

مطالعه بافت شناسی فرآورده های گوشتی حرارت دیده از نظر وجود بافتهای غیر مجاز و ارتباط آن با میزان کلاژن و هیدروکسی پرولین فرآورده

معصومه فکری^۱، هدایت حسینی^{۲*}، سهیل اسکندری^۳، غلامرضا جاهد^۴، مسعود ادیب مرادی^۵

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

۲- دانشیار، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

۴- دانشیار، گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

۵- دانشیار، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۲۸)

چکیده

مصرف فرآورده های گوشتی از جمله سوسیس و کالباس در اکثر نقاط کشور از جمله شهرهای بزرگ و صنعتی مانند تهران رو به افزایش است. بطوریکه مصرف سرانه آن در کشور به بیش از 5 کیلوگرم در سال میرسد. بنابراین کیفیت و سلامت این محصولات غذایی بویژه کنترل کیفیت و شناسایی مواد اولیه ای که در تولید آنها بکار می رود از اهمیت زیادی برخوردار است. در این مطالعه تعداد ۳۰ نمونه از سه نوع سوسیس حرارت دیده گوشت قرمز با درصد گوشت محتوی ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد از ۱۰ کارخانه تولید کننده در سطح استان تهران به طور تصادفی نمونه برداری شد. نمونه ها از نظر وجود بافتهای غیر مجاز خوراکی به روش بافت شناسی وهمچنین شاخص های شیمیایی وابسته به کلاژن شامل میزان اسید آمینه هیدروکسی پرولین، کلاژن و نسبت کلاژن به پروتئین تام مورد آزمون قرار گرفتند. بر اساس نتایج حاصله از آزمون بافت شناسی به ترتیب ۷۰، ۶۰ و ۳۰ درصد از نمونه های سوسیس ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد گوشت قرمز دارای بافتهای غیرمجاز خوراکی بودند. بافتهای غیر مجاز خوراکی شناسایی شده در این مطالعه شامل پوست مرغ، غضروف شفاف، چربیهای صفاتی و کلیه بود. نتایج آزمونهای شیمیایی هیدروکسی پرولین، کلاژن و نسبت کلاژن به پروتئین تام در نمونه های سوسیس نشان دهنده انطباق کامل نمونه های مورد مطالعه از نظر شاخص های شیمیایی کنترل کیفیت با استاندارد ملی مربوطه بود. مقایسه نتایج آزمون بافت شناسی با شاخص های شیمیایی نشان داد که ارتباط معنی داری بین نتایج دو روش بافت شناسی و تعیین شاخص های شیمیایی وابسته به کلاژن برای تشخیص استفاده از بافت غیر مجاز در محصول سوسیس وجود ندارد ($P>0.05$). مقایسه نتایج نشان داد روش بافت شناسی قدرت تشخیص بسیار قوی تری برای شناسایی بافتهای غیر مجاز خوراکی نسبت به روش شیمیایی تعیین شاخص های وابسته به کلاژن دارد.

کلید واژه گان: سوسیس، بافتهای غیرمجاز خوراکی، هیدروکسی پرولین، کلاژن، بافت شناسی

* مسئول مکاتبات: hedayat@sbm.ac.ir

۱- مقدمه

از آنجا که آزمونهای معمول شیمیایی کنترل کیفیت فرآورده های گوشتی حرارت دیده که بر اساس استاندارد ملی ایران انجام می شود، توانایی تشخیص تقلبات جایگزینی بافتهای غیر مجاز حیوانی به جای گوشت و شناسایی آنها را در فرآورده های گوشتی ندارد، استفاده از آزمون تکمیلی بافت شناسی بمنظور کنترل کیفیت دقیق تر محصولات گوشتی مد نظر قرار گرفت. لذا در این مطالعه ضمن بررسی بافت شناسی برخی از فرآورده های گوشتی حرارت دیده عرضه شده در سطح شهر تهران از نظر وجود بافتهای غیر مجاز خوراکی، ارتباط آن با شاخص های شیمیایی وابسته به میزان کلاژن و هیدروکسی پرولین فرآورده گوشتی انجام شد.

۲- مواد و روشها

در این تحقیق با استفاده از جدول اعداد تصادفی اسامی ۱۰ کارخانه تولید کننده فرآورده های گوشتی در سطح استان تهران از فهرست موجود انتخاب گردید. سپس از سطح عرضه ۳ محصول سوسیس گوشت قرمز با درصد های گوشت محتوی ۴۰، ۵۵ و ۷۰ تولید شده در کارخانجات استان تهران انتخاب شده به روش تصادفی خریداری گردید. بعد از ثبت مشخصات، نمونه ها کد بندی شدند و در بخش های شیمی مواد غذایی و بافت شناسی آزمایشگاههای مرجع کنترل غذا و دارو وزارت بهداشت مورد آزمون قرار گرفتند.

۲-۱- آزمونهای شیمیایی

ابتدا نمونه ها با چرخ گوشت به قطر سوراخهای ۴ میلی متر چرخ گردید. سپس توسط مخلوط کن همگن شد و آزمایشات شیمی که شامل اندازه گیری میزان پروتئین تام و هیدروکسی پرولین بود با دو تکرار بر روی نمونه ها انجام شد.

۲-۱-۱ اندازه گیری مقدار پروتئین تام

برای اندازه گیری پروتئین از روش ماکروکلدال استفاده شد، این روش شامل سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون بود و بر اساس میزان ازت تیترا شده، مقدار پروتئین محاسبه گردید.

به این منظور ۲ گرم از نمونه آماده شده و هموزن شده با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن گردید و در لوله های مخصوص هضم پروتئین دستگاه هضم و تقطیر Buchi321 قرار داده شد و یک گرم سولفات مس و ۱۰ گرم سولفات پتاسیم و تعدادی گویچه شیشه ای به لوله اضافه گردید. روی آن ۲۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ

گوشت و فرآورده های آن یکی از منابع با ارزش پروتئینی برای تغذیه انسان محسوب می شوند. غنی بودن گوشت از پروتئین های حاوی اسیدهای آمینه ضروری، مواد معدنی مانند آهن و روی و انواع ویتامین ها و نیز انرژی کافی، موجب می شود تا آن را در زمره بهترین و کاملترین مواد غذایی طبقه بندی نمایند [۱]. در کشور ما صنایع تولید فرآورده های گوشتی بویژه در ده سال اخیر یکی از مهمترین شاخه های صنایع غذایی به شمار می آید. استفاده از مواد اولیه مرغوب و مجاز و رعایت شرایط مطلوب بهداشتی در تولید این فرآورده ها از اهمیت بالایی برخوردار است. سوسیس و کالباس یکی از پرمصرف ترین فرآورده های گوشتی در دنیا محسوب می شوند که در تهیه آنها علاوه بر گوشت اجزای دیگری نیز به کار می رود اما به هر حال گوشت یکی از مهمترین اجزاء تشکیل دهنده این فرآورده است و بشدت کیفیت و ایمنی آن را تحت تاثیر قرار می دهد.

آمار و اطلاعات موجود نشان می دهد در سالهای اخیر به علت مشکلات ناشی از گرانی گوشت و محدودیت منابع تامین آن، از کیفیت و ارزش تغذیه ای این فرآورده ها تا حد قابل توجهی کاسته شده است و استفاده از بافتهای غیر مجاز خوراکی، پرکننده های دارای منشا گیاهی و پروتئین های غیر گوشتی در تولید این محصولات افزایش یافته است. بطوریکه در پاره ای از موارد، اطلاق فرآورده های گوشتی به این گروه از فرآورده ها صحیح به نظر نمی رسد [۲]. بافتهای غیر مجاز خوراکی بر اساس استاندارد ملی ایران شامل احشاء حیوانات مانند صفاق، کلیه، ریه، طحال، اندام های تناسلی و پوست می باشد که گاهی جایگزین بخشی از گوشت در فرمول می شود و در فرآورده های گوشتی اعم از خام و حرارت دیده مشکلات بهداشتی و شرعی را برای مصرف کنندگان ایجاد می کند. زیرا بافتهای غیر مجاز دارای بار میکروبی بالاتر نسبت به عضله مخطط بوده و حتی در انتقال عوامل عفونی نظیر سالمونلا و اشرشیا کلی می توانند نقش مهمی داشته باشند. علاوه بر آن ارزش کیفی پروتئین موجود در بافتهای غیر مجاز بدلیل فقیر بودن از اسید های آمینه ضروری بسیار کمتر از عضله مخطط است و در نهایت از نظر شرع مقدس اسلام خوردن برخی از بافتهای حاوی غدد و همبمنظور طحال حرام می باشد [۲ و ۳].

دقیقه در دمای اطاق نگهداری گردید و بالاخره ۱ میلی لیتر معرف رنگی (۴- دی متیل آمین بنزالدئید) به آن اضافه شد و پس از مخلوط نمودن، درب لوله با فویل پلاستیکی بسته و بلافاصله در بن ماری با حرارت ۶۰/۵-۵۹/۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. پس از آن لوله ها زیر شیر آب سرد به مدت ۳ دقیقه خنک گردید و میزان جذب نوری محلول رنگی در طول موج حدود ۵۵۸±۲ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر در برابر شاهد قرائت گردید.

سپس به ترتیب میزان هیدروکسی پرولین برحسب $g/100gr$ ،

کلاژن و کلاژن به پروتئین تام (بر اساس فرمول های شماره ۳ و ۲) محاسبه گردید [۳].

$$H = 2.5 h/mv$$

فرمول شماره ۲

h = معادل میزان هیدروکسی پرولین بر حسب میکروگرم در ۲ میلی لیتر محلول صاف شده

m = وزن نمونه برداشتی برای آنالیز

v = حجم محلول صاف شده برداشتی برای تهیه رقت تا ۱۰۰ ml در مرحله هیدرولیز

با توجه به اینکه تقریباً ۱۲/۵ درصد وزنی پروتئین کلاژن را اسید آمینه هیدروکسی پرولین تشکیل می دهد از روی میزان هیدروکسی پرولین بدست آمده و با در نظر گرفتن ضریب ۸ میزان کلاژن محصول محاسبه گردید [۴].

$$\text{Collagen (g/100gr)} = H \times 8$$

فرمول شماره ۳

۲-۲-۲- آزمون بافت شناسی

محصولات پس از کدبندی بر روی میز نمونه برداری قرار گرفت و از دو انتها و وسط آن به کمک اسکالپل ۳ قطعه به ابعاد یک سانتی مترمکعب جدا گردید و از هر مقطع تعداد ۴ عدد لام تهیه و به روش هماتوکسیلین-اؤزین رنگ آمیزی شد (برای مطالعه هر نمونه سوسیس ۱۲ عدد لام تهیه و رنگ آمیزی شد) و در مجموع برای ۳۰ نمونه مورد مطالعه، ۳۶۰ عدد لام تهیه و از نظر بافت شناسی و وجود سلول های مرتبط با بافتهای غیر مجاز مطالعه گردید.

اضافه شد و تا انجام هضم کامل از حرارت مستقیم اجاق الکتریکی دستگاه استفاده گردید. پس از سرد شدن، لوله به سیستم تقطیر دستگاه متصل گردید و پس از اضافه کردن ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر و ۲۵ میلی لیتر سود ۴۰٪ محتویات لوله بمدت ۱۰ دقیقه تقطیر شد. گاز آمونیاک حاصل از طریق مبرد، در یک ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتری حاوی ۵۰ میلی لیتر اسید بوریک به علاوه چند قطره معرف متیل رد جمع آوری گردید. سپس محتوی ارلن مایر را توسط سود ۰/۱ نرمال تیترو نمودیم و از روی میزان سود مصرفی میزان پروتئین تام بر اساس فرمول زیر محاسبه شد [۳].

$$TP = (v1-v2)N \times 6.25/M \times 100$$

فرمول شماره ۱

TP = پروتئین تام بر حسب گرم درصد

N = میلی اکی والان ازت که برابر ۰/۰۱۴ است

VI = مقدار سود مصرفی از نرمال جهت تیتراسیون شاهد

M = وزن نمونه برداشتی

V2 = مقدار سود مصرفی از نرمال جهت تیتراسیون نمونه

۲-۱-۲- اندازه گیری هیدروکسی پرولین بر اساس روش

کلریمتری AOAC 2000

۴ گرم از نمونه آماده شده و هموزن شده با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد و به داخل یک ارلن مایر منتقل گردید. در مرحله بعد ۳۵ میلی لیتر اسیدسولفوریک ۷ نرمال روی محتویات داخلی ارلن مایر اضافه شد و درب آن با یک شیشه ساعت پوشانیده شد و سپس در داخل فور الکتریکی با دمای ۱۰۵±۳ درجه سانتی گراد برای مدت ۱۶ ساعت قرار داده شد. پس از این مدت محتویات داخل ارلن مایر به صورت گرم به داخل بالن منتقل و تا حجم ۵۰۰ میلی لیتر با آب به حجم رسانیده شد و صاف گردید. محلول صاف شده را می توان برای مدت ۲ روز در چهار درجه سانتی گراد نگهداری نمود.

سپس ۵ میلی لیتر از صاف شده برداشته شد و به داخل بالن ژوژه صد میلی لیتری منتقل گردید و آنگاه با کمک آب مقطر به حجم رسانیده شد. در مرحله بعدی مقدار ۲ میلی لیتر از رقت بدست آمده در لوله آزمایش ریخته شد و یک میلی لیتر محلول کلر آمین $T(1/4)$ درصد) به آن اضافه شد و پس از مخلوط نمودن به مدت ۲۲-۱۸

جدول ۲ مقایسه میزان کلاژن (Mean±SD) در

سوسیس های، ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد گوشت قرمز

حد مجاز	انحراف استاندارد	میانگین	تعداد	در صد گوشت فراورده
۰/۱	۰/۰۰۳	۰/۱۶۳	۱۰	۴۰
۰/۱۳	۰/۰۰۲	۰/۱۷۳	۱۰	۵۵
۰/۱۵	۰/۰۰۲	۰/۱۹۲	۱۰	۷۰

جدول ۳ مقایسه میزان پروتئین تام (Mean±SD)

در سوسیس های، ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد گوشت قرمز

حد مجاز	انحراف استاندارد	میانگین (درصد)	تعداد نمونه	در صد گوشت فراورده
۱/۱۲	۰/۰۳۷	۰/۱۸۶	۱۰	۴۰
۱/۵۲	۰/۰۳۴	۰/۲۱۹	۱۰	۵۵
۱/۷۶	۰/۰۲۵	۰/۲۵۲	۱۰	۷۰

جدول ۴ مقایسه میزان نسبت کلاژن به پروتئین تام (Mean±SD)

در سوسیس های، ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد گوشت قرمز

حد مجاز	انحراف استاندارد	میانگین (درصد)	تعداد نمونه	در صد گوشت فراورده
۱۱/۵	۱/۵۵	۱۱/۵	۱۰	۴۰
۱۲	۰/۹۳۲	۱۲/۶	۱۰	۵۵
۱۴	۱/۱۴	۱۳/۲	۱۰	۷۰

نتایج نشان می دهد میانگین میزان اسید آمینه هیدروکسی پرولین بعنوان شاخصی از بافت پیوندی حاوی پروتئین کلاژن در فرآورده های ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد برترتیب ۰/۰۲۳۳، ۰/۰۲۷۴ و ۰/۰۳۱۶ درصد است که با توجه به حد تعیین شده در استاندارد ملی فرآورده های گوشتی حرارت دیده مطابق جدول شماره ۵ تمامی نمونه های مورد بررسی دارای اسید آمینه هیدروکسی پرولین و پروتئین کلاژن حاصل از بافت پیوندی کمتر از حد مجاز بودند [۷۸].

حسینی و همکاران در سال ۱۳۸۵، میزان هیدروکسی پرولین، کلاژن، پروتئین تام و نسبت کلاژن به پروتئین تام را در ۱۵۰ نمونه

در مطالعه بافت شناسی به منظور تثبیت سلول های بافتی هر نمونه بمدت یک هفته در فرمالین ۱۰ درصد حاوی بافر قرار داده شد. سپس بمنظور آگیری، شفاف کردن و قالب گیری با پارافین نمونه های بافتی ثابت شده از دستگاه اتوتکنیکوم هیستوکینتیک -Histo line laboratories, Italy استفاده شد. نمونه های قالب گیری شده با پارافین به وسیله دستگاه میکروتوم MRS 3500, Italy به ضخامت ۶ میکرون برش داده شد و روی لام تثبیت گردید.

در ادامه با استفاده از زایلول برش های بافتی تثبیت شده روی لام پارافین زدایی گردید و پس از عبور از ظروف الکل اتیلیک با غلظت نزولی ۱۰۰ تا ۸۰ درجه، آب دهی گردید. در مرحله آخر برای رنگ آمیزی نمونه های بافتی از رنگ هماتوکسیلین-انوزین استفاده شد [۵، ۶].

نتایج بدست آمده از آزمونهای شیمیایی و بافت شناسی با استفاده از نرم افزار SPSS (Ver. 16) و تست های آماری ANOVA و TUKEY مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث**۳-۱- یافته های شیمیایی**

در این مطالعه شاخص های پروتئینی مرتبط با بافت پیوندی بعنوان نشانگر بافت های غیر مجاز خوراکی شامل میزان هیدروکسی پرولین، کلاژن و نسبت کلاژن به پروتئین تام نمونه های سوسیس گوشت قرمز ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد اندازه گیری شد که نتایج آن به ترتیب در جداول ۱ الی ۴ آورده شده است.

جدول ۱ مقایسه میزان هیدروکسی پرولین (Mean±SD) در

سوسیس های ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد گوشت قرمز

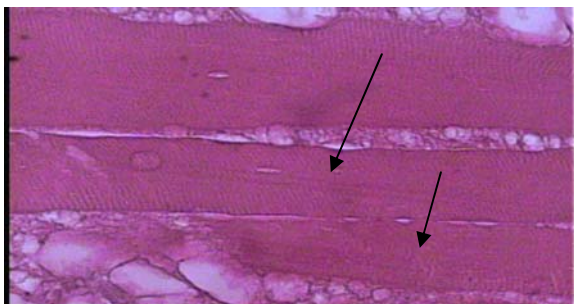
حد مجاز	انحراف استاندارد	میانگین (درصد)	تعداد نمونه	در صد گوشت فراورده
۰/۱۴ ± ۰/۰۲	۰/۰۰۴	۰/۰۲۳۳	۱۰	۴۰
۰/۱۹ ± ۰/۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۲۷۴	۱۰	۵۵
۰/۲۲ ± ۰/۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۳۱۶	۱۰	۷۰

شده انطباق داشتند، مشخص می شود شاخص نسبت کلاژن به پروتئین تام دقت بالاتری در شناسایی تقلبات استفاده از بافت غیر مجاز خوراکی در فرآورده های گوشتی را دارد.

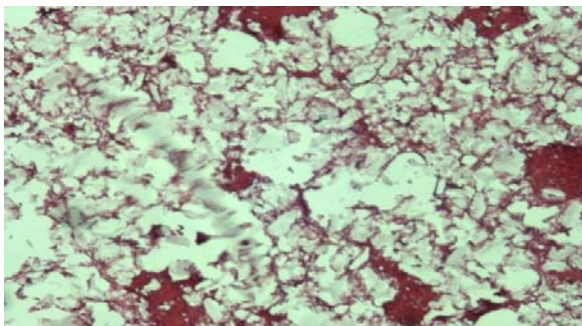
۲-۳- یافته های بافت شناسی

بر اساس استاندارد ملی ایران استفاده از اندام ها و بافت هایی مانند: اندرونه های سینه ای و شکمی دام و طیور، اندام های ادراری و تناسلی (مانند مثانه، پستان)، زبان، نخاع، مغز، بافت های غده ای مانند غدد بزاقی، گره های لنفاوی، غضروف شفاف، چربی های صفاقی، پوست، دنبه و بافت های استخوانی در تولید این فرآورده سوسیس و کالباس مجاز نمی باشد [۱۲].

بمنظور بررسی وجود بافتهای غیر مجاز خوراکی فوق، از نمونه های سوسیس مقاطع بافتی متعدد تهیه شد و پس از رنگ آمیزی مورد مطالعه بافت شناسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در نمونه های سوسیس بافت عضلانی مخطط، بافت چربی، بافت غضروفی (از نوع غضروف شفاف)، بافت پوست و بافت کلیه وجود دارد (تصاویر ۵ تا ۱).



شکل ۱ بافت عضله مخطط، رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی 100X

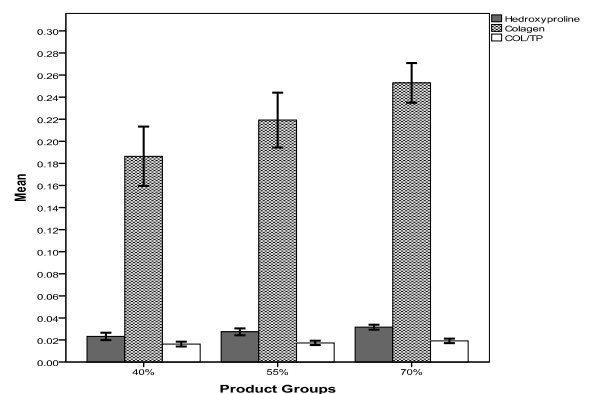


شکل ۲ بافت چربی، رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی

100X

فرآورده گوشتی حرارت دیده که همگی آنها در شرایط خوب ساخت تهیه شده بودند را مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج این مطالعه میزان هیدروکسی پرولین در نمونه های سوسیس حاوی ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد گوشت قرمز به ترتیب ۰/۱۴، ۰/۱۹ و ۰/۲۲ بود که با میزان هیدروکسی پرولین بدست آمده در این مطالعه اختلاف معنی داری $P < 0/01$ دارد [۱۰،۹].

بر اساس تجزیه و تحلیل آماری نتایج آزمایشات شیمیایی، میزان اسید آمینه هیدروکسی پرولین، پروتئین کلاژن و نسبت کلاژن به پروتئین تام برای سوسیس با گوشت قرمز ۷۰٪ بیشترین مقدار و در سوسیس با گوشت قرمز ۴۰٪ کمترین میزان است. نمودار شماره ۱ نشان می دهد میزان متوسط هیدروکسی پرولین و کلاژن با افزایش درصد گوشت بکار رفته در فرمول به ترتیب در نمونه های ۴۰ درصد تا ۷۰ درصد رو به افزایش است ولی بین میزان متوسط آنها در گروه فرآورده های گوشتی ۴۰ درصد با ۵۵ درصد اختلاف معنی داری وجود نداشت $P > 0/05$. که از این نظر نتایج مطالعه حاضر با یافته های حسینی و همکاران (۱۳۸۵) مطابقت دارد. افزایش متوسط هیدروکسی پرولین و کلاژن با افزایش درصد گوشت فرآورده بدلیل افزایش بافت پیوندی همراه عضله مخطط بکار رفته در فرمول فرآورده گوشتی است [۱۱].



نمودار ۱ میانگین هیدروکسی پرولین، کلاژن و نسبت کلاژن به پروتئین تام در نمونه های مورد مطالعه

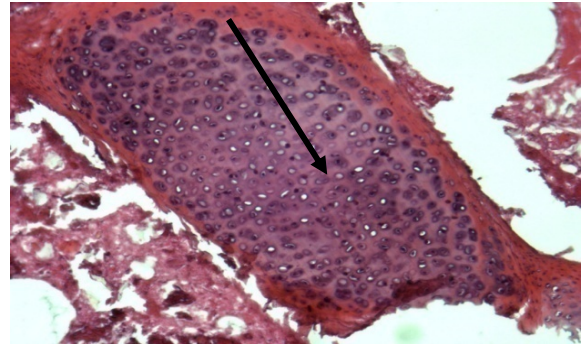
متوسط میزان نسبت پروتئین کلاژن به پروتئین تام در نمونه های مورد مطالعه بطور معنی داری با حد مجاز تعیین شده برای این شاخص در استاندارد ملی اختلاف نشان داد $P < 0/05$. از آنجا که تمامی شاخص های وابسته به پروتئین کلاژن در نمونه های تحت مطالعه به استثناء نسبت کلاژن به پروتئین تام با حد مجاز تعیین

مجاز شصت درصد بود. در کل نمونه های سوسیس مورد مطالعه ۵۳/۳ درصد دارای بافت غیر مجاز خوراکی بودند. بیشترین بافتهای غیر مجاز دیده شده در فرآورده های ۴۰٪ شامل پوست مرغ و چربیهای صفاقی، در فرآورده های ۵۵٪ شامل پوست مرغ و غضروف شفاف مربوط به اسکلت و در فرآورده های ۷۰٪ پوست مرغ بود. در مجموع میتوان گفت در بین بافتهای غیر مجاز مشاهده شده در این مطالعه بافت پوست مرغ بیشترین فراوانی را در بین بافتهای غیر مجاز داشته است.

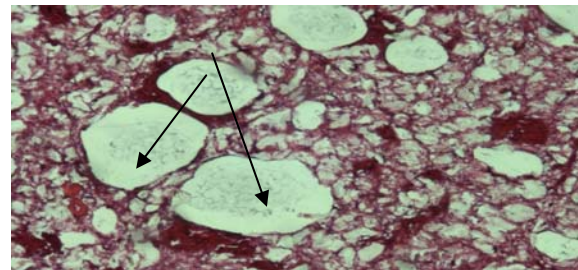
جاهد و همکاران در سال ۱۳۷۹ به جای درصدی از گوشت در تولید کالباس از بافت های پستان، سنگدان مرغ، ریه، بافت نرم سر گاو و اندام های حفره شکم (شکمبه، نگاری، هزارلا و شیردان) استفاده نمودند و توانستند با مطالعه هیستولوژی آنها را تشخیص دهند، این تحقیقات همچنین نشان داد علیرغم خرد شدن گوشت و بافتهای غیرمجاز و همینطور استفاده از فرایند حرارتی در طول تولید کالباس های حرارت دیده، ساختمان بافت شناسی بافتهای غیرمجاز تغییر چندانی پیدا نکرده و می توان آنها را به خوبی از یکدیگر تشخیص داد و حد تشخیص این روش را دو درصد اعلام نمودند. با توجه به این مطالعه در ۵۳/۳ درصد از نمونه ها حداقل دو درصد بافتهای غیرمجاز استفاده شده است [۱۴].

صادقی و همکاران در سال ۱۳۸۸، بافتهای غیر مجاز از قبیل مو، پستان، غدد بزاقی، غدد ترشحی گوارشی مری، طحال، اپیدرم پوست، عصب و ریه را در ۷۲۰ نمونه سوسیس و کالباس حرارت دیده، با استفاده از روش بافت شناسی گزارش نمودند که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد [۱۵].

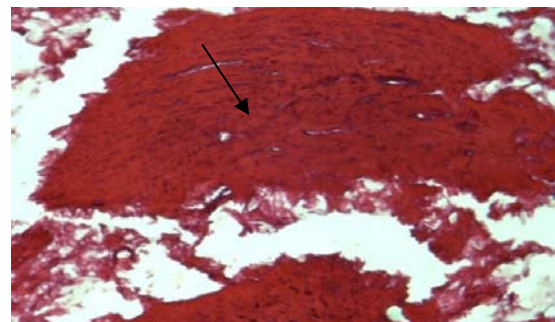
همانطور که در تصاویر شماره ۱ تا ۵ دیده می شود، بنظر می رسد فراوانی بالای بافت پوست مرغ در نمونه های سوسیس گوشت قرمز بدلیل استفاده از خمیر مرغ در تولید سوسیس گوشت قرمز باشد. زیرا علاوه بر وجود بافت پوست مرغ، چربیهای صفاقی و بافت کلیه در نمونه ها به مقدار زیاد دیده می شود، همچنین حضور این بافتها نشان دهنده آنست که در تهیه این نمونه های سوسیس از خمیر مرغ استفاده شده که به خوبی اندرونه های آن پاک سازی نشده اند.



شکل ۳ بافت غضروف شفاف، رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی 100X



شکل ۴ بافت کلیه، رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی 100X



شکل ۵ بافت پوست، رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی 100X

برای بررسی آماری وجود بافتهای غیر مجاز در نمونه ها با درصدهای گوشت متفاوت از روش آزمون کای دو (Chi Square) استفاده نمودیم که نتایج آن در جدول ۵ ارائه شده است.

در مطالعه حاضر بر اساس نتایج آزمون بافت شناسی هفتاد درصد از سوسیس های حاوی ۴۰٪ گوشت دارای بافت غیر مجاز بودند، این میزان بافت غیر مجاز در سوسیس های حاوی ۷۰٪ گوشت به سی درصد رسید و در سوسیس های با ۵۵٪ گوشت میزان بافت غیر

جدول ۵ بررسی وجود بافتهای غیر مجاز در نمونه های سوسیس ۴۰، ۵۵، ۷۰ درصد گوشت قرمز

بافتهای غیر مجاز مشاهده شده	درصد نمونه های حاوی بافت غیر مجاز	تعداد نمونه های دارای بافت غیر مجاز	تعداد لامهای حاوی بافت غیر مجاز	تعداد لامهای بررسی شده	تعداد لامهای در صد گوشت فرآورده
پوست، چربی صفاقی غضروف شفاف کلیه	۷۰	۷	۸۴	۱۰×۱۲	۱۰
پوست، چربی صفاقی غضروف شفاف کلیه	۶۰	۶	۷۲	۱۰×۱۲	۱۰
پوست، کلیه	۳۰	۳	۳۶	۱۰×۱۲	۱۰

حاصله از تحقیق حاضر با نتایج بدست آمده از تحقیق حسینی و همکاران از نظر جایگزینی گوشت مرغ بجای گوشت قرمز در تولید فرآورده های گوشتی بدون درج این موضوع در برجسب ماده غذایی و اخذ مجوزهای لازم بهداشتی مطابقت می نماید [۱۶].

همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که بیشترین میزان استفاده از بافتهای غیرمجاز خوراکی در فرآوردهای ۴۰ درصد گوشت قرمز و کمترین میزان آن در فرآوردههای ۷۰ درصد گوشت قرمز وجود دارد. نتایج مطالعات بافت شناسی تعدادی از لام ها نشان داد برخی از تولید کنندگان در تولید فرآوردههای ۴۰ درصد گوشت قرمز به جای استفاده از گوشت قرمز(عضله مخطط) از خمیر مرغ که به عنوان بافت غیرمجاز شناخته می شود استفاده می کنند.

بافتهای غیرمجاز حیوانی علاوه بر باریکروبی بالا، دارای ارزش تغذیهای پائین تری نسبت به گوشت می باشد بطوری که شاخص اسیدهای آمینه ضروری که نشان دهنده ارزش غذایی پروتئین یک ماده خوراکی است برای پروتئین بافت ماهیچهای بطور متوسط ۸۸ و برای پروتئین بافت پیوندی ۳۰ می باشد به همین علت در بسیاری از کشورها از جمله ایران مصرف آنها منع گردیده است [۱۸،۱۷].

مقایسه نتایج آزمون بافت شناسی با آزمونهای شیمیایی با استفاده از روش آماری ANOVA و تست تکمیلی TUKEY نشان داد که هیچ ارتباط معنی داری بین دو آزمون بافت شناسی و شیمیایی برای تشخیص استفاده از بافت غیر مجاز در تولید محصول سوسیس وجود ندارد ($P>0.05$). بر اساس نتایج این مطالعه میزان اسید آمینه هیدروکسی پرولین و پروتئین کلاژن نمونه های مورد مطالعه با استاندارد مربوطه مطابقت داشته و در حد مجاز بودند. اما مطالعات بافت شناسی نشان داد مقدار قابل توجهی بافت غیر مجاز

وجود بافت کلیه و غضروف شفاف فراوان در برخی از نمونه های سوسیس گوشت قرمز نشان دهنده آن است که در تهیه آن از خمیر مرغ استحصال شده از اسکلت مرغ استفاده شده است. مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۶۱۰۳، استفاده از اندامهائی مانند پستان، ریه، پوست، طحال، مثانه بافتهای غضروفی و چربی های صفاقی در تولید فرآوردههای گوشتی حرارت دیده ممنوع می باشد. همچنین تولیدکنندگان مجاز به استفاده از خمیر مرغ در تولید فرآورده های گوشتی تهیه شده از گوشت قرمز نمیباشند ولی در نمونه های بررسی شده استفاده از خمیر مرغ در انواع سوسیس گوشت قرمز به فراوانی مشاهده شد [۱۲].

رکنی و همکاران در سال ۱۳۸۳ به شناسایی بافتهای غیر مجاز در برخی از فرآورده های گوشتی خام توزیع شده در تهران با استفاده از روش های بافت شناسی پرداخته اند و استفاده از بافتهای غیر مجاز خوراکی را نشان دادند که با نتایج این مطالعه انطباق دارد. نمونه ها شامل ۱۰ عدد همبرگر و کباب لقمه بود که در سه نمونه همبرگر معمولی بافت پستان مشاهده شده بود و بقیه نمونه ها فاقد بافت غیر مجاز بودند مقایسه نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر نشان می دهد استفاده از بافت غیر مجاز خوراکی در همبرگر و کباب لقمه محدودتر از سوسیس و کالباس است [۱۳].

در تحقیقی که حسینی و همکاران در سال ۱۳۸۶ جهت تعیین نوع گوشت استفاده شده در تولید ۲۸۸ نمونه همبرگر تولید شده در کارخانجات فرآورده های گوشتی در سطح شهر تهران با استفاده از روش الیزای ساندریجی انجام دادند، مشاهده شد در ۴۳/۸ درصد از نمونه های همبرگر صنعتی به جای استفاده از گوشت گاو از گوشت مرغ در تولید همبرگر گوشت قرمز استفاده شده بود. نتایج

- sausage manufacture. *Annali della Facolta Medicina Veterinari di Torino* 26: 231-244.
- [3] Association of Official Analytical Chemists (AOAC) Official Methods of Analysis. 2005. "Meat and meat products" 39, pp: 13-15.
- [4] Food Standards Agency 2003. Labelling and composition of meat products. Guidance notes, Annex B. pp:22-28.
- [5] Pousty, I., Adibmoradi, M. 2009. Comparative Histology. Tehran University press, Tehran, pp: 117-120.
- [6] Matin Maltin, C. and Balcerzak, D. 2003. Determination of meat quality. The proceeding of the nutrition society 62: 337-347.
- [7] Specification and test methods for sausages. 2008. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, ISIRI Number 2303.
- [8] Stanley, D.W. 1983. Relation of structure to physical properties of animal material. In "physical properties of foods", (M. peleg and E.B. Bagley eds). Westport, Connecticut press, London, pp: 867-871.
- [9] Eggen, K.H., Pedersen, M.E and LEA, P. 2001. Structure and solubility of collagen and glycosamino glycans in two bovin muscles with different textural properties. *Journal Meat Science* 2: 245-261.
- [10] Gonzalez-Martin, M.I., Bermego, C.F., Hierro, M.H. 2009. Determination of hydroxyproline in cured pork sausage and dry cured beef products by NIRS technology employing a fiber-optic probe. *Food Control* 20: 752-755.
- [11] Hosseini, H., Rokni, N., Kamkar, A. 2006. Quantitative indices and index-linked collagen in the quality control of heated red meat products in Iran. *Journal of food science* 4(3):23-30.
- [12] Histological detection of unpermitted tissues in meat products. 2003. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, ISIRI Number 6103.
- [13] Rokni, N., Rezaeian, M., Nouri, N., Ebrahimpour, F. 2004. Detection of unauthorized tissues in some of distributed raw meat products in Tehran with histological methods. *Journal of pajouhesh & sazandegi* 17(4): 2-8.
- [14] Jahed, Gh. 1997. Histological detection of fraud in heated meat products in Iran. PhD thesis, health and food control, Tehran University. No. 110.
- [15] Sadegi, E., Khazaei, M., Almasi, A., Shariatifar, N., Bohlouei, S., Tahvilian, R. 2009.

مانند پوست مرغ، چربی احشایی و کلیه در نمونه های سوسیس گوشت قرمز وجود دارد. این عدم مطابقت می تواند بدلیل پایین بودن بافت پیوندی در بافت های حاصل از مرغ باشد و یا کمتر استفاده شدن از گوشت قرمز نسبت به میزان درج شده روی برچسب محصول که در هر صورت سبب کاهش محتوی کلاژن و هیدروکسی پرولین در سوسیس شده و اثر بخشی کنترل شیمیایی استفاده از بافت های غیر مجاز را با مشکل مواجه می نماید. البته نسبت کلاژن به پروتئین تام می تواند بعنوان یک شاخص شیمیایی مناسب در کنترل بافت های غیر مجاز استفاده شود و ارتباط آماری معنی دار $P < 0.05$ بین این شاخص شیمیایی و نتایج آزمون بافت شناسی مشاهده شد [19].

۴- نتیجه گیری

استفاده از بافت های غیر مجاز در تولید فرآورده های گوشتی حرارت دیده مانند سوسیس از فراوانی بالایی برخوردار است و در فرمول بسیاری از فرآورده های گوشت قرمز از خمیر مرغ استفاده می شود، لذا بکارگیری روش های با کارایی مناسب و نظارت دقیق بر تولید و عرضه این محصولات ضروری بنظر می رسد. حدود مجاز تعیین شده برای هیدروکسی پرولین در استاندارد ملی ایران بمنظور تشخیص شیمیایی استفاده از بافتهای غیر مجاز کارایی لازم را ندارد و به تنهایی بعنوان معیار مناسبی برای کنترل کیفیت سوسیس از نظر تشخیص بافتهای غیر مجاز نمی باشد. تعیین نسبت کلاژن به پروتئین تام می تواند تا حدی در تشخیص بافتهای غیر مجاز مفید باشد اما روش های بافت شناسی در تشخیص تقلبات در فرآورده های گوشتی نسبت به روش های مشابه علیرغم هزینه بالا و وقت گیر بودن، از کارایی بالاتری در تشخیص استفاده از بافت های غیر مجاز در محصول برخوردار هستند.

۵- منابع

- [1] Kamkar, A., Rokni, N., Bokaei, S., Hosseini, H. 2003. Determination of hydroxyproline and Collagen in meat products by Colorimetric Method. *Journal of Veterinary Faculty of Tehran University* 57: 83-87.
- [2] Julini, M., Parisi, E., and Chicco, G. 2002. Histological aspects of Common frauds in

- [17] Rokni, N. 2008. Science and technology of meat industry. University of Tehran press, Tehran, pp: 133-140.
- [18] Nollet, L. L. and Toldrá F. 2006. Advanced technologies for meat processing. CRC Press, Boca Raton, pp: 85-129.
- [19] Ranken, M.D. 2000. Hand book of meat product technology. Blackwell Science Ltd, London, pp: 218-238.
- Detection of unpermitted tissues in different kinds of sausages in distribution meat centers in Kermanshah. Journal of Gonabad University 17(1): 55-59.
- [16] Hosseini, H., Barazandegan, Kh., Akhondzadeh, A., Shemshadi, B., Tavakoli, H. and Khaksar, R. 2009. Determination the kind of meat content of Patties marketed in Tehran in 1386. Journal of food science 3: 95-100.

Histological study of sausages in point of unpermitted edible tissues assessment and its relationship to collage and hydroxyprolin of product

Fekri, M. ¹, Hosseini, H. ^{2*}, Eskandari, S. ³, Jahed, Gh. R. ⁴, Adib-Moradi, M. ⁵

1. Ms.c graduated student in food safety, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences and Health Services.
2. Associate professor, National Nutrition & Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical sciences, Tehran, Iran
3. Assistant professor, Food & Drug research center, Ministry of Health, Tehran, Iran
4. Associate professor, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Iran
5. Associate professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran

(Received: 90/6/12 Accepted: 91/11/28)

In recent years consumption of sausages has been increased mainly in large cities of our country. According to the recently reports and publications, captive consumption of sausages is about 5 kg per year, so safety and quality of these products especially quality control of raw materials is more important than before.

In this study 30 samples were collected from 3 different types of sausages (40, 55 and 70 percent beef content) from 10 manufactures located in Tehran province randomly.

Samples were assessed for histological aspect, also total protein; collagen and hydroxyprolin content of samples were assigned.

Histological results demonstrated that 70, 60 and 30 percent of 40%, 55 % and 70% samples had unpermitted edible tissues respectively. The most popular observed unpermitted edible tissues were chicken skin, hyaline cartilage, peritoneal fat and kidney.

Hydroxyprolin and collagen rate of all samples were conformed to national standard of sausages in spite of application of unpermitted edible tissues in most of samples. Comparison of histological and chemical results showed there is not any significant relationship between them $P>0.05$. Also we found histological method had much better precision for detection of unpermitted edible tissues in sausages than chemical analysis of collagen related indices.

Key words: Sausages, unpermitted edible tissues, Histology, Hydroxyprolin, Collagen

* Corresponding Author E-Mail Address: hedayat@sbmu.ac.ir