

Efficacy of Histological Examination in Detection of Fraud in Minced Meat

Izadi F¹, Sadeghinejad J², Hajimohamadi B^{*3,4}, Sheibani MT⁵

1. MSc student of food safety and hygiene, school of public health, Yazd University of medical sciences, international campus

2. Associate professor in department of basic science, school of Veterinary medicine, Tehran University, Iran

3. Assistant Professor in molecular identification of food hazards research center, School of Health, Yazd University of medical sciences, Yazd, Iran

4. Assistant professor in Department of Food Safety, School of Health, Yazd University of medical sciences, Yazd, Iran

5. Associate Professor in Department of Basic Science, school of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +989112751283 Fax: +983538209149 E-mail: hajimohammadi.b@ssu.ac.ir

Received: Dec 2, 2014 Accepted: Jan 6, 2016

ABSTRACT

Background & Objectives: Regarding to economic value of meat, use of unauthorized animal tissue is possible in meat products. Therefore, the present study was performed to determine the efficacy of histological examination in qualitative and quantitative detection of minced meat fraud by means of mixing avian skin and adipose tissues.

Methods: In this experimental study, the avian skin and adipose tissue samples of 5, 10, 15, and 20% in minced meat were prepared individually. Then sampling and histological examinations were performed. The mean proportions of the surface areas of avian skin and adipose tissues were calculated at five different points of each section and statistical analysis was done by ANOVA.

Results: The avian skin and adipose tissues were observed in all samples in different percentages. The quantitative results of histological examination of minced meat samples containing 5, 10, 15 and 20% of avian skin and adipose tissues revealed the respective efficacy of this technique to be 8.48 ± 6.15 , 11.91 ± 7.32 , 16.96 ± 7.93 , and $20.54 \pm 8.15\%$ for avian skin tissue and 2.92 ± 3.69 , 4.24 ± 5.18 , 7.21 ± 7.02 , and 9.8 ± 10.16 for adipose tissue ($p < 0.05$).

Conclusion: The present study showed that histological technique has ability to determine the quality and quantity of avian skin mixing values in minced meat products. Although this method showed an acceptable adequacy in qualitative determination of the adipose tissue, however, it has no sufficient adequacy in assessing the quantity of this tissue probably due to dissolution of fat in xylene during the staining process.

Keywords: Avian Skin; Adipose tissue; Minced Meat; Histology; Food Fraud.

کارایی آزمون بافت شناسی در تشخیص تقلب در گوشت چرخ کرده

فرخنده ایزدی^۱، جواد صادقی نژاد^۲، بهادر حاجی محمدی^{۳*}، محمد تقی شیبانی^۵

۱. دانشجوی کارشناس ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، پردیس بین الملل ۲. استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران ۳. استادیار مرکز تحقیقات تشخیص مولکولی مخاطرات مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد ۴. استادیار گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد ۵. دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۱۲۷۵۱۲۸۳ فکس: ۰۳۵-۳۸۲۰۹۱۴۹ ایمیل: hajimohammadi.b@ssu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به ارزش اقتصادی گوشت، احتمال استفاده از بافت‌های حیوانی غیرمجاز در فرآورده‌های گوشتی وجود دارد. مطالعه حاضر به منظور بررسی کارایی آزمون بافت شناسی در تشخیص کیفی و کمی تقلب اختلاط بافت‌های پوست مرغ و چربی در گوشت چرخ کرده انجام گرفت.

روش کار: در این مطالعه که از نوع تجربی بود، بافت‌های پوست مرغ و چربی به صورت مجزا در مقادیر ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد مخلوط با گوشت گوساله چرخ شده تهیه شدند. سپس نمونه برداری و آزمون بافت شناسی صورت گرفت. متعاقباً میانگین نسبت سطح بافت پوست و چربی در پنج نقطه مختلف از هر برش محاسبه و با استفاده از آزمون آماری ANOVA مورد تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: بافت‌های پوست مرغ و چربی در تمام نمونه‌ها در درصد‌های مختلف مشاهده شد. نتایج کمی آزمون بافت شناسی، کارایی این آزمون را در تعیین درصد بافت پوست مرغ در نمونه‌های گوشت چرخ کرده حاوی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد به ترتیب $۸/۴۸ \pm ۶/۱۵$ ، $۷/۳۲ \pm ۱۱/۹۱$ ، $۷/۹۳ \pm ۱۶/۹۶$ و $۸/۱۵ \pm ۲۰/۵۴$ درصد نشان داد و در نمونه‌های بافت چربی به ترتیب برابر با $۳/۶۹ \pm ۲/۹۲$ ، $۵/۱۸ \pm ۴/۲۴$ ، $۷/۰۲ \pm ۷/۲۱$ و $۱۰/۱۶ \pm ۹/۸$ درصد بود ($p < ۰/۰۵$).

نتیجه گیری: تحقیق حاضر نشان داد که روش بافت شناسی توانایی لازم برای تعیین کیفیت و نیز کمیت مقادیر اختلاط بافت پوست مرغ را دارد. اگر چه این آزمون کفایت مطلوبی برای تعیین کیفیت مقادیر اختلاط بافت چربی از خود نشان داد اما در تعیین کمیت بافت مورد نظر کفایت قابل انتظاری نداشت که این امر احتمالاً ناشی از حل شدن بافت چربی در محلول گزبلول در طی فرایند رنگ آمیزی است.

واژه‌های کلیدی: پوست مرغ، چربی، گوشت چرخ کرده، بافت شناسی، تقلب غذایی

دریافت: ۹۳/۹/۱۱ پذیرش: ۹۴/۱۰/۱۶

مقدمه

فرآورده‌های گوشتی، فرآورده‌هایی هستند که حداقل نیمی از آنها را گوشت تشکیل داده باشد (۱). گوشت چرخ کرده ساده‌ترین فرآورده گوشتی است که از خرد کردن مکانیکی گوشت با دستگاه چرخ گوشت حاصل می‌شود. از دیدگاه استاندارد ملی ایران، استفاده از ضامم آلاینشی نامطلوب حیوانات

کشتاری شامل: احشای سینه‌ای و شکمی دام (قلب، کبد، کلیه، ریه، طحال، سیرابی و شیردان) و طیور (قلب، کبد و سنگدان)، اندام‌های ادراری و تناسلی (مانند مثانه و پستان) و نیز زبان، نخاع، مغز، بافت‌های غده‌ای (مانند غدد بزاقی)، گره‌های لنفاوی، غضروف شفاف (مانند نای)، چربی‌های صفاقی، پوست، دنبه و بافت‌های استخوانی به جای

غیرمجاز پوست مرغ و چربی در گوشت چرخ کرده ضروری است. همچنین تاکنون هیچ پژوهشی بر روی کارایی این روش در تشخیص مقادیر و کمیت پوست مرغ و چربی افزوده شده در گوشت چرخ کرده انجام نشده است. لذا در این تحقیق کارایی آزمون بافت‌شناسی در تشخیص کیفی و کمی تقلب اختلاط پوست مرغ و چربی در گوشت چرخ کرده مورد مطالعه قرار گرفت.

روش کار

به منظور ارزیابی عملی استفاده از روش بافت‌شناسی در شناسایی و تعیین درصد بافت‌های غیرمجاز پوست مرغ و چربی حیوانی، که بیشترین احتمال استفاده متخلفانه از آنها می‌رود، نمونه‌ها به صورت مجزا در میزان‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد در مخلوط با گوشت گوساله تهیه شد. بدین صورت که مقدار معینی گوشت گوساله به همراه بافت غیرمجاز مورد نظر در درصد‌های فوق در آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد در پاییز سال ۱۳۹۳ تهیه گردید. سپس در آزمایشگاه ۳ بار چرخ شد و بطور کامل همگن شد. هر نمونه فرآورده بازساخته یک کیلوگرمی به ۳ برش مساوی تقسیم و بصورت تصادفی با شماره‌های ۱ و ۲ و ۳ نامگذاری شد. از هر کدام از برش‌ها نیز ۴ قطعه یک سانتی متر مکعبی انتخاب شده و سپس در محلول فرمالین ۱۰ درصد بافر به مدت یک هفته جهت ثبوت غوطه ور شدند. پس از آن مراحل معمول پاساژ بافتی صورت گرفت و قالب‌های پارافینی تهیه شد و از هر قالب سه گسترش بافتی به ضخامت ۶ میکرومتر توسط دستگاه میکروتوم ایجاد شد (۱۸)، نهایتاً از هر برش ۱۲ عدد لام تهیه و رنگ آمیزی گسترش‌های بافتی به روش هماتوکسیلین-ئوزین انجام گرفت. گسترش‌های بافتی از لحاظ وجود بافت غیرمجاز از پیش تعیین شده، به کمک میکروسکوپ نوری مجهز

گوشت در تهیه فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده تقلب محسوب می‌شود و سبب غیرقابل مصرف بودن آنها می‌گردد (۲). بافت‌های غیرمجاز حیوانی حاوی پروتئین‌های با ارزش تغذیه‌ای پایین هستند و در مقایسه با عضلات دارای بار میکروبی بالاتر بوده و حتی در انتقال عوامل عفونی نظیر سالمونلا و اشرشیاکلی می‌توانند نقش داشته باشند (۳). از آنجایی که مصرف گوشت و آلایش‌های دامی در اکثر جوامع بشری روز افزون است (۴)، با توجه به ارزش ریالی گوشت، امکان انجام انواع تقلبات از جمله استفاده از بافت‌های غیرمجاز ارزان قیمت در گوشت چرخ کرده امکان پذیر است. تحقیقات متعدد صورت گرفته در این زمینه نیز استفاده از بافت‌های غیرمجاز در تولید فرآورده‌های گوشتی را تأیید می‌نماید (۵-۹). روش‌های شناسایی تقلب در فرآورده‌های گوشتی شامل واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)، الیزا، ایمونوهیستوشیمی، بافت‌شناسی و روش شیمیایی می‌باشد (۱۵-۱۰).

امروزه از روش‌های شیمیایی و بافت‌شناسی جهت شناسایی بافت‌های غیرمجاز و تعیین کیفیت فرآورده‌های گوشتی تولید شده استفاده می‌شود (۱). روش بافت‌شناسی قادر به شناسایی مستقیم و تفریق اجزاء تشکیل دهنده فرآورده‌های گوشتی است که با این روش می‌توان ارزیابی کمی را در فرآورده‌های گوشتی انجام داد. از آنجا که آزمون‌های معمول شیمیایی کنترل کیفیت فرآورده‌های گوشتی توانایی لازم جهت تشخیص تقلبات جایگزینی بافت‌های غیرمجاز به جای گوشت را در فرآورده‌های گوشتی ندارند، لذا استفاده از روش بافت‌شناسی برای شناسایی بافت‌های غیرمجاز در فرآورده‌های گوشتی توصیه می‌شود (۱۶، ۱۷).

بر اساس شواهد موجود مبنی بر اختلاط متقلبانه برخی از بافت‌های غیر مجاز نظیر پوست مرغ و چربی در فرآورده‌های گوشتی، بکارگیری و طراحی روش دقیق بافت‌شناسی برای شناسایی بافت‌های

با هسته‌های تیره فراوان که در زیر غشاء سلول قرار دارند قابل مشاهده می‌باشد (تصویر ۱-ا).

ب) نتایج بافت‌شناسی بافت پوست مرغ
در فتومیکروگراف‌های تهیه شده بافت عضله مخطط اسکلتی، همراه با بافت پوست مرغ در تمام نمونه‌ها (درصدهای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰) مشاهده شد.

بافت پوششی اپیدرم پوست از نوع سنگفرشی مطبق است که در رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اُوزین به رنگ بنفش دیده می‌شود. در زیر لایه قاعده ای اپیدرم بافت همبندی درم قرار دارد که در این لایه دسته‌های عضلانی صاف متعددی در نواحی فولیکول‌های پر وجود داشت که در رنگ آمیزی به رنگ صورتی دیده شده که به صورت کاملاً متمایز از بافت عضلانی گوشت قابل تشخیص می‌باشند. (تصاویر ۱-ب و ۱-ج).

نتایج کمی آزمون بافت‌شناسی برای درصدهای مختلف بافت پوست مرغ (به صورت میانگین \pm انحراف معیار) به دست آورده شد. نتایج به دست آمده برای نمونه گوشت چرخ کرده حاوی ۵ درصد بافت پوست مرغ $8/48 \pm 6/15$ درصد، نمونه حاوی ۱۰ درصد بافت پوست مرغ $11/91 \pm 7/32$ درصد، نمونه حاوی ۱۵ درصد بافت پوست مرغ $16/96 \pm 7/93$ درصد و نمونه حاوی ۲۰ درصد بافت پوست مرغ $20/54 \pm 8/15$ درصد اندازه‌گیری شد.

درصدهای بدست آمده از هر برش (برش‌های ۱، ۲ و ۳) به صورت مجزا با درصد واقعی نمونه (درصد پوست مرغ اضافه شده به نمونه) مقایسه شد و تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول ۱). همچنین مساحت سطح بافت پوست مرغ در برش‌های مختلف (برش‌های ۱، ۲ و ۳) بصورت درصد (میانگین \pm انحراف معیار) محاسبه شد که تفاوت معنی‌داری بین برش‌ها مشاهده نگردید (جدول ۲).

به دوربین مورد ارزیابی قرار گرفته و از هر لام به صورت تصادفی ۵ میدان دید میکروسکوپی انتخاب و تصاویر بافتی اخذ و با استفاده از نرم افزار Axiovision (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) مساحت سطح بافت غیرمجاز به کل بافت در هر میدان دید محاسبه و مقدار درصد آن براساس میانگین- انحراف معیار در هر نمونه بیان شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از SPSS-16 انجام شد. با استفاده از آزمون آماری ANOVA درصدهای مشاهده شده از بافت‌های غیرمجاز با درصد واقعی اضافه شده به نمونه مقایسه شد و همچنین جهت تعیین حداقل تعداد لام در آزمون بافت‌شناسی مقایسه بین برش‌های مختلف نمونه (برش‌های ۱، ۲ و ۳) صورت گرفت. میزان $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

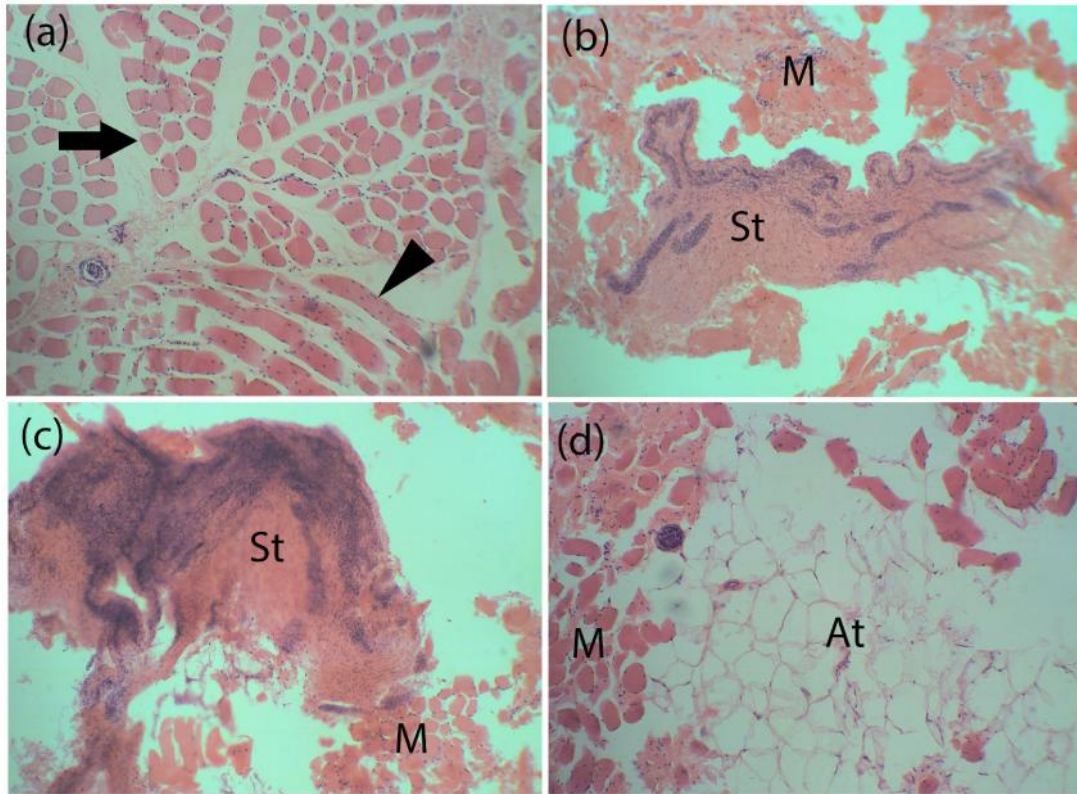
شایان ذکر است که طبق استاندارد فرآورده‌های گوشتی تولیدکنندگان باید از گوشت لخم و اصلاح‌شده که بیشتر از ۱۰ درصد چربی و ۱۰ درصد بافت همبندی نداشته باشند در محصول تولیدی خود استفاده کنند.

یافته‌ها

بر اساس یافته‌های این تحقیق روند تولید در این فرآورده گوشتی به گونه‌ای است که در اثر چرخ کردن ساختمان عضلانی گوشت و بافت پوست مرغ و چربی اضافه شده کاملاً خرد شده و تغییر شکل می‌دهد که از نظر خواص ارگانولپتیک درصدهای (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰) پوست مرغ و چربی اضافه شده به گوشت چرخ کرده مشهود نیست.

الف) نتایج بافت‌شناسی بافت عضلانی

گوشت حاوی بافت‌های عضلانی مخطط و همبندی می‌باشد. سلول‌های بافت عضلانی در برش‌های طولی به صورت رشته‌های کشیده و در برش‌های عرضی بشکل کروی تا چند وجهی مشاهده می‌گردد. هر رشته‌های عضلانی حاوی سیتوپلاسم اسیدوفیلیک



تصویر ۱. فتومیکروگراف‌های گوشت چرخ کرده با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، (a x100) مقطع طولی بافت عضله مخطط (سر پیکان) به همراه مقطع عرضی بافت عضله مخطط (پیکان) (b) مقطع طولی بافت پوست مرغ (St) همراه با عضلات مخطط اسکلتی (M) مقطع عرضی بافت پوششی پوست مرغ (St) همراه بافت مخطط اسکلتی (M) (c) مقطع عرضی بافت پوششی پوست مرغ (St) همراه بافت مخطط اسکلتی (M) (d) بافت عضلانی مخطط (M) به همراه بافت چربی (At).

جدول ۱. مقایسه نتایج بدست آمده از برش‌های مختلف در نمونه‌های گوشت چرخ کرده با درصد‌های واقعی پوست مرغ اضافه شده

نمونه حاوی ۲۰٪ پوست مرغ	نمونه حاوی ۱۵٪ پوست مرغ	نمونه حاوی ۱۰٪ پوست مرغ	نمونه حاوی ۵٪ پوست مرغ	برش‌های نمونه
میانگین و انحراف معیار	میانگین و انحراف معیار	میانگین و انحراف معیار	میانگین و انحراف معیار	
۲۵/۰۸ ± ۱۰/۶۳ (p= ۰/۴۱)	۱۴/۷۶ ± ۴/۴۶ (p= ۰/۹۲)	۱۶/۶۴ ± ۵/۹۶ (p= ۰/۱۱)	۵/۶ ± ۱/۵۴ (p= ۰/۴۹)	برش ۱ (شامل ۱۲ لام)
۲۱/۰۷ ± ۹/۹ (p= ۰/۷۶)	۱۵/۹۲ ± ۴/۲۸ (p= ۰/۵۶)	۱۲/۷۶ ± ۶/۸۲ (p= ۰/۲۹)	۷/۷۲ ± ۶/۷۲ (p= ۰/۲۸)	برش ۱ و ۲ (شامل ۲۴ لام)
۲۰/۵۴ ± ۸/۱۵ (p= ۰/۸۲)	۱۶/۹۶ ± ۷/۹ (p= ۰/۴)	۱۱/۹۱ ± ۷/۳۲ (p= ۰/۳۸)	۸/۴۸ ± ۶/۱۵ (p= ۰/۰۷)	برش ۱ و ۲ و ۳ (شامل ۳۶ لام)

جدول ۲. مقایسه نتایج بدست آمده از برش‌های مختلف در نمونه‌های گوشت چرخ کرده حاوی درصد‌های مختلف پوست مرغ

نمونه حاوی ۲۰٪ پوست مرغ	نمونه حاوی ۱۵٪ پوست مرغ	نمونه حاوی ۱۰٪ پوست مرغ	نمونه حاوی ۵٪ پوست مرغ	برش‌ها
میانگین و انحراف معیار	میانگین و انحراف معیار	میانگین و انحراف معیار	میانگین و انحراف معیار	
۲۵/۰۸ ± ۱۰/۶۳	۱۴/۷۶ ± ۴/۴۶	۱۶/۶۴ ± ۵/۹۶	۵/۶ ± ۱/۵۴	برش ۱ (شامل ۱۲ لام)
۲۱/۰۷ ± ۹/۹	۱۵/۹۲ ± ۴/۲۸	۱۲/۷۶ ± ۶/۸۲	۷/۷۲ ± ۶/۷۲	برش ۱ و ۲ (شامل ۲۴ لام)
۲۰/۵۴ ± ۸/۱۵	۱۶/۹۶ ± ۷/۹۳	۱۱/۹۱ ± ۷/۳۲	۸/۴۸ ± ۶/۱۵	برش ۱ و ۲ و ۳ (شامل ۳۶ لام)
۰/۶۸	۰/۸۳	۰/۵۱	۰/۷	p-value

ج) نتایج بافت شناسی بافت چربی

در فتومیکروگراف‌های تهیه شده بافت عضله مخطط اسکلتی، همراه با بافت چربی در تمام نمونه‌ها (درصدهای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰) مشاهده شد. بافت چربی به علت حل شدن در محلول گزلیل به شکل دستجات سلولی سفید رنگ شش وجهی قابل تشخیص بود (تصویر ۱-d). نتایج کمی آزمون بافت شناسی برای درصدهای مختلف بافت چربی (به صورت میانگین \pm انحراف معیار) به دست آورده شد. نتایج به دست آمده برای نمونه گوشت چرخ کرده حاوی ۵ درصد بافت چربی $۲/۹۲ \pm ۳/۶۹$

درصد، نمونه حاوی ۱۰ درصد بافت چربی $۴/۲۴ \pm ۵/۱۸$ درصد بافت چربی $۷/۲۱ \pm ۷/۰۲$ درصد و نمونه حاوی ۲۰ درصد بافت چربی $۹/۸ \pm ۱۰/۱۶$ درصد اندازه گیری شد. همچنین درصدهای بدست آمده از هر برش (برش‌های ۱، ۲، ۳ و ۴) به صورت مجزا با درصد واقعی نمونه (درصد چربی اضافه شده به نمونه) مقایسه شد و بجز برش اول برای نمونه ۲۰ درصد و برش ۱ و ۲ در نمونه ۵ درصد در تمام نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری دیده شد (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه نتایج حاصل از برش‌های مختلف در نمونه‌های گوشت چرخ کرده با درصدهای واقعی چربی اضافه شده

برش‌های نمونه	نمونه حاوی ۵٪ چربی میانگین و انحراف معیار	نمونه حاوی ۱۰٪ چربی میانگین و انحراف معیار	نمونه حاوی ۱۵٪ چربی میانگین و انحراف معیار	نمونه حاوی ۲۰٪ چربی میانگین و انحراف معیار
برش ۱ (شامل ۱۲ لام)	$۱/۶۶ \pm ۱/۶۱$ ($P= ۰/۰۲$)	$۱/۳۴ \pm ۰/۸۳$ ($P= ۰$)	$۵/۷۱ \pm ۵/۵۳$ ($P= ۰/۰۴$)	$۹/۹۱ \pm ۹/۴۵$ ($P= ۰/۱۲$)
برش ۲ (شامل ۲۴ لام)	$۳/۲۹ \pm ۴/۳۳$ ($P= ۰/۰۳$)	$۵/۹۹ \pm ۵/۲۳$ ($P= ۰/۰۵$)	$۷/۹۹ \pm ۷/۵۸$ ($P= ۰/۰۳$)	$۶/۹۶ \pm ۷/۵۲$ ($P= ۰/۰۰۲$)
برش ۳ و ۴ (شامل ۳۶ لام)	$۲/۹۲ \pm ۳/۶۹$ ($P= ۰/۰۷$)	$۴/۲۴ \pm ۵/۱۸$ ($P= ۰/۰۰۳$)	$۷/۲۱ \pm ۷/۰۲$ ($P= ۰/۰۰۳$)	$۹/۸ \pm ۱۰/۱۶$ ($P= ۰/۰۰۵$)

بحث

با تشخیص حضور بافت‌های غیرمرتبط با گوشت می‌توان بر اساس مشخصه‌های بافتی به حضور برخی از بافت‌های غیرمجاز در گسترش‌های بافتی پی برد و نوع بافت غیرمجاز را در فرآورده گوشتی مشخص کرد. چنانکه در این مطالعه بافت پوششی همراه با بافت همبند و عضله صاف و همینطور بافت چربی کاملاً قابل تشخیص و تفکیک از بافت عضلانی مخطط بوده است. نتایج حاصل از شناسایی این بافت غیرمجاز برای نمونه‌های مختلف با درصدهای متفاوت، وجود پوست مرغ و چربی را در تمام نمونه‌ها تأیید می‌نماید که نشان دهنده کارایی این روش برای تعیین کیفیت جهت شناسایی بافت پوست مرغ و چربی می‌باشد. چنانکه فکری در سال ۱۳۹۱ مطالعه هیستولوژی جهت شناسایی بافت‌های

غیرمجاز در نمونه‌های سوسیس حرارت دیده انجام داد و پوست مرغ، چربی صفاقی، غضروف شفاف و کلیه را شناسایی کرد که بیشترین فراوانی مربوط به پوست مرغ بود که با مطالعه حاضر جهت شناسایی این بافت‌های غیرمجاز همسو می‌باشد (۱۶). وجود بافت‌های غیرمجاز در فرآورده‌های گوشتی توسط تحقیقات مختلفی نشان داده شده است. در مطالعه‌ای عباسی و همکاران، ۴۴ نمونه همبرگر صنعتی حاوی ۳۰ و ۶۰ درصد گوشت را به دو روش بافت‌شناسی و شیمیایی مورد آزمون قرار دادند که بافت‌های پوست مرغ و غضروف شفاف، سنگدان مرغ، غده لنفاوی، استخوان و بافت پستان را مشاهده کردند، پوست مرغ و غضروف شفاف به ترتیب فراوان‌ترین بافت غیرمجاز شناسایی شد که مشابه مطالعه حاضر بافت پوست مرغ با روش هیستولوژی

آنکه با لام‌های به دست آمده از مرحله اول می‌توان به نتیجه مطلوب رسید و اجرای این روش از نظر ریالی مقرون به صرفه می‌باشد.

نتایج بدست آمده از مقایسه برش‌های مختلف نمونه چربی با درصد واقعی بافت چربی اضافه شده به نمونه نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین برش‌ها با درصد واقعی نمونه وجود دارد که این مسئله می‌تواند عدم کفایت آزمون بافت‌شناسی جهت شناسایی کمی بافت چربی در گوشت چرخ کرده را نشان دهد.

پرایسون^۲ و همکاران در امریکا هشت برند هات‌داگ را مورد آزمون بافت‌شناسی هماتوکسیلین- ائوزین قرار دادند و درصد پایینی از بافت اسکلتی را تشخیص دادند و بافت‌های استخوان، کلاژن، رگ‌های خونی، مواد گیاهی، عصب محیطی، چربی، غضروف و پوست را مشاهده کردند (۲۲). در مطالعه مشابهی از پرایسون و همکاران بر روی ۸ برند همبرگر آزمون بافت‌شناسی هماتوکسیلین- ائوزین انجام دادند که درصد پایینی از بافت اسکلتی را تشخیص دادند و بافت‌های عروق خونی، عصب محیطی، بافت چربی، مواد گیاهی، غضروف و استخوان را مشاهده کردند (۲۳). تعیین درصد در دو مطالعه فوق با استفاده از خانه‌های گراتیکول صورت گرفته است که نسبت به روش مورد استفاده در مطالعه حاضر دقت و صحت کمتری دارد.

نتیجه گیری

تحقیق حاضر نشان داد که روش بافت‌شناسی توانایی لازم برای تعیین کیفیت و به خصوص کمیت مقادیر اختلاط بافت پوست مرغ را دارد. اگر چه این آزمون کفایت مطلوبی برای تعیین کیفیت مقادیر اختلاط بافت چربی از خود نشان داد اما در تعیین کمیت بافت مورد نظر کفایت قابل انتظاری نداشت که این امر احتمالاً ناشی از حل شدن بافت چربی در محلول

تشخیص داده شد (۱۷). در همین راستا بارای^۱ و همکاران روش‌های مختلف را جهت شناسایی تقلب‌ها در فرآورده‌های گوشتی مقایسه کردند و کارآمد بودن روش هیستولوژیک را بیان نمودند (۱۹).

سپهری ایرانی و همکاران، همبرگر معمولی، همبرگر ممتاز، کباب لقمه و گوشت چرخ کرده در تهران را به روش هیستولوژیک مورد بررسی قرار دادند و بافت‌های غیرمجاز عروق خونی، اعصاب، غضروف، چربی و بافت‌های گیاهی بیش از حد مجاز را در همبرگر ممتاز و گوشت چرخ کرده مشاهده کردند (۲۰). همچنین ادیب مرادی و همکاران با استفاده از آزمون بافت‌شناسی بافت‌های چربی صفاقی، پوست، کلیه و غضروف شفاف را مشاهده کردند (۲۱).

نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده بررسی دقیق تر از نظر تعیین درصد بافت پوست مرغ موجود در میدان‌های دید میکروسکوپی نسبت به مطالعات دیگر می‌باشد. چنانکه در این مطالعه اندازه گیری مساحت بافت پوست مرغ با دقت بالا تعیین شده و مقایسه درصد‌های بدست آمده از برش‌های مختلف نمونه با درصد واقعی بافت پوست مرغ اضافه شده به نمونه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد که این مسئله می‌تواند کفایت آزمون بافت‌شناسی در تعیین کمیت بافت غیرمجاز پوست مرغ را برای هر چهار درصد در این مطالعه بیان کند. همچنین نتایج مقایسه درصد‌های بدست آمده از برش‌های مختلف نمونه با یکدیگر نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین برش‌های مختلف وجود ندارد و نتایج به دست آمده از گسترش‌های برش اول (تنها یک برش) کافیت می‌کند و با تهیه حداقل تعداد لام می‌توان به نتایج مورد نظر دست یافت. همچنین اینکه بخاطر مسائل اقتصادی و هزینه بر بودن آزمون بافت‌شناسی تا به حال بکار بردن این روش در استانداردها و اجرای آن در بررسی بافت‌های غیرمجاز گوشت چرخ کرده امکان پذیر نبوده، حال

² Prayson

¹ Barai

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از طرح تحقیقاتی مرکز تحقیقات تشخیص ملکولی مخاطرات مواد غذایی از دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد در سال ۱۳۹۳ با کد طرح ۳۷۶۰ می‌باشد و نویسندگان کمال قدردانی را از حوزه معاونت پژوهشی آن دانشگاه در رابطه با تامین منابع مالی این تحقیق دارند.

گزیلول در طی فرایند رنگ آمیزی است. همچنین انجام تحقیق‌های مشابه با بافت‌های غیرمجاز دیگر نظیر بافت گیاهی سویا، سنگدان، پستان و... جهت کاربرد آن در استاندارد و اجرای قوانین فرآورده‌های گوشتی پیشنهاد می‌شود.

References

- 1- Rokni N. Science & Technology of Meat. 5th ed. Iran: University of Tehran Press. 2006.
- 2- Standard Organization of Iran. Sausages – Specifications and test methods. (Amendment No 2). 2010. no. 2303.
- 3- Kamkar A, Rokni N, Bokaei S, Hoseini H. Determination of Hydroxyproline as Measur of Collagen Content in Meat Product by Colorimetric Method. Journal of Veterinary Research. 2005; 60(1): 25-30.
- 4- Akhondzadeh Basti A, Hajimohammadi B. Principles of meat and abattoirs hygiene. Iran: University of Tehran Press, 2010.
- 5- Jahed Khaniki GHR, Rokni N. Histological study of unpermitted tissues in heated meat products by using of Masson's trichrome stain. Pajouhesh & Sazandegi. 2005; 73: 96-102.
- 6- Rezaian M, Rokni N. Histological study of meat products heated of Mazandaran province. Pajouhesh & Sazandegi. 2001; 54: 61-63.
- 7- Kavousi Nejad M, Fazlara A, Morovati H. Detection of unauthorized tissue in hamburger with histological method. 15 th Congress of Veterinary of Iran. Iran. 2008.
- 8- Georgier L, Vitanov S. Adulteration of mince and sausages. Khranitelana Promish Lenost (Bulgaria). 1995; 44(1): 15-16.
- 9- Disbrey DB, Ruck JH. Histological laboratory methods. UK, London. Livingstone. 2000: 15-46.
- 10- Cawthorn DM, Steinman HA, Hoffman LC. A high incidence of species substitution and mislabelling detected in meat products sold in South Africa. Food Control. 2013; 32(2): 440-449.
- 11- Kim SH, Huang TS, Seymour TA, Wei CI, Kempf SC, Bridgman CR, et al. Development of immunoassay for detection of meat and bone meal in animal feed. Journal of Food Protection. 2005; 68(9): 1860-1865.
- 12- Pospiech M, Tremlova B, Rencova E, Randulova Z. Immunochemical detection of soya protein – optimisation and verification of the method. Czech J Food Sci. 2009; 27: 11-19.
- 13- Botka-Petrak K, Hraste A, Lucic H, Gottstein Z, Gomeric MD, Jaksic S, et al. Histological and chemical characteristics of mechanically deboned meat of broiler chickens. Veterinarski arhiv. 2011; 81(2): 273-283.
- 14- Tremlova B, Pavel S. Histometric evaluation of meat products: Determination of area and comparison of results obtained by histology and chemistry. Czech journal of food sciences. 2003; 21(3): 101-106.
- 15- Colgrave ML, Allingham PG, Jones A. Hydroxyproline quantification for the estimation of collagen in tissue using multiple reaction monitoring mass spectrometry. Journal of Chromatography. 2008; 1212(1): 150-153.
- 16- Fekri M, Hosseini H, Eskandari S, Jahed GH, Adib-Moradi M. Histological study of sausages in point of unpermitted edible tissues assessment and its relationship to collage and hydroxyprolin of product. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. Winter 2013; 41(10): 107-116.
- 17- Abbasy-Fasarani M, Hosseini H, Jahed-Khaniki GR, Adibmoradi M, Eskandari S. 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. Winter 2013; 7(5): 311-318.

18- Standard Organization of Iran. Identification non permitted tissue in processed meat for histological method 2002; 1st edition. no. 6103. 2000.

19- Barai B K, Nayak R R, Singhal R S, Kulkarni P R. Approaches to detection of meat adulteration. Trends in food sciences and Technology. 2002; 31(2): 69-72.

20- Sepehri S, Adibmoradi M, Rokni N. Histological methods evaluation for detection of adulteration of raw meat products supplied in Tehran [dissertation]. Tehran Veterinary University, 2008.

21- Adibmoradi M, Barazandegan K. Histological study of Sausage based on unauthorized tissues. Magazine of Standard. 2010; (215): 2-4.

22- Prayson B E, McMahon JT, Prayson RA. Applying morphologic techniques to evaluate hotdogs; what is in the hotdogs we eat? Ann Diagn Pathol. 2008; 12: 98-102.

23- Prayson B, McMahon J T, Prayson R A. Fast food hamburgers: what are we really eating? Annals of Diagnostic Pathology. 2008; 12(6): 406-9.