

## بررسی هیستولوژیک و هیستومتری کالباس‌های حرارت‌دیده

دکتر نوردهر رکنی\* دکتر مریم رضائیان\*\* دکتر ارمغان دیانی‌دردشتی\*

### خلاصه:

در این بررسی به منظور تشخیص بافت‌های غیرمجاز در کالباس‌های حرارت‌دیده و همچنین تشخیص و تعیین میزان بافت‌های عضلانی و پیوندی در آنها تعداد ۶۰ نمونه کالباس حرارت‌دیده از شش کارخانه فرآورده‌های گوشتی (از هر کدام ده نمونه) مورد آزمایش هیستولوژیک قرار گرفتند. قطعات یک میلی‌متر مکعبی از هر نمونه در بافر فرمالین ۱۰ درصد پایدار گردید. پس از انجام روش‌های معمول آزمایشگاه بافت‌شناسی مقاطع توسط هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. بافت عضلانی مخطط به صورت قطعاتی پراکنده به رنگ قرمز - صورتی در برش‌های طولی و عرضی به خوبی قابل تشخیص بود. رشته‌های موجود در بافت همبندی در اثر حرارت منعقد شده بود ولی به صورت یکنواخت قابل رؤیت و تشخیص بود. بافت چربی به علت حل شدن چربی در محلول گزیل، به رنگ سفید دیده می‌شد. در لام‌های مورد بررسی بافت‌های چربی حیوانی و گیاهی به صورت مخلوط در هم مشاهده شده و قابل تفکیک نبودند.

مواد افزودنی به صورت توده‌های پراکنده صورتی و قرمز و بافت‌های گیاهی که بیشتر از سویا تشکیل شده بودند به شکل دانه‌های صورتی، زرد یا تیره رنگ در زمینه لام‌ها مشاهده شدند. در یکی از نمونه‌های مورد بررسی بافت غده بزاقی به صورت توده‌ای صورتی رنگ مشاهده گردید که نمایانگر مصرف گوشت کله در نمونه فوق می‌باشد. در یکی از نمونه‌ها لیگامنت پس‌سری به صورت تکه‌های صورتی رنگ قابل رؤیت بود. با انجام بررسی هیستومتریک نمونه‌ها، درصد بافت‌های عضلانی، چربی و همبندی تعیین گردید. همچنین درصد گوشت لخم بدون چربی (Lean meat) در نمونه‌های فوق به دست آمد.

در خاتمه نتیجه‌گیری شد که در ارتباط با تشخیص اندام‌ها و بافت‌های غیرمجاز به کار رفته در این فرآورده‌های گوشتی، آزمایش هیستولوژیک روی سوسیس و کالباس در کنار آزمایش کنترل کیفی امری ضروری و اجتناب‌ناپذیر می‌باشد.

### واژه‌های کلیدی: کالباس حرارت‌دیده، هیستولوژی، هیستومتری، فرآورده‌های گوشتی

### مقدمه:

چربی، خرده یخ، سویا و آرد گندم و بسیاری از مواد افزودنی با منشاء دامی و گیاهی مانند پلی‌فسفات، آسکوربات، نیترات و نیتريت، شیر خشک، تخم مرغ، روغن مایع، سیر، و غیره تشکیل شده‌اند، می‌بایست

سوسیس و کالباس یکی از مشهورترین و متداول‌ترین فرآورده‌های گوشتی در سراسر دنیا می‌باشند. این فرآورده‌ها که از مخلوطی از گوشت،

\* - گروه آموزشی بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

\*\* - گروه آموزشی علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

از نظر میزان ترکیبات و همچنین مواد تشکیل‌دهنده یا به عبارتی دیگر از نظر کمی و کیفی و نیز از نقطه‌نظر بهداشتی طبق مقررات و استانداردهای مدون تهیه و تولید گردند (۴).

تکنولوژی تهیه این فرآورده‌ها، به‌ویژه مخلوط‌شدن مواد مختلف توسط دستگاه کاتر (Cutter) با دوران تیغه‌های آن به میزان حدود ۳۰۰۰ دور در دقیقه سبب می‌شود تا مخلوطی هموژن و غیرقابل تفکیک ایجاد گردد (۲). کنترل بهداشتی این فرآورده‌ها طبق دستورالعمل‌های موجود توسط آزمایش‌های میکروبیولوژی انجام می‌پذیرد و در نتیجه میزان آلودگی‌های میکروبی اولیه و یا ثانویه تعیین می‌گردد. در ارتباط با کنترل مواد تشکیل‌دهنده سوسیس و کالباس، آزمون‌های شیمیایی همیشه جوابگو نخواهند بود. برای مثال توسط آزمایش‌های شیمیایی می‌توان تا حدودی مقدار گوشت به کار رفته را تخمین زد که البته آن نیز به‌علت افزودن سایر پروتئین‌های حیوانی مانند کازئین و سفیده تخم‌مرغ که با پروتئین گوشت متفاوت است کاری بسیار دشوار بوده و خالی از اشکال نیست. از همه مهمتر استفاده از بافت‌های غیرمجاز حیوانی مانند ریه، پستان، طحال و غیره در این فرآورده‌ها است که به جز آزمایش هیستولوژی از هیچ طریق دیگری قابل تشخیص نمی‌باشند. بنابراین در مورد اخیر در صورت تشخیص بافت‌های فوق فرآورده تنها توسط آزمون هیستولوژیک غیرقابل مصرف اعلام می‌گردد (۷).

در تحقیقات انجام شده توسط Horn و Seidler (۱۹۷۸) ثابت شد که نتایج به‌دست آمده

توسط هیستومتری با نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی کاملاً مطابقت دارد. در این بررسی نمونه‌های مختلفی از کالباس‌های حرارت‌دیده در ارتباط با درصد ماهیچه‌های مخطط و بافت پیوندی در نمونه‌ها به‌صورت مقایسه‌ای مورد آزمایش‌های شیمیایی و هیستولوژیک قرار گرفته‌اند (۶). در مورد رنگ‌آمیزی برش‌های هیستولوژیک، روش‌های مختلفی ارائه شده است. برای مثال در دستورالعمل رسمی دولت آلمان (پاراگراف ۳۵ قانون مواد غذایی) رنگ‌آمیزی توسط هماتوکسیلین - ائوزین، کالجا، آزان، وان‌گسیون توصیه شده است (۳).

Bergeron و Durand جهت تشخیص سویا در فرآورده‌های گوشتی از روش رنگ‌آمیزی کالجا استفاده کرده‌اند و نتایج خوبی را به‌دست آورده‌اند. (۵).

هدف اصلی از بررسی اخیر تشخیص بافت‌های غیرمجاز در فرآورده‌ها و در اولویت بعدی، تشخیص ماهیچه مخطط و بافت پیوندی است که از نظر کیفیت خوراکی گوشت حائز اهمیت می‌باشد.

در این بررسی که برای اولین بار در ایران انجام می‌پذیرد از روش کلاسیک رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین استفاده شد که نتایج نسبتاً خوبی را در برداشت. در تحقیقات بعدی روش‌های مختلف رنگ‌آمیزی به‌منظور مقایسه با یکدیگر به کار گرفته خواهند شد.

مواد و روش کار :

الف - نمونه‌برداری و تهیه لام

در این بررسی به‌منظور ارزیابی و کاربرد عملی استفاده از آزمایش‌های هیستولوژیک در فرآورده‌های گوشتی، تعداد ۶۰ نمونه کالباس از کارخانه‌های مختلف

فرآورده‌های گوشتی جمع‌آوری گردید و جهت انجام آزمایش‌های فوق به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی منتقل شد. شش کارخانه در نظر گرفته شده بود که از هر کدام ۱۰ نمونه به شرح زیر برداشت شد: (A کالباس خشک، B کالباس ژامبون، C کالباس خشک ممتاز، D کالباس قارچ، E کالباس خشک و F کالباس لیونر).

در اینجا لازم به ذکر است جهت حفظ اصول امانت‌داری، از نام‌بردن کارخانجات تولیدکننده خودداری نموده و آنها با حروف A تا F نامگذاری می‌گردند.

هر نمونه به سه قسمت تقسیم شده و از هر بخش یک برش انتخاب شد و از آن برش به ابعاد یک سانتی‌متر برداشت گردید و به مدت یک هفته در شیشه‌های فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و روی هر شیشه نام فرآورده و کارخانه تولیدکننده ثبت گردید.

نمونه‌ها پس از تثبیت کامل، در سبدهای ویژه بافت قرار گرفتند. سپس به منظور خارج کردن فیکساتیوهای اضافی با آب روان شستشو داده شد. پس از انجام مراحل معمول آزمایشگاه بافت‌شناسی قالب‌های پارافینی از نمونه‌ها تهیه و مقاطع ۶ میکرونی بریده شده با هماتوکسیلین-ائوزین (HE) رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفته شد.

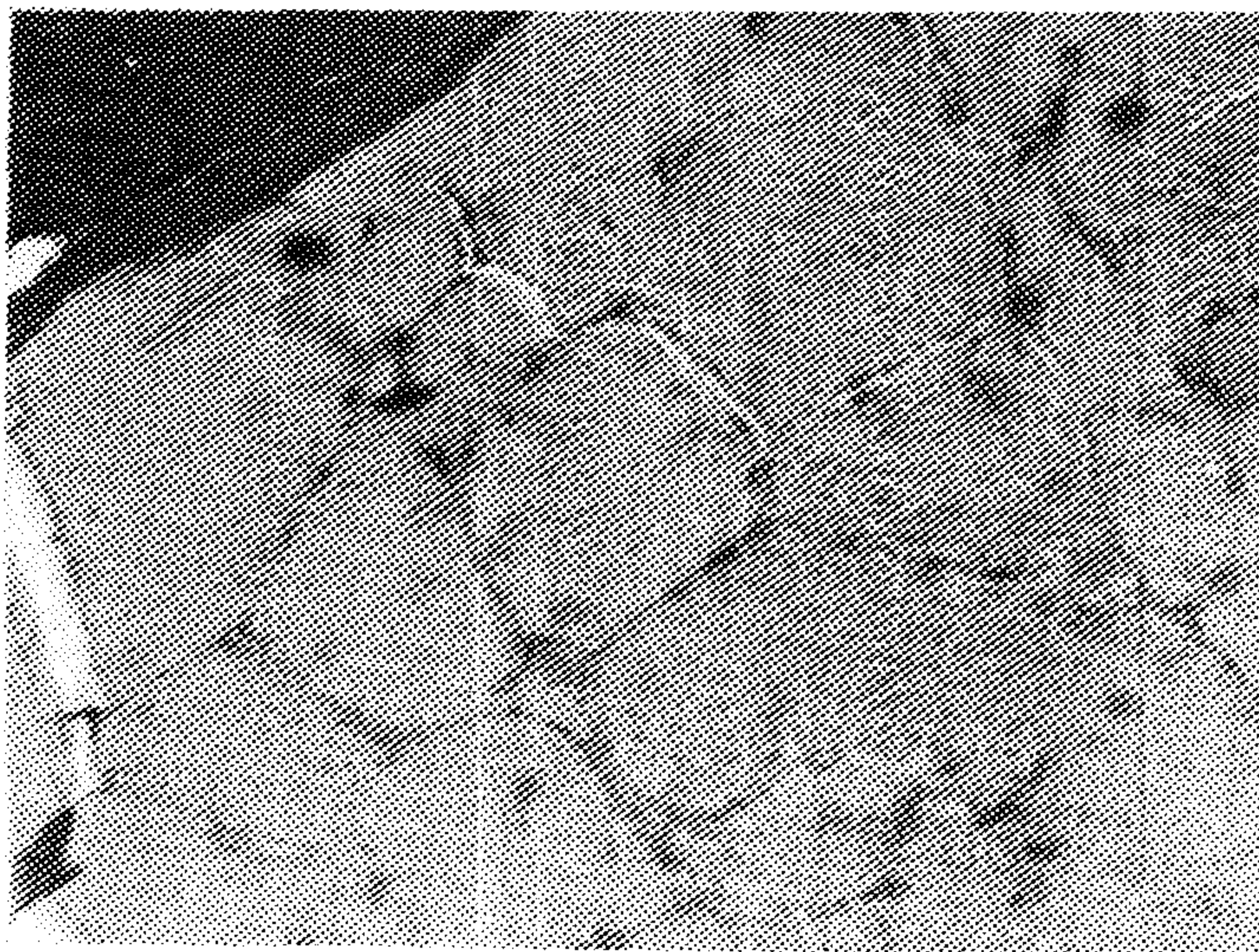
#### ب - هیستومتری

یکی از روش‌های کاربردی میکروسکوپی، هیستومتری و تعیین درصد تقریبی بافت‌های گوناگون توسط آن می‌باشد. در مطالعه انجام شده، روی نمونه‌های تهیه شده، بررسی هیستومتری نیز صورت گرفت و ضمن آن درصد تقریبی عضله مخطط، بافت

همبندی و چربی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در این روش از گراتیکول ۱۰۰ خانه که در زیر عدسی چشمی میکروسکوپ قرار می‌گیرد، استفاده شد. بدین صورت در هر شان میکروسکوپ جدول ۱۰۰ خانه دیده شده و تعداد مشخصی از خانه‌های گراتیکول توسط بافت‌های مورد نظر پوشیده می‌شود. برای تعیین درصد بافت مورد نظر تعداد مربع‌هایی که از بافت مورد نظر پر شده شمارش گردید. در اینجا از بزرگ‌نمایی ده میکروسکوپ استفاده شد. در این شمارش از هر نمونه سه لام و از هر لام تعداد ۱۰ شان جمعاً ۳۰ شان میکروسکوپی برای هر نمونه مورد شمارش قرار گرفت. از داده‌های به دست آمده برای هر نمونه میانگین و انحراف معیار تعیین گردید.

#### نتایج:

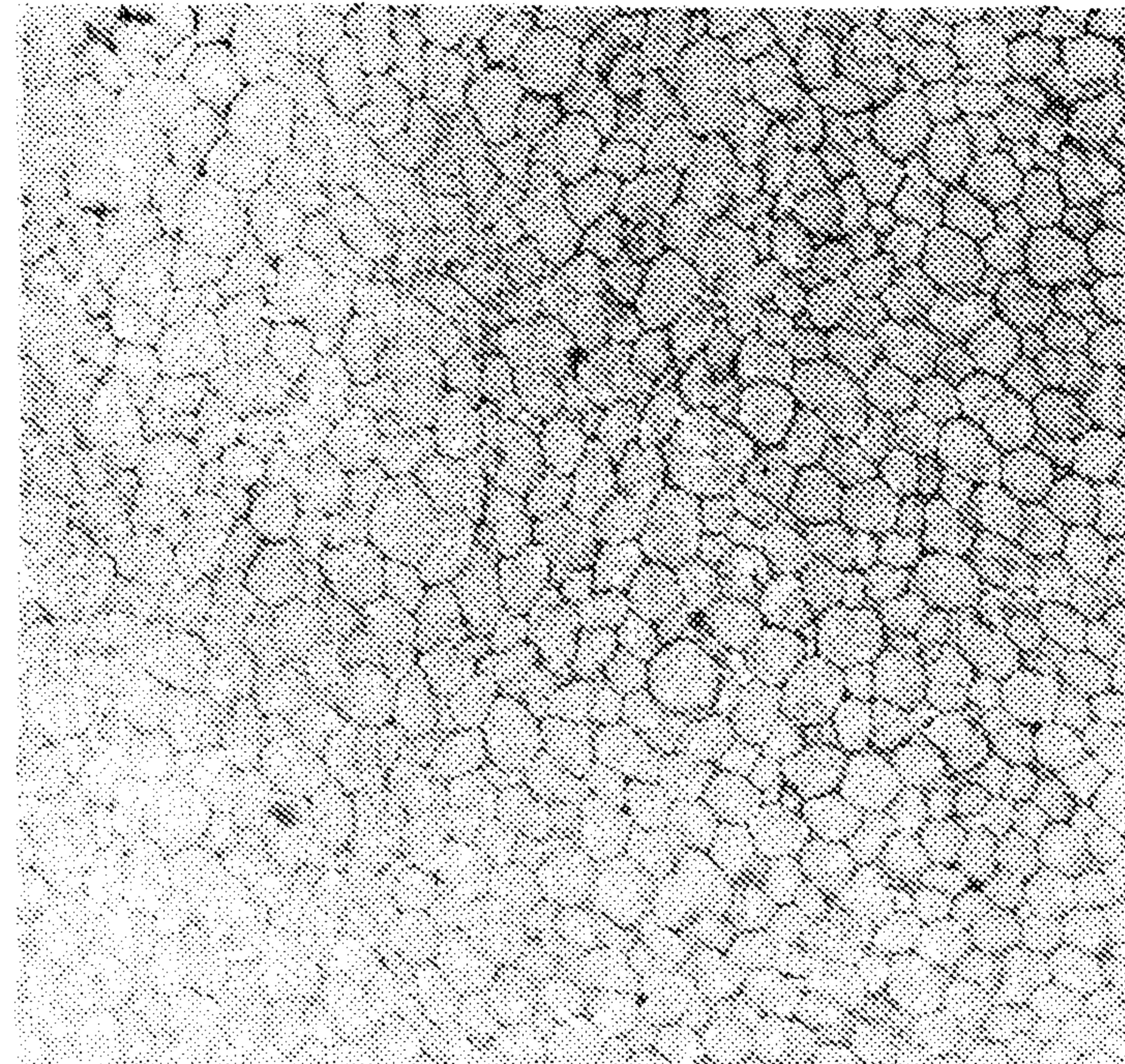
نسوج قابل تشخیص در لام‌های فوق شامل بافت عضلانی مخطط، رگ خونی، بافت همبندی، بافت چربی، بافت‌های گیاهی و مواد افزودنی مختلف بود. در یکی از نمونه‌ها بافت غده بزاقی و در نمونه‌ای دیگر لیگامنت پس سری مشاهده شد:



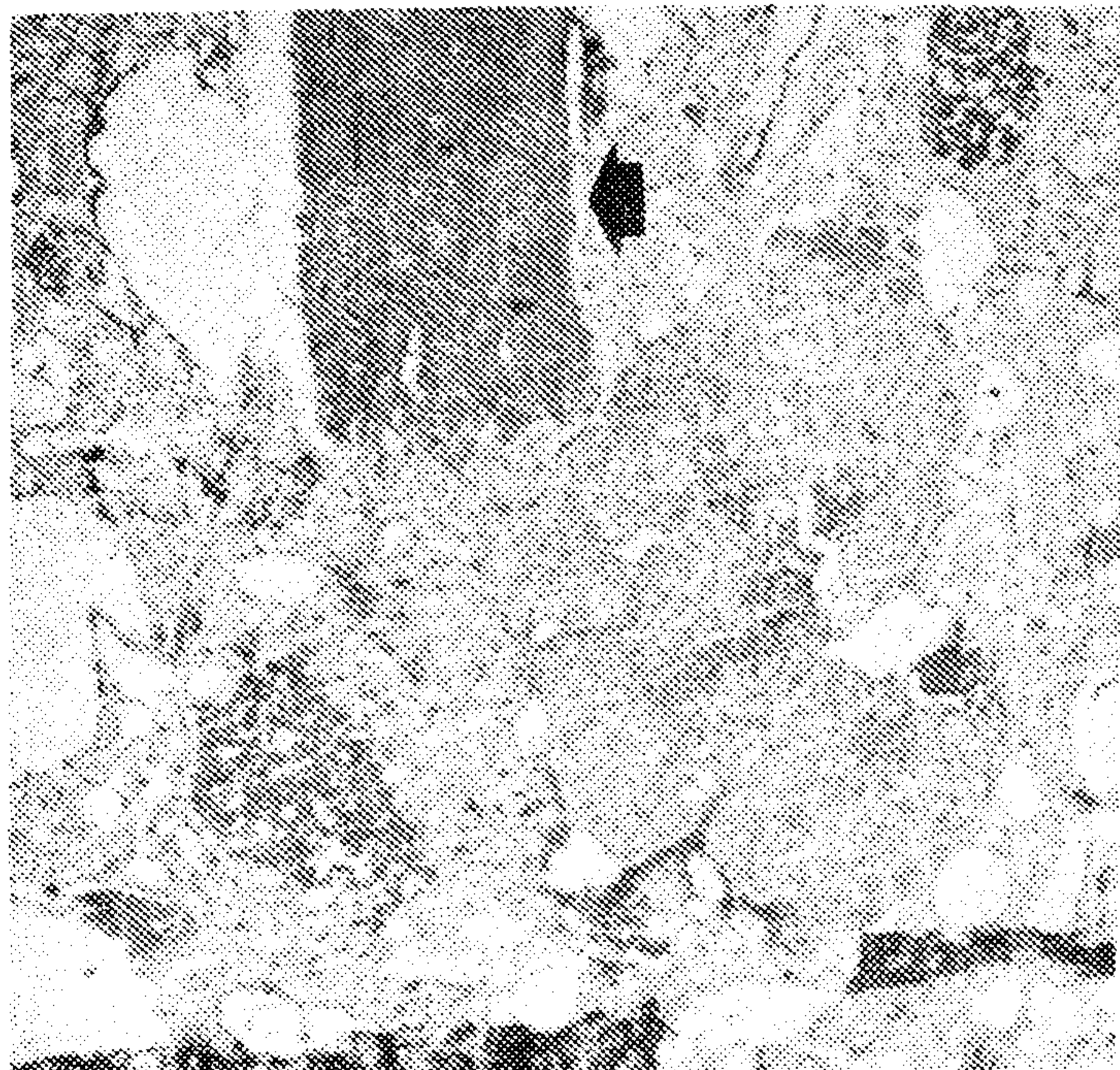
تصویر ۱ - مشاهده میکروسکوپی عضله مخطط (مقطع عرضی) در یکی از نمونه‌های کالباس حرارت‌دیده، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، ۲۴۶x.



تصویر ۴ - نمایش بخشی از یک غده بزاقی حاوی آلونول های موکوسی (فلش پهن) و مجاری فلوگر (فلش باریک) در یکی از نمونه های کالباس حرارت دیده، رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین، ۲۴۶x.



تصویر ۲ - نمایش توده چربی حیوانی در یکی از نمونه های کالباس حرارت دیده، رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین، ۱۲۳x.



تصویر ۵ - نمایش لیگامنت پس سری (فلش پهن) در یکی از نمونه های کالباس حرارت دیده، رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین، ۱۲۳x.



تصویر ۳ - نمایش دانه های گیاهی دیده شده در یکی از نمونه های کالباس حرارت دیده، رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین، ۲۴۶x.

### ۱ - بافت عضلانی مخطط

این بافت به صورت پراکنده و در اندازه های مختلف به رنگ قرمز صورتی در نمونه ها دیده شد. در

مقاطع به دست آمده برش های طولی و عرضی از این بافت قابل تشخیص بود. با درشت نمایی بالاتر، خطوط تاریک و روشن هر فیبر در برش های طولی و

قرارگرفتن سلول‌های چربی تشکیل شده و سلول‌های فوق به صورت شش وجهی و در صورتی که منفرد باشند به صورت دایره دیده می‌شوند. در لام‌های مورد بررسی چربی‌های حیوانی و گیاهی به‌طور مخلوط مشاهده شده و قابل تفکیک از یکدیگر نبودند (تصویر ۲).

#### ۴ - بافت‌های گیاهی و سایر افزودنی‌ها

مواد افزودنی به صورت توده‌های پراکنده صورتی و قرمز و بافت‌های گیاهی به شکل دانه‌های صورتی، زرد و یا تیره رنگ در زمینه لام‌ها مشاهده شدند (تصویر ۳).

#### ۵ - بافت‌های غیرمجاز

در یکی از نمونه‌های مورد مطالعه به بافت غده بزاقی برخورد شد که در زیر میکروسکوپ به صورت توده‌ای صورتی رنگ نمایان بود. با درشت‌نمایی‌هایی بالاتر، لوب‌های غده شامل آئول‌های موکوسی ترش‌حی و مجاری غدد دیده می‌شود. آئول‌ها شامل سلول‌های موکوسی با سیتوپلاسمی کف‌آلود و کمرنگ بود. (تصویر ۴).

در یکی دیگر از نمونه‌ها لیگامنت‌های پس‌سری به صورت تکه‌های صورتی رنگ دیده شد که با درشت‌نمایی بالاتر رشته‌های الاستیک ضخیم به شکل دستجات منظم طولی قابل رؤیت بود (تصویر ۵). نتایج حاصل از هیستومتری در جدول زیر منعکس می‌باشد.

بافت‌های همبندی اطراف آن و نقطه چین‌های میوفیبریلی در برش‌های عرضی به خوبی قابل تشخیص بود. رشته‌های بافت همبندی اطراف عضلات به دلیل حرارت دیدن حالتی انعقادی به خود گرفته بود و به صورت ماده یکنواخت بنفش رنگ مخلوط با هسته سلول‌های همبندی مشاهده شد. در بین فیبرهای عضلانی، سلول‌های چربی نیز به صورت دایره‌های سفید رنگی قابل مشاهده بودند (تصویر ۱).

#### ۲ - بافت همبندی

رشته‌های بافت همبندی موجود در این بافت در اثر حرارت منعقد شده و به صورت ماده‌ای یکنواخت دیده می‌شد. علاوه بر آن برش‌های طولی و عرضی رگ‌های خونی نیز تشخیص داده شد. در این برش‌ها رشته‌های همبندی موجود در لایه آدوانتیس به رنگ بنفش همراه با هسته‌های تیره سلول‌های همبندی و لایه عضلانی صاف به رنگ صورتی شامل هسته‌های کشیده بنفش رنگ و همچنین لایه انتیما به وضوح قابل مشاهده بود. گلبول‌های قرمز با تلائلو نارنجی در دهانه رگ‌های خونی دیده می‌شد.

#### ۳ - بافت چربی

به دلیل حل شدن چربی در محلول گزلیل، بافت چربی در برش‌های هیستولوژیک به رنگ سفید دیده می‌شدند. بافت‌های چربی حیوانی و گیاهی از کنار هم

میانگین و انحراف معیار درصد‌های عضله، چربی و بافت همبندی حاصل از هیستومتری در نمونه‌های کالباس

نمونه F	نمونه E	نمونه D	نمونه C	نمونه B	نمونه A	نمونه‌ها بافت‌ها
۴/۲±۲/۲۵	۴/۶۶±۴/۶۳	۱۲/۳±۶/۲۳	۱۵/۶۳±۱۹/۶۳	۲۶/۲۵±۲۶/۹۵	۱۰/۷۴±۱۳/۳۳	عضله (M±SD)
۷۴/۹±۹/۶۱	۷۰/۳۳±۱۱/۴۰	۴۸/۱۶±۱۷/۴۶	۵۲/۳۶±۲۴/۵۴	۴۳/۹±۲۵/۴۹	۶۰/۰۶±۱۹/۳۱	چربی (M±SD)
۳/۲۶±۳/۲۷	۲/۲±۱/۴۲	۲/۶۳±۲/۲۶	۱/۳±۱/۱۴	۵/۲±۵/۲۰	۲/۰۶±۱/۶۱	بافت همبندی (M±SD)

**بحث :**

علیرغم خردشدن گوشت توسط دستگاه کاتر با دور حداقل ۲۵۰۰ دور در دقیقه و حرارت حدود ۸۰ درجه سانتیگراد که در طول فرآیند به کالباس‌های حرارت دیده وارد می‌گردد، در این بررسی بافت‌های عضلانی و همبندی که از نظر ارزشیابی کیفیت خوراکی گوشت دو عامل اصلی را تشکیل می‌دهند، به راحتی در زیر میکروسکوپ قابل تشخیص بودند.

در ارتباط با بافت چربی حیوانی (چربی گوشت)، از آنجا که در تهیه کالباس‌های حرارت دیده که نمونه‌های مورد بررسی از آن جمله می‌باشند، چربی گیاهی به صورت روغن مایع به کار می‌رود، سلول‌های چربی گیاهی و حیوانی به صورت مخلوط در هم قرار گرفته و غیرقابل تفکیک بودند. توصیه می‌شود که برای تفکیک آنها از یکدیگر از رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی هیستولوژیک استفاده گردد.

بافت‌های مختلف گیاهی که مهمترین آنها سویا می‌باشد به صورت دانه‌های صورتی، زرد و یا تیره رنگ قابل مشاهده ولی غیرقابل تشخیص و تفکیک از یکدیگر بودند. در این رابطه نتیجه گرفته شد که با رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین-ئوزین قادر به تشخیص نوع دانه‌ها و بافت‌های گیاهی نخواهیم بود و باید از روش‌های اختصاصی رنگ‌آمیزی گیاهی استفاده نمود. بافت غده بزاقی و لیگامنت پس‌سری که کاملاً قابل رؤیت و تشخیص بودند، نمایانگر استفاده از گوشت کله در نمونه‌های مربوطه است. کشف این موضوع که تنها توسط آزمون هیستولوژیک میسر می‌باشد از نظر کنترل کیفی فرآورده‌های گوشتی حائز اهمیت فراوانی است زیرا طبق استاندارد ویژگیهای

سوسیس و کالباس فرآورده‌ها استفاده از این مواد ممنوع می‌باشد (۱).

متأسفانه این بند مهم از استاندارد فوق، تاکنون به علت عدم شناخت روش مناسب اجرا نگردیده و افراد مختلف در صنایع گوشت از این نقطه ضعف سوء استفاده‌های فراوانی را کرده و می‌نمایند. مطالعه انجام یافته نشان می‌دهد که روش هیستولوژیک می‌تواند به راحتی این مشکل بزرگ اجرایی را برطرف نماید.

نتایج حاصل از هیستومتری می‌تواند در ارتباط با تعیین کیفیت خوراکی و ارزش غذایی سوسیس و کالباس مؤثر باشند. بدین معنی که هر اندازه مجموع درصد‌های عضله و بافت همبندی در هر نمونه بیشتر باشد، نمایانگر کیفیت خوراکی بالاتر آن خواهد بود (۲). البته این ارزشیابی نسبی بوده و بیشتر جنبه کیفی دارد تا کمی. به عبارت دیگر بالابودن میزان مجموع درصد‌های عضله و بافت همبندی همیشه نشانگر به کار رفتن گوشت بیشتر در فرآورده نیست بلکه مقدار گوشت لخم بدون چربی را تعیین می‌نماید که از نظر تغذیه مرغوبترین گوشت محسوب می‌گردد.

در صورتی که توسط روش‌های اختصاصی رنگ‌آمیزی، بافت چربی حیوانی از چربی گیاهی تفکیک گردد و بتوان درصد بافت چربی را تعیین نمود، با افزودن آن به مجموع درصد‌های بافت‌های عضلانی و همبندی درصد گوشت به کار رفته در فرآورده نیز تا حدود زیادی قابل تخمین خواهد بود.

با توجه به مطالعه فوق می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که انجام آزمون هیستولوژیک در ارتباط با تشخیص بافت‌های غیرمجاز در سوسیس و کالباس اجتناب‌ناپذیر بوده و در ارتباط با تعیین میزان

گوشت لخم بدون چربی و نیز میزان گوشت به کار رفته در فرآورده، به عنوان آزمایش تکمیلی و یا کمکی قابل توصیه می‌باشد.

#### تشکر و قدردانی :

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند از همکاران

گرامی آقای فردوس ابراهیم‌پور برای زحماتی که در تهیه لام‌ها تقبل نموده‌اند، آقای مجید یوسفی که در تهیه عکس‌ها ما را یاری دادند و همچنین سرکار خانم زهرا زمانی که تایپ مقاله را عهده‌دار بودند کمال تشکر و قدردانی را بنماید.

منابع :

- ۱ - استاندارد ویژگی‌های سوسیس و کالباس. استاندارد شماره ۲۳۰۳، مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، (۱۳۶۸).
- ۲ - رکنی، ن. علوم و صنایع گوشت، انتشارات دانشگاه تهران، شماره ۲۲۶۶، صفحه ۲۷۳، (۱۳۷۴).

**References :**

- 3 - Amtliche Sammlung Von Untersuchungsverfahren. Bestimmung der Geweblichen Zusammensetzung Von Fleischerzeugnissen und Wurstwaren. L. 060013, p: 2, (1989).
- 4 - Bergeron, M. and Durand, P. La technique histologique dite " en congelation " application a l'etude de la probabilité de l'identification d'un constituant. Ann. Fals. Exp. Chim. 69, PP: 669-671, (1976).
- 5 - Bergeron, M. and Durand, P. Identification histologique des differents formes de soja dans les products carnes. Ann. Nutr. 31, PP: 201-205, (1977).
- 6 - Horn, J. and Seidler, D. Histometrische Bruehwurstuntersuchung Vergleich mit Chemischen Untersuchung. Die Fleischwirtschaft. 58, No. 2, PP: 276-280, (1978)
- 7 - Kuschfeld, D. Zur rechtlicher Bewertung Histologisches Befunde Bei Fleischerzeugnissen. Die Fleischwirtschaft. 66, No. 12, PP: 1723-1725, (1986).



## **Histological and histometrical study of different heated sausages**

**Rokni, N.\*      Rezaian, M.\*\*      Dayani Dardashti, A.\***

### **Summary :**

In order to distinguish unauthorized tissues in heated sausages, and also the allowed tissues such as muscular and connective tissues and estimate the percentages of them, 60 samples of heated sausages from different meat producing factories (Ten in each) were used for histological examinations. One mm<sup>3</sup> pieces of samples were fixed in 10% buffered formalin. Routine histological technique were used and sections were stained with haematoxylin-eosin and studied under microscope.

Longitudinal and cross sections of scattered pieces of skeletal muscles were clearly distinguished in red-pink color. Although connective tissue fibers especially collagens were coagulated by heat but distinguished clearly in an integrated form with pink colour. Fat tissues has been solved in xylene solutions and seen in white colour. The vegetable and animal fat tissues have been mixed together and not distinguishable from each other. Additives have been spread separately and seen pink red colour and vegetable seeds especially soyas were pink, yellows and dark points in the slides.

In one of the samples, the salivary gland has been observed which was the evidence of using head tissues in the product. In another one Nocal ligament had been seen in the pink appearance. Histometric examination has been performed and the percent of muscular, fat connective tissues been determined.

This study showed that for quality evaluation of sausages histological studies is essential, especially when distinguishing inappropriate tissues and organs in meat products, has been considered.

---

\* - Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.

\*\* - Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.