

## مطالعه همبرگرهای تولید صنعتی حاوی ۳۰ و ۶۰ درصد گوشت از نظر وجود بافت‌های غیرمجاز به

## روش هیستولوژی و تعیین ارتباط آن با شاخص‌های شیمیایی وابسته به بافت پیوندی گوشت

مهديه عباسی فسارانی<sup>۱</sup>، هدایت حسینی<sup>۲</sup>، غلامرضا جاهد خانیکی<sup>۳</sup>، مسعود ادیب مرادی<sup>۴</sup>، سهیل اسکندری قرابلو<sup>۵</sup>

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

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳- نویسنده مسئول: دانشیار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران- ایران، پست الکترونیکی jahed@tums.ac.ir

۴- دانشیار، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران- ایران

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

## چکیده

**سابقه و هدف:** باتوجه به مصرف روزافزون فرآورده‌های گوشتی خام از جمله همبرگر در کشور، کنترل کیفیت این محصولات از اهمیت خاصی برخوردار است. از آن‌جا که یکی از مهم‌ترین تقلبات در تولید این گروه از محصولات که سبب ایجاد مخاطرات بهداشتی می‌شود، استفاده از بافت‌های غیرمجاز خوراکی به‌جای گوشت در فرمولاسیون فرآورده است. از این‌رو هدف از انجام این مطالعه مقایسه همبرگرهای تولید شده صنعتی حاوی ۳۰ و ۶۰ درصد گوشت از نظر میزان استفاده از بافت‌های غیرمجاز خوراکی با استفاده از روش بافت‌شناسی و تعیین ارتباط آن با عوامل شیمیایی وابسته به بافت پیوندی گوشت بود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه ۴۴ نمونه همبرگر تولید شده صنعتی حاوی ۳۰ و ۶۰ درصد گوشت از سطح استان تهران در تابستان سال ۱۳۹۱ انتخاب شد و از نظر وجود بافت‌های غیرمجاز خوراکی به‌جای گوشت در فرمولاسیون به دو روش بافت‌شناسی (رنگ آمیزی با هما توکسیلین و ائوزین) و اندازه‌گیری میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن مورد آزمون قرار گرفت.

**یافته‌ها:** استفاده از بافت‌های غیرمجاز خوراکی در فرمول همبرگر یکی از تقلبات رایج در تولید همبرگرهای تولید شده در استان تهران است. در همبرگرهای تولید صنعتی حاوی ۳۰ درصد گوشت میزان استفاده از بافت غیرمجاز ۲/۵ برابر همبرگرهای حاوی ۶۰ درصد گوشت بود. پوست مرغ و غضروف شفاف به ترتیب فراوان‌ترین بافت‌های غیرمجاز به کار رفته در این فرآورده‌ها گزارش شد. هم‌چنین از نظر میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن در همبرگرهای حاوی ۳۰ و ۶۰ درصد گوشت دارای بافت غیرمجاز و فاقد آن اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** بسیاری از نمونه‌های همبرگر تولید صنعتی بافت‌های غیرمجاز خوراکی به‌جای گوشت در فرمولاسیون فرآورده به‌کار می‌رود که می‌تواند سلامت مصرف‌کنندگان را به خطر اندازد. از آن‌جا که روش‌های معمول کنترل کیفیت همبرگر نمی‌تواند این نوع تقلب در تولید را آشکار سازد، توصیه می‌شود آزمون‌های بافت‌شناسی که از حساسیت و دقت بالاتری برخوردار می‌باشند جایگزین آزمون‌های معمول شیمیایی شود.

**واژگان کلیدی:** همبرگر، روش بافت‌شناسی، هیدروکسی پرولین، کلاژن، بافت غیرمجاز خوراکی

## مقدمه

حاوی ۳۰ درصد گوشت، فرآورده‌های حاوی ۷۴-۶۰ درصد گوشت و ۹۵-۷۵ درصد گوشت تقسیم می‌شوند (۲). استفاده از بافت‌های غیرمجاز خوراکی مانند احشاء، پستان، کبد، ریه، طحال، مثانه و پوست و سنگدان مرغ و هم‌چنین بافت‌های غضروفی رگ و پی چربی‌های صفاقی و گوشت سر و صورت دام در این فرآورده‌ها ممنوع می‌باشد (۲). این بافت‌ها به‌دلیل

یکی از پرمصرف‌ترین فرآورده‌های گوشتی در سراسر جهان انواع همبرگر می‌باشند (۱). همبرگر عبارت است از گوشت چرخ کرده حیوانات حلال گوشت بویژه گاو و گوساله که به آن سایر مواد متشکله مجاز مانند آرد، پیاز، نمک، روغن و ادویه اضافه شده است. بر اساس استاندارد ملی ایران همبرگرهای تولیدشده صنعتی کشور به سه گروه محصولات

### مواد و روش‌ها

**تهیه نمونه‌ها:** در این تحقیق تعداد ۴۴ نمونه همبرگر از ۱۳ واحد صنعتی تولید کننده در استان تهران از سطح عرضه خریداری شد و پس از انتقال در شرایط سرد و در مجاورت یخ به آزمایشگاه مرجع کنترل غذا تهران منتقل شد. سپس ثبت مشخصات و کدگذاری نمونه‌ها انجام شد و تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۱۸- نگهداری شد.

**آزمون بافت‌شناسی:** ابتدا از ۵ قسمت مختلف از هر نمونه همبرگر برشهایی به ابعاد ۵×۵×۵ میلی‌متر تهیه شد. از آنجا که نمونه‌ها به صورت چرخ شده بوده و احتمال می‌رفت در صورت قرار دادن در محلول‌های مختلف از هم گسیخته شوند، پس از علامت‌گذاری در پارچه‌های ظریف کتان پیچیده شده، سپس در ظروف پلاستیکی درب دار حاوی فرمالین ده درصد جهت پایداری قرار داده شدند. پس از حصول اطمینان از پایداری نمونه‌ها و بعد از گذشت حداقل ۲۴ ساعت به منظور آبیگری، شفاف کردن و نفوذ پارافین در بافت همبرگر، نمونه‌ها در دستگاه پاساژ بافت یا اتوتکنیکون قرار داده شد. به‌طور کلی این دستگاه شامل دوازده ظرف حاوی محلول‌های مختلف (شامل ظروف الکل اتیلیک با غلظت‌های صعودی، الکل مطلق، گزریل و پارافین) می‌باشد و بعد از ۱۸ ساعت نمونه‌ها از دستگاه پاساژ بافت خارج و آماده قالب‌گیری با دستگاه قالب‌گیر امبدر شد. در مرحله بعد به‌منظور تهیه مقاطع میکروسکوپی نمونه‌های قالب‌گیری شده توسط دستگاه میکروتوم به ضخامت ۸-۵ میکرون برش داده شد. مقاطع بافتی در ظرف مخصوص آب گرم ۴۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته تا چروک‌های احتمالی آن‌ها باز شود و براحتی روی لام آزمایشگاهی قرار گیرند. سپس برش‌های بافتی بر روی لام منتقل شد و به‌مدت یک ساعت در آن ۵۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا ضمن خشک شدن، پارافین اضافی روی مقاطع و لام‌ها ذوب شود و به این ترتیب لام‌ها آماده رنگ آمیزی می‌شوند. در خاتمه رنگ آمیزی بافت‌ها به طریق هماتوکسیلین و اتوزین انجام شد و پس از چسباندن لام (با چسب کانادابالزام) و مطالعه با استفاده از میکروسکوپ نوری، تصاویر میکروسکوپی لازم تهیه شد (۱۱، ۱۲).

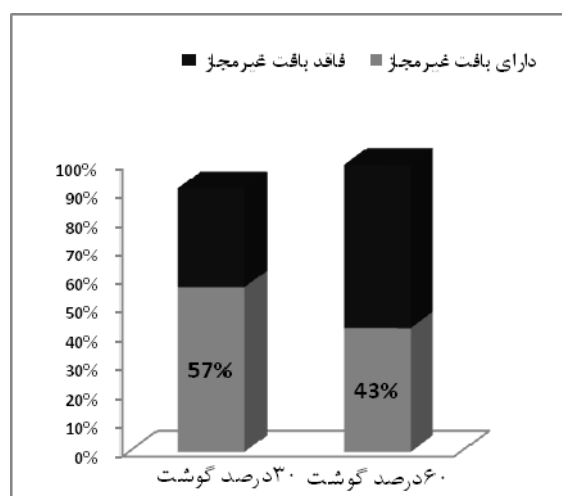
**آزمون هیدروکسی پرولین:** ابتدا نمونه‌ها در مجاورت اسید سولفوریک غلیظ و در دمای ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد هیدرولیز شد، سپس ماحصل هضم صاف و رقیق شد. سپس هیدروکسی پرولین موجود در نمونه‌ها با کلرامین T اکسید

فقیر بودن از نظر اسیدهای آمینه ضروری، حاوی پروتئین‌های با ارزش تغذیه‌ای پایین هستند و در مقایسه با عضلات مخطط دارای بار میکروبی بالاتر بوده و حتی در انتقال عوامل عفونی نظیر سالمونلا و اشرشیا کلی می‌توانند نقش داشته باشند. علاوه بر آن مصرف بعضی از این بافت‌ها مانند طحال و نخاع از نظر دینی حرام است. به همین دلیل تا کنون تلاش‌ها و بررسی‌های زیادی در جهت شناسایی این بافت‌ها غیرمجاز در دنیا صورت گرفته است (۳). امروزه عمدتاً از روش‌های شیمیایی و بافت‌شناسی جهت تعیین میزان بافت‌های غیرمجاز حیوانی و تعیین کیفیت و ارزش غذایی فرآورده‌های گوشتی استفاده می‌شود (۴).

آزمون بافت‌شناسی روشی است که برای مشاهده بافت‌های حیوانی به کار رفته به‌عنوان ماده اولیه در ماده غذایی به ویژه فرآورده‌های گوشتی در سطوح میکروسکوپی به‌منظور کنترل کیفیت محصول مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). این روش آزمون از سال ۱۹۱۰ به عنوان یک آزمایش کنترل کیفی در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گرفته است اما در ایران تا کنون به عنوان یک روش معمول برای شناسایی تقلبات در فرآورده‌های گوشتی استفاده قرار نگرفته است (۶). روش‌های بافت‌شناسی محصول دارای مزیت خاصی هستند. این روش‌ها امکان تشخیص مستقیم یک بافت را در فرآورده‌های گوشتی میسر می‌سازد و از آن برای شناسایی تقلب‌های بافتی در مواد غذایی می‌توان استفاده نمود (۷)، از طرف دیگر مطالعات نشان داده است که اندازه‌گیری میزان هیدروکسی پرولین، کلاژن و نیتروژن تام به‌عنوان شاخص‌های شیمیایی بافت‌های غیر مجاز خوراکی نمی‌تواند روش مناسبی برای کنترل فرآورده‌های گوشتی از نظر ماده اولیه به کار رفته و کیفیت پروتئین محصول باشند (۸). با توجه به گزارشات متعدد در مورد عدم انطباق برچسب فرآورده‌های گوشتی با فرمولاسیون محصول (۹، ۱۰) و آمار و اطلاعات وزارت بهداشت در مورد تقلباتی که در فرآورده‌های گوشتی خام به‌خصوص انواع همبرگر تولید شده صنعتی توسط افراد سود جو صورت پذیرفته است، این تحقیق با هدف بررسی این تقلبات و کنترل نوع گوشت مورد استفاده با استفاده از دو روش آزمون بافت‌شناسی و اندازه‌گیری فاکتورهای شیمیایی وابسته به کلاژن و تعیین دقت این دو روش آزمون جهت شناسایی این نوع تقلبات انجام گرفت.

## یافته‌ها

**نتایج بافت‌شناسی:** نتایج آزمون بافت‌شناسی در همبرگرهای تولید صنعتی در شکل ۱ نشان داده شده است، میزان بافت غیرمجاز خوراکی در همبرگرهای ۳۰ درصد، معادل ۵۷ درصد و در همبرگرهای ۶۰ درصد به میزان ۳۴/۸ درصد می‌باشد. وجود بافت غیرمجاز در همبرگرهای ۳۰ درصد، ۲/۵ برابر همبرگرهای ۶۰ درصد می‌باشد.



شکل ۱. میزان فراوانی نمونه‌های دارای بافت‌های غیر مجاز در مقایسه با نمونه‌های فاقد بافت غیر مجاز بر اساس نتایج آزمون بافت‌شناسی

هم‌چنین در جدول ۱ میزان و نوع بافت غیرمجاز تشخیص داده شده در همبرگرهای صنعتی بر اساس نتایج آزمون بافت‌شناسی آورده شده است بر اساس این نتایج پوست مرغ و غضروف شفاف به ترتیب فراوان‌ترین بافت غیرمجاز به کار رفته در همبرگرهای صنعتی می‌باشند.

## نتایج آزمون‌های پروتئین، هیدروکسی پرولین

**وکلاژن:** یافته‌های مربوط به آزمون‌های شیمیایی وابسته به بافت غیر مجاز اندازه‌گیری شده در همبرگرهای صنعتی حاوی ۳۰ درصد گوشت در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در میانگین میزان پروتئین، هیدروکسی پرولین و کلاژن همبرگرهای با ۳۰ درصد گوشت دارای بافت غیرمجاز و فاقد بافت غیرمجاز با آزمون آماری T-test اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ( $p > 0.05$ ).

شد و در مرحله بعد ۴ دی متیل آمینو بنزالدئید به آن اضافه شد. نمونه‌ها داخل بن ماری  $50 \pm 60^\circ$  به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. پس از خنک نمودن با آب سرد در نهایت جذب نوری محلول رنگی قرمز ارغوانی در طول موج  $558 \pm 2$  نونامتر به وسیله دستگاه اسپکترو فتومتر قرائت شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون، جذب نوری نمونه‌ها قرائت شد و غلظت آن‌ها با استفاده از فرمول زیر تعیین شد.

$$H = 2.5 \text{ h/mv}$$

H: میزان هیدروکسی پرولین بر حسب درصد گرم

H: میزان هیدروکسی پرولین بر حسب میکروگرم در ۲ میلی لیتر محلول صاف شده

M: وزن نمونه برداشته شده برای آنالیز

V: حجم محلول صاف شده برداشته برای تهیه رقت تا ۱۰۰ میلی لیتر در مرحله هیدرولیز

با توجه به آن که حدوداً ۱۲/۵ درصد ساختمان پروتئین کلاژن را اسید آمینه هیدروکسی پرولین تشکیل می‌دهد طبق فرمول زیرمیزان کلاژن محصول بر حسب گرم درصد گرم نمونه محاسبه شد (۱۳، ۱۴).

$$\text{Collagen (g/100 gr)} = H \times 7.8$$

## آزمون پروتئین: ۲ گرم نمونه آماده و هموزن شده همبرگر

وزن شد و در لوله‌های مخصوص هضم پروتئین دستگاه هضم و تقطیر قرار گرفت. روی آن ۲۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه شد و تا انجام هضم کامل از حرارت مستقیم اجاق الکتریکی استفاده شد پس از سرد شدن لوله‌ها به سیستم تقطیر دستگاه متصل و پس از اضافه کردن آب و سود ۴۰ درصد و انجام تقطیر و جمع‌آوری گاز آمونیاک حاصل از طریق مبرد و تیتیر نمودن با سود ۰/۱ نرمال، از روی میزان سود مصرفی میزان پروتئین تام بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (۱۵).

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

TP: پروتئین تام بر حسب درصد

v1: مقدار سود ۰/۱ نرمال مصرفی جهت تیتراسیون شاهد

v2: مقدار سود ۰/۱ نرمال مصرفی جهت تیتراسیون نمونه

N: میلی اکی والان ازت که برابر ۰/۱۴ است.

M: وزن نمونه برداشتی

در جدول ۳ یافته‌های مرتبط با شاخص‌های شیمیایی وابسته به بافت غیر مجاز اندازه‌گیری شده در همبرگرهای صنعتی حاوی ۶۰ درصد گوشت دارای بافت غیرمجاز و فاقد بافت غیرمجاز نشان داده شده است. علی‌رغم معنی دار بودن میانگین میزان پروتئین،

هیدروکسی پرولین و کلاژن با همبرگرهای حاوی ۳۰ درصد گوشت، میانگین کلیه متغیرهای مذکور در همبرگرهای ۶۰ درصد گوشت دارای بافت غیرمجاز و فاقد بافت غیرمجاز با آزمون آماری T-test معنی دار نبود ( $p > 0/05$ ).

**جدول ۱.** میزان و نوع بافت غیرمجاز تشخیص داده شده در همبرگرهای صنعتی بر اساس نتایج آزمون بافت‌شناسی

درصد گوشت همبرگر	سنگدان مرغ	غده لنفاوی	استخوان	بافت پستان	غضروف شفاف	پوست مرغ
۳۰٪	۰	۰	۱	۰	۳	۵
۶۰٪	۱	۱	۰	۱	۴	۴

**جدول ۲.** مقایسه شاخص‌های شیمیایی وابسته به بافت غیر مجاز اندازه‌گیری شده در همبرگرهای صنعتی حاوی ۳۰ درصد گوشت دارای بافت غیرمجاز و فاقد بافت غیر مجاز

P-value	Mean $\pm$ SD	تعداد	گروه	فاکتور شیمیایی
۰/۱۶	۱۳/۲۸ $\pm$ ۱/۱۳	۱۲	دارای بافت مجاز	پروتئین
	۱۲/۶۸ $\pm$ ۰/۵۳	۹	فاقد بافت غیرمجاز	
۰/۷۶	۰/۰۱۷ $\pm$ ۰/۰۰۵	۱۲	دارای بافت مجاز	هیدروکسی پرولین
	۰/۰۱۶ $\pm$ ۰/۰۰۶	۹	فاقد بافت غیرمجاز	
۰/۷۶	۰/۱۴ $\pm$ ۰/۰۳۸	۱۲	دارای بافت مجاز	کلاژن
	۰/۱۳۵ $\pm$ ۰/۰۴۸	۹	فاقد بافت غیرمجاز	

**جدول ۳.** مقایسه شاخص‌های شیمیایی وابسته به بافت غیر مجاز اندازه‌گیری شده در همبرگرهای صنعتی حاوی ۶۰ درصد گوشت دارای بافت غیرمجاز و فاقد بافت غیر مجاز

P-value	Mean $\pm$ SD	تعداد	گروه	فاکتور شیمیایی
۰/۱۷	۱۳/۰۹ $\pm$ ۱/۲۱	۸	دارای بافت مجاز	پروتئین
	۱۴/۱۳ $\pm$ ۱/۸۴	۱۵	فاقد بافت غیرمجاز	
۰/۴۵	۰/۰۲۳ $\pm$ ۰/۰۰۵	۸	دارای بافت مجاز	هیدروکسی پرولین
	۰/۰۲۵ $\pm$ ۰/۰۰۵	۱۵	فاقد بافت غیرمجاز	
۰/۴۵	۰/۱۸۸ $\pm$ ۰/۰۴۳	۸	دارای بافت مجاز	کلاژن
	۰/۲۰۲ $\pm$ ۰/۰۰۴	۱۵	فاقد بافت غیرمجاز	

## بحث

در مطالعه‌ای که فکری و حسینی در سال ۹۰ در مورد استفاده از بافت‌های غیر مجاز در فراورده سوسیس انجام دادند مشخص شد از ۳۰ نمونه سوسیس حرارت دیده با درصد‌های ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد گوشت در مجموع ۵۳/۳ در صد نمونه‌های سوسیس حاوی بافت‌های غیرمجاز پوست مرغ، چربی صفاقی، غضروف شفاف و کلیه بودند که بیش‌ترین فراوانی مربوط به بافت پوست مرغ بود. که به‌نظر می‌رسد این فراوانی به دلیل استفاده از خمیر مرغ باشد (۱۷).

در مطالعه حاضر نیز در ۵۷ درصد از همبرگرهای حاوی ۳۰ درصد گوشت و ۳۴/۸ درصد از همبرگرهای حاوی ۶۰ درصد گوشت، دارای پوست مرغ و غضروف شفاف بودند که نتایج حاصله از این تحقیق با تحقیق حاضر مطابقت دارد. هم‌چنین در مطالعه فکری و حسینی در سال ۹۰ میزان متوسط هیدروکسی پرولین به در نمونه‌های سوسیس حاوی ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد گوشت به ترتیب ۰/۰۲۳، ۰/۰۲۷ و ۰/۰۳۱ درصد تعیین شده که با نتایج مطالعه حاضر از نظر متوسط میزان هیدروکسی پرولین در درصد‌های گوشت مشابه مطابقت دارد علاوه بر آن بر اساس نتایج مطالعه فکری و حسینی، میزان متوسط هیدروکسی پرولین و کلاژن به ترتیب در نمونه‌های ۴۰ درصد تا ۷۰ درصد گوشت رو به افزایش بوده است، که در مطالعه حاضر نیز میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن از همبرگر صنعتی ۳۰ تا ۶۰ درصد گوشت رو به افزایش است. از آن‌جا که بافت پیوندی همراه گوشت منبع اصلی کلاژن و هیدروکسی پرولین است بنابراین افزایش کلاژن و هیدروکسی پرولین در محصولات با در صد گوشت بالاتر قابل توجیه است.

در مطالعه ادیب مرادی و برازندگان در سال ۱۳۸۹ در نمونه سوسیس و کالباس‌های تهیه شده از مرغ و خمیر مرغ، نمونه بافت‌های کلیه، چربی صفاقی، پوست و غضروف شفاف مشاهده شد که با نتایج مطالعه حاضر از نظر وجود بافت‌های غیر مجاز مطابقت دارد (۱۶).

در مطالعه دیگری که کاوسی نژاد و همکاران در سال ۱۳۸۷ روی ۶۰ عدد همبرگر از نظر وجود بافت‌های غیر مجاز انجام دادند، بافت‌های غضروف، سنگدان مرغ، ریه و عضله صاف را شناسایی کردند. که با نتایج مطالعه حاضر از نظر وجود بافت‌های غیر مجاز مطابقت دارد (۱۸).

نتایج بافت‌شناسی در مورد همبرگرهای تولید صنعتی نشان داد علی‌رغم آن‌که اختلاف معنی‌داری بین دو نوع همبرگر حاوی ۳۰ درصد گوشت و ۶۰ درصد گوشت از نظر وجود بافت غیرمجاز مشاهده نمی‌شود، اما فراوانی وجود بافت غیرمجاز در همبرگرهای ۳۰ درصد ۲/۵ برابر همبرگرهای حاوی ۶۰ درصد گوشت می‌باشد. هم‌چنین نتایج نشان داد پوست مرغ و غضروف شفاف به ترتیب فراوان‌ترین بافت غیرمجاز به کار رفته در همبرگرهای تولید صنعتی می‌باشد. حضور این بافت‌ها در همبرگر گوشت گاو که مرتبط با اجزاء لاشه مرغ هستند؛ می‌تواند به دلیل استفاده غیر مجاز از خمیر مرغ باشد. در کارخانه‌های فراورده‌های گوشتی عمدتاً این خمیر از اسکلت صاف یا بی‌خس شده (باقی مانده اسکلت مرغ بعد از جدا کردن ران و سینه) و یا از مرغ‌های تخم‌گذار که پس از حذف از چرخه تولید برای مصارف صنعتی وارد کارخانه‌های فراورده‌های گوشتی شده، تهیه می‌شود. لازم به توضیح است استفاده از خمیر مرغ به دلیل آلودگی میکروبی بالا و خطرات بالقوه‌ای که برای مصرف‌کنندگان دارد در حال حاضر بر اساس استاندارد ملی ایران ممنوع است. اما از آن‌جا که خمیر مرغ قیمت تمام شده این محصولات را کاهش می‌دهد و با توجه به این‌که در میان کارخانه‌های تولیدکننده، رقابت برای افزایش تولید و پایین نگه‌داشتن قیمت تمام شده وجود دارد، جایگزینی خمیر مرغ به جای گوشت گاو به‌عنوان یک تقلب در تولید همبرگر به‌طور وسیع و برخلاف استاندارد ملی کشور انجام می‌شود و سازمان‌های نظارت‌کننده بر اجراء استانداردهای ملی و مسئول ایمنی محصولات غذایی علی‌رغم گستردگی این تقلب اقدام اثرگذاری انجام نمی‌دهند. از طرف دیگر بالا بودن فراوانی حضور بافت‌های غیر مجاز در محصولات حاوی ۳۰ درصد گوشت به دلیل قیمت پایین‌تر آن در مقایسه با محصولات حاوی ۶۰ درصد گوشت نشان می‌دهد در همبرگرهای ارزان قیمت‌تر تقلب جایگزینی خمیر مرغ به جای گوشت گاو با وسعت بیش‌تری دیده می‌شود. استفاده از خمیر مرغ علاوه بر پایین آوردن کیفیت این محصولات، سلامت مصرف‌کننده را نیز تهدید می‌کند. زیرا امکان آلودگی خمیر مرغ به دلیل جمع‌آوری غیر بهداشتی آن از سطح شهر به باکتری‌های بیماری‌زا و تولید سموم توسط آن‌ها وجود دارد.

از اختلاف معنی‌داری برخوردار نبودند ( $P > 0.05$ )، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. هم‌چنین در مطالعه فکری و حسینی مقایسه نتایج آزمون بافت‌شناسی با آزمون‌های شیمیایی نشان داد که هیچ همبستگی معنی‌داری بین دو آزمون وجود ندارد ( $P > 0.05$ ). در مطالعه حاضر نیز مقایسه نتایج آزمون بافت‌شناسی با آزمون‌های شیمیایی در همبرگرهای حاوی ۳۰ و ۶۰ درصد گوشت، نشان داد که هیچ ارتباط معنی‌داری بین این دو آزمون وجود ندارد و آزمون بافت‌شناسی از قدرت تشخیص بالاتری برای شناسایی بافت‌های غیر مجاز نسبت به روش شیمیایی برخوردار است.

حسینی و همکاران در سال ۱۳۸۵، میزان هیدروکسی پرولین، کلاژن، پروتئین تام را در ۱۵۰ نمونه فرآورده گوشتی حرارت‌دیده که همگی آن‌ها در شرایط خوب ساخت تهیه شده بودند را مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعات آن‌ها متوسط میزان هیدروکسی پرولین را در نمونه‌های حاوی ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درصد به ترتیب ۰/۱۴، ۰/۱۹ و ۰/۲۲ تعیین نمود که با نتایج این تحقیق مطابقت ندارد. علت این عدم انطباق در نتایج می‌تواند به دلیل پایین بودن میزان کلاژن و هیدروکسی پرولین در خمیر مرغ نسبت به گوشت قرمز و کم‌تر بودن درصد گوشت مورد استفاده در فرمول فرآورد نسبت به میزان در صد گوشت درج شده در برچسب محصول باشد.

با توجه به نتایج تحقیق حاضر که نشان داد تقلبات در همبرگر معمولی حاوی ۳۰ درصد گوشت و همبرگر ممتاز حاوی ۶۰ درصد گوشت به‌طور وسیعی انجام می‌گیرد و معنی‌دار نبودن هم‌بستگی بین دو روش آزمون بافت‌شناسی و شیمیایی اندازه‌گیری هیدروکسی پرولین در نمونه‌های ۳۰ و ۶۰ درصد گوشت، انجام آزمون‌های بافت‌شناسی برای کشف این‌گونه تقلبات مخاطره‌آمیز که هم از لحاظ بهداشتی و هم از نظر اقتصادی موجب آسیب و زیان برای مصرف‌کنندگان را فراهم می‌آورند کاملاً ضروری به نظر رسیده و جایگزین نمودن و الزام انجام آزمون بافت‌شناسی به‌جای آزمون‌های معمول کنترل کیفی شیمیایی فرآورده‌های گوشتی در استانداردهای مربوط توصیه می‌شود.

هم‌چنین در تحقیقی که حسینی و همکاران در سال ۱۳۸۶ جهت تعیین نوع گوشت استفاده شده در تولید ۲۸۸ نمونه همبرگر تولید شده در کارخانجات فرآورده‌های گوشتی در سطح شهر تهران با استفاده از روش الیزای سان‌دویچی انجام دادند، در ۴۳/۸ درصد از نمونه‌های همبرگر صنعتی به جای استفاده از گوشت گاو از گوشت مرغ استفاده شده بود به‌طوری‌که در گروه حاوی ۳۰ درصد گوشت، به‌طور معنی‌داری مصرف گوشت مرغ بیش از سایر گروه‌های همبرگر صنعتی بود، علی‌رغم آن‌که در پروانه ساخت این محصولات استفاده از بافت‌های مرغ غیرمجاز بوده است در تحقیق حاضر نیز فراوانی حضور بافت‌های مرغ احتمالاً به شکل خمیر مرغ در همبرگرهای صنعتی حاوی ۳۰ درصد گوشت ۲/۵ برابر همبرگرهای حاوی ۶۰ درصد گوشت به‌دست آمد که تأیید کننده تحقیق حسینی و همکاران در سال ۱۳۸۶ است. درحالی‌که در برچسب و فرمولاسیون محصول نیز به استفاده از مرغ اشاره‌ای نشده بود (۱۸).

در تحقیق رکنی و همکاران در سال ۱۳۸۳ در سه نمونه از ۱۵ نمونه همبرگرهای حاوی ۳۰ درصد گوشت مطالعه شده، بافت پستان گزارش شده بود. در مطالعه حاضر نیز در دو نمونه از همبرگرهای صنعتی بافت پستان مشاهده شد (۱۴). در تحقیقی که در آمریکا در سال ۲۰۰۸ بر روی تعدادی از نمونه‌های همبرگر صورت گرفت، بافت‌های هم‌بندی، غضروف، استخوان، بافت چربی احشایی مشاهده شد که مشابه این نوع بافت‌ها نیز در همبرگرهای مورد مطالعه تحقیق حاضر مشاهده و گزارش شد (۱۹).

در مطالعه حاضر، نمونه‌های همبرگر تولید صنعتی حاوی ۳۰ درصد گوشت و ۶۰ درصد گوشت که دارای بافت غیرمجاز و فاقد بافت غیرمجاز بودند از نظر میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن، اختلاف معنی‌داری نداشتند ( $P > 0.05$ ). به عبارت دیگر اندازه‌گیری هیدروکسی پرولین و کلاژن شاخص مناسبی برای تشخیص وجود بافت‌های غیر مجاز در همبرگر نمی‌باشد و قادر به شناسایی تقلب جایگزینی خمیر مرغ به‌جای گوشت گاو نمی‌باشد. نتایج مطالعه فکری و حسینی در مورد بافت‌های غیر مجاز سوسیس نیز نشان دادند که میزان شاخص‌های شیمیایی کلاژن و هیدروکسی پرولین در نمونه‌های حاوی ۴۰ درصد و ۵۵ درصد گوشت که دارای بافت غیرمجاز و یا فاقد آن بودند

## References

1. Rokni N, Rezaian M, Noori N. Detection of unauthorized tissue in some of cured meat products of Tehran with histological method. Pajouhesh & Sazandegi. 2004 (65):2-5 [in Persian].
2. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Row frozen hamburger – Specifications. ISIRI no 2304. 3rd revision, Karaj: ISIRI; 2007[in Persian].
3. Kamkar A, Bokaei S, Rokni N, Behroozi I M. Determination of Hydroxyproline as Measur of Collagen Content in Meat Product by Colorimetric Method. Journal of Vetenerary Research. 2005 [in Persian].
4. Rokni N. Science & Technology of Meat: University of Tehran Press; 2006 [in Persian].
5. Damez JL, Clerjon S. Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. Meat Science. 2008;80 (1):132-49.
6. Tremlova B, Starha 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):101-6.
7. 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. Ofogh-e-Danesh Journal. 2011;17 (1):55-9 [in Persian].
8. Dankova A. Variability of connective tissue content in some meat products. Prumysl-Potravin; 1971.
9. Behrens M, Unthan M, Brinkmann Y, Buchholz R, Latus N. Identification of animal species heated and complex meat products using specific PCR reactions. Fleischwirtschaft. 1999;79:97-100.
10. Swart K, Wilks C. An immunodiffusion method for the identification of the species of origin of meat samples. Australian veterinary journal. 1982;59 (1):21-2.
11. Pousty I, Adibmoradi M, Fazili A. Decomparative Histology: University of Tehran Press; 2008 [in Persian].
12. Pousty I, Adibmoradi M. Histotechnique: University of Tehran; 2008 [in Persian].
13. AOAC Official Methods of Analysis 2000.chapter 39, Hydroxyproline in meat and meat products 13-5.
14. AOAC Official Methods of Analysis 2000.chapter 39, Protein in meat. 7,8.
15. Fekri m. Histological Study of Heated Meat Product Based on Unauthorized Tissues and Relationship with Hydroxyproline: Tehran University of Medical Science; 2011 [in Persian].
16. Adibmoradi m, Barazandegan K. Histological Study of Sausage Based on Unauthorized Tissues. Magezine of Standard. 2010 (215):2-4 [in Persian].
17. Hosseini H, Barazandegan K, Akhondzadeh A, Shemshadi B, Tavakoli HR, Khaksar R. Determination the kind of meat content of Patties marketed in Tehran in 1386. 2009;6 (3):95-100 [in Persian].
18. Kavousi Nejad M, Fazlara A, Morovati H. Detection of unauthorized tissue in hamburger with histological method. 15 th Congress of Vetenerary of Iran; Iran2008 [in Persian].
19. Prayson B, McMahon JT, Prayson RA. Fast food hamburgers: what are we really eating? Annals of Diagnostic Pathology. 2008;12 (6):406-9.

## 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

Abbasy-Fasarani M<sup>1</sup>, Hosseini H<sup>2</sup>, Jahed-Khaniki GR\*<sup>3</sup>, Adibmoradi M<sup>4</sup>, Eskandari S<sup>5</sup>

1. M.Sc Student of Food Hygiene, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences
2. Associate Prof, Dept. of Food Sciences & Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. \* Corresponding author: Associate Prof., Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran  
Email: jahed@ut.ac.ir
4. Associate Prof., Dept. of Histology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
5. Assistant Prof., Dept. of Food Chemistry, Food and Drug Laboratory Research Center, Ministry of Health & Medical Education, Tehran, Iran

**Background and Objective:** Regarding to investment of raw meat products such as Hamburger consumption in our country, quality control and safety of these products is very important issue. One the most probable adulteration in manufacturing of meat products is application of unpermitted edible tissues in formula instead of meat, which may have many public health consequences. The aim of present research was 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.

**Materials and Methods:** 44 industrial Hamburger containing 30 and 60 percent meat produced in Tehran province were collected in summer of 1391. The samples were tested for detection of unpermitted edible tissues in formula via two laboratory methods: histology (Hematoxylin-Eosin staining) and chemical analysis for determination of collagen and Hydroxyproline.

**Results:** Frequency of unpermitted edible tissues in Hamburgers containing 30 percent meat was 2.5 times more than 60 percent Hamburgers. The most popular unpermitted tissues were found in Hamburger samples were chicken skin and hyaline cartilage. There was not any significant difference between collagen and hydroxyproline content of 30 and 60 percent meat Hamburgers.

**Conclusion:** Application of unpermitted edible tissues in Hamburger formula is a popular adulteration in Tehran province and may have serious health consequences for consumers. According to the results, routine chemical methods which use for quality control of Hamburger such as determination of collagen and hydroxyproline would not be able to reveal this kind of adulteration and application of histological methods is necessary for control of Hamburgers to detect unpermitted edible tissues in this product.

**Keywords:** Hamburger, Histological method, Hydroxyproline, Collagen, Unpermitted edible tissue