



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

امکان سنجی استفاده از روش استریولوژی برای تعیین درصد گوشت بکار رفته در محصولات گوشتی خام (همبرگر) و حرارت دیده (سوسیس)

آزاده رشیدی مهر^۱، پریسا فلاحي^۲، عزیزاله زرگران^۳، فاطمه اسفراجانی^۴، مریم امیراحمدی^۵، سہیل اسکندری^{۶*}

۱- استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

۲- محقق، کارشناس ایمنی مواد غذایی در صنعت غذا و رئیس کمیته فنی انجمن فرآورده‌های گوشتی کشور، تهران، ایران.

۳- استادیار، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

۴- استادیار، اداره کل آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران.

۵- عضو هیات علمی مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران.

۶- دانشیار، اداره کل آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

برچسب‌گذاری دقیق مواد غذایی برای تجارتی منصفانه و توانمندسازی مصرف کنندگان جهت داشتن انتخابی آگاهانه از اهمیت بالایی برخوردار است. صحت‌گذاری میزان گوشت به‌کار رفته در تهیه فرآورده‌های گوشتی از مهم‌ترین فاکتورهای ارزیابی این فرآورده‌ها می‌باشد. لذا هدف از این تحقیق، کارایی آزمون استریولوژی در تشخیص مقدار گوشت بکار رفته در فرآورده‌های گوشتی خام (همبرگر) و حرارت دیده (سوسیس) بود. سه نمونه همبرگر (حاوی ۳۰، ۶۰ و ۹۰ درصد گوشت) به عنوان فرآورده گوشتی خام و سوسیس (حاوی ۴۰، ۶۰ و ۹۰ درصد گوشت) به عنوان فرآورده گوشتی حرارت دیده تهیه شدند. نمونه‌برداری Fractionator برای به دست آوردن بلوک‌های تصادفی یکنواخت سیستماتیک^۱ استفاده شد. در مجموع از هر نمونه ۱۲ بلوک به دست آمد و هر بلوک در فرمالین خنثی ۱۰ درصد تثبیت و در پارافین بلوک‌گیری شد. نمونه‌های به دست آمده، پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین (H&E)، توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. داده‌ها با روش آماری one-way ANOVA آنالیز و جهت مقایسه تفاوت‌های آماری بین گروه‌ها، از t-test استفاده شد. آنالیز استریولوژی نشان داد که درصد تعیین شده گوشت در همبرگر در درصدهای مختلف با درصد واقعی دارای اختلاف معنی‌داری نبوده، اما در مورد سوسیس بین درصد تخمین زده و درصد واقعی گوشت اختلاف معنی‌دار بوده است. روش استریولوژی می‌تواند روش مکمل مناسبی برای تشخیص مقدار گوشت اضافه شده به فرآورده‌های گوشتی خام باشد.

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۲۳

کلمات کلیدی:

ایمنی مواد غذایی،

تقلب،

اصالت،

حقوق مصرف کننده،

برچسب مواد غذایی

DOI: 10.22034/FSCT.20.137.49

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.137.4.4

* مسئول مکاتبات:

so.eskandari@sbmu.ac.ir

۱- مقدمه

گوشت یک رژیم غذایی متعادل حاوی ۲۰ تا ۳۵ درصد پروتئین است که قادر به تأمین تمامی اسیدهای آمینه ضروری می‌باشد [۱]. علاوه بر این، حاوی سطوح خوبی از لحاظ مواد معدنی، اسیدهای چرب و ویتامین‌ها (B_{12} , B_6 و D) بوده [۲] و بنابراین، منبع ارزشمندی از ریزمغذی‌های مختلف است که برای رشد و نمو ضروری می‌باشند [۱]. متوسط مصرف سرانه گوشت و مقدار کل گوشت مصرفی، به دلیل رشد جمعیت [۱]، افزایش درآمد و سنت‌های اجتماعی-فرهنگی که ارزش بالایی برای مصرف گوشت قائل هستند [۳]، در سراسر جهان به ویژه در کشورهای در حال توسعه افزایش یافته است [۱]. هرچند یک رژیم غذایی بدون گوشت و فرآورده‌های گوشتی ممکن است یکسری فواید برای سلامتی انسان داشته باشد اما برخی از ریزمغذی‌های مهم از طریق مواد غذایی غیرگوشتی به راحتی در دسترس قرار نمی‌گیرند [۴].

به طور کلی منابع پروتئینی با منشأ دامی مانند تخم‌مرغ، شیر و گوشت گاو به‌عنوان منبع کاملی از نظر تأمین اسیدهای آمینه ضروری برای رشد و نمو انسان در نظر گرفته می‌شوند. حال اینکه پروتئین‌های گیاهی ممکن است سطوح ناکافی از یک یا چند اسید آمینه ضروری را همراه داشته باشند، به‌طوری که مقدار اسیدهای آمینه گوگرددار متیونین و سیستئین در حبوبات و لیزین در غلات در سطح پایینی قرار دارد [۴]. به دلیل اینکه عمدتاً رژیم غذایی مردم کشورهای در حال توسعه شامل گیاهان زراعی می‌باشد، اغلب دچار کمبودهای خاصی در اسیدهای آمینه ضروری لیزین و متیونین هستند. این دو اسید آمینه به ویژه به مسیر خانواده آسپاراتات^۱ تعلق دارند که مسئول سنتز دو اسیدآمینه ضروری دیگر (ترئونین و ایزولوسین) نیز می‌باشند [۵]. مقدار پایین لیزین و متیونین در این گیاهان

موجب شده است که ارزش غذایی این گیاهان زراعی در مقایسه با رژیم غذایی دارای سطوح متعادل اسیدهای آمینه ضروری به ۵۰ تا ۷۵ درصد کاهش یابد. این محدودیت اسیدهای آمینه ضروری می‌تواند منجر به علائم غیراختصاصی کمبود پروتئین در انسان، مانند کاهش مقاومت در برابر بیماری‌ها، کاهش پروتئین‌های خون و عقب ماندگی ذهنی و جسمی در کودکان خردسال شود [۶].

همانطور که آگاهی مردم نسبت به ایمنی، قابلیت ردیابی و اصالت غذا در حال افزایش می‌باشد، برچسب گذاری و توصیف دقیق مواد غذایی به ویژه در مواد غذایی با فراوری بیشتر، بسیار حائز اهمیت است [۷]. برای محصولات غذایی فراوری شده، ساده‌ترین منبع اطلاعاتی؛ برچسب و مواد تشکیل دهنده آن است [۸]. برچسب‌گذاری صحیح برای حمایت و ترویج تجارت منصفانه، امری ضروری بوده و عدم تطابق تاسف‌بار بین مواد تشکیل‌دهنده واقعی مورد استفاده و موارد درج‌شده روی برچسب‌ها منجر به افزایش نگرانی در مصرف‌کنندگان خواهد شد. در این راستا صحت‌گذاری میزان گوشت به‌کار رفته در تهیه فرآورده‌های گوشتی از مهم‌ترین فاکتورهای ارزیابی این فرآورده‌ها است. بسیاری از مطالعات به‌ویژه روی فرآورده‌های گوشتی مانند گوشت چرخ‌شده یا سوسیس متمرکز شده‌اند چرا که در این فرآورده‌ها فرصت برای برچسب‌گذاری نادرست، بیشتر است [۹]. بنابراین، شناسایی اجزای اعلام شده روی برچسب‌ها، باید اولویت اصلی ارگان‌های نظارتی برای مبارزه با تقلب مواد غذایی در سطح عرضه باشد. همچنین کنترل برچسب مواد غذایی در کنترل کیفیت مواد غذایی، تضمین ایمنی و حمایت از مصرف کننده اهمیت زیادی دارد [۱۰]. این تقلبات امروزه به عنوان یک معضل بهداشتی و اقتصادی در صنایع غذایی به شمار می‌رود و لذا به‌کارگیری و طراحی روشی دقیق، حساس و

قابل اعتماد برای تعیین درصد گوشت به کار رفته در این محصولات ضروری است [۱، ۱۱].

بر اساس تجهیزات، تکنیک‌های مورد استفاده و همچنین هزینه و روش آماده‌سازی نمونه؛ روش‌های مختلفی برای شناسایی اجزای فرآورده‌های گوشتی پیشنهاد شده است [۱۲، ۱۳]. تاکنون در مطالعات بسیاری از هیستولوژی جهت شناسایی و تشخیص مقدار گوشت بکار رفته و تعیین کیفیت و ارزش غذایی فرآورده‌های گوشتی انجام شده است [۱۴]. این روش‌ها امکان تشخیص مستقیم یک بافت را در فرآورده‌های گوشتی میسر می‌سازد. بنابراین در اکثر مطالعات، از آن برای شناسایی تقلب‌های بافتی در مواد غذایی استفاده شده [۱۴، ۱۵] و مطالعات گذشته روش‌های هیستولوژیکی را به عنوان یک روش موثر در تشخیص بافت‌های غیرمجاز در فرآورده‌های گوشتی نشان داده‌اند [۱۶]. Mokhtar و همکاران نیز با استفاده از آنالیز هیستولوژیکی و شیمیایی در سال ۲۰۱۸ گزارش کردند که بافت‌های غیرمجاز مانند ریه، قلب، استخوان، غضروف، فاسیا (بافت پیوندی فیبری متراکم)، روده، غدد تیروئید، تاندون و بافت‌های مشکوک جنین و گیاهان به گوشت چرخ شده و سوسیس، اضافه شده است. وجود فاسیا و غضروف به مقدار بیش از حد مجاز در نمونه‌های فرآورده گوشتی باعث کاهش کیفیت و ارزش غذایی گوشت می‌شود [۱۷]. علاوه بر این، وجود بافت مغز نیز می‌تواند موجب خطر حمل عوامل عفونی قابل انتقال به انسان نظیر پریون شود [۱۸]. مطالعات دیگری نیز روی فرآورده‌های گوشتی مختلف با استفاده از تکنیک‌های هیستولوژی مانند همبرگر [۱۹] و هات داگ [۲۰] انجام و وجود مواد گیاهی، بافت چربی، رگ‌های خونی، اعصاب محیطی، استخوان و غضروف گزارش شده است.

تکنیک استریولوژی (آنالیز میکروسکوپی سه بُعدی) شاخه‌ای از ریاضیات کاربردی است [۲۱] که،

اطلاعات سه بعدی (3D) را از تصاویر دوبعدی (2D) اجزای بافت به کمک اصول ریاضی، آمار و هندسه به دست می‌آورد. برخی استریولوژی را با مورفومتری اشتباه گرفته‌اند حال آن‌که مورفومتری اندازه‌گیری فرم یا ساختار بافت با استفاده از کولیس است [۲۲]، بنابراین استریولوژی زیرمجموعه مورفومتری می‌باشد [۲۳]. برخی دیگر استریولوژی را با مفهوم استریوسکوپي اشتباه می‌گیرند. استریوسکوپي از یک جفت تصویر دو بعدی از همان بخش استفاده می‌کند که در زوایای کمی متفاوت (جفت‌های استریو) به دست آمده و دو تصویر را در یک تصویر سه بعدی ترکیب می‌کند [۲۳].

در تکنیک استریولوژی، جهت اندازه‌گیری کمی‌ها، از نمونه‌گیری تصادفی یکنواخت بدون سوگیری^۱ و تهیه برش‌هایی با ضخامت یکسان از مقاطع در هر بلوک بافتی استفاده می‌شود [۲۴]. بزرگترین مزیت استفاده از روش‌های استریولوژی دو ویژگی عدم سوگیری و کارایی است که در دیگر بررسی‌های مورفومتری یافت نمی‌شود [۲۵]. در استریولوژی می‌توان جنبه‌های گوناگونی مانند تعیین حجم بافت، تعیین تعداد ذرات خاص در نمونه، محاسبه‌ی سطح، محاسبه‌ی طول و پارامترهای متنوع دیگری را بسته به موضوع مورد مطالعه انتخاب نمود [۲۶]. در یک مطالعه که روی ۱۰۵ ساندویچ گوشتی مختلف از رستوران‌های متفاوت انجام شده بود، آنالیز تصاویر تهیه شده از میکروسکوپ نوری و الکترونی و روش‌های هیستولوژیکی، وجود بافت‌های غیرمجاز بیشماری مانند ریه، شکمبه، رگ‌های بزرگ خونی، غضروف، عضله قلب، بافت لنفی (طحال) و مواد گیاهی را نشان داد [۱۶]. با وجود اینکه مطالعه در زمینه تعیین درصد بافت‌های غیرمجاز در فرآورده‌های گوشتی به روش هیستولوژیکی

صورت گرفته است اما اطلاعات در زمینه تعیین درصد گوشت به روش استریولوژی محدود است.

با توجه به عدم انطباق برچسب فرآورده‌های گوشتی با فرمولاسیون محصول و عدم توانایی آزمون‌های شیمیایی کنترل کیفیت مطابق با استاندارد ملی ایران در تشخیص مقدار گوشت به کار رفته در این محصولات، این تحقیق با هدف بررسی کنترل مقدار گوشت مورد استفاده در فرآورده‌های گوشتی با تکنیک جدید و دقیق استریولوژی انجام گرفت و کارایی آزمون استریولوژی در تعیین درصد گوشت به کار رفته در فرآورده‌های گوشتی خام (همبرگر) و حرارت دیده (سوسیس) مورد بررسی قرار گرفت تا در صورت کارایی به سیاستگذاران ذیربط ارائه گردد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی نمونه

در این تحقیق از سه نمونه همبرگر (حاوی ۶۰، ۳۰ و ۹۰ درصد گوشت) به عنوان فرآورده گوشتی خام و از سه

نمونه سوسیس (حاوی ۴۰، ۶۰ و ۹۰ درصد گوشت) به عنوان فرآورده گوشتی حرارت دیده استفاده شد. نمونه فرآورده‌های گوشتی در واحد تولیدی شرکت پروتئین گستر سینا با هماهنگی انجمن صنایع فرآورده‌های گوشتی ایران، تهیه شدند. نمونه‌های سوسیس و همبرگر برای هر محصول با درصد گوشت متفاوت (مطابق با تقسیم‌بندی مندرج در استانداردهای ملی مربوطه مورد استفاده در واحد تولیدی) به میزان مورد نیاز برای سه بار تکرار آزمون، تهیه شدند.

ترکیبات مورد استفاده در تهیه همبرگر بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۰۴ در درصدهای ۶۰، ۳۰ و ۹۰ گوشت و با توجه به فرمولاسیون بیان شده در جدول ۱، در واحد تولیدی برای هر گروه تهیه شد. ترکیب بدست آمده با مواد افزودنی بهم زده شد تا خمیر یک دستی ایجاد شود و سپس در داخل کیسه فریزر ریخته و ضمن برچسب گذاری، در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد جهت طی مراحل قرنطینه نگهداری شدند.

Table 1 Hamburger formulation with different percentages of red meat

Hamburger; g (%)			
Compounds	30%	60%	90%
Beef	300 (30)	600 (60)	900 (90)
Fat	-	100 (10)	-
Vegetable oil	100 (10)	-	-
onion	250 (25)	200 (20)	27 (2.7)
Soy	120 (12)	-	-
Toasted flour	80 (8)	80 (8)	50 (5)
Bell pepper	30 (3)	-	-
Refined salt	10 (1)	10 (1)	13 (1.3)
Spices	10 (1)	10 (1)	10 (1)
Water	100 (10)	-	-
Total	1000 (100)	1000 (100)	1000 (100)

۲-۲- استریولوژی

نمونه‌های سوسیس و همبرگر در زنجیره سرد به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل و پس از کدگذاری نمونه‌ها، بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۶۱۰۳ هر نمونه مسطح شد. جهت نمونه‌برداری از صفحه مشبک به عنوان راهنمای برش برای بدست آوردن بلوک‌های تصادفی یکنواخت سیستماتیک^۳ استفاده و در مجموع از هر نمونه ۱۲ بلوک به دست آمد. هر بلوک در فرمالین^۴ خشی ۱۰ درصد تثبیت شده و سپس نمونه‌ها برای بررسی زیر میکروسکوپ نوری^۵ آماده‌سازی و در پارافین بلوک‌گیری شدند. هر بلوک آغشته با پارافین به ضخامت‌های ۶ میکرومتر برش داده شد و از هر بلوک یک لام برداشته و با استفاده از روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین^۶ (H&E) رنگ‌آمیزی شدند. برای تخمین حجم، میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین دیجیتالی^۷ مورد استفاده قرار گرفت. میدان‌های میکروسکوپی با حرکت دادن صفحه میکروسکوپ در جهت x و y برای یک فاصله ثابت با استفاده از صفحه موتوری انتخاب شدند. از هر نمونه ۳۶ مقطع تهیه و با لنز ۴ میکروسکوپ نوری از هر مقطع حداقل ۸ تصویر تهیه و مورد بررسی قرار گرفت. محاسبه حجم Fractional (V_v) گوشت با استفاده از سیستم نقطه‌ای آزمون (تصاویر ۱ و ۲) و فرمول زیر برآورد شد:

$$V_v (\text{گوشت}) = \frac{\sum P (\text{گوشت})}{\sum P (\text{نمونه})}$$

که در آن $\sum P$ (گوشت) تعداد نقاطی است که به فیبرهای عضله مخطط برخورد می‌کند و $\sum P$ (نمونه) تعداد نقاطی است که به کل نمونه برخورد می‌کند. پرآب‌های

مواد اولیه مرغوب و دارای شناسنامه مطابق با پروانه بهداشتی ساخت و طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۰۳ برای تهیه سوسیس انتخاب شد. ابتدا تمام ترکیبات مورد نیاز مطابق با فرمولاسیون سوسیس در جدول ۲ در دستگاه کاتر ریخته و تا زمان بدست آمدن خمیر گوشت^۱ همگن، کاتریزاسیون ادامه داده شد. خمیر گوشت بدست آمده با استفاده از دستگاه پرکن^۲ وارد پوشش مخصوص پلی‌آمیدی گردید که پس از برچسب‌گذاری وارد اتاق پخت شد. در اتاق پخت درجه حرارت ۸۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه تا ۱/۵ ساعت اعمال گردید. در نهایت جهت خنک‌سازی سوسیس مورد نظر ابتدا زیر دوش آب سرد عبور و سپس وارد سردخانه ۲ تا ۶ درجه سانتی‌گراد شد تا دمای مرکز محصول به حد مطلوب برسد.

Table 2 Sausage formulations with different percentages of red meat.

Sausage; g (%)			
Compounds	40%	60%	90%
Beef	2751 (39.3)	4200 (60)	5400 (90)
Wheat flour	594 (8.49)	210 (3)	-
Potato starch	110 (1.57)	140 (2)	60 (1)
Oil	1099 (15.7)	350 (5)	60 (1)
Pasteurized liquid eggs	220 (3.14)	490 (7)	60 (1)
Refined salt	88 (1.26)	94.5 (1.35)	60 (1)
Gluten	175 (2.5)	210 (3)	-
Soy	66 (0.94)	-	-
Spices	88 (1.26)	84 (1.2)	60 (1)
garlic	112 (1.6)	-	30 (0.5)
milk powder	-	70 (1)	60 (1)
Sugar	22 (0.314)	-	-
Sodium phosphate	20 (0.28)	28 (0.4)	24 (0.4)
Ascorbic acid solution	3 (0.04)	2.8 (0.04)	3 (0.05)
Sodium nitrite	0.7 (0.01)	0.84 (0.012)	0.72 (0.012)
Ice	1652 (23.6)	1120 (16)	186 (3.1)
Total	7000 (100)	7000 (100)	6000 (100)

1- Farsh

2- Filler

3- Systematic uniform random sampling

4- Merck; Darmstadt, Germany

5- CX40; Olympus, Tokyo, Japan

6- Hematoxylin and Eosin, Merck; Darmstadt, Germany

7- MB-225, Olympus, Tokyo, Japan

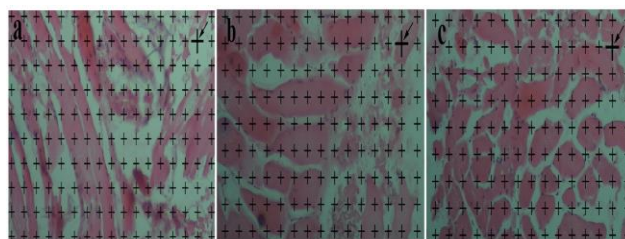
دارد ولی در چندین سال اخیر راه خود را در حیطه شاخه‌های گوناگون علوم تجربی به خوبی باز نموده و بالاخص در زمینه هیستولوژی و توکسیکولوژی کاربرد فراوانی یافته است. در این مطالعه نیز از آنالیز تصاویر بافتی برای ارزیابی درصد‌های تخمین زده گوشت در محصولات گوشتی استفاده شد.

در مطالعه حاضر تشخیص کمی مقدار گوشت به کار رفته در نمونه فرآورده‌های گوشتی خام (همبرگر) و حرارت دیده (سوسیس) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی استریولوژی در همبرگرها در جدول ۳ و تصویر ۱ نشان داده شده است. تفاوت معنی داری بین درصد گوشت‌های تخمین زده و مقدار واقعی گوشت در نمونه‌های مختلف همبرگرها وجود ندارد ($P>0.05$). بنابراین درصد‌های تخمین زده گوشت در همبرگرها در این نمونه‌های مختلف مقدار واقعی محتوای گوشت را در این محصول نشان می‌دهد.

Table 3 The estimated percentages of meat with different percentages in hamburger.

	Samp le 1	Samp le 2	Samp le 3	Mean± SD	P- valu e
Hambur ger 30%	28.3	29.1	26.4	27.9±1. 3	0.12
Hambur ger 60%	59.4	58.5	59.8	59.2±0. 66	0.18
Hambur ger 90%	88.7	89.1	85.6	87.8±1. 9	0.18

Significance level (P -value) calculated for the comparison of the estimated percentages with the real percentages.



هندسی که برای آنالیز استریولوژی ضروری می‌باشند با استفاده از نرم‌افزار اختصاصی^۱ تولید شدند.

۳-۲- آنالیز آماری

با استفاده از آزمون آماری one-way ANOVA درصد‌های مشاهده شده از مقادیر گوشت با درصد واقعی اضافه شده به نمونه مقایسه و نسبت سطح بافت مورد مشاهده و سطح مساحت کل برای هر عکس به عنوان میانگین $\pm$ انحراف استاندارد گزارش گردیده و برای تعیین تفاوت معنی داری بین درصد واقعی و تخمین زده شده از t -test استفاده شد. مقدار P value (درصد قرارگیری داده اندازه‌گیری شده در محدوده اطمینان ۹۵ درصد عدم قطعیت کل) کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

امروزه مطالبه اطلاعات دقیق و شفاف محصولات غذایی از سوی مصرف کنندگان بیش از هر زمان دیگری صورت می‌پذیرد و فرآورده‌های گوشتی نیز از این مسئله مستثنی نیستند. با توجه به اینکه با استفاده از روش‌های معمول کنترل کیفیت، امکان ارزیابی کیفیت گوشت مورد استفاده در تولید فرآورده‌های گوشتی امکان‌پذیر نیست، لذا به وسیله روش‌های تکمیلی مانند روش‌های هیستولوژیکی می‌توان ساختار اجزاء تشکیل‌دهنده فرآورده گوشتی را مشاهده و آن را از لحاظ کیفی مورد ارزیابی قرار داد. علاوه بر آن کاربرد آن در تکمیل استانداردها و اجرای قوانین مرتبط با فرآورده‌های گوشتی بسیار مؤثر و سودمند است. در این راستا استریولوژی علمی است که هر چند سابقه طولانی

1- ImageJ; <https://imagej.nih.gov>

گوشت چرخ شده‌ای که با مقادیر ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد سویا و سنگدان مخلوط شده بود، با مقادیر واقعی مطابقت داشت و بنابراین روش هیستولوژی را به عنوان روش مناسبی برای بررسی کمی و کیفی محصولات گوشتی پیشنهاد کردند [۲۷]. همچنین نتایج نشان می‌دهد که افزودن مواد گیاهی به فرآورده‌های گوشتی باعث می‌شود کیفیت گوشت کاهش یافته و ایمنی مواد غذایی به دلیل آلرژن بودن این ترکیبات، تحت تأثیر قرار گیرد.

در مطالعه Tremlova and Starha از تکنیک استریولوژی برای بررسی اندازه و تعداد قطعات استخوان مرغ در ۲۶ نمونه از گوشت طیور در محصولاتی مانند سوسیس، سالامی و گوشت چرخ شده استفاده شده است [۲۸]. این دو محقق همچنین در بررسی دیگری، از روش بافت‌شناسی برای اندازه‌گیری قطعات استخوان در ۲۹ نمونه از فرآورده‌های گوشتی مختلف استفاده و در نهایت نتایج به دست آمده را به کمک آنالیزهای شیمیایی تایید کردند [۲۹]. در مطالعه Lukaskova و همکاران کارایی استفاده از تکنیک استریولوژی در فرآورده‌های گوشتی جهت تشخیص درصد پروتئین گندم در مدل سوسیس به تایید رسیده است [۳۰].

در مطالعه دیگری نیز از روش‌های استریولوژی برای شناسایی بافت‌های غیرمجاز در فرآورده‌های گوشتی و تعیین درصد گوشت به کار رفته در گوشت چرخ شده، همبرگر و سوسیس جمع‌آوری شده از برندهای موجود در بازار استفاده شده است. Maghami و همکاران گزارش کردند که تفاوت مشخصی از نظر درصد گوشت واقعی نسبت به درصد روی برچسب وجود داشته و بافت‌هایی مانند ماهیچه‌های اسکلتی و صاف، عروق خونی، عصب، سنگدان، بافت چربی، بافت غدد، غضروف، استخوان، تاندون، پوست، بافت‌های لنفاوی و مواد گیاهی در این محصولات مشاهده شده و همچنین تایید کردند که

Fig 1 Point system for estimation of volume in different meat percentages of hamburger including 30 % (a), 60% (b) and 90% (c).

بر خلاف نمونه‌های همبرگر، در مورد نمونه‌های مختلف سوسیس بین درصد تخمین زده گوشت و درصد واقعی گوشت تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود ($P < 0.05$) (جدول ۴ و تصویر ۲). بنابراین، درصد تخمین زده محتوای گوشت در نمونه‌های مختلف سوسیس نمی‌تواند مقدار واقعی محتوای گوشت در این محصول را نشان دهد.

Table 4 The estimated percentages of meat with different percentages in sausage.

	Samp le 1	Samp le 2	Samp le 3	Mean±S D	P- valu e
Sausa ge 40 %	14.8	17.3	15.4	15.8±1.3	0.00 1
Sausa ge 60 %	35.2	30.7	36.1	34±2.8	0.00 4
Sausa ge 90 %	60.3	64.2	58.4	60.9±2.9	0.00 3

Significance level (P-value) calculated for the comparison of the estimated percentages with the real percentages.

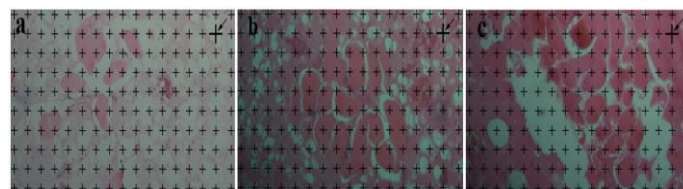


Fig 2 Point system for estimation of volume in different meat percentages of sausage including 40 % (a), 60% (b) and 90% (c).

تاکنون مطالعات در زمینه تشخیص کمی بافت‌های غیرمجاز در فرآورده‌های گوشتی با استفاده از آزمون‌های هیستولوژی صورت گرفته است. بررسی اثر روش هیستولوژی در تعیین کمی محتوای گیاهی و جانوری غیرمجاز در گوشت چرخ کرده توسط Sadeghinezhad و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که درصد‌های تخمین زده

دیده بوده است همچنین به دلیل مقاومت استخوان نسبت به مراحل آماده سازی بافتی ارزیابی درصد استخوان افزوده بیشتر امکان پذیر بوده است [۳۳].

۴- نتیجه گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که روش استریولوژی می تواند برای تخمین میزان گوشت مورد استفاده در فرآورده های گوشتی خام مورد استفاده قرار گیرد اما در مورد فرآورده های گوشتی حرارت دیده از دقت لازم برخوردار نمی باشد. لذا از روش استریولوژی می توان به عنوان روش تکمیلی و قابل اعتماد جهت تعیین درصد گوشت اضافه شده در فرآورده های گوشتی خام (همبرگر) و مقایسه آن با برچسب گذاری استفاده کرد.

۵- سپاسگزاری

مقاله حاضر پیرو تصویب و اجرای طرح پژوهشی با کد پژوهان به شماره ۱۵۵۹۳ تنظیم شده و نویسندگان مایلند از حمایت شورای تحقیقاتی پژوهشکده تغذیه و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و نیز همکاری و حمایت انجمن صنایع فرآورده های گوشتی ایران و واحد تولیدی شرکت پروتئین گستر سینا در تهیه نمونه ها و آزمایشگاه بافت شناسی گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به جهت تجزیه و تحلیل نمونه ها تشکر کنند.

۶- ملاحظات اخلاقی طرح

فرم اظهارنامه پژوهشگر و ارزیابی اخلاق در پژوهش تکمیل و اعلام شد و بر این اساس، کمیته اخلاق انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور در مورخ ۱۳۹۹/۰۵/۰۵ کد اخلاق به شماره IR.SBMU.nnftri.Rec.1399.022 را اعطاء نمود.

استریولوژی روشی قابل اعتماد برای تعیین و تایید درصد گوشت استفاده شده در فرآورده های گوشتی می باشد [۳۱].

به طور کلی بر اساس نتایج، درصد تعیین شده گوشت در همبرگر در درصدهای مختلف (۳۰، ۶۰ و ۹۰ درصد) با درصد واقعی دارای اختلاف معنی داری نبوده ($P>0.05$) و آزمون استریولوژی با دقت قادر به تشخیص کمی مقادیر گوشت اضافه شده در این محصول گوشتی بوده است اما در مورد سوسیس بین درصد تخمین زده گوشت و درصد واقعی گوشت مصرف شده اختلاف معنی دار مشاهده شد ($P<0.05$). در یک مطالعه درصد گوشت به کار رفته در مدل فرآورده های گوشتی خام (کباب لقمه) و حرارت دیده (کالباس) مورد بررسی قرار گرفت که همانند مطالعه حاضر بین درصدهای مختلف کالباس با درصد واقعی اختلاف معنی داری وجود داشت این در حالی است که در مورد کباب لقمه مقدار تعیین شده اختلاف معنی داری با مقدار واقعی نداشت بنابراین روش های هیستولوژی قادر به تشخیص درصد گوشت اضافه شده می باشد [۳۲] که این مطلب می تواند در نتیجه آسیب بافتی ناشی از اعمال حرارت در طی فرآوری محصول و از بین رفتن جزئیات ساختمانی آن باشد [۳۲]. اما برخلاف مطالعه حاضر، در تحقیق Maghami و همکاران نتایج استریولوژی یک نمونه استاندارد با ۶۵ درصد گوشت، تفاوت بسیار جزئی با درصد تخمین زده گوشت (۶۳ تا ۶۴ درصد) نشان داد البته این مطالعه صرفاً در یک نمونه سوسیس ۶۵ درصد انجام شده است [۳۱].

علاوه بر این مطالعات نشان داده است که آزمون های هیستولوژیکی یک روش موثر برای ارزیابی درصد بافت های غیرمجاز (استخوان و پوست) در فرآورده های گوشتی خام و حرارت دیده (کالباس و کباب لقمه) بازساخته، است با این حال ارزیابی کمی بافت های افزودنی در فرآورده های خام راحت تر از فرآورده های حرارت

۷- منابع

- [1] Galal-Khallaf, A. 2021. Multiplex PCR and 12S rRNA gene sequencing for detection of meat adulteration: A case study in the Egyptian markets. *Gene*. 764: 145062.
- [2] FAO, Meat Consumption. 2019: Retrieved from <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/background.html>. Last accessed August 2019.
- [3] Delgado, C.L. 2003 Rising consumption of meat and milk in developing countries has created a new food revolution. *The Journal of nutrition*. 133(11): 3907-3910.
- [4] Hertzler, S.R., J.C. Lieblein-Boff, M. Weiler, and C. Allgeier. 2020. Plant Proteins: Assessing Their Nutritional Quality and Effects on Health and Physical Function. *Nutrients*. 12(12): 3704.
- [5] Galili, G., R. Amir, R. Hoefgen, and H. Hesse. 2005. Improving the levels of essential amino acids and sulfur metabolites in plants. *Biological Chemistry*. 386(9): 817-831.
- [6] Galili, G. and R. Amir. 2013. Fortifying plants with the essential amino acids lysine and methionine to improve nutritional quality. *Plant biotechnology journal*. 11(2): 211-222.
- [7] Soman, M., R.J. Paul, M. Antony, and S. Padinjarattath Sasidharan. 2020. Detecting mislabelling in meat products using PCR-FINS. *Journal of Food Science and Technology*. 57(11): 4286-4292.
- [8] European Commission, E., The Rapid Alert System for Food and Feed 2013 Annual Report; European Union. 2014, Available online: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2013.pdf (accessed on 27 July 2020). Luxembourg.
- [9] Naaum, A.M., H.R. Shehata, S. Chen, J. Li, N. Tabujara, D. Awmack, C. Lutze-Wallace, and R. Hanner. 2018. Complementary molecular methods detect undeclared species in sausage products at retail markets in Canada. *Food Control*. 84: 339-344.
- [10] Teh, A.H.T. and G.A. Dykes, eds. *Encyclopedia of Meat Sciences*, 2nd edn. 2014. pp. 265-269.
- [11] Dolch, K., S. Andrée, and F. Schwägele. 2020. Comparison of real-time PCR quantification methods in the identification of poultry species in meat products. *Foods*. 9(8): 1049.
- [12] Aida, A.A., Y.C. Man, C.M.V.L. Wong, A.R. Raha, and R. Son. 2005. Analysis of raw meats and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication. *Meat science*. 69(1): 47-52.
- [13] Ballin, N.Z. 2010. Authentication of meat and meat products. *Meat science*. 86(3): 577-587.
- [14] Abbasy-Fasarani, M., H. Hosseini, G.R. Jahed-Khaniki, M. Adibmoradi, and S. Eskandari. 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(5): 311-318. [Persain].
- [15] Fekri, M., H. Hosseini, S. Eskandari, G.R. Jahed, and M. Adib-Moradi. 2013. Histological study of sausages in point of unpermitted edible tissues assessment and its relationship to collage and hydroxyprolin of product *Journal of Sciences & Food Technology*. 10 (41): 107-116. [Persian].
- [16] Abdel Hafeez, H.H., R.S. Zaki, and A.E.-M.D. S. 2016. Applying Light, Histochemical and Scanning Histological Methods for the Detection of Unauthorized Animal and Herbal Content in Street Meat Sandwich: What is in the Sandwich We Eat? *Journal of Food Processing & Technology*. 7:12: 643.
- [17] Mokhtar, D.M., D.M. Abd-Elaziz, H. Youssef, and A. Taha. 2018. Applied histological and chemical analysis for detection of adulteration of minced meat and sausage. *Journal of Advanced Microscopy Research*. 13(3): 345-53.
- [18] Kale, M., S. Hasircioglu, C. Ozturk, A.S. Akcan Kale, and Y. Dogruer. 2012. Detection of central nervous system tissue as bovine spongiform encephalopathy specified risk material in traditional Turkish meat products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92(8): 1653-1656.
- [19] Prayson, B., J.T. McMahon, and R.A. Prayson. 2008. Fast food hamburgers: what are we really eating? *Annals of Diagnostic Pathology*. USA. 12(6): 406-409.

- [20] Prayson, B.E., J.T. McMahon, and R.A. Prayson. 2008. Applying morphologic techniques to evaluate hotdogs; what is in the hotdogs we eat? . *Annals of Diagnostic Pathology*. USA. 12(6): 98-102.
- [21] Royet, J.P. 1991. Stereology: a method for analyzing images. *Progress in neurobiology*. 37(5): 433-474.
- [22] Mandarin-de-Lacerda, C.A., C. Fernandes-Santos, and M.B. Aguila, Image analysis and quantitative morphology. In *Histology Protocols*. 2010: Humana Press, Totowa, NJ.
- [23] Basgen, J.M. 2003. Basic stereology. *Microscopy Today*. 11(1): 12-17.
- [24] Casteleyn, C., W. Van den Broeck, and P. Simoens. 2007. Histological characteristics and stereological volume assessment of the ovine tonsils. *Veterinary immunology and immunopathology*. 120(3-4): 124-135.
- [25] Gundersen, H.J.G., P. Bagger, T.F. Bendtsen, S.M. Evans, L.X.M.N. Korbo, N. Marcussen, A. Miziller, K. Nielsen, J.R. Nyengaard, B. Pakkenberg, F.B. Sizirensen, A. Vesterby, and M.J. West. 1988. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *Apmis*. 96(7-12): 857-881.
- [26] Gundersen, H.J. and E.B. Jensen. 1987. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *Journal of microscopy*. 147(3): 229-263.
- [27] Sadeghinezhad, J., B. Hajimohammadi, F. Izadi, F. Yarmahmoudi, and R. Latorre. 2016. Evaluation of the morphologic method for the detection of animal and herbal content in minced meat. *Czech Journal of Food Sciences*. 33(6): 564-569.
- [28] Tremlova, B. and P. Starha. 2002. Histometric evaluation of meat products-determination of size and number of objects. *Czech Journal of Food Sciences*. 20(5): 175-180.
- [29] Tremlova, B. and P. Starha. 2003. Histometric evaluation of meat products: Determination of area and comparison of results obtained by histology and chemistry. *Czech Journal of Food Sciences*. 21(3): 101-106.
- [30] Řezáčová Lukášková, Z., M. Pospiech, B. Tremlová, E. Renčová, and M. Petrášová. 2015. Quantitative immunohistochemical method for detection of wheat protein in model sausage. *Acta Veterinaria Brno*. 83(10): 71-76.
- [31] Maghami, N.D., A. Nabipour, M. Mohsenzadeh, and M. Torabi. 2022. Histological and stereological approaches for detection of tissues and fraud in some meat products. *Veterinary Research Forum*. 13(1): 47.
- [32] Hajimohammadi, B., K. Fattahi, Z. Kavyani Yekta, J. Sadeghinezhad, H. Morovvati, and A. Akhondzadeh Basti. 2020. Experimental Study of the Histological Method for Quantitative Detection of Meat in Kabab and Cooked Sausage Model. *Journal of Veterinary Research*. 75(3): 366-370.[Persian].
- [33] Sadeghinezhad, J., H. Morowati, Z.K. Yekta, K. Fattahi, and R.B. Bafrouie. 2019. Evaluation of the Histological Method in Quantitative Detection of Unauthorized Tissues (chicken skin and bone) in Reconstructed Kabab Loghme and Kielbasa. *Tolooebehdasht*. 18(2): 57-69.[Persian]



Scientific Research

Feasibility study of the stereological method to determine the percentage of meat used in raw (Hamburger) and heat-treated (Sausage) meat products

Azadeh Rashidimehr¹, Parisa Falahi², Azizollah Zargarani³, Fatemeh Esfarjani³, Maryam Amirahmadi^{4,5}, Soheyl Eskandari^{5,6*}

1- Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

2- Researcher, Private Sector Food Safety Expert and Head of the Technical Committee of Iran Meat Products Association, Tehran, Iran.

3- Assistant Professor, National Nutrition and Food Technology Research Institute (NNFTRI), Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services (SBMU), Tehran, Iran.

4- Assistant Professor, Food, Drug and Medical Equipment Control Laboratories, Food and Drug Administration, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran.

5- Food and Drug Laboratory Research Center (FDLRC), Food and Drug Administration (IR-FDA), Ministry of Health and Medical Education (MoH+ME), Tehran, Iran.

6- Associate Professor, Food, Drug and Medical Equipment Control Laboratories, Food and Drug Administration, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran.

ABSTRACT

Accurate food labelling is of utmost importance for fair trade and empowering consumers to make knowledgeable choices. Quantitative assessment of the meats is one of the most important factors in authentication of this meat product. Therefore, the purpose of this research was the efficiency of the stereological method for detection of the percentage of meat used in raw (Hamburger) and heat-treated (Sausage) meat products. In this study, three samples of beef burger (containing 30, 60 and 90 % meat) and sausage (containing 40, 60 and 90 % meat) were prepared. Each sample was flattened, and then fractionator sampling using a perforated plate as a cutting guide was used for getting systematic uniform random blocks. Totally, 12 blocks were taken from each sample. Each block was fixed in 10 % neutral formalin and embedded in paraffin. The obtained samples, after preparation of tissue sections and staining using haematoxylin and eosin (H&E), were studied by a light microscope. The data were analyzed using one-way ANOVA statistical method and t-test was used to compare significance difference between groups. Stereological analysis showed that the estimated meat percentages in beef burger in different percentages (30, 60 and 90%) did not have a significant difference with the real percentages of meat. In the case of sausage, there was significant difference between the estimated meat percentages and the real percentages of meat in different samples of sausage. Stereology method can be a suitable complementary method to detect the amount of meat used in raw meat products.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/1/17

Accepted: 2023/4/12

Keywords:

Food Safety,
Fraud,
Authenticity,
Consumer Rights,
Food Label

DOI: 10.22034/FSCT.20.137.49

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.137.4.4

*Corresponding Author E-Mail:
so.eskandari@sbmu.ac.ir