانند عضله اسکلتی، همبندی، عروق خونی، غده ای و عصبی را در این نوع از فرآورده های گوشتی نشان دهند. آن ها نمونه ای از دو بافت استخوان و غضروف را در بین نمونه ها مشاهده نکردند [۱۸]. عدم وجود دو بافت استخوان و غضروف و تفاوت با نتایج مطالعه حاضر و نتایج سایر مطالعات ذکر شده، می تواند به دلیل نوع فرآورده گوشتی مورد آزمون قرار گرفته (سوسیس خام) در آن مطالعه باشد. چرا که احتمالاً فرآیند حرارت دهی یکی از مواردیست که استفاده از بافت هایی مانند غضروف و استخوان را در فرمولاسیون فرآورده های گوشتی امکان پذیر می کند.

نتایج مطالعه حاضر که با نتایج تحقیقات ذکر شده مطابقت دارد، مؤید استفاده از بافت های غیر مجاز استخوان، غضروف، پوست، مو، غده بزاقی، کام نرم، قلب و آئورت در نمونه های سوسیس می باشد. مشاهده بافت هایی مانند غدد بزاقی و کام نرم بیانگر استفاده از قسمت های مختلف ناحیه سر لاشه دام می باشد. تشخیص این مورد تنها با استفاده از آزمون بافت شناسی ممکن بوده و از این لحاظ حایز اهمیت می باشد که بر اساس استاندارد تعیین شده برای تولید سوسیس و کالباس در ایران، استفاده از گوشت سر و صورت (گوشت کله) ممنوع است [۱۳]. وجود مقادیر زیادی از دو بافت غضروفی و استخوانی در این نوع از فرآورده ها می تواند دلیلی بر استفاده از خمیر مرغ استحصال شده از اسکلت مرغ در تولید آن ها باشد. بر طبق استاندارد ملی ایران استفاده از گوشت های قرمز و سفید تهیه شده به روش مکانیکی (خمیر گوشت و خمیر مرغ) نیز در تهیه و تولید این فرآورده ها ممنوع است. قلب از دیگر اندام هایی می باشد که طبق استاندارد ملی ایران استفاده از آن در تولید سوسیس و کالباس غیرمجاز می باشد که در مطالعه حاضر این بافت با هر دو نوع رنگ آمیزی معمولی و اختصاصی مشاهده گردید. خطوط پلکانی در بافت عضله قلبی با رنگ آمیزی به روش تری کروم ماسون، نسبت به روش رنگ آمیزی همتوکسیلین - ائوزین، مشخص تر بود و تشخیص بافت به صورت دقیق تر میسر گردید. همچنین در مورد سایر بافت های شناسایی شده با استفاده از روش رنگ آمیزی تری

- [12] Pousty, I., and Adibmoradi, M. (2006). Histotechnique. Tehran, Iran: University of Tehran Press. 34-50. [In Persian].
- [13] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Sausages – Specifications and test methods. (Amendment No 2). 2010. no. 2303.
- [14] Mohammadi, M., and Hosseini, H. (2015). Sausage manufacture; principles and practice. Tehran. Iran: National nutrition and food technology research institute, Shahid Beheshti Medical Science University press. 59-60. [In Persian].
- [15] Latorre, R., Sadeghinezhad, J., Hajimohammadi, B., Izadi, F., and 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(2): 71-74.
- [16] Prayson, B. E., McMahon, J. T., and 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.
- [17] Rokni, N., Rezaian, M., and Dardashti, D. A. (1997). Histological and histometrical study of different heated sausages. *Journal of Veterinary Medicine, Tehran University*, 52(1): 96-102 [In Persian].
- [18] Malakauskiene, S., Alioniene, I., Dziugienė, D., Babrauskiene, V., Riedel, C., Alter, T., and Malakauskas, M. (2016). Histological analysis for quality evaluation of cured meat sausages. *Veterinarija ir Zootechnika*, 74(96): 23-26.
- deboned meat of broiler chickens. *Veterinarski arhiv*, 81(2): 273-283.
- [7] Floren, C., Wiedemann, I., Brenig, B., Schutz, E., and Beck, J. (2015). Species identification and quantification in meat and meat products using droplet digital PCR (ddPCR). *Food Chemistry*, 173: 1054-1058.
- [8] Ghovvati, S., Nassiri, M. R., Mirhoseini, S. Z., Moussavi, A. H., and Javadmanesh, A. (2009). Fraud identification in industrial meat products by multiplex PCR assay. *Food Control*, 20(8): 696-699.
- [9] Fekri, M., Hosseini, H., Eskandari, S., Jahed, G. H., and Adib-Moradi, M. (2013). Histological study of sausages in point of unpermitted edible tissues assessment and its relationship to collage and hydroxyprolin of product. *Iranian Food Science and Technology Journal*, 41(10): 107-116 [In Persian].
- [10] Abbasy-Fasarani, M., Hosseini, H., Jahed-Khaniki, G. R., Adibmoradi, M., and Eskandari, S. (2013). Histological study of industrial hamburgers containing 30 and 60 percent meat for presence of unpermitted edible tissues and correlation of this factor to meat connective tissue chemical indices. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 7: 311-318 [In Persian].
- [11] Pospiech, M., Tremlová, B., Renčová, E., and Randulová, Z. (2009). Immunohistochemical detection of soya protein—optimisation and verification of the method. *Czech Journal of Food Sciences*, 27(1): 11-19.

Qualitative and Quantitative Analysis of Unauthorized Tissues in Heated Meat Products (Sausage) with Histological Method

Sayrafi, R. ^{1*}, Shalizar Jalali, A. ², Karimi, A. ³, Shiravani, Z. ⁴

1. Assistant professor, Department of Veterinary Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.
2. Assistant professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
3. PhD Graduated, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
4. MSc Graduated, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

(Received: 2017/05/21 Accepted:2017/09/05)

Due to the high consumption of meat products, there are some reports of fraud in some of the products. Because of the key role of histological techniques to recognize the type of tissues used in these products, in this study both conventional and special histological staining methods were conducted to assess the quality and quantity of unauthorized tissue likely used in the sausages on the market. Various samples of sausages were collected and 12 pieces of each sample were fixed in 10% buffered formalin solution. After routine histological processing, the sections were stained with heamatoxylin-eosin and Masson's trichrome staining. Unauthorized tissues such as the salivary gland, soft palate, heart muscle, aorta, hair, skin, bone and cartilage were observed in some samples. Bone and hyaline cartilage showed the highest frequency with 41.7% and 54.2%, respectively. By using Masson's trichrome staining, fascinated the detection of many tissues, especially connective tissue and small pieces of them. According to these results, performing the histological methods, particularly Masson trichrome staining seems applicable method to qualitatively and quantitatively diagnosis of unauthorized tissues in heated meat products.

Keywords: Sausage, Histology, Unauthorized tissues.

* Corresponding Author E-Mail Address: reza.sayrafi@gmail.com