پژوهش و سازندگی
شماره ۶۲، بهار ۱۳۸۳
در امور دام و آبزیان

تشخیص هیستولوژیکی سویا در همبرگرهای خام منجمد ایران

• **غلامرضا جاهد خانیکی**، بخش بهداشت مواد غذایی، گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
• **نوردهر رکنی** - گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: آذر ماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۸۲

چکیده

پروتئین سویا یکی از مهمترین و غالب ترین پروتئین‌های گیاهی است که در فرآورده های گوشتی مانند کالباس , سوسیس و همبرگر ایران استفاده می شود. جهت شناخت ترکیبات همبرگر و بهبود کیفیت آن استفاده از روش‌های میکروسکوپی دارای اهمیت بوده و روش‌های رنگ‌آمیزی بافتی در تباین اجزاء تشکیل دهنده نقش مهمی دارند. یکی از رنگ آمیزیهایی که در آزمایشگاههای بافت شناسی معمول می باشد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین است. در این ارتباط ۸۰ نمونه از همبرگرهای خام منجمد از فروشگاههای مواد غذایی خریداری شد. نمونه ها در شرایط مناسب به آزمایشگاه بافت شناسی ارسال شد. سپس نمونه‌برداری و آزمایش بافت شناسی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین انجام گرفت. در میکروگراف های تهیه شده, بافت سویا با رنگ قرمز مشاهده شد ولی سلولهای لایه پالیسادینگ با رنگ روشن و دارای تلالوی خاصی دیده شدند. مواد پروتئینی داخل سلولهای کوتیلدون سویا به رنگ قرمز و جدار کربوهیدارته سلول به رنگ آبی مشاهده شدند . بافت اکسترودات سیلندری که در واقع همان سلولهای کوتیلدونی دناتوره شده می‌باشند رنگ قرمز تیره به خود گرفته است و با توجه به ساختمان بافتی که دارد به خوبی از بافت عضلانی متمایز می گردد. در تمام نمونه های آزمایش شده بافت سویا مشاهده شد. لذا با توسل به روش‌های هیستولوژیکی, تشخیص سویا در همبرگر و تفکیک آن از بافت عضلانی امکان‌پذیر است.

واژه های کلیدی:سویا، همبرگر، روشهای هیستولوژیکی، هماتوکسیلین و ائوزین

Pajouhesh & Sazandegi No:62 pp:71-75

Histological detection of soya in freezing raw hamburger of Iran

By: Jahed Khaniki, Gh.R, Department of Environmental Health Engineering, Public Health School, Tehran university of Medical Sciences, Tehran, Iran., and Rokni, N., Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran- Iran.

Soya protein is an important and the most plant protein which is used in hamburger and Sausage in Iran. The Using of microscopic methods is significant in recognition of hamburger ingredients and its quality improvement. Tissue staining plays an important role in the counter stain of hamburger ingredients. Haematoxyline & Eosin staining is a common method in histology laboratory. For detection soya in hamburger, 80 freezing raw hamburger samples were bought from food stores. Samples were carried in suitable condition to histology laboratory. Then, sampling was done and pieces were stained by Haematoxyline & Eosin. The stained samples were examined under a light microscope. Soya tissue has a red color in micrographs. Palisading layer cells have a light color and a special radiant. The protein materials in cotyledon cells and cell carbohydrate wall were observed red and blue, respectively. Cylindrical extrudate tissue is denatured cotyledon cells and they observed dark red color and they are distinguished from muscular tissue. Also, it the results showed that Soya has been used in all samples. It was concluded that soya is detectable by histological methods in hamburger and it can differentiate than muscular tissues.

Key Words: Soya, Hamburger, Histological methods, Haematoxyline & Eosin.

Archive of SID

Pajouhesh & Sazandegi
www.SID.ir

مقدمه

دانه سویا از مواد پروتئینی , چربی و کربوهیدرات تشکیل شده است. روغن و پروتئین ، ۶۰ درصد سویا را تشکیل می‌دهد. به طور کلی دانه کامل سویا حاوی ۴۰ درصد پروتئین , ۲۱ درصد چربی , ۳۴ درصد مواد کربوهیدرات و ۴/۹ درصد خاکستر می‌باشد(۱۸). پروتئین سویا یکی از مهمترین و غالب ترین پروتئین گیاهی است که به فرآورده های گوشتی مانند کالباس , سوسیس و همبرگر افزوده می‌شود(۵،۴). از آنجائی که مصرف پروتئین حیوانی به تنهائی برای برطرف کردن نیاز غذائی انسان کافی نمی‌باشند و از طرفی دیگر تولید اینگونه مواد پروتئینی نیز گران تمام می‌شود . از پروتئین های ارزان قیمت و قابل دسترس از جمله پروتئین‌های گیاهی مانند سویا می‌تواند این نیاز را برطرف سازد و در میان پروتئین‌های غیر گوشتی , پروتئین گیاهی سویا از همه بیشتر در تولید فرآورده های گوشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد(۱۴). در بسیاری از کشورها افزودن پروتئین سویا به فرآورده‌های گوشتی ممنوع و تقلب محسوب می‌شود ولی در کشور ما از آن استفاده می‌شود که نبایستی بیش از حد توصیه شده در ترکیب فرآورده های گوشتی باشد (۵،۴). در ایران معمولاً پروتئین سویا بصورت آرد مورد استفاده قرار می‌گیرد . سویا طعم خاصی است که در صورت استفاده زیاد این طعم در دهان به صورت نامطلوبی مشخص می‌باشد (۱۸) . براساس قوانین ایالات متحده افزودن بیش از ۳/۵ درصد آرد یا کنسانتره به فرآورده های گوشتی (۱۳) و در ایران حداکثر بیش از ۵ درصد مجاز نمی‌باشد(۱). بکارگیری روش های شیمی‌بافت (Histochemical) , می‌تواند مقدار سویای موجود در فرآورده گوشتی را براساس مقدار مواد کربوهیدرات موجود تخمین بزند که با اندازه گیری برخی از فلزات از جمله منگنز(Mn) این کار را می‌توان انجام داد ولی ترکیبات دیگر مانند ادویه در این کار دخالت می‌کند (۶) . با توجه به استفاده روزافزون سویا در فرآورده های گوشتی می‌توان از روش های میکروسکوپی برای تعیین ترکیبات سویا به عنوان یک روش کیفی استفاده کرد(۸) . استفاده از معیارهای شیمی‌بافت و مورفولوژیکی برای تشخیص پروتئین‌های گیاهی از جمله سویا در فرآورده‌های گوشتی حائز اهمیت دارد(۹). از روش بافت شناسی و رنگ آمیزی براساس ساختمان بافتی به عنوان وسیله ای برای تشخیص سویا در همبرگر می‌توان بهره گرفت . تشخیص و تعیین پروتئین‌های غیر مرسوم (Novel proteins) مانند سویا که به طور خواسته یا ناخواسته به فرآورده گوشتی اضافه می‌گردد ضرورت دارد. در این مورد نه تنها برای کنترل پروتئین سویای اضافی که بعنوان جانشین شونده برای پروتئین عضلات اسکلتی مطرح می‌شود بلکه برای کمک به تکمیل قوانین در ارتباط با فرآورده‌های گوشتی از جمله همبرگر این مسئله لازم است که از روش‌های میکروسکوپی بهره گرفته شود. علاوه بر روش‌های بافت شناسی از روش‌های ایمونوشیمیایی, ایمونودیفوژیون, Dot-blotting آزمایش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم (Indirect Imunofluorescence) (IiFT) و ژل الکترفورز و همینطور روش‌های Density gradient centrifuge , HPLC و Isoelectric focusing می‌توان در تشخیص و اندازه گیری پروتئین سویا در فرآورده گوشتی بهره جست (۱۲،۶) . این روشها نسبتاً ساده هستند و کاربرد آنها در مورد فرآورده های خام امکان پذیر است ولی در مورد موادی که پخته شده‌اند یا حرارت دیده اند نمی‌توانند به خوبی کاربرد داشته باشند و با توجه به نتایجی که توسط Medina در سال ۱۹۸۸ در مورد استخراج و اندازه‌گیری پروتئین در سوسیس‌ها توسط روش الیزا (ELISA) به دست آمده است می‌تواند مفید باشد (۱۵) . با توجه به اهمیت کیفیت همبرگر و نوع ترکیبات تشکیل‌دهنده، شناخت خواص هیستولوژیکی پروتئین سویا و تفکیک آن از سایر بافتها بسیار مهم به نظر می‌رسد. به کارگیری روش رنگ‌آمیزی در شناسایی ساختمان ذرات سویا در همبرگر می‌تواند کمک فراوانی نماید. نظر به استفاده معمول از روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین در آزمایشگاههای بافت شناسی, از این روش در این تحقیق استفاده شده است.

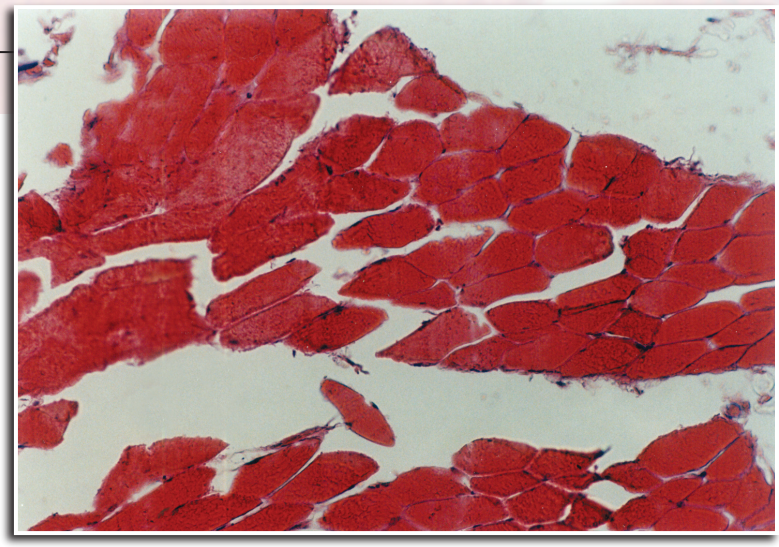
مواد و روش کار

به منظور تشخیص پروتئین گیاهی سویا با استفاده از روش هیستولوژیکی تعداد ۸۰ نمونه همبرگر خام از فروشگاههای مواد غذایی انتخاب و مورد رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین قرار گرفت . نمونه ها به آزمایشگاه بافت شناسی منتقل و از قسمت های مختلف هر قطعه همبرگر نمونه هائی به ابعاد ۱×۱× ۱سانتی متر برداشت شد . پس از نمونه برداری , نمونه ها را با توجه به اینکه فاقد بافت کاملاً به هم چسبیده هستند و امکان جدا شدن ذرات وجود دارد در داخل لفافه ای توری مانند جای داده و برای مدت یک هفته در فرمالین ۱۰ درصد حاوی بافر داخل شد. به منظور پایداری کامل , فرمالین ظروف هرروز تعویض گردید. (حجم فرمالین مصرفی در هر ظرف حدوداً ۴۰ برابر حجم نمونه می باشد). نمونه ها پس از تثبیت کامل , جهت آبگیری , شفافیت و آغشتگی با پارافین در دستگاه اتوتکنیون (Automatic Processor) یا هیستوکینت (Histokinette) قرار گرفت . سپس بلوکهای پارافین تهیه گردید و برای برش با دستگاه میکروتوم به اندازه استاندارد آماده گردید و برش نمونه های بافت به ضخامت ۶ میکرون آماده شد و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین بر روی آنها انجام شد و سرانجام برش ها بر روی لام قرار داده شدند و قطره ای چسب کانادا بالزام (Canada balsam) روی آن قرار داده و سپس با لامل پوشانده شد . لامهای آماده شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مشاهده قرار گرفتند(۳،۲) .

مشاهدات و نتایج

پس از تهیه برش و رنگ آمیزی , نمونه ها مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند و فتومیکروگرافهای لازم تهیه گردید. در فتومیکروگرافهای تهیه شده, بافت عضلانی (تصویر ۱) و بافت گیاهی سویا (تصاویر۲, ۳ و ۴) مشاهده شدند. رشته های عضلانی رنگ قرمز روشن و هسته سلول عضلانی, رنگ آبی را بخود گرفته است. پروتئین بافتی سویا در رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین رنگ قرمز تیره به خود گرفته و فضاهای خالی نیز در لابلای پروتئین بافتی سویا دیده شد. وجود سلولهای لایه پالیسادینگ (Palisading layer) دلیل قاطعی مبنی بر استفاده از سویا در تولید

www.SID.ir



تصویر ۱ - مقطع عرضی بافت عضله مخطط (H&E, ۸۰×).

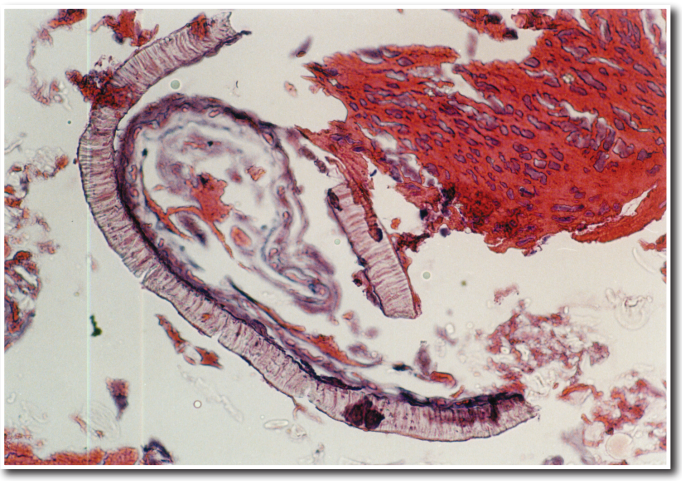
همبرگـر می باشـد و می تواند به عنـوان کلید تشـخیص برای آنها استفاده شود (تصویر شماره۲).

نتایج نشـان داد که بافت سویا در فیلدهای میکروسکوپی بخوبی مشاهده شده و در تمام نمونه های آزمایش شده از سویا استفاده شده است و بوضوح از بافت عضلانی قابل تفکیک است.

بحث

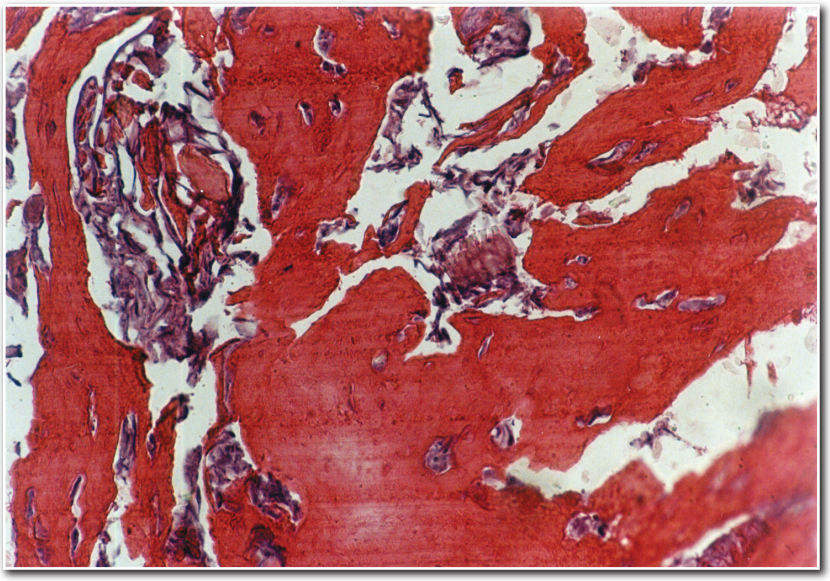
شـناخت چگونگـی آنالیـز و اجـزاء تشـکیل دهنده هـر گونه فرآورده گوشـتی خرد شـده از نظر کیفی لازم اسـت و اسـتفاده از آن در تکمیل قوانین و نیز تکنولوژی گوشـت و فرآورده‌های گوشـتی اهمیت ویژه‌ای دارد. در این باره به کارگیری روشهای میکروسکوپی و هیسـتولوژیکی زمینه را بسیار فراهم کرده است. تهیه فتومیکروگراف نگاه میکروسـکوپی را بصورت ماکروسکوپی مشخص خواهد کرد و به کمیـت و کیفیت ماده در محصول گوشـتی کمـک خواهد نمود. در برخی از کشـورها وجود یا عدم وجود سـویا در فرآورده‌های گوشتی حائـز اهمیت اسـت و در برخی دیگر مانند ایـران اندازه‌گیری میزان سـویای اضافه شده به سوسـیس و کالباس و همبرگر مهم می باشد. برخـی از محققیـن به این باورند که میکروسـکوپ نـوری به تنهائی نمی‌تواند پروتئین سویا را در فرآورده های گوشتی تشخیص دهد بلکه اسـتفاده از میکروسـکوپ پلاریزه را پیشنهاد می کنند به طوریکه در این روش خصوصیات سلولهای پالیساد (Palisade) سویا در باقیمانده ای که بعد از اسـتخراج با هیدروکسـید پتاسـیم وجود دارد بررسی می‌گردد. تعیین حضور کریسـتالهای اکسـالات کلسـیم در سلولهای کوتیلدون سـویا می‌تواند به عنوان تسـت کیفی برای تشـخیص آرد سـویا و ترکیب آرد سـویا در فرآورده‌های گوشـتی باشـد (۱۱) . در نمونه‌ای از همبرگر که تهیه شـده است در داخل سلولهای کوتیلدون، کریسـتالهایی دیده می‌شـود که به احتمال قوی همان کریستالهای اکسالات کلسیم می‌باشد و با میکرسکوپ نوری نیز دیده می‌شود. این حالت به صورت اتفاقی دیده می شود و در تمام موارد نمی‌تواند با استفاده از روش رنگ‌آمیزی هماتوکسـیلین – ائوزین مشـاهده شود. در این ارتباط نحوه قرار گرفتن کریسـتالها در برش فیلد میکرسـکوپی و نیز انکسـار نور می‌تواند بسـیار مهم باشـد. آنالیز نمودن مخلوطی از پروتئین های حیوانی و گیاهی در فرآورده های گوشـتی مانند همبرگر می تواند مسئله ای بسیار پیچیده باشـد مخصوصاً هنگامی که پروتئین ها در سلول روند تولید حرارت ببینـند . انجام یک آزمایش ابتدایی میکروسـکوپی در مورد کیفیت عمومی فرآورده خصوصاً در مورد کریسـتالهای اکسالات و ترکیبات سلولهای گیاهی همچون سـویا و رنگ آمیزی دیواره پلی ساکاریدی آنها بسیار مفید است و اسـتفاده از آزمایشهای بافت شناسـی برای تشخیص پروتئین سویای اضافه شده به فرآورده گوشتی بسـیار مناسب می باشند(۱۴،۱۰) در همین راستا Parisi (۱۶) و Cortesi(۱۰) بـا بـه کارگیری روش رنگ آمیزی Baner-Calleja و روش رنـگ آمیزی هماتوکسـیلین – ائوزین حضور واقعی ذرات پروتئین سـویا اضافه شده را نشان داده اسـت . همچنین Bergeron (۷) تشخیص بافت شناسی اشکال مختلف سویا را در فرآورده‌های گوشتی مورد بحث قرار داده است (۷) .

در سال ۱۹۸۷ , Reusse و Schulze بر روی تشخیص بافت شناسی ذرات سـویا در فرآورده های گوشـتی با اسـتفاده از رنگ آمیزی هم – آلوم – ائوزین و مقایسـه آن با روش ایمونودیفوزیون کار کردند و نتیجه گرفتند کـه با اسـتفاده از روش بافت شناسـی می توان عناصر گیاهی سـویا را در فرآورده گوشـتی حرارت دیده تشخیص داد درحالیکه روش ایمونودیفوزیون اغلب ناتوان است . همینطور نتیجه گرفتند که روش بافت شناسی نمی تواند اشکال ایزولاست یا کنسانتره را از یکدیگر تشخیص دهد(۱۷) . ضروری است کـه برای برطرف کردن این نقیصه خصوصیات پروتئین در مخلوط نیز مورد آنالیز قرار گیرد (۹) .

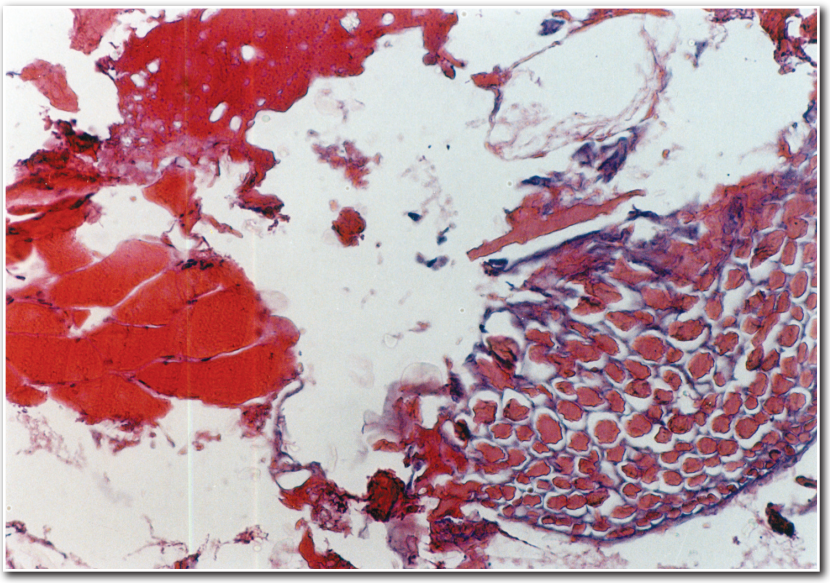


تصویر ۲ - مقطع عرضی اکسترودات سیلندریکال به همراه سلولهای پالیساد سویا(H&E, ۸۰×)

www.SID.ir



تصویر ۳- مقطع عرضی اکسترودات بافتی سویا
(H&E, ۲۰۰×)



تصویر۴- مقطع عرضی عضله مخطط به همراه اکسترودات بافتی سویا و همچنین سلولهای کوتیلدونی حاوی پروتئین سویا (H&E, ۱۶۰×).

(CHOH-CHOH) مـی باشـد که به طـور انتخابی با اسـیدی مانند اسـید پریودیک محلول اکسید شود و بـه دی آلدئید(CHO-CHO) تبدیل گردد . اسـید پریودیک آلدئیدهای بعدی را اکسید نمی کند بنابراین کربوهیدرات های نامحلول باقی می مانند و حضورشان با اسـتفاده از معرف شـیف نشـان داده شود . در رنگ آمیـزی پریودیـک اسـید شـیف (Periodic Acid Schiff) مـواد کربوهیدرات به صورت magenta رنگ می گیرند در حالیکه مواد پروتئین به رنگ آبی یا سـبز در مـی آینـد . در رنگ آمیزی هماتوکسـیلین ائوزین مواد پلی سـاکاریدی جدار سلولهای سویا به رنگ آبی روشـن دیده می شـود و مواد پروتئین داخل سلولهای سـویا رنگ صورتی روشن با تلالوی درخشنده مشاهده می شود . اکسـترودات سویا به صورت رنگ قرمز تیره با ساختمان نامنظم و خلل و فرج مشاهده شده است و آن به علت تغییراتی اسـت که در طول پروسس روغن گیری سـویا برروی دانه های سویا صورت گرفته است (۹) . ممکن اسـت بخشهایی از دانه سویا که به صورت ناقص عمل آوری شده اند ساختمان مشخصی را نشان دهند و سـاختمان سـلولی و ردیف های سلولی منظم دیده شود(۹). بطوری که در تصاویر شماره ۴ ساختمان سلولی مشخص از سویا دیده می شود و مواد پروتئینی داخل سلولها به رنگ قرمز و جدار کربوهیدارته سلول به رنگ آبی مشـاهده می شود . در تصویر شماره ۳ مقطع عرضی از بافت اکسـترودات سـیلندری (Extrudate cylindrical) دیده می شـود که نشـان از استفاده از سـویا در نمونه های همبرگر دارد . همچنین در تصویر شـماره ۴ مقطعـی از بافت اکسـترودات سـویا حاوی سلولهای کوتیلدونی مشاهده می شود که در داخل آنها مواد پروتئینی وجود دارد . در این تصویر مقطع عرضی بافت عضلانی در پائین و بخشـی از بافت اکسـترودات تغییر شـکل یافته سـویا مشاهده می شـود و با توجه به تصویر شـماره ۱ که بافت عضلانی مخطط اسـت و دارای سـلولهای عضلانی در اطراف می باشد به خوبی از بافت اکسـترودات سویا از یکدیگر تفکیک می گردد. ساختمان بافت عضلانی بخوبی در مقطع میکروسکوپی فتومیکروگراف تهیه شـده مشخص است و رشته های عضلانی به صورت رنگ قرمز روشـن سلولهای عضلانی در حاشـیه و به رنگ آبی مشاهده می گردد که با توجه به ساختمان منظم آن از اکسـترودات بافتی سویا که دارای نقاط روشن توخالی است تفکیک می گردد(۹).

با توجه به اینکه افزودن مقادیر زیادی پروتئین های غیر گوشتی مانند سـویا ممکن است اثرات سـوء بر روی سلامت و بهداشـت عمومی جامعه داشته باشـد به همین منظور در برخی از کشورها درمورد افزودن پروتئین سویا فرآورده گوشـتی ازجمله همبرگر محدودیت قانونی وجود دارد(۱۴).

با اسـتفاده از اکسیداسـیون تحت کنترل می توان مـواد کربوهیدرات موجـود در فرآورده های پروتئین گیاهی را تشـخیص داد و حضور آلدئید را (-CHO) را بررسـی کـرد که مـی تواند به عنوان روش مناسـبی برای تشـخیص میان مواد کربوهیدراتـی در ارتباط با پروتئیـن های گیاهی از جملـه سـویا صورت گیرد و به عنـوان روش نیمه کیفی مطرح شـود . در سویا مواد کربوهیدرات ترکیبی از پلی ساکاریدها و مقدار قابل توجه سلولز و همی سـلولز می باشـد . ایـن کربوهیدراتها حاوی گـروه ۱ ، ۲ گلیکول

www.SID.ir

گرچه اســتفاده از ســویا در ایران به عنوان یک پرکننده و جایگزین بخشی از گوشت در فرآورده می‌باشد با این وجود بایستی میزان آن در همبرگر به کمک برنامه‌ها و نظارت‌های مشــخصی تحت کنترل قرار داشــته باشد . لذا به کارگیری روشــهای هیستولوژیکی یکی از ابزارهایی است که می‌تواند در کنترل کیفیت همبرگر موثر واقع شود.

منابع مورد استفاده

۱ - اســتاندارد ملــی ایــران. ۱۳۷۰. ویژگی‌هــای همبرگر خام منجمد . موسســه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. شماره ۲۳۰۴.

۲ - بهادری , مســلم. ۱۳۴۶. فن بافت شناســی. انتشارات دانشــگاه تهران شماره ۱۱۲.

۳ - پوســتی , ایرج.۱۳۷۳. بافت شناســی مقایسه ای و هیســتوتکنیک . انتشارات دانشگاه تهران.شماره ۱۹۴۴

۴ - رکنی, نوردهر. ۱۳۷۴. علوم و صنایع گوشت. انتشارات دانشگاه تهران. شماره ۲۲۶۶.

۵ - شهرابی, حمزه و ناصری, علی . ۱۳۶۴. ارزش غذایی و روش‌های عملی کنترل بهداشتی و شیمیایی بعضی از فرآورده های گوشتی ایران. انتشارات واحد فوق برنامه. بخش فرهنگی دفتر مرکزی جهاد دانشگاهی.

6-Bailey,F.J.1976. A novel approach to the determination of soya products in meat products using peptide analysis. J.Sci.Fd.Agric.27: 827-830.

7-Bergeron,M., and Durand, P.1997. Histological identification of differents forms of soya in meat products. Annales dela nutrition et,L. Alimenation.31(2):261-270.

8- Carey,A.M., Archer, J.N., Peiore, J.R., and Kottula, A.W. 1984. Meat, poultry, and meat and poultry products.Histologic detection of cardiac musculature, soy flour, and partially defatted tissue in ground beef: Inter laboratory study. Journal of the Association of official Analytical Chemists.67(1):16-19.

9- Coomaraswamy. M , and Olga, F. 1973. The Histochemical detection of Soya " Novel Proteins" in comminuted meat products . Analyst , 98 : 542-545 .

10- Cortesi, M.L.1977. The possibility of histological identification of extraneous proteins in raw sausages. Archivio Veterinario Italino. 28(3-4)134-136.

11-Eldidye, A.C. 1981.Determination of Soya protein in processed foods. Journal of the American Oil chemists Society (JAOCS).483-485

12-Heitman ,J .1987. Demonstration of Soya protein in heated meat products with an indirect immuno fluorescence test. Fleisch wirtschaft. 67(5):621-622.

13-Horn,D. 1987. Detection of plant protein preparations in meat products by histological methods. Fleischwirschaft, 67(50):616-618.

14- Joussen,F.W., Voortman, G., and DeBaaij, A.J. 1987. Detection of wheat gluten , whey protein, casein, ovalbumin, and soy protein in heated meat products by electrophoresis blotting and immuno-peroxidase staining.J.Agric.Food.chem 35(4):563-567.

15-Medina,M.B.1988. Extraction and quantitation of soy protein in sausages by ELISA.J.Agric.Food.Chem. 36:766-771.

16-Parisi,E., Maranelli,A.M., and Gioordano,A. 1974. Histological detection of soy protein in cooked meat products. Veterinaria Italino, 25(9/10) 384-394.

17-Schulze, J.K., and Reusse,J. 1978.Histological detection of soya particles in meat products. Fleischwirtschaft ,57(10): 1638,1640,1653.

18-Wolf, W.J., and Cowman, J.C.1975.Soybean as a food source. Revised edition, CRC Press,Inc, USA

Archive of SID

www.SID.ir