

ارزیابی تقلبات در کباب‌های کوبیده به روش هیستولوژیکی و شیمیایی در شهر تبریز

رضا دقیقیان^۱، افشین جوادی^{۲*}، سیداسماعیل صفوی^۳

۱. دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۲. دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۳. استادیار گروه علوم پایه، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: javadi@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۳/۱۱/۲۸ پذیرش نهایی: ۹۴/۲/۱۰)

چکیده

با توجه به این که مراکز تهیه، پخت و عرضه فرآورده‌های گوشتی از فرمولاسیون خاصی استفاده می‌کنند، لذا ارزیابی این فرآورده‌ها از نظر امکان وجود تقلب موضوعی ضروری است. هدف این تحقیق ارزیابی کیفیت محصولات گوشتی عرضه شده در رستوران‌ها و غذاخوری‌های شهر تبریز بود. برای این منظور ۳۳ نمونه گوشت چرخ کرده و مخلوط با افزودنی‌هایی که محصول نهایی آن کباب کوبیده بود، جمع‌آوری گردید و جهت تشخیص تقلبات از دو روش شیمیایی و هیستولوژیکی استفاده شد. آزمون شیمیایی با ارزیابی اندیس کلاژن و اسید آمینه هیدروکسی پرولین به روش کلرومتریکی و روش هیستولوژیکی با تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسلین-ائوزین صورت پذیرفت. بر اساس نتایج حاصله میزان هیدروکسی پرولین به‌طور میانگین 0.268 ± 0.0384 و میانگین میزان کلاژن برابر با 0.209 ± 0.2993 بودند. هم‌چنین بافت‌های غیرمجاز شامل استخوان، غضروف و ریه به‌ترتیب برابر با ۱۲/۱ درصد، ۱۸/۲ درصد و ۹/۱ درصد بودند. مقایسه نتایج بافت‌شناسی و نتایج آزمون شیمیایی نشان داد که بین مقدار گوشت و میزان هیدروکسی پرولین رابطه مستقیم وجود دارد و هم‌چنین میزان هیدروکسی پرولین در بافت‌های مختلف متفاوت می‌باشد، به‌طوری که در نمونه‌های دارای تقلبات، میزان هیدروکسی پرولین بالا بود. نتایج کلی حاکی از آن بود که فرآورده‌های گوشتی دست‌ساز تهیه شده در سطح شهر تبریز، عاری از تقلبات سهوی یا عمدی نبوده و بیش از پیش مستلزم کنترل و ساماندهی می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: هیستولوژیکی، تقلب، کباب کوبیده، روش شیمیایی

مقدمه

با توجه به افزایش تنوع در غذاهای مصرفی و گوناگونی فرهنگ تغذیه‌ای، گوشت به‌عنوان غذای رایج و منبع اصلی پروتئین، جایگاه اصلی خود را در رژیم غذایی خانواده‌ها حفظ کرده است. از آنجایی که گوشت به‌ویژه گوشت قرمز در میان اقلام غذایی بیشترین مصرف را دارد و هم‌چنین در رستوران‌ها، غذاخوری‌ها و حتی مراکز تهیه غذاهای خانگی از گوشت قرمز به‌عنوان ماده غذایی اصلی در تهیه غذاهای مختلف استفاده می‌شود. با توجه به این که هر یک از این مراکز برای جلب مشتری از فرمولاسیون خاصی در تهیه محصولات گوشتی خود استفاده می‌کنند، لذا ارزیابی این فرآورده‌ها از نظر امکان وجود تقلب امری مهم و ضروری به نظر می‌رسد. یکی از این فرآورده‌های گوشتی، کباب کوبیده است که از گوشت قرمز به صورت چرخ‌شده تهیه می‌گردد و در میان ایرانیان، به‌عنوان غذایی محبوب و پرمصرف شناخته می‌شود. با در نظر گرفتن هزینه نسبتاً بالای تهیه گوشت خام مصرفی در فرآورده‌های گوشتی نظیر کباب کوبیده، امکان تقلب و جایگزینی بافت‌های غیرمجاز دامی به‌جای گوشت توسط افراد سودجو وجود دارد. با توجه به گزارشات متعدد در مورد عدم انطباق برچسب فرآورده‌های گوشتی با فرمولاسیون محصول و آمار و اطلاعات وزارت بهداشت، در مورد تقلباتی که در فرآورده‌های گوشتی خام تولید شده در کارخانجات صورت می‌گیرد، انتظار می‌رود که همین موضوع در رستوران‌ها و غذاخوری‌های سطح شهر، به مراتب بیشتر از کارخانجات حائز اهمیت باشد. زیرا بازرسی و

کنترل در این مکان‌ها نسبت به کارخانجات کمتر صورت می‌گیرد و از همه مهم‌تر هیچ‌گونه اطلاعاتی در مورد فرمولاسیون و مواد تشکیل‌دهنده آن‌ها برای مصرف‌کننده ارابه نمی‌گردد. بافت‌های غیرمجاز طبق تعریف موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران شامل امعاء و احشاء، پستان، کبد، ریه، طحال، مثانه، نخاع و هم‌چنین بافت‌های غده‌ای و غضروفی، رگ‌وبپی، پوست، چربی‌های صفاقی و گوشت کله می‌باشند که استفاده از آن‌ها در فرآورده‌های گوشتی ممنوع می‌باشد. هم‌چنین در فرآورده‌های گوشت قرمز، استفاده از گوشت طیور یا سنگدان و ... ممنوع است (استاندارد ملی ایران، شماره ۶۱۰۳ و ۱۳۸۰). این بافت‌ها به‌دلیل فقیر بودن از نظر اسیدهای آمینه اساسی، حاوی پروتئین‌هایی با ارزش تغذیه‌ای پایین بوده و در مقایسه با گوشت دارای بار میکروبی بالایی می‌باشند که می‌توانند در انتقال عوامل عفونی نظیر سالمونلا و ای‌کولای نقش داشته باشند. هم‌چنین در کشورهای اسلامی از نظر شرعی، مصرف برخی از این بافت‌ها نظیر طحال و نخاع حرام می‌باشد (کامکار و همکاران، ۱۳۸۲؛ حسینی و همکاران ۱۳۸۵).

امروزه عمدتاً از روش‌های شیمیایی (شامل اندازه‌گیری میزان هیدروکسی پرولین، کلاژن و پروتئین تام) و روش بافت‌شناسی (شامل تهیه مقطع و انواع رنگ آمیزی‌های عمومی و اختصاصی) جهت تعیین میزان بافت‌های غیرمجاز حیوانی و تعیین کیفیت و ارزش غذایی فرآورده‌های گوشتی استفاده می‌شود (رکنی، نوردهر، ۱۳۸۱).

مواد و روش‌ها

- نمونه‌گیری و انتقال نمونه به آزمایشگاه

برای نمونه‌برداری، تعداد محل‌هایی که بایستی از آن‌ها نمونه اخذ می‌گردید شامل ۳۳ رستوران بود که تقریباً از تمام سطح شهر تبریز، به صورت تصادفی و پراکنده نمونه‌برداری انجام گرفت. برای نمونه‌برداری، بعد از ورود به هر رستوران ابتدا از محیط آشپزخانه بازدید به عمل آمد و تمامی گوشت‌های ذخیره شده در یخچال مورد بازرسی قرار گرفت تا در صورت مشاهده بافت غیرمجاز (به صورت چرخ‌نشده) یادداشت‌برداری لازم صورت گرفت. سپس از گوشت‌های چرخ‌شده مورد استفاده برای تهیه کباب کوبیده با رعایت اصول سترون و با وزن تقریبی ۲۰۰ گرم در داخل کیسه مخصوص نمونه‌گیری شدند.

نمونه‌های به دست آمده به آزمایشگاه‌های شیمی و بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی انتقال داده شدند. در حین انجام آزمایشات، نمونه‌ها در داخل یک ظرف بدون منفذ و در دمای ۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. هم‌چنین در مواردی که انجام آنالیز بیش از ۳ روز طول می‌کشید، تا قبل از انجام آزمایش نمونه‌ها در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

- ارزیابی میزان درصد هیدروکسی پرولین و کلاژن به روش کلریمتریک

جهت انجام آزمون شیمیایی از نمونه‌های آماده شده به میزان ۴ گرم به صورت دوتایی برداشته و به داخل ارلن‌مایر منتقل گردید. در مرحله بعد ۳۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۷ نرمال روی محتویات داخلی ارلن‌مایر اضافه و با یک درپوش روی آن را پوشانده و

سپس در داخل فور الکتریکی با دمای 1 ± 105 درجه سلسیوس به مدت ۱۶ ساعت قرار داده شد. پس از سپری شدن این مدت، محتویات داخل ارلن‌مایر به صورت گرم به داخل بالن منتقل و تا حجم ۵۰۰ میلی‌لیتری با آب به حجم رسانده شد. در مرحله بعدی محلول حاصله به کمک یک عدد کاغذ صافی به داخل یک ارلن‌مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری صاف گردید و مایع صاف شده به مدت ۲ روز در ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. از نمونه‌های صاف شده به میزان ۵ میلی‌لیتر برداشت نموده و به داخل یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل گردید و با کمک آب مقطر به حجم رسانده شد. در مرحله بعدی مقدار ۲ میلی‌لیتر از رقت به دست آمده را به صورت ۲ تایی در لوله آزمایش ریخته و به آن ۱ میلی‌لیتر محلول ۴/۱ درصد کلرآمین اضافه گردید و پس از مخلوط نمودن به مدت ۱۸ الی ۲۲ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. نهایتاً ۱ میلی‌لیتر معرف رنگی ۴- دی متیل بنزالدهید به آن افزوده شد و پس از مخلوط نمودن، در لوله با فویل پلاستیکی مسدود شد. در مرحله بعد لوله‌ها بلافاصله در بن‌ماری ۵۹/۵ الی ۶۰/۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت و سپس زیر آب سرد به مدت ۳ دقیقه خنک شدند. لازم به ذکر است که علاوه بر لوله‌های مربوط به نمونه، دو عدد لوله شاهد (حاوی ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به جای ۲ میلی‌لیتر نمونه) نیز در نظر گرفته شد. میزان جذب نوری محلول رنگی داخل آن (قرمز - ارغوانی) که در اثر اکسید شدن هیدروکسی پرولین به وسیله کلرآمین-T و تبدیل آن به پیرول (Pyrrole) ایجاد شده بود، اندازه‌گیری شد. پس از انتقال محلول

ثبوت فرمالین - سرم فیزیولوژی قرار گرفتند. پس از ثبوت نمونه‌ها، با استفاده از الکل اتیلیک، نسوج آبگیری شدند. برای این منظور از الکل اتیلیک با غلظت‌های صعودی (به ترتیب شامل الکل ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۵ درصد و دو ظرف الکل مطلق) استفاده گردید. مدت زمان لازم برای قرار دادن نمونه‌ها در هر ظرف حدود ۲ ساعت بود (بهادری، ۱۳۴۶؛ پوستی و ادیب مرادی، ۱۳۸۲).

مرحله شفاف کردن بافت نمونه‌ها با قرارگیری نمونه در ظرف حاوی گزیلول و به مدت تقریبی ۲ ساعت انجام پذیرفت. سپس نمونه‌ها در ظروف حاوی پارافین مذاب با دمای ۵۶ - ۵۵ درجه سلسیوس برای ۲ ساعت قرار داده شدند. نمونه‌ها با استفاده از پارافین مذاب قالب‌گیری شدند. نمونه‌های بافتی در قالب‌های مخصوص حاوی پارافین مذاب قرار داده شدند. پس از سرد شدن منجمد شدن پارافین، قالب‌ها جداسازی و بلوک‌های پارافین در یخچال نگه‌داری شدند.

از قالب‌های پارافینی با استفاده از دستگاه میکروتوم دوار، برش‌هایی به ضخامت ۷ - ۶ میکرومتر تهیه گردید. این برش‌ها در بن ماری ۴۰ تا ۵۰ درجه قرار داده شدند تا چین و چروک‌های آن‌ها باز شود. سپس با استفاده از لام‌های آغشته به چسب آلومین، نمونه‌های مورد نظر را از سطح آب برداشته و لام‌ها حداقل به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزمایشگاه نگه‌داری شدند تا کاملاً خشک شوند. از هر نمونه ۲ عدد لام تهیه گردید.

برای رنگ‌آمیزی نمونه‌ها از هماتوکسیلین - ائوزین استفاده شد. با استفاده از الکل اتیلیک با درجات صعودی ۷۰، ۸۰، ۹۰ درصد و دو ظرف حاوی الکل

مورد آزمایش به یک لوله ۱۰ میلی متری، میزان جذب نوری آن در طول موج حدود 558 ± 2 نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر قرائت گردید. هم‌چنین به منظور تعیین میزان هیدروکسی پرولین نمونه‌های مجهول، منحنی کالیبراسیون تهیه شد. سپس میزان هیدروکسی پرولین از طریق فرمول (۱) و میزان کلاژن بر حسب گرم در صد گرم نمونه - با توجه به آنکه حدود ۰/۱۲٪ ساختمان پروتئین کلاژن را اسید آمینه هیدروکسی پرولین تشکیل می‌دهد - با استفاده از فرمول (۲) محاسبه گردید:

$$H \text{ (g/100g)} = \frac{h \times 2/5}{m \times v} \text{ فرمول (۱)}$$

H: میزان هیدروکسی پرولین بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم نمونه؛ h: معادل میزان هیدروکسی پرولین بر حسب میکروگرم در دو میلی لیتر محلول صاف شده؛ m: وزن نمونه؛ ۲/۵: عدد ثابت؛ v: حجم محلول صاف شده برداشتی برای تهیه رقت تا ۱۰۰ میلی لیتر در مرحله هیدرولیز.

$$B \text{ (g/100g)} = H \times 7.8 \text{ فرمول (۲)}$$

B: میزان کلاژن بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم نمونه

- تهیه مقاطع بافتی از نمونه‌ها

ابتدا از ۵ قسمت مختلف از هر نمونه گوشتی، قالب‌هایی به شکل سکه تهیه شد. از آنجایی که نمونه‌های اخذ شده به شکل گوشت چرخ شده بودند و احتمال می‌رفت در صورت قرار دادن در محلول‌های مختلف از هم گسیخته شوند، پس از علامت‌گذاری در پارچه‌های ظریف کتان پیچیده شدند و سپس در ظروف پلاستیکی درب‌دار حاوی فرمالین ۱۰٪ جهت پایدار کردن قرار داده شدند. برای انجام این مرحله نمونه‌های بافتی حداقل به مدت ۴۸ ساعت در محلول

سبد حاوی لام‌ها برای آبگیری در ظرف حاوی الکل اتیلیک با درجات صعودی (۷۰، ۸۰، ۹۰ درصد) و دو ظرف حاوی الکل مطلق و در هر کدام به مدت سه دقیقه قرار گرفتند که در مرحله بعد، نمونه‌ها در داخل سه ظرف گزیلول هر کدام به مدت ۳ دقیقه قرار داده شد. در مرحله آخر، لام‌های رنگ‌آمیزی شده از سبد خارج و پس از تمیز نمودن اطراف نمونه، یک قطره چسب اتلان روی لام قرار داده و یک لامل روی لام قرار داده شد. پس از خشک شدن لام‌ها، نمونه‌ها از نظر تقلبات بافتی و هم‌چنین از نظر میزان گوشت (عضله) جهت مطالعه آماده شدند.

مطلق، مرحله آبگیری صورت گرفت. سپس لام‌ها به مدت ۵ - ۳ دقیقه در آب جاری شستشو و برای زدودن رنگ اضافی و ایجاد تمایز، لام‌ها در محلول اسیدالکل (۱۰۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۷۰ درجه و ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ) به مدت ۵ - ۳ ثانیه غوطه‌ور شدند. نمونه‌ها مجدداً در آب جاری به مدت ۱۰-۵ دقیقه شستشو و برای تثبیت رنگ هسته، به مدت ۱ دقیقه در ظرف حاوی کربنات لیتیوم نگه‌داری و سپس در آب جاری شسته شدند. در مرحله بعدی نمونه‌های بافتی به مدت ۵-۳ دقیقه در ظرف حاوی ائوزین قرار داده شدند. پس از رنگ‌آمیزی با ائوزین،

یافته‌ها

توصیفی درصد هیدروکسی پرولین و کلاژن نشان داده شده است.

در جدول (۱) میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن نمونه‌ها و در جداول (۲) و (۳) به ترتیب آماره‌های

جدول (۱) - آماره‌های توصیفی برای میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن (برحسب درصد)

پارامتر	تعداد	کمینه	بیشینه	میانگین	انحراف استاندارد
هیدروکسی پرولین	۶۶	۰/۰۰۵	۰/۱۲۱	۰/۰۳۸۴۲	۰/۰۲۶۸۲۴
کلاژن	۶۶	۰/۰۳۹	۰/۹۴۳	۰/۲۹۹۳	۰/۲۰۹۱

جدول (۲) - آماره‌های توصیفی درصد هیدروکسی پرولین

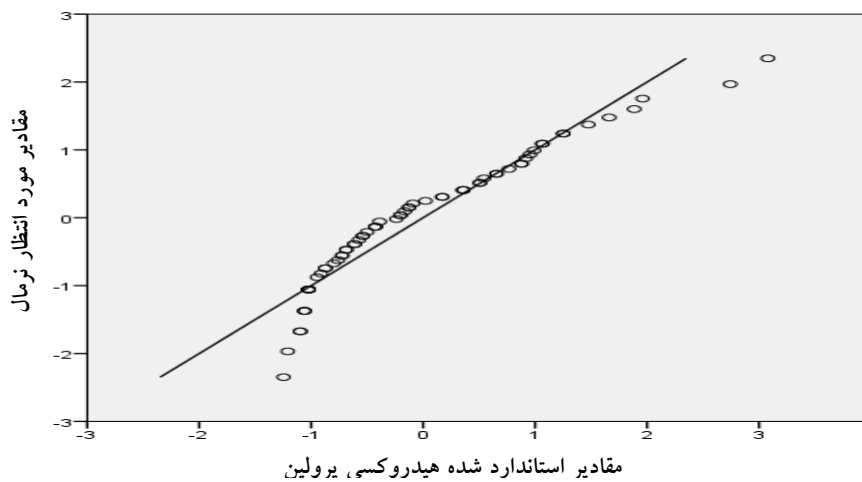
حدود طبقات	حد وسط طبقه x_i	فراوانی f_i	فراوانی نسبی fc_i
۰/۰۰۴۵ - ۰/۰۱۸	۰/۰۱۱	۱۸	۰/۲۷
۰/۰۱۹ - ۰/۰۳۲	۰/۰۲۵	۱۵	۰/۲۳
۰/۰۳۳ - ۰/۰۴۷	۰/۰۰۴	۱۰	۰/۱۵
۰/۰۴۸ - ۰/۰۶۱	۰/۰۵۴	۸	۰/۱۲
۰/۰۶۲ - ۰/۰۷۶	۰/۰۶۹	۹	۰/۱۴
۰/۰۷۷ - ۰/۰۹۰	۰/۰۸۳	۳	۰/۰۴
۰/۰۹۱ - ۰/۰۱۰	۰/۰۹۵	۱	۰/۰۲
۰/۱۱ - ۰/۱۲۱	۰/۱۱۵	۲	۰/۰۳

جدول (۳)- آماره‌های توصیفی درصد کلاژن

حدود طبقات	حد وسط طبقه x_i	فراوانی f_i	فراوانی نسبی f_i/c_i
۰/۱۵۱ - ۰/۰۳۹	۰/۰۹۵	۲۰	۰/۳۰
۰/۲۶۴ - ۰/۱۵۲	۰/۲۰۸	۱۵	۰/۲۳
۰/۳۷۷ - ۰/۲۶۵	۰/۳۲۱	۱۰	۰/۱۵
۰/۴۹۰ - ۰/۳۷۸	۰/۴۳۴	۸	۰/۱۲
۰/۶۰۳ - ۰/۴۹۱	۰/۵۴۷	۷	۰/۱۱
۰/۷۱۶ - ۰/۶۰۴	۰/۶۶	۴	۰/۰۶
۰/۸۲ - ۰/۷۱۷	۰/۷۶	۰	۰
۰/۹۴۳ - ۰/۸۳	۰/۸۸	۲	۰/۰۳۰

در نمودار (۱) توزیع مقادیر هیدروکسی پرولین در نمونه‌های مورد آزمایش نشان داده شده است. براین اساس میزان هیدروکسی پرولین به جز چند مشاهده در دو انتها، حول محور نرمال کاملاً توزیع

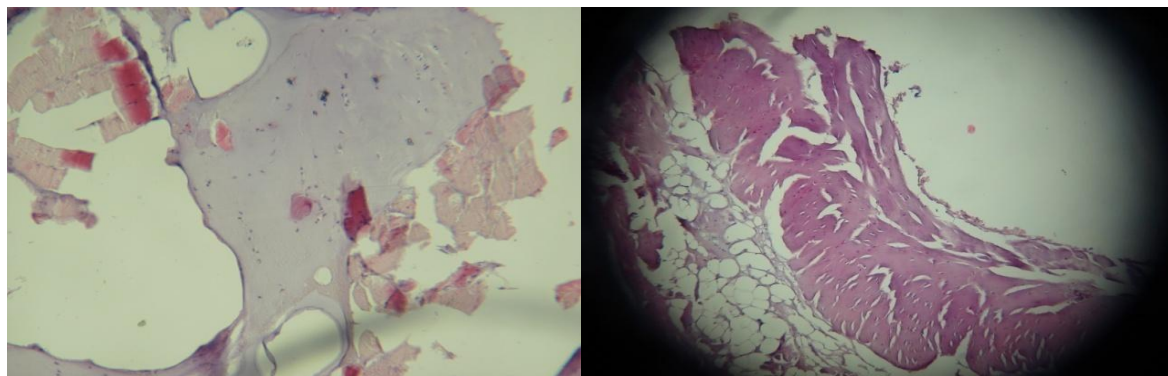
شده‌اند و از خط نرمال انحراف چندانی ندارد و طبیعی به نظر می‌رسند.



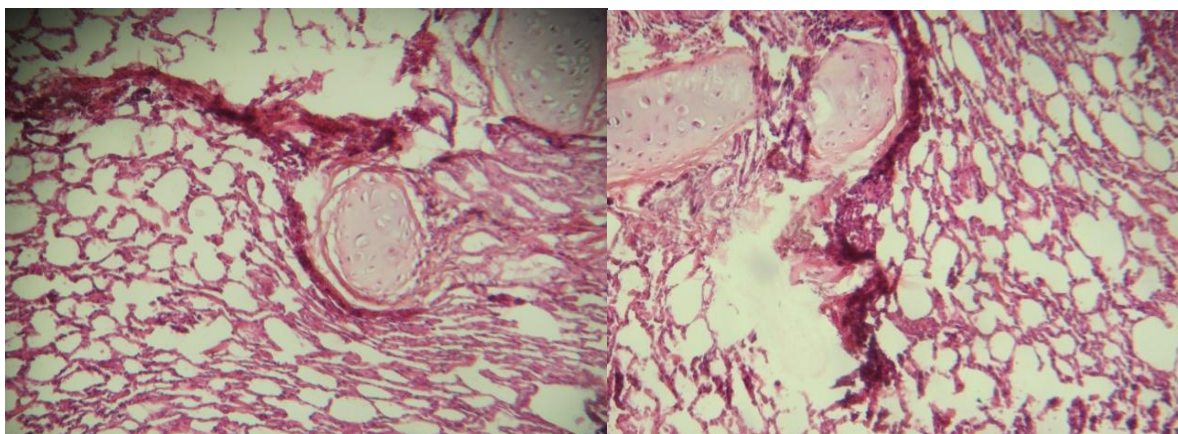
نمودار (۱)- توزیع مقادیر هیدروکسی پرولین در نمونه‌های مورد آزمایش

نتایج حاصل از مشاهدات بافتی نشان داد ۷/۷۲٪ (۴۸) از ۶۶ نمونه فاقد تقلب و ۳/۲۷٪ (۱۸) از ۶۶ نمونه بودند.

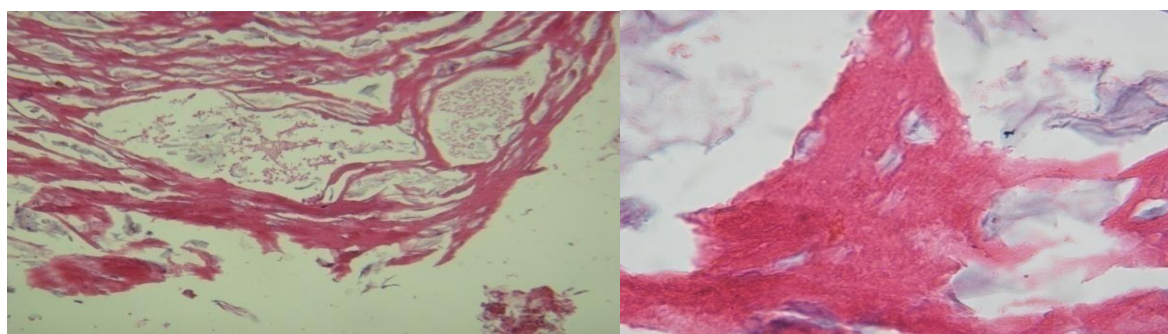
در شکل‌های (۱)، (۲) و (۳) به ترتیب نمونه‌های از بافت‌های غضروف، ریه و استخوان ارایه شده است.



شکل (۱) - نمونه بافت غضروف (رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین. درشت نمایی X100)



شکل (۲) - نمونه بافت ریه (رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین. درشت نمایی X100)



شکل (۳) - نمونه بافت استخوان (رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین. درشت نمایی X100)

جدول (۴) - مقایسه درصد هیدروکسی پرولین و کلاژن در نمونه‌های دارای بافت غیرمجاز و فاقد بافت غیرمجاز

نتایج بافتی	متوسط میزان (درصد)		انحراف استاندارد	
	هیدروکسی پرولین	کلاژن	هیدروکسی پرولین	کلاژن
دارای بافت غیرمجاز	۰/۰۳۸	۰/۲۹۸	۰/۰۱۶	۰/۱۲۳
فاقد بافت غیرمجاز	۰/۰۴۰	۰/۳۰۹	۰/۰۲۴	۰/۱۸۵

جدول (۵) - میزان عضله نمونه‌ها و اندیس‌های شیمیایی به دست آمده در هر گروه

میزان عضله	فراوانی	متوسط میزان (درصد)	
		هیدروکسی پرولین	کلاژن
+	۲۳	۰/۰۲۹	۰/۲۲۹
++ (متوسط)	۳۴	۰/۰۴۸	۰/۳۷۸
+++ (زیاد)	۹	۰/۰۴۳	۰/۳۳۲
کل نمونه	۶۶	-	-

جدول (۶) - پراکندگی نمونه‌های حاوی تقلب در گروه‌های دارای میزان گوشت کم، متوسط و زیاد

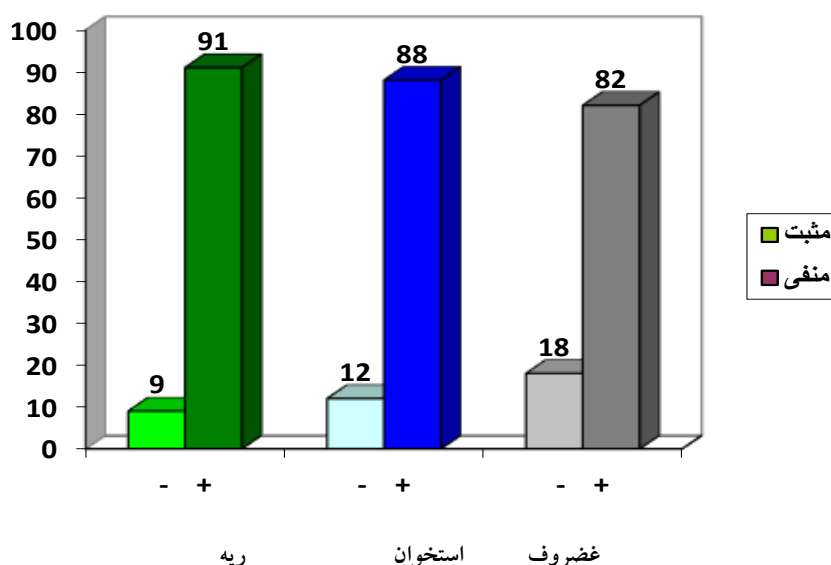
میزان عضله	فراوانی کل نمونه‌ها	تعداد نمونه‌های حاوی تقلب
+	۲۳	۸
++ (متوسط)	۳۴	۹
+++ (زیاد)	۹	۱
تعداد کل	۶۶	۱۸

در جدول (۷) و نمودار (۲) برای هر متغیر مقادیر فراوانی درصد تعداد مثبت و منفی نمونه آورده شده است.

این جدول بیانگر آن است که میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن به دست آمده در نمونه‌های حاوی تقلب، بیشتر مربوط به بافت‌های غیرمجاز می‌باشد.

جدول (۷) - بافت‌های غیرمجاز یافت شده در نمونه

بافت	تعداد نمونه‌های	
	فاقد بافت غیرمجاز	حاوی بافت غیرمجاز
ریه	۶۰	۶
استخوان	۵۸	۸
غضروف	۵۴	۱۲



نمودار (۲) - میزان متغیرهای مثبت و منفی بافت‌های غیرمجاز (غضروف، استخوان و ریه) بر حسب درصد

نشان داد که میزان کلاژن به‌عنوان نماینده بافت پیوندی در سوسیس‌های کره‌ای ۱۰-۱/۲ درصد بود که در مقایسه با سوسیس‌های وارداتی بیشتر بود (Woo *et al.*, 1978). بررسی انجام شده توسط هِر و همکاران بر روی ۴۰ نمونه همبرگر و ۴۹ نمونه سوسیس نشان داد که در ۶/۱۲ درصد از نمونه‌های مورد مطالعه میزان هیدروکسی پرولین بیش از ۲۲/۰ درصد بود (Herrer *et al.*, 1984). هم‌چنین واسکوئز و همکاران میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن را در نمونه‌های کالباس‌تجاری مکزیک به‌ترتیب ۲۹/۰-۱۴/۰ و ۳۲/۲-۱۲/۱ درصد گزارش نمودند (Vazquez *et al.*, 1996). فرانسیسکو و ناتالی میزان کلاژن و هیدروکسی پرولین را در کالباس‌های تولیدی در شمال غربی مکزیک مورد بررسی قرار دادند (Francisco and Natalia, 1996). بر اساس نتایج این تحقیق هیچ‌یک از

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه‌ای هورواتیک و همکاران انجام دادند، تأثیر حذف بافت پیوندی از گوشت گاو در کیفیت پروتئین آن از طریق آنالیز اسیدهای آمینه بررسی شد. آن‌ها نشان دادند گوشت‌هایی که بافت پیوندی آن‌ها حذف می‌شود و میزان هیدروکسی پرولین در آن‌ها به‌واسطه برداشته شدن بافت پیوندی ۴۰ درصد کاهش یافته و ۱۶ درصد ارزش غذایی بالاتری را دارا می‌باشند (Horvatic *et al.*, 1977). اوجتوزی و همکاران در سال ۱۹۷۰ مطالعاتی را بر روی میزان کلاژن در دو نوع گوشت و دونوع سوسیس انجام دادند و مشاهد کردند که میزان کلاژن در دو نوع گوشت ۶/۰ و ۷/۲ درصد و در دو نوع سوسیس ۶/۴ و ۴/۱ درصد بود (Ojtozy *et al.*, 1970). هم‌چنین در مطالعه‌ای بر روی سوسیس‌های تولیدی در کشور کره و مقایسه آن‌ها با سوسیس‌های وارداتی، نتایج

نمونه‌های مورد بررسی با استاندارد مواد گوشتی آن کشور مطابقت نداشت. به‌ویژه از نظر میزان پروتئین، که میزان پروتئین در همه نمونه‌ها کمتر از ۱۴ درصد بود، در حالی که حداقل حد مجاز پروتئین در استاندارد آن کشور برای این محصولات ۱۴ درصد است. میزان هیدروکسی پرولین در این نمونه‌ها بین ۰/۲۶ - ۰/۱۴ درصد و مقدار کلاژن ۱/۲ - ۱ درصد بود و درصد پروتئین عاری از کلاژن ۱۳ در نمونه‌ها ۹/۵ - ۷/۹ درصد بود که از حداقل ۱۳ درصد ذکر شده، از استاندارد این کشور کمتر بود. براساس قوانین آن کشور، حد مجاز هیدروکسی پرولین و کلاژن در کالباس بترتیب ۰/۲۰-۰/۱۴ و ۱/۹۲-۱/۱۲ درصد می‌باشد.

براساس نتایج مطالعه‌ای که کامکار و حسینی در سال ۱۳۸۲ بر روی ۶۰ نمونه کالباس ژامبون گاوی تولید شده توسط ۱۲ کارخانه تولیدکننده فرآورده‌های گوشتی در ایران انجام دادند، میانگین درصد مجموع هیدروکسی پرولین در ۱۰۰ گرم محصول برابر با ۰/۱۰ ± ۱۹/۰، میانگین مجموع کلاژن در ۱۰۰ گرم محصول ۴/۰ ± ۷۱/۱ و نسبت کلاژن به پروتئین تام درصد گرم محصول در حدود ۲۴/۰ ± ۱۹/۹ درصد به‌دست آمد و عنوان شد که به دلیل عدم وجود استاندارد قطعی در مورد حد مجاز کلاژن و هیدروکسی پرولین در این محصولات اظهار نظر قطعی در این خصوص امکان‌پذیر نیست.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن به‌ترتیب با میانگین ۰/۳۸۴/۰ و ۲۹۹۳/۰ درصد در کباب کوبیده‌های تهیه شده در شهر تبریز نسبت به دیگر فرآورده‌های گوشتی حرارت‌دیده در ایران همچون سوسیس و کالباس، از

میزان کمتری برخوردار است. مقادیر بالاتر هیدروکسی پرولین و کلاژن می‌تواند نشانه استفاده از بافت‌های غی مجاز حیوانی در تولید محصول باشد که حاوی میزان بالای بافت پیوندی و کلاژن هستند. در این صورت میزان پروتئین عاری از کلاژن که یکی از عوامل تعیین کننده کیفیت پروتئین محصول است، کاهش می‌یابد و نسبت کلاژن به پروتئین تام و کلاژن به پروتئین عاری از کلاژن افزایش می‌یابد. با در نظر گرفتن تمامی این فاکتورها می‌توان در مورد کاهش ارزش پروتئینی محصول در پی استفاده از بافت‌های حیوانی غیرمجاز خوراکی اظهار نظر نمود.

روند تولید در فرآورده‌های گوشتی حرارت‌دیده به‌گونه‌ای است که در اثر کاتریزاسیون، ساختمان عضلانی گوشت کاملاً خرد شده و شکل آن تغییر می‌کند، به طوری که بافت عضلانی با دیگر محتویات افزودنی مخلوط شده و غیرقابل تفکیک می‌شود. بنابراین جهت تفکیک و تشخیص بافت‌ها می‌بایست رنگ‌آمیزی بافتی انجام پذیرد. چون بافت‌های حیوانی در رنگ‌آمیزی‌های بافتی اختصاصی و یا حتی عمومی رنگ مخصوص به خود می‌گیرند و این امر شناسایی آن‌ها را آسانتر می‌سازد. برای مثال در رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون، بافت همبندی که کلاژن پروتئین ساختاری آن را تشکیل می‌دهد، کلاژن به رنگ سبز و رشته‌های عضلانی به رنگ قرمز مشاهده می‌شوند.

در مطالعه‌ای که توسط جاهد خانیکی و رکنی (۱۳۸۴) بر روی کالباس‌های حرارت‌دیده به روش رنگ‌آمیزی با تری کروم ماسون انجام شد، نتایج به‌دست آمده حاکی از مشاهده بافت سنگدان مرغ، گوشت بافت

به این ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که در نمونه‌های دارای تقلب، این میزان هیدروکسی پرولین مربوط به بافت‌های غیرمجاز (استخوان، غضروف و ریه) می‌باشد که این امر وجود رابطه بین میزان هیدروکسی پرولین و مقدار گوشت و همچنین تفاوت در میزان هیدروکسی پرولین بافت‌ها را تأیید می‌کند. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد فرآورده‌های گوشتی دست‌ساز تهیه شده در سطح شهر تبریز عاری از تقلب (سهوی یا عمدی) نیست و بیش از پیش مستلزم کنترل و ساماندهی است.

نرم سر، ریه، پستان و سه قسمت اول معده نشخوارکنندگان در این فرآورده‌ها بود.

اترینگتون و سیمز و همچنین پیکرینگ و فلینت به مطالعه بافت همبندی کلاژن، تشخیص و برآورد میزان آن در فرآورده‌های گوشتی پرداختند. این محققین از روش رنگ آمیزی سیریوس قرمز استفاده کردند که در این روش، کلاژن حرارت دیده در فرآورده گوشتی به رنگ قرمز و رشته‌های عضلانی به رنگ زرد مشاهده گردید (Etherington and Sims, 1981; Pickering and Flint, 1984). در مطالعه حاضر که از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین استفاده شد، رشته‌های کلاژن (بافت همبندی) به رنگ بنفش مایل به قرمز و رشته‌های عضلانی به رنگ صورتی مشاهده شد. همچنین یافته‌های این مطالعه شامل بافت‌های استخوان، غضروف و ریه بود که به ترتیب ۱/۱۲ درصد، ۲/۱۸ درصد، ۱/۹ درصد کل نمونه‌های مورد آزمون را به خود اختصاص دادند. مقایسه نتایج بافت شناسی و نتایج شیمیایی حاکی از مطالعه نشان داد که میان مقدار گوشت و میزان هیدروکسی پرولین رابطه مستقیم وجود دارد، به طوری که در نمونه‌هایی با مقدار گوشت کم و متوسط، انتظار می‌رفت میزان هیدروکسی پرولین کم باشد ولی با در نظر گرفتن این که به جز یک مورد، تمام نمونه‌های دارای تقلب در این دو گروه بودند و میزان هیدروکسی پرولین در این نمونه‌ها تقریباً نزدیک به میزان هیدروکسی پرولین موجود در نمونه‌های با مقدار گوشت زیاد و فاقد تقلب بود (اختلاف میزان هیدروکسی پرولین در دو گروه نمونه‌های حاوی تقلب و فاقد تقلب برابر با ۰/۰۰۲ بود).

منابع

- بهادری، مسلم (۱۳۴۶). فن بافت شناسی، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۲۹۰-۲۸۰.
- پوستی، ایرج و ادیب مرادی، مسعود (۱۳۸۲). بافت شناسی مقایسه‌ای و هیستوتکنیک، انتشارات دانشگاه تهران. صفحات: ۳۸۰-۳۳۴.
- حسینی، هدایت؛ رکنی، نوردهر و کامکار، ابولفضل (۱۳۸۵). کلاژن و اندیس‌های وابسته شاخص‌های کمی باارزش در کنترل کیفیت فرآورده‌های گوشت قرمز حرارت دیده (سوسیس و کالباس) ایران. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، شماره ۴، دوره ۳، ص ۳۱-۲۳.
- رکنی، نوردهر (۱۳۸۱). علوم و صنایع گوشت، چاپ سوم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۲۷۲-۲۶۱.
- کامکار، ابولفضل؛ رکنی، نوردهر؛ بکائی، سعید و حسینی، هدایت (۱۳۸۲). اندازه‌گیری هیدروکسی پرولین به عنوان شاخص میزان کلاژن در فرآورده‌های گوشتی به روش کلریمتریکی. مجله دانشگاه دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۲، دوره ۵۷، صفحات: ۸۷-۸۳.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۰). شناسایی بافت‌های غیرمجاز به روش بافت شناختی، استاندارد ملی ایران شماره ۶۱۰۳.
- Bahadory, M. (1967). technology histology, 1th Edition, Publication of Tehran University: 220-290. [in Persian]
- Etherington, D.J., and Sims. T.J. (1981). Detection and estimation of collagen. Journal of the Science of food and Agriculture. 32: 539-546.
- Flint, F.O. and Pickering, K. (1984). Demonstration of collagen in meat products by an improved picrosirius Red polarization method. The Analyst. 109: 1505-1506.
- Francisco, A. and Natalia, S. 1996. Determination of collagen as a quality Index in bologna from northwestern Mexico, Journal of Food composition and Analysis, 9 (3): 269-276.
- Pousty, I. and Adib Moradi, M. (2003). Comparative histology and histotechnique, Publication of Tehran University: 334-380. [in Persian]
- Hoseini, H., Rokni, N. and Kamkar, A. (2007). Hydroxyproline, Collagen and Related Indexes, Valuable Quantitative Factors for Quality Control of Sausages and Bologna, Iranian Journal of Food Science & Technology, 3(4): 23-31. [in Persian]
- Herer, I.S. (1984). The Collagen content of meat products and its legislative implications. Journal of the Science of Food and Agriculture, 35:1265-1266.
- Horvatic, S. and Souania, H. (1977). Effect of connective tissue ratio in nutritional value of meat. Journal of Food Science, 64:38-43.
- Rokni, N. (2002). Science & Technology of Meat, 3rd Edition, Publication of Tehran University: 261-272. [in Persian]
- Kamkar, A., Rokni, N., Bokaei, S. and Hoseini, H. (2003). Determination of hydroxyproline as measure of collagen in meat product by colorimetric method, Journal of Faculty Veterinary of Medical University, Tehran, 57(2): 83-87. [in Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2001). Detect unauthorized tissues by histological methods, Iranian National Standard No. 31. [in Persian]
- Ojtozy, P. and Francisco, W. (1970). Determination of collagen in meat and meat products as a quality factor. Journal of Food Science, 29:71-79.

-
- Vazquez, A. (1996). Chemical properties of traditional bologna of Mexico. *Journal of Meat Science*, 16:29-37.
 - Woo, Y. and Takada, S. (1978). Comparison between nutritional indexes in Korean sausages. *Journal of the Food Science*, 56: 32-39.

Histological and chemical evaluation of frauds in ground meat used for kebab in Tabriz

Daghighian, R.¹; Javadi, A.^{2*}; Safavi, S.E.³

1. Graduate in Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

2. Associate Professor of Department of Food Hygiene, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

3. Assistant Professor of Department of Basic Science, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Corresponding author email: javadi@iaut.ac.ir

(Received: 2015/2/17 Accepted: 2015/4/30)

Abstract

Meat products producers represent their specific formulation; therefore, it is necessary to evaluate the presence of frauds in such products. This research was conducted to evaluate the quality of meat products at restaurants of Tabriz. For this, a total of 33 samples of ground meat mixes used for Kebab making were obtained. The samples were subjected to chemical and histological assays. Chemical analyzing was performed by means of collagen and hydroxyproline amino acid indices using colorimetric method. Moreover, histological evaluation was conducted by hematoxylin and eosin staining. Results showed that mean values of hydroxyproline and collagen were 0.0384 ± 0.0268 and mean was 0.2993 ± 0.0209 , respectively. Besides, the presence of unauthorized bone, cartilage and lung tissues were found in 12.1 %, 18.2 % and 9.1 %, respectively. Comparison of the histological and chemical outcomes revealed that a direct difference between amount of meat and hydroxyproline ranges. Moreover, the amount of hydroxyproline was different among various tissues (i.e., hydroxyproline content was in high level in fraud samples). It was concluded that handmade meat products prepared in Tabriz were not free of inadvertent/intentional fraud; therefore organized control is essential.

Keywords: Histological, Collagen, Fraud, Kebab, Ground meat