

تخمین درصد گوشت و اعتبارسنجی نتایج فرآورده‌های گوشتی با استفاده از هیستوشیمی و آنالیز تصویری در فرآورده‌های گوشتی شهر همدان

نازنین الیاسی^۱، محمدرضا پژوهی الموتی^۲، علی کلانتری حصار^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
پست الکترونیکی: mr.pajohi@basu.ac.ir

۳- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۱۴

چکیده

سابقه و هدف: فرآورده‌های گوشتی منابع غنی از پروتئین بوده و با توجه به قیمت بالای گوشت خام، احتمال وقوع تقلبات در این محصولات وجود دارد. هدف از انجام این تحقیق ارزیابی برخی از ویژگی‌های شیمیایی و تخمین درصد گوشت در فرآورده‌های گوشتی با استفاده از آزمون بافت‌شناسی و آنالیز تصویری است.

مواد و روش‌ها: تعداد ۵۰ نمونه سو سیس و کالباس (۲۷ نمونه سو سیس، ۲۳ نمونه کالباس) از دو واحد تولیدی فعال فرآورده‌های گوشتی شهر همدان جمع‌آوری و با استفاده از آزمون‌های شیمیایی و بافت‌شناسی مورد ارزیابی قرار گرفتند. در بررسی بافت‌شناسی از روش‌های رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، تری کروم‌ماسون و گومری و نرم افزار آنالیز تصویری استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج آزمون‌های شیمیایی نشان داد که در ۵۶ درصد نمونه‌های کالباس و ۶۶ درصد نمونه‌های سوسیس میزان رطوبت بیش از حد مجاز استاندارد و در ۶۰ درصد نمونه‌های کالباس و ۸۵ درصد نمونه‌های سوسیس میزان پروتئین کمتر از حد استاندارد بود. میزان نیتريت در ۷۰ درصد نمونه‌های سوسیس و ۳۵ درصد نمونه‌های کالباس بیش از حد استاندارد ملی بود. نتایج آنالیز تصویری نشان داد در ۱۰۰ درصد نمونه‌ها میزان عضله اسکلتی کمتر از میزان درج شده بر روی بسته‌بندی محصول بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که برخی از پارامترهای شیمیایی با میزان استاندارد ملی آن مغایرت داشتند. همچنین رنگ‌آمیزی هیستوشیمی گومری جهت تفریق هرچه بهتر مقاطع عضلات اسکلتی در نمونه‌های سوسیس و کالباس از بافت‌های گیاهی کارایی بهتری را نشان داد.

واژگان کلیدی: فرآورده‌های گوشتی، هیستولوژی، هیستوشیمی، شیمیایی، آنالیز تصویری

• مقدمه

داده باشد. بخش عمده فرآورده‌های گوشتی تهیه شده در کشور ما کالباس و سوسیس‌های حرارت دیده می‌باشند (۲). جایگزینی گوشت با سایر گونه‌ها و بافت‌های گوشت، پروتئین‌های گیاهی، ترکیبات آلی و همچنین جایگزینی چربی‌های گیاهی با چربی‌های حیوانی می‌تواند از جمله مشکلات احراز هویت در محصولات گوشتی باشد. از سویی دیگر اطلاعات درج شده بر روی محصولات غذایی تضمینی بر

با توجه به قیمت بالای گوشت قرمز در اکثر کشورها و افزایش جمعیت جهان، نیاز به جایگزین‌های گوشتی با هزینه کمتر مورد توجه صنعت غذا قرار گرفته است. به همین دلیل فرآورده‌های گوشتی می‌توانند جایگزین مناسبی برای تامین نیازهای پروتئینی باشند (۱). فرآورده‌های گوشتی را فرآورده‌هایی می‌نامند که حداقل نیمی از آنها را گوشت تشکیل

مانند حبوبات و غلات مانند سویا و گلوتن در این فرآورده‌ها استفاده می‌شود. از قندهایی مانند ساکارز، دکستروز و شربت گلوکز در سوسیس و کالباس استفاده می‌شود، که نقش اصلی آن‌ها شیرین‌کنندگی و ایجاد طعم مطبوع است (۷).

از ادویه‌ها و چاشنی‌هایی مانند زعفران، زرد چوبه و پاپریکا نیز استفاده می‌شود. نیتريت سدیم و نیتريت پتاسیم از دیرباز تاکنون در صنایع غذایی به‌منظور تثبیت رنگ قرمز گوشت و جلوگیری از فعالیت میکروارگانیسم‌های عامل فساد و نیز ایجاد طعم مطلوب، مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸). ولی امروزه به‌دلیل ارتباط آن‌ها با تشکیل ترکیبات نیتروزه که سرطانزایی آن‌ها ثابت شده است، میزان نیتريت مورد استفاده تا حدود یک پنجم نسبت به دو دهه قبل کمتر شده است. در صورت استفاده از نیتريت سدیم، میزان آن در فرآورده نهایی نباید از ۱۲۰ ppm بیشتر شود (۹). سایر افزودنی‌های مجاز دیگر طبق استاندارد ملی ایران شامل قارچ و پنیر (در ۴۰ درصد و ۹۰ درصد گوشت ممنوع)، فرآورده‌های پاستوریزه تخم مرغ، فیبرهای خوراکی، نشاسته خوراکی، هیدروکلوئیدها و صمغ‌های خوراکی، کلژن تهیه شده از دام‌های حلال گوشت با بیش از ۹۰ درصد پروتئین، آنزیم ترانس گلوتامیناز، مشتق‌های سدیم، پتاسیم و کلسیم لاکتات و دی‌استات سدیم می‌باشد. در صنایع گوشت از آزمایش‌های شیمیایی بیشتر به‌منظور تعیین درصد مواد تشکیل‌دهنده گوشت و فرآورده‌های آن استفاده می‌گردد که مهم‌ترین آن‌ها شامل: پروتئین، رطوبت، چربی، خاکستر و انواع افزودنی است. میزان پروتئین، رطوبت، چربی و کربوهیدرات کل، خاکستر، pH، نمک، فسفات و نیتريت سدیم در فرآورده‌هایی گوشتی سوسیس و کالباس در استاندارد ملی ۲۳۰۳ ویراست ۱۴۰۰ بیان شده است (۷).

امروزه جهت کنترل کیفی فرآورده‌های گوشتی از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود و هر یک از این روش‌ها قابلیت خاص خود را دارد. یکی از این روش‌ها، روش‌های بافت‌شناسی است. این روش امکان تشخیص مستقیم یک ترکیب و بافت را در فرآورده‌های گوشتی میسر می‌سازد، و از آن برای شناسایی تقلب‌های بافتی در مواد غذایی می‌توان استفاده نمود (۱۰).

بافت‌شناسی می‌تواند ساختارهای بافتی حیوانی (مجاز و غیرمجاز) از قبیل بافت‌های عضله، همبندی، استخوان، غضروف و غیره را در فرآورده‌های گوشتی مشخص کند. از بافت‌شناسی همچنین می‌توان برای شناسایی پروتئین‌های غیرگوشتی مانند پروتئین‌های گیاهی (گندم، سویا و آرد) استفاده کرد. این روش از سال ۱۹۱۰ تاکنون در محصولات

صحت آن نیست، لذا توسعه روش‌هایی که بتواند وجود انواع گونه‌های استفاده شده و میزان درصد گوشت را در محصولات غذایی شناسایی کند ضروری به نظر می‌رسد (۳).

از جمله تقلباتی که در محصولات گوشتی اتفاق می‌افتد می‌توان به افزودن اجزای غیرگوشتی مانند آب یا مواد افزودنی، افزودن مواد از ته غیرپروتئینی به نحوی که در آزمون‌های کنترل مقدار ازت بالاتر به نظر برسد، افزودن پودر استخوان به فرآورده‌های گوشتی مانند سوسیس و کالباس، افزودن پودر خون به همبرگر و سوسیس و کالباس، افزودن نیتريت و نیتريت به مقدار بیش از حد برای بهبودی رنگ و جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها در موارد آلودگی شدید، جایگزین کردن پروتئین‌های حیوانی با پروتئین‌های گیاهی، تعویض کردن چربی‌های حیوانی با چربی گیاهی، جایگزین کردن گوشت ارزان قیمت به جای گوشتی با ارزش بیشتر و استفاده از ضایعات حیوانی (استفاده از امعاء و احشاء به جای گوشت) اشاره کرد (۳). از طرف دیگر، بافت‌های غیرمجاز دارای بار میکروبی بالاتر نسبت به عضله مخطط بوده و حتی در انتقال عوامل عفونی نظیر سالمونلا و اشرشیا کلی می‌توانند نقش مهمی داشته باشند (۴).

در فرایند تولید فرآورده‌های گوشتی فرمول‌ها و ترکیبات مختلفی استفاده می‌شود، ولی بسیاری از ویژگی‌های مورد توجه در تولید فرآورده‌های گوشتی بصورت استاندارد ملی تدوین شده است. چربی به ایجاد بافت مناسب، آبدار بودن، طعم و مزه و قیمت نهایی فرآورده کمک می‌کند. اضافه کردن آب برای ایجاد ظاهر جذاب، رنگ و دلپذیری (طعم و بافت و آبدار بودن) محصول را تحت تأثیر قرار دهد (۵). یکی از معمول‌ترین اقدامات مربوط به مواد غذایی، افزودن آب با هدف افزایش اندازه، وزن و در نتیجه قیمت نهایی محصول می‌باشد. که حتی اگر به‌طور عادی هیچ خطری برای سلامت انسان وجود نداشته باشد، تأثیر منفی بر ویژگی‌های طعمی می‌گذارد، و منجر به پرداخت هزینه اضافی برای محصول با کیفیت پایین می‌شود و در نتیجه می‌تواند باعث کاهش رضایت مصرف‌کننده شود (۶).

کلرید سدیم در اکثر فرمولاسیون‌های گوشت فرآوری شده استفاده می‌شود، ایجاد طعم مطلوب و ضروری بودن برای حل شدن پروتئین‌های میوفیبریلی دو نقش اصلی نمک در فرآورده‌های گوشتی است. میزان مصرف مجاز آن تقریباً ۲ درصد می‌باشد (۵). از انواع آردها به‌طور معمول به‌عنوان مواد پرکننده در این فرآورده‌ها استفاده می‌شود. همچنین از برخی مواد پروتئینی با منشأ لبنی مانند شیر خشک، کازئینات سدیم و پودر آب پنیر نیز استفاده می‌شود. از انواع پروتئین‌های گیاهی

به ترتیب برای سنجش میزان رطوبت فرآورده‌های گوشتی از استاندارد ملی ۷۴۵ (۱۳۸۲)، سنجش میزان خاکستر از استاندارد ملی ۷۴۴ (۱۳۸۱)، پروتئین استاندارد ملی ۹۲۴ (۱۳۸۰)، چربی از استاندارد ملی ۷۴۲ (۱۳۸۲)، نشاسته از استاندارد ملی ۲۳۰۳ (۱۴۰۰)، فسفات از استاندارد ملی ۱۱۳۴ (۱۳۸۶) و نیتريت از استاندارد ملی ۹۲۳ (۱۳۷۵) استفاده شد (۷، ۱۴).

به منظور آماده‌سازی نمونه‌ها جهت تهیه مقاطع بافت‌شناسی، نمونه‌های سوسیس و کالباس در فرمالین ۱۰ درصد بافری قرار داده شدند. زمان نگهداری نمونه‌ها در محلول فیکساتیو حداقل ۴۸ ساعت در نظر گرفته شد. پس از تثبیت، نمونه‌ها وارد مراحل پاساژ بافتی و بلوک‌گیری شده و مقاطع حاصل از برش بافتی توسط دستگاه میکروتوم (مدل DS4055- ساخت شرکت دیده سبز، ایران) وارد مراحل رنگ‌آمیزی شدند. در مطالعه حاضر از سه روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، رنگ‌آمیزی هیستوشیمی تریکروم ماسون و گومری استفاده گردید.

جهت ارزیابی درصد عضله اسکلتی در نمونه‌ها، از سیستم آنالیز تصویر (میکروسکوپ نوری (Medic M-107 BN، چین) مجهز به دوربین (Dino-Late)، نرم افزار تصویربرداری (Dino capture V.2) و نرم افزار تحلیل تصویر (Image-Pro v.6 Plus) استفاده شد. براساس استاندارد ۶۱۰۳ برای هر نمونه ۳۶ مقطع تهیه شد. تمام مقاطع بافتی تهیه شده برای هر نمونه با استفاده از دستگاه اسکن لام (PathScan Enabler (IV, Plustek- USA) اسکن و تصاویر حاصل با نرم افزار مذکور آنالیز گردید (۱۵). میانگین آنالیز تصویری برای هر نمونه یادداشت شد. برای تفسیر نتایج از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه در نرم افزار SPSS16 استفاده و سطح معنی دار $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

گوشتی استفاده می‌شود (۱۱). بافت‌های عضلانی و همبندی که در ارزیابی کیفیت خوراکی گوشت دو عامل اصلی را تشکیل می‌دهند با بررسی مقاطع بافت شناسی در زیر میکروسکوپ قابل تشخیص هستند، بدین صورت که هر اندازه مجموع درصدهای عضله هر نمونه بیشتر باشد، نمایانگر کیفیت خوراکی بالاتر از آن خواهد بود. هیستوشیمی به اندازه خود بافت شناسی قدیمی است. رنگ آمیزی هیستوشیمی اساساً رنگ مصنوعی یک ماده برای تسهیل بررسی، با استفاده از یک مولکول آلی بنام رنگ است. تکنیک‌های مختلفی برای رنگ آمیزی سلول‌ها یا بافت‌ها وجود دارند که به خاطر توانایی آن برای رنگ‌دار کردن فیبرهای کلاژن و عضلات مشهور هستند (۱۲).

از طرفی پیشرفت‌های اخیر در زمینه کامپیوتر و پردازش تصویر راه‌های جدیدی برای نظارت بر کیفیت در صنعت غذا ایجاد کرده‌اند. اصطلاح آنالیز تصویری به معنی تبدیل یک تصویر کیفی به یک عدد کمی است (۱۳). مرور مطالعات نشان داده است که استفاده هر یک از تکنیک‌ها مزایا و معایب خود را دارد، بنابراین یک روش باید براساس کاربرد واقعی انتخاب یا توسعه داده شود. در این تحقیق از هیستوشیمی همراه با آنالیز تصویری برای تعیین درصد گوشت و اعتبار سنجی فرآورده‌های گوشتی استفاده گردید.

• مواد و روش‌ها

این طرح در تابستان ۱۴۰۰ در شهر همدان انجام شد. در این تحقیق ۵۰ نمونه سوسیس و کالباس (۲۷ نمونه سوسیس، ۲۳ نمونه کالباس) از دو برند تولیدی فعال فرآورده‌های گوشتی شهر همدان جمع‌آوری و به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل شد. قابل ذکر اینکه تنها دو برند تولیدی در شهر همدان فعال بودند؛ که محصولاتی تولیدی آن‌ها از سطح شهر همدان جمع‌آوری گردید (جدول ۱).

جدول ۱. تعداد نمونه‌های سوسیس و کالباس جمع‌آوری شده از هر برند

نوع فرآورده	برند A		برند B	
	سوسیس	کالباس	سوسیس	کالباس
۴۰ تا ۵۰ درصد	۵	۳	۰	۰
۵۱ تا ۶۰ درصد	۸	۰	۷	۵
۶۱ تا ۸۰ درصد	۷	۶	۰	۶
۸۱ تا ۹۰ درصد	۰	۳	۰	۰
مجموع	۲۰	۱۲	۷	۱۱

• یافته‌ها

نتایج آزمون‌های شیمیایی

آنالیز و دسته‌بندی نتایج شیمیایی براساس درصد گوشت و میزان استاندارد آن انجام شد. طبق نتایج بررسی نمونه‌ها، در ۶۰ درصد نمونه‌های کالباس و ۸۵ درصد نمونه‌های سوسیس میزان پروتئین از حد استاندارد کمتر بود ($p < 0.05$). در نمونه‌های سوسیس و کالباس ۴۰ تا ۵۰ درصد و نمونه‌های کالباس ۸۱ تا ۹۰ درصد گوشت میزان پروتئین به‌طور معنی‌دار کمتر از میزان استاندارد بود ($p < 0.05$) (جدول ۲). همچنین در ۶۹ درصد نمونه‌های کالباس و ۸۰ درصد نمونه‌های سوسیس میزان چربی از حد استاندارد بیشتر بود ($p < 0.05$).

در نمونه‌های کالباس و سوسیس ۴۰ تا ۵۰ درصد و نمونه‌های سوسیس ۷۱ تا ۹۰ درصد میزان چربی به‌طور معنی‌داری بیشتر از مقدار استاندارد بود ($p < 0.05$) (جدول ۳). بررسی میزان فسفات و نیتريت (جدول ۴)، و خاکستر و رطوبت (جدول ۵) در تمام نمونه‌ها در حد مجاز استاندارد بود. با این وجود میزان نشاسته در ۵۰ درصد نمونه‌های سوسیس و ۲۶ درصد نمونه‌های کالباس بیش از حد استاندارد بود ($p < 0.05$). در نمونه‌های کالباس ۴۰ تا ۵۰ درصد، میزان نشاسته به‌طور معنی‌داری بیشتر از مقدار استاندارد بود ($p < 0.05$). در حالی که ۸۰ تا ۸۱ درصد نمونه‌های کالباس، میزان نشاسته به‌طور معنی‌داری کمتر از مقدار استاندارد بود ($p < 0.05$) (جدول ۶).

جدول ۲. توزیع فراوانی میانگین پروتئین در فرآورده‌های گوشتی

نوع فرآورده	مقدار استاندارد (درصد وزنی)	کالباس		سوسیس	
		میانگین \pm انحراف معیار	P	میانگین \pm انحراف معیار	P
۴۰ تا ۵۰ درصد	کمینه ۱۱/۵ درصد	۸/۷۳ \pm ۰/۱۵	*/۰۰۵	۹/۹۴ \pm ۲/۲۱	*/۰۱۴
۵۱ تا ۶۰ درصد	کمینه ۱۲ درصد	۱۲/۳۶ \pm ۰/۸۳	۰/۳۴۷	۱۰/۳۶ \pm ۱/۹۳	۰/۲۶۸
۶۱ تا ۸۰ درصد	کمینه ۱۴ درصد	۱۳/۳۰ \pm ۰/۷۸	۰/۲۴۹	۱۳/۲۲ \pm ۰/۹۹	۰/۳۷۵
۸۱ تا ۹۰ درصد	کمینه ۱۵/۵ درصد	۱۵/۴ \pm ۰/۱	*/۰۰	-	-

* - نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با مقدار استاندارد است ($p < 0.05$).

جدول ۳. توزیع فراوانی میانگین چربی در فرآورده‌های گوشتی

نوع فرآورده	مقدار استاندارد (درصد وزنی)	کالباس		سوسیس	
		میانگین \pm انحراف معیار	P	میانگین \pm انحراف معیار	P
۴۰ تا ۵۰ درصد	۲۳ (بیشینه)	۳۲۵/۴۳ \pm ۰/۴۷	*/۰۱۲	۲۹/۱۸ \pm ۳/۸۶	*/۰۳۵
۵۱ تا ۶۰ درصد	۲۰ (بیشینه)	۲۰/۴۴ \pm ۱/۸۹	۰/۰۵۶	۲۲/۴۱ \pm ۱/۸۱	۰/۲۱۴
۶۱ تا ۸۰ درصد	۱۹ (بیشینه)	۲۰/۳۴ \pm ۰/۹	*/۰۳۸	۲۱/۵۲ \pm ۲/۳۳	۰/۰۸۶
۸۱ تا ۹۰ درصد	۱۰ (بیشینه)	۱۱/۱۳ \pm ۰/۲	*/۰۱۱	-	-

* نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با مقدار استاندارد است ($p < 0.05$).

جدول ۴. توزیع فراوانی میانگین فسفات و نیتريت در فرآورده‌های گوشتی (سوسیس/کالباس)

نوع فرآورده	مقدار استاندارد (درصد وزنی)	کالباس				سوسیس			
		فسفات		نیتريت		فسفات		نیتريت	
		مقدار استاندارد (میلی‌گرم آکیلوگرم)	میانگین \pm انحراف معیار	P	میانگین \pm انحراف معیار	P	مقدار استاندارد (میلی‌گرم آکیلوگرم)	میانگین \pm انحراف معیار	P
۴۰ تا ۶۰ درصد	۰/۵	۰/۱۵۸	۰/۵۵ \pm ۰/۰۴	۰/۱۵۸	۰/۱۹	۰/۵۴ \pm ۰/۰۵	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۲۰۱
۶۱ تا ۹۰ درصد	۰/۶۵	۰/۲۸۹	۰/۶۵ \pm ۰/۰۴	۰/۲۸۹	۰/۴۰۷	۰/۶۷ \pm ۰/۰۲	۰/۴۰۷	۰/۳۶	۰/۳۶

اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۵. توزیع فراوانی میانگین خاکستر و رطوبت در فرآورده‌های گوشتی

رطوبت				خاکستر				مقدار استاندارد (درصد وزنی)	نوع فرآورده
سوسیس		کالباس		سوسیس		کالباس			
<i>P</i>	میانگین \pm انحراف معیار	<i>P</i>	میانگین \pm انحراف معیار	<i>P</i>	میانگین \pm انحراف معیار	<i>P</i>	میانگین \pm انحراف معیار		
۰/۳۰۹	۵۸/۳۵ \pm ۳/۵۲	۰/۳۳۹	۵۵/۱۴ \pm ۴/۸۹	۵۵	۰/۱۳۹	۳/۲۶ \pm ۰/۲	۰/۲۵۵	۳/۱	۴۰ تا ۶۰ درصد
۰/۳۶۸	۶۶/۹ \pm ۲/۷۱	۰/۱۳۲	۶۱/۳۰ \pm ۳/۱۳	حد اکثر ۴ برابر میزان پروتئین به علاوه ۱۰	۰/۴۲۱	۲/۶۵ \pm ۰/۵۲	۰/۲۷۹	۲/۳۸ \pm ۰/۶۷	۶۱ تا ۹۰ درصد

اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۶. توزیع فراوانی میانگین نشاسته در فرآورده‌های گوشتی

سوسیس		کالباس		مقدار استاندارد (درصد وزنی)	نوع فرآورده
<i>p</i>	میانگین \pm انحراف معیار	<i>p</i>	میانگین \pm انحراف معیار		
*۰/۰۴۱	۱۲/۳۷ \pm ۲/۶۳	*۰/۰۰	۱۳/۴۳ \pm ۰/۱۵	۹	۴۰ تا ۵۰ درصد
۰/۴۰۳	۶/۲۳ \pm ۰/۴۹	۰/۰۶۸	۵/۶ \pm ۰/۳۷	۶	۵۱ تا ۶۰ درصد
۰/۵۹۷	۴/۴۵ \pm ۰/۲۲	۰/۱۶۰	۴/۴ \pm ۰/۴۲	۴،۵	۶۱ تا ۸۰ درصد
-	-	*۰/۰۳۸	۳/۸۳ \pm ۰/۵۷	۴	۸۱ تا ۹۰ درصد

* نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با مقدار استاندارد است ($p < ۰/۰۵$).

نتایج آزمون‌های بافت‌شناسی و آنالیز تصویری

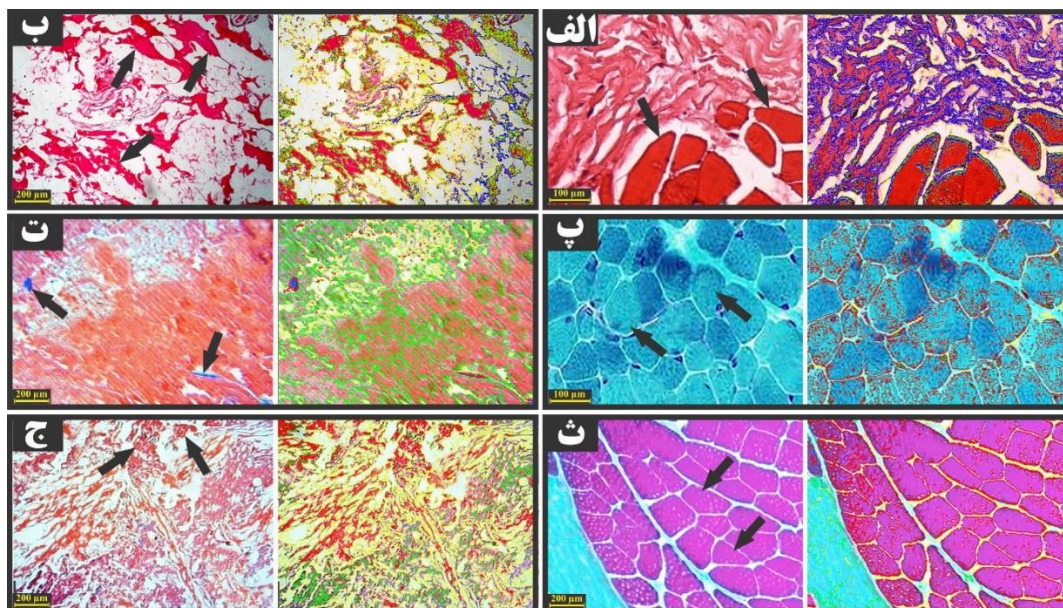
در بررسی مقاطع بافتی نمونه‌های سوسیس و کالباس، در کنار رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، برای تفریق بهتر اجزای نمونه‌ها به ویژه تفریق عضلات اسکلتی از دو نوع رنگ‌آمیزی هیستوشیمی تری کروم‌ما سون و گومری استفاده شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که برای تفریق هرچه بهتر مقاطع عضلات اسکلتی در نمونه‌های سوسیس و کالباس از بافت‌های گیاهی مثل گلوتن و سوسویا روش رنگ‌آمیزی هیستوشیمی گومری کارایی بهتری دارد. در این رنگ‌آمیزی

مقاطع عضله اسکلتی به رنگ آبی روشن تا تیره قابل مشاهده است. این تفریق رنگ سبب سهولت بررسی مقاطع بافتی در محیط نرم افزار Image pro-plus شده و نتایج حاصل از آنالیز تصویری این مقاطع با دقت بیشتری همراه است. در حالی که مقاطعی که توسط رنگ‌آمیزی تری کروم‌ما سون رنگ شده بودند تفاوت قابل‌ذکری با مقاطع رنگ شده با روش هماتوکسیلین-ائوزین نداشتند. نتایج این بررسی نشان داد که در ۱۰۰ درصد نمونه‌ها، میزان درصد عضله اسکلتی کم‌تر از میزان درج شده بر روی بسته‌بندی بود (جدول ۷) (تصویر ۱).

جدول ۷. توزیع فراوانی میانگین درصد گوشت در فرآورده‌های گوشتی

سوسیس		کالباس		نوع فرآورده
<i>p</i>	میانگین \pm انحراف معیار	<i>p</i>	میانگین \pm انحراف معیار	
*۰/۰۱۵	۲۲/۵۷ \pm ۲/۱۴	*۰/۰۱	۲۴/۳۲ \pm ۲/۶۹	۴۰ درصد
۰/۱۳۳	۴۵/۰۷ \pm ۴/۹۵	-	-	۵۵ درصد
۰/۲۷۴	۵۱/۱۱ \pm ۳/۵	۰/۳۶۲	۵۳/۲۸ \pm ۲/۷۵	۶۰ درصد
*۰/۰۳۵	۶۱/۵۱ \pm ۴/۷۵	۰/۱۶۶	۶۳/۲۹ \pm ۳/۳۴	۷۰ درصد
-	-	*۰/۰۴۵	۶۹/۳۴ \pm ۳/۹۶	۸۰ درصد
-	-	*۰/۰۱	۷۸/۹۱ \pm ۲/۰۵	۹۰ درصد

* - نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با مقدار استاندارد است ($p < ۰/۰۵$).



تصویر ۱. مقطع بافتی تهیه شده از نمونه‌های سوسیس و کالباس

الف و ب: به ترتیب نمونه سوسیس ۵۰ درصد و ۷۰ درصد. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین. ساختار عضلات اسکلتی با فلش نشان داده شده است.
پ و ت: به ترتیب کالباس ۸۰ درصد و ۴۰ درصد. رنگ‌آمیزی گومری. ساختار عضلات اسکلتی با فلش نشان داده شده است.
ث و ج: به ترتیب کالباس ۹۰ درصد و ۴۰ درصد. رنگ‌آمیزی تری کروماسون. ساختار عضلات اسکلتی با فلش نشان داده شده است.

• بحث

امروزه امنیت غذایی توجه بیشتری در مقایسه با کیفیت محصولات، نسبت به گذشته جلب نموده است. همچنین در سال‌های اخیر، مصرف‌کنندگان بیشتر در مورد کیفیت و ایمنی محصولات غذایی نگران شده‌اند و به شدت به دانستن بیشتر در مورد اصالت غذا و تقلب‌های غذایی علاقه‌مند شده‌اند. علاوه بر این، در طول دوره همه‌گیری ویروس کرونا در سراسر جهان، مصرف‌کنندگان حتی بیشتر از هر زمان دیگری نگران ایمنی، دسترسی، قابلیت حمل و نقل و منشأ محصولات غذایی هستند (۱۶). تقلبات در فرآورده‌ها ممکن است پیامدهای مهمی برای امنیت غذایی داشته باشند، علاوه بر اثرات اقتصادی و اخلاقی، ترکیبات اعلام نشده ممکن است برای سلامتی مضر باشند. همچنین تولید محصولات گوشتی با موادی که مطابق با برجسب نیستند، تقلب محسوب می‌شود. در نتیجه اعتبارسنجی فرآورده‌های گوشتی از اهمیت ویژه‌تری برخوردار خواهد بود و برای انجام این کار، روش‌های تجزیه و تحلیل مناسب و قابل اعتماد باید در آزمایشگاه‌های کنترل مواد غذایی اجرا شود (۱۷). مسئله کنترل کیفی فرآورده‌های گوشتی و درجه تطابق فرآورده‌های تولید شده با استانداردهای موجود همواره مورد توجه محققین مختلف بوده است. نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی در مطالعه حاضر نشان داد که میزان رطوبت، فسفات، نیتريت و خاکستر در نمونه‌های

مورد بررسی در حد استاندارد بود. در حالی که میزان پروتئین، چربی و نشاسته در برخی از نمونه‌های با میزان استاندارد ملی آن‌ها مطابقت نداشت. مطالعه‌ی Ambrosiadis و همکارانش (۲۰۰۴) بر روی نمونه‌های مختلف سوسیس در یونان نشان داد که همه‌ی نمونه‌ها از نظر میزان رطوبت، چربی، خاکستر و پروتئین در حد مجاز استاندارد کشور یونان بودند (۱۸) که با نتایج مطالعه حاضر در مورد بررسی رطوبت، خاکستر و نشاسته همخوانی، ولی در ارتباط با نتایج بررسی میزان چربی و پروتئین همخوانی نداشت. در مطالعه حاضر، چربی نمونه‌های مورد بررسی بیش از حد استاندارد بود، که این مسئله می‌تواند مشکلات عدیده‌ای مانند بیماری‌های قلبی و عروقی را ایجاد کند. بخصوص اینکه برخی از این محصولات مجدداً داخل روغن‌های خوراکی پخته و سرخ می‌شوند. به نظر می‌رسد استفاده از گوشت با درصد چربی بالا سبب کاهش میزان پروتئین و افزایش میزان چربی در فرآورده‌های مورد مطالعه در تحقیق حاضر شده است. تعدادی از نمونه‌ها نیز مقدار نشاسته بالاتر از میزان استاندارد داشتند، نشاسته عموماً به عنوان ضخیم‌کننده، ژله‌ای‌کننده و احتباس‌کننده‌ی آب و حجیم‌کننده و پرکننده به منظور بهبود ویژگی‌های فرآورده‌های گوشتی استفاده می‌شود که زیاد بودن آن می‌تواند نشان دهنده‌ی به کار رفتن بیشتر پروتئین گیاهی در محصولات باشد و باعث بالا رفتن انرژی دریافتی شود. احتمالاً

نیتريت، خطر سرطانزایی آن‌ها می‌باشد، واکنش اسیدنیترترو با آمین‌های نوع دوم تولید نیتروزآمین می‌کند که سرطان‌زا می‌باشد. سازمان‌های مختلف جهانی تصمیم به حذف آن و جایگزین کردن آن با مواد دیگر نمودند، اما به دلایل متعددی از جمله خطر ناشی از مسمومیت بوتولیسیم، که بر اهمیت‌تر از پایین آوردن میزان نیتروزآمین می‌باشد تا به حال نتوانستند دستور منع استفاده از آن را صادر کنند (۲۳). نتایج مطالعه حاضر با گزارشات بالا بودن میزان نیترات در فرآورده‌های گوشتی همخوانی نداشت.

استفاده از هیستوشیمی و آنالیز تصویری می‌تواند کنترل کیفیت محصولات گوشتی را برای مقامات دولتی فراهم کند. در گذشته برخی از محققان از روش‌های بافت‌شناسی و هیستوشیمی برای تشخیص بافت‌های غیرمجاز در برخی از محصولات گوشتی استفاده کرده‌اند که می‌تواند نشان‌دهنده‌ی استفاده از بافت‌های غیرمجاز به جای گوشت در فرآورده‌های گوشتی باشد. در مطالعات بسیاری وجود بافت‌های غیرمجاز در محصولات گوشتی به روش بافت‌شناسی بررسی شده است (۲۴، ۲۵).

در ایران نیز مطالعات زیادی در این زمینه انجام شده است. برای اولین بار در ایران رکنی و همکارانش به بررسی بافت‌شناسی و هیستومتریک کالباس‌های حرارت دیده پرداختند که نتایج آن به شرح زیر است: مشاهده‌ی ضلالت مخطط به صورت توده‌های صورتی رنگ به‌عنوان بافت مجاز بود (۲۴). چند سال بعد رکنی و همکارانش نمونه‌های مختلفی مشابه فرمولاسیون کالباس‌های رایج در بازار فرآورده‌های گوشتی ایران تهیه کردند. فتومیکروگراف‌های تهیه شده از نمونه‌ها نشان دادند که علی‌رغم خرد شدن بافت‌ها و انجام پروسه حرارتی در طول تولید، ساختمان میکروسکوپی بافت‌های غیرمجاز قابل تفکیک و تشخیص است و رنگ‌پذیری آنها تغییری پیدا نکرده و اجزاء ساختمانی هر بافت به‌خوبی رنگ گرفته است (۲۵).

پیشرفت‌های اخیر در زمینه کامپیوترها و پردازش تصویر، راه‌های جدیدی برای نظارت بر کیفیت در صنعت غذا ایجاد کرده‌اند. این روش امکان مقایسه آماری و عددی بین نمونه‌های مختلف را فراهم می‌کند. کیفیت محصولات گوشتی بسیار مرتبط با نسبت ماهیچه اسکلتی است (۲). در مطالعه حاضر با استفاده از هیستوشیمی و آنالیز تصویری درصد ماهیچه‌ی اسکلتی به کار رفته در محصولات گوشتی مورد بررسی قرار گرفت که نشان داد میزان آن با مقدار درج شده روی بسته‌بندی دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p < 0.05$).

استفاده از پُرکننده‌هایی مانند آرد، گلوتن و نشاسته در فرمول واحدهای تولیدی مختلف سبب اختلاف در میزان نشاسته در محصولات مورد مطالعه شده است.

Koricanac و همکاران (۲۰۱۵) میزان فسفر کل را در نمونه‌های مختلف سو سیس‌های پخته شده از بازار صربستان اندازه‌گیری کردند آنها نشان دادند که اکثر سو سیس‌های آنالیز شده (۵۷ و ۹۹ درصد) در دوره ژانویه ۲۰۱۴ تا مارس ۲۰۱۵ در حد استاندارد آن کشور بودند (۱۹). در مطالعه حاضر هم میزان فسفر بصورت میانگین مطابق با استاندارد ملی بود.

صادق پور و همکاران (۱۳۹۹) روی فرآورده‌های گوشتی در شهر تبریز آزمون‌های شیمیایی (مقادیر چربی، پروتئین، کربوهیدرات، خاکستر و رطوبت) انجام دادند و نتایج نشان داد که ۴۱/۳۸ درصد نمونه‌ها آزمایش شده دارای مقادیر مغایر با استاندارد ملی ایران بودند، که بیشترین مغایرت به ترتیب ناشی از مقدار رطوبت و پروتئین بود (۲۰). همچنین صادقی و همکاران (۱۳۹۳) میزان نیتريت و نیترات در فرآورده‌های گوشتی سو سیس و کالباس عرضه شده در شهر کرمانشاه مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که میزان نیتريت و نیترات فرآورده‌های گوشتی مختلف بترتیب در محدوده ۹۸ppm-۱۰۸ و ۱۶۷ppm-۷۳۶، قرار داشت (۸). ارزیابی مقدار خاکستر در مطالعه حاضر نشان داد که بیشتر نمونه‌ها تفاوت چندانی با مقدار استاندارد نداشتند. بالا بودن میزان خاکستر کل می‌تواند نشان‌دهنده‌ی استفاده از مواد پُرکننده گیاهی بیش از حد مجاز باشد.

نمک‌های نیتريت از جمله افزودنی‌هایی هستند که به منظور ایجاد رنگ، طعم و مزه‌ی مطلوب در فرآورده‌های گوشتی استفاده می‌شود، همچنین از رشد کلسترییدیوم بوتولینوم جلوگیری کرده و باعث افزایش عمر نگهداری محصول می‌شود (۲۱). براساس نتایج مطالعه حاضر مشخص گردید که میزان نیتريت و نیترات به ترتیب ۷۶٪ و ۷۰٪ نمونه‌ها در حد مجاز بوده و از این رو با گزارش مذکور مطابقت داشت.

گلکاری و همکاران (۱۳۹۱) با بررسی همزمان میزان نیتريت و نیترات باقی‌مانده در فرآورده‌های گوشتی ۶۱ تا ۸۰ درصد گوشت عرضه شده در شیراز با روش کروماتوگرافی، میزان متوسط نیتريت و نیترات باقی‌مانده در نمونه‌های سو سیس در تمامی نمونه‌ها کمتر از حداکثر میزان مجاز ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود (۲۲). البته بایستی در نظر داشت که می‌توان بخشی از نیترات موجود در فرآورده‌های گوشتی را مربوط به مواد اولیه تولید آن‌ها مانند گوشت، آب، ادویه و سبزیجات و همچنین تبدیل یون نیتريت به نیترات در ابتدای فرآوری مرتبط دانست (۸). یک مساله‌ی مهم مربوط به

و آنالیز تصویری استفاده شد و نشان داد که بخشی از استانداردهای شیمیایی ملی فرآورده‌های گوشتی در تولید این محصولات در سطح شهر همدان رعایت نمی‌شود. همچنین تعیین درصد گوشت به کار رفته با استفاده از هیستوشیمی و آنالیز تصویری نشان داد که در تمامی محصولات عرضه شده در سطح شهر همدان از میزان در صد عضله اسکلتی کمتری استفاده می‌شود. به منظور سنجش دقیق تر وجود تقلب در محصولات گوشتی، استفاده از روش‌های تشخیص مولکولی جهت تعیین ماهیت و نوع گوشت‌های به کار رفته می‌تواند اطلاعات دقیق‌تری در اختیار محقق، سازمان‌های نظارتی و مصرف‌کنندگان قرار دهد.

سپاس‌گزاری

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی سرکار خانم نازنین الیاسی است. نویسندگان از حمایت مالی و معنوی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

- Malak N, AwadAllah Y, Zaki H. Using histological and chemical methods for detection of unauthorized tissues addition in emulsion type meat product. *International Journal of Veterinary Science*. 2020;9(3):438-42.
- Asadi M, Taghavi M, Hesari A, Ghorbanzadeh B. The Role of Histological Test in Reducing The Use of Unauthorized Tissues in Meat Products Between Years of 2014 and 2017. *Veterinary Researches & Biological Products*. 2020;33(3):31-40.
- Ballin NZ. Authentication of meat and meat products. *Meat Science*. 2010;86(3):577-87.
- Fekri M, Hosseini H, Eskandari S, Jahed G, M. A-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*. 2013;41(10):107-16.
- Lonergan SM, Topel DG, Marple DN. Chapter 5 - Fat and fat cells in domestic animals. In: Lonergan SM, Topel DG, Marple DN, editors. *The Science of Animal Growth and Meat Technology (Second Edition)*: Academic Press; 2019. p. 51-69.
- Sentandreu MÁ, Sentandreu E. Authenticity of meat products: Tools against fraud. *Food Research International*. 2014;60:19-29.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran S-SatmIntr, Karaj: ISIRI; 2021.
- Sadeghi e, Hashemian ah, Soltanian m, Soltanian s, Mohammadi m. Study of nitrite and nitrate levels in meat products distributed in Kermanshah. *Iran Occupational Health Journal*. 2014;11(6):94-100.
- RaNduloVá (۲۰۱۱) روش ایمنو هیستوشیمی همراه با آنالیز تصویر را برای ارزیابی کمی میزان پروتئین سویا به کار گرفتند. آنها نشان دادند که این روش در تعیین مقادیر بسیار پایین سویا (کمتر از ۰٫۱٪) کارآمد است (۲۶). همچنین اسدی و همکاران (۲۰۲۰) بر روی بررسی توان نرم افزار آنالیز تصویری برای سنجش میزان عضلات اسکلتی موجود در فرآورده‌های گوشتی، نتایج مشابهی به دست آوردند (۲). در مطالعه حاضر با وجود اینکه به نظر می‌رسد آنالیز تصویری توان مناسبی برای سنجش میزان درصد عضله اسکلتی را دارد، اما در تمام محصولات میزان عضله اسکلتی با مقدار درج شده بر روی محصول مطابقت نداشت.
- با توجه به اینکه فرآورده‌های گوشتی امروزه نقش مهمی در رژیم غذایی مردم جهان پیدا کرده است، اما به دلیل هزینه بالا، گاهی اوقات استانداردهای لازم و ضروری برای تولید این محصولات رعایت نمی‌شود، در نتیجه استفاده از روش‌هایی که بتوان با آن به مقایسه استاندارد با محصولات تولیدی پرداخت ضروری است. در مطالعه حاضر از روش شیمیایی، هیستوشیمی
- Nasehinia H, Mahdinia S, Ghorbani R, Nouri S. Nitrite concentration in distributed sausage in Semnan Province. *Payesh (Health Monitor)*. 2008;7(3):32-40.
- Sadeghi E, Khazaei M, Almasi A, Shariatifar N, Bohlouli Oskoi S, Tahvilian R. Recognition of Illegal Tissues in the Meat Products from Kermanshah Supply Centers during the years 2009-2010. *The Horizon of Medical Sciences*. 2011;17(1):55-9.
- Tremlová B, Štarha P. 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.
- Veuthey T, Herrera G, Dodero VI. Dyes and stains: from molecular structure to histological application. *Frontiers in Bioscience-Landmark*. 2014;19(1):91-112.
- Mendoza F, Lu R. Basics of image analysis. *Hyperspectral Imaging Technology in Food and Agriculture*: Springer; 2015. p. 9-56.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran Mamp-Domc-TmInsr, Karaj: ISIRI; 2003.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran DouatbhmInsr, Karaj: ISIRI; 2016.
- Hassoun A, Mâge I, Schmidt WF, Temiz HT, Li L, Kim H-Y, et al. Fraud in animal origin food products: Advances in emerging spectroscopic detection methods over the past five years. *Foods*. 2020;9(8):1069.
- Doosti A, Ghasemi Dehkordi P, Rahimi E. Molecular assay to fraud identification of meat products. *Journal of Food Science and Technology*. 2014;51(1):148-52.
- Ambrosiadis J, Soutos N, Abraham A, Bloukas J. Physicochemical, microbiological and sensory attributes

- for the characterization of Greek traditional sausages. *Meat Science*. 2004;66(2):279-87.
19. Koricanac V, Vranic D, Lilic S, Milicevic D, Sobajic S, Zrnic M. Total phosphorus content in various types of cooked sausages from the Serbian market. *Procedia Food Science*. 2015;5:152-5.
20. Sadeghpour A, Pirzadeh-Ashraf K, Sehatkhan M, Khandaghi J. Determination of Adulteration and Authenticity of Meat and Meat Products Using Chemical Properties and PCR Technique in Tabriz. *Journal of Health*. 2020;11(4):478-88.
21. Fazlara A, Zand Moghadam, A., Loveimi, M., Taheri, M. Survey on the amount of ash, sodium chloride and nitrite residue in heated sausages and its comparing with national standards of Iran. *Journal of Veterinary Laboratory Research*. 2012;4(2):297-308.
22. Golkari H, Eskandari MH, Pakfetrat S, Lashkari H. Simultaneous determination of nitrite and nitrate residues in meat products marketed in Shiraz by high performance liquid chromatography. *Food Hygiene*. 2012;2(2 (6)):51-60.
23. Leth T, Fagt S, Nielsen S, Andersen R. Nitrite and nitrate content in meat products and estimated intake in Denmark from 1998 to 2006. *Food Additives and Contaminants*. 2008;25(10):1237-45.
24. Rokni ND, Jahed K, G.R, Pousti I. Detection of unpermitted tissues in heated meat products by using of histological method. *Pajouhesh-va-Sazandegi*. 2000;13(2):76-81.
25. Rokni ND, Rezaeian M. Histological study of the heated meat products of mazandaran province. *Pajouhesh-va-Sazandegi* 2002;15(1):61-3.
26. RaNduloVá Z, TRemloVá B, ŘeZáčoVá-lukáškoVá Z, Pospiech M, Straka I. Determination of soya protein in model meat products using image analysis. *Czech Journal of Food Sciences*. 2011;29(4):318-21.

Estimating Proportion of Meat and Validating Results of Meat Products Using Histochemistry and Image Analysis in Meat Products of Hamadan City, Iran

Elyasi N¹, Pajohi-Alamoti MR^{2*}, Kalantari-Hesari A³

1- *MSC of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Science, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.*

2- **Corresponding author: Associate Prof, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Science, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran. Email: mr.pajohi@basu.ac.ir*

3- *Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran*

Received 23 Sep, 2022

Accepted 5 Dec, 2022

Background and Objectives: Meat products are rich sources of proteins. Due to the high prices of raw meats, there is a possibility of fraud in these products. The objectives of this study were to assess chemical characteristics and estimate proportion of skeletal muscle in meat products using histology and image analysis.

Materials and Methods: Totally, 50 sausage samples (27 sausages and 23 Bologna sausages) from two brands of meat products in Hamedan City, Iran, were collected and assessed using chemical and histological assays. Histological assessment of the samples used hematoxylin-eosin staining, Masson's trichrome staining and Gomori staining as well as image analysis software.

Results: Results of chemical assessments showed that quantity of moisture was more than standard in 56% of Bologna sausage samples and 66% of sausage samples. Furthermore, quantity of protein was less than standard in 60% of Bologna sausage samples and 85% of sausage samples. Quantity of nitrite in 70% of Bologna sausage samples and 35% of sausage samples exceeded the national standard. Results of the image analysis showed that in 100% of the samples, the quantity of skeletal muscle was lower than the quantity labeled on the product packages.

Conclusion: Results of this study showed that some of the chemical parameters were inconsistent with the national standard. Moreover, Gomori histochemical staining demonstrated a better efficiency for differentiating skeletal muscle sections in Bologna sausage and sausage samples from plant tissues.

Keywords: Meat products, Histology, Histochemistry, Image analysis