Archive of SID

در
امور دام و آبزیان شماره ۷۳، زمستان ۱۳۸۵
پژوهش و سازندگی

مطالعه هیستولوژی بافت‌های غیرمجاز در کالباس‌های حرارت دیده با استفاده از رنگ آمیزی تری کروم ماسون

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

تاریخ دریافت: خرداد ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: آبان‌ماه ۱۳۸۴

E- mail: ghjahed@tums.ac.ir

چکیده

مطالعه‌ای برای ارزیابی روش رنگ آمیزی تری کروم ماسون در شناسایی بافت‌های غیر مجاز در فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده انجام گرفت. به همین منظور نمونه‌های مختلفی از کالباس حرارت دیده در آزمایشگاه تهیه گردید که از نظر فرمولاسیون مشابه کالباس‌های رایج در بازار فرآورده‌های گوشتی ایران باشند. در این نمونه‌ها از بافت‌های غیر مجاز مانند سنگدان مرغ، پستان، ریه، بافت‌های نرم سر و بافت‌های داخل حفره شکمی‌از جمله شکمبه، نگاری و هزارلا با نسبت مشخص ۲۰ درصد از گوشت لخم مصرفی یا ۱۰ درصد حجم کل نمونه به صورت مجزا و یا مخلوط استفاده شد. سپس نمونه برداری و آزمایش بافت شناسی با رنگ آمیزی تری کروم ماسون انجام گرفت. فتو میکرو گراف‌های تهیه شده از نمونه‌ها نشان دادند که علیرغم خرد شدن بافت‌ها و انجام پروسه حرارتی در طول تولید، ساختمان میکروسکپی بافت‌های غیر مجاز قابل تشخیص است و رنگ پذیری آن‌ها تغییری پیدا نمی‌کند و اجزاء ساختمانی هر بافت به خوبی رنگ گرفته است. نتایج مطالعه نشان داد که در این روش رنگ آمیزی به علت تباین رنگی که‌ایجاد می‌شود شناسایی رشته‌های کلاژن و تفکیک آن‌ها از رشته‌های عضلانی بافت‌ها در فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده آسان است به‌طوریکه بافت‌های عضلانی رنگ قرمز و رشته کلاژن رنگ سبز به خود می‌گیرند. این روش بافت شناسی برای تشخیص بافت‌های غیر مجاز در نمونه‌هایی از کالباس‌های حرارت دیده که احتمال تقلب می‌رود قابل توصیه است.

کلمات کلیدی: کالباس‌های حرارت دیده, بافت‌های غیر مجاز, مطالعه هیستولوژی، تری کروم ماسون

Pajouhesh & Sazandegi No 73 pp: 96-102

Histological study of unpermitted tissues in heated meat products by using of Masson's trichrome stain

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

A study was accomplished for evaluation of Masson's Trichrome Stain in detection of unpermitted tissues in heated meat products. So, different samples similar to common sausage formulations available in Iranian market, were prepared in laboratory in order to detect unpermitted tissues in heated sausages. Unpermitted tissues such as chicken

www.SID.ir

Archive of SID

gizzard, mammary glands, lungs, head soft tissues, and visceral organs (e.g. rumen, reticulum, and omasum) of cattle with known amounts (10% of whole sample or 20% of whole lean meat) alone or mixed tissues were added to these products. Then, sampling was done and sections were stained by Masson's Trichrome method. The stained samples were examined under a light microscope. In spite of mincing and heat processing of tissues, their photomicrographs studies showed that microscopic structure of unpermitted tissues were detectable and their colors were not changed. Results showed that muscle and collagen fibers are stained red and green, respectively. Masson's Trichrome method is also a well technique for contrasting of collagen and myofibrils and detection of tissues which were used in heated meat products. Therefore, this method is recommendable and suitable for detection of unpermitted tissues in samples of heated sausages which adulteration is possible.

Keywords: Heated sausage, Unpermitted tissues, Histological study, Masson's Trichrome Stain

مقدمه

سوسیس و کالباس در ایران، از مخلوط گوشت، چربی، خرده یخ، سویا، آرد گندم (گلوتن) و بسیاری از مواد افزودنی مانند پلی فسفات، آسکوربات، نیترات و نیتریت، شیر خشک، تخم مرغ، روغن مایع، سیر و غیره ساخته می‌شوند (۵، ۷). این فرآورده‌ها می‌بایست از نظر میزان ترکیبات و نیز نوع مواد تشکیل دهنده و نیز از نقطه نظر بهداشتی طبق مقررات و استانداردهای مدون تهیه و تولید گردند (۱). از نظر قوانین و استاندارد فرآورده‌های گوشتی استفاده از ضمائم آلایشی نامطلوب حیوانات کشتاری (مانند ریه، پستان، بافت‌های نرم سر، طحال، اندام‌های داخل حفره شکمی گاو، سنگدان مرغ و غیره) به‌جای گوشت در تهیه فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده تقلب محسوب می‌شود و سبب غیر قابل مصرف بودن آن‌ها می‌گردد (۱، ۵). زیرا این بافت‌ها می‌توانند به‌عنوان منابع میکروبی مطرح باشند و بار میکروبی زیادی را به همراه داشته باشند و در انتقال عفونت‌های ناشی از *E.coli*، سالمونلا و سایر میکرو ارگانیسمهای بیماریزا نقش داشته باشند. همچنین این بافت‌ها ارزش غذایی کمی‌دارند و از نظر مذهبی نیز خوردن بافت‌هایی مانند طحال، خون و عقده‌های لنفی حرام و نهی شده است.

تجزیه بافت شناسی فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده با استفاده از روش‌های رنگ آمیزی در کاهش دادن عواملی که بهداشت و سلامت مصرف کننده را تهدید می‌کنند بسیار مفید است و می‌تواند در تشخیص و کنترل این عوامل خصوصاً وجود بافت‌های غیر مجاز مؤثر باشد(۹) و اجزاء تشکیل دهنده فرآورده‌های گوشتی را آشکار سازد (۸، ۱۰). روش بافت شناسی امکان تشخیص مستقیم ترکیب و نوع بافت را در فرآورده‌های گوشتی میسر می‌سازد و از آن میتوان در شناسایی تقلبات بافتی بهره گرفت (۱۴). لذا روش‌های بافت شناسی می‌توانند در کنترل کیفیت فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده کمک نمایند و استانداردها و قوانین گوشت و فرآورده‌های آنرا تکمیل نمایند. استفاده از رنگ آمیزی‌های مختلف مانند هماتوکسیلین وائوزین[۱] (۴، ۶)، تولوئیدین بلو[۲](۱۲)، وان گیسون[۳](۱۱)، کالجا[۴](۱۵)، سیریوس قرمز[۵]، پیکروسیریوس قرمز[۶] (۱۳)، پریودیک اسید شیف[۷](۱۹)، و غیره را می‌توان در فرآورده‌های گوشتی نام برد. هرکدام از این‌ها ویژگی خاصی از نظر رنگ پذیری بافت‌های مختلف دارند. اما استفاده از روش‌های رنگ آمیزی اختصاصی مانند تری کروم ماسون که بتواند بر اساس نوع رنگ پذیری نوع بافت را مشخص نماید بسیار مهم است و هدف از این مطالعه ارزیابی توانایی رنگ آمیزی تری کروم ماسون در تباین رنگ بافت‌های تشکیل دهنده فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده و تفکیک بافت‌های غیر مجاز از همدیگر می‌باشد.

مواد و روش کار

طرز تهیه نمونه‌ها

به منظور ارزیابی عملی استفاده از رنگ آمیزی تری کروم ماسون[۸] در تشخیص و شناسایی بافت‌های غیر مجاز انواعی از نمونه‌های مختلف کالباس با افزودن نسبت مشخصی از بافت‌های غیر مجاز مشابه فرمولاسیون کالباس‌های رایج و متداول در بازار فرآورده‌های گوشتی ایران در آزمایشگاه تهیه گردید. نظر به‌اینکه بیشترین آلایشی که احتمالاً در تهیه سوسیس و کالباس مورد استفاده قرار می‌گیرند عبارتند از سنگدان مرغ، پستان گاو، ریه، بافت‌های نرم سر (گوشت کله) و اندام‌های داخلی حفره شکمی(شکمبه، نگاری و هزارلا) به تنهایی و یا به صورت مخلوط در مجموع نمونه‌های مختلفی از این فرآورده با افزودن ضمائم آلایشی به میزان ۲۰ درصد گوشت مصرفی یا ۱۰ درصد حجم کل نمونه آماده گردید. محتویات موجود در هر نمونه تهیه شده با افزودن ۱۰ درصد از بافت‌های غیر مجاز به جای گوشت در جدول شماره یک آمده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۱- ترکیبات موجود در نمونه‌های کالباس حرارت دیده

نام ماده	گوشت		روغن گیاهی	پودر نشاسته	گلوتن (آرد) گندم	نمک طعام	فسفات سدیم	نیترات سدیم	اسید آسکوربیک	سیر	ادویه(فلفل, جوز هندی, گشنیز و ..)	یخ خرد شده
	بافت غیر مجاز	لخم										
مقدار (درصد)	۱۰	۴۰	۱۴	۸	۳	۱/۵	۰/۳	۱۲۰ ppm	۵۰۰ ppm	۱/۵	۵۵۰ gr/۱۰۰kg	۲۱/۱

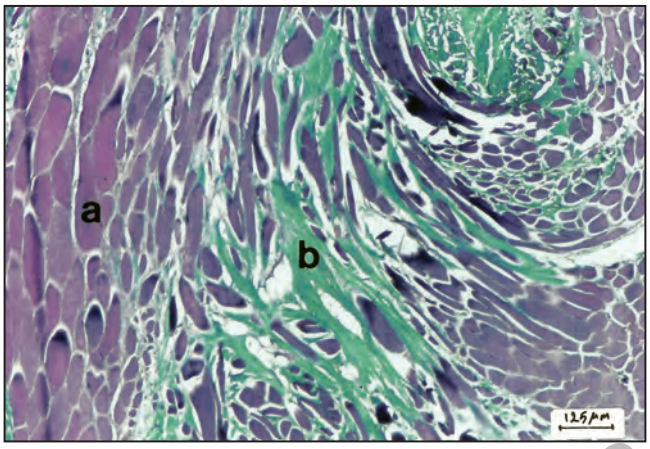
ابتدا گوشت لخم به‌طور جداگانه چرخ گردید و در حجم زیاد همراه با ترکیبات فوق بدون وجود بافت‌های افزودنی داخل دستگاه کاتر[۹] قرار گرفت و کاتریزه شدند (در فواصل مختلف جمعاً ۵ دقیقه تیغه‌های کاتر با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به حرکت در آمدند). سپس فارش بدست آمده از کاتر خارج شده و با ظرف استیل چرخ دار به آزمایشگاه پیلوت انتقال یافت. در آزمایشگاه نسبت مشخصی از گوشت و ترکیبات خرد شده وارد کاتر کوچک (ساخت شرکت هوبارت آمریکا) گردید. سپس بافت غیرمجاز مشخص که قبلاً چرخ شده بود با نسبت ۱۰ درصد وارد کاسه کاتر گردید و برای مدت لازم (حدود یک دقیقه) کاتریزه شد. پس از هربار کاتریزاسیون کاسه کاتر کاملاً تمیز می‌گردید. پس از کاتریزاسیون، نمونه کاتر شده وارد مخزن فیلتر دستی شده و سپس با چرخاندن دسته فیلتر محتویات وارد پوشش مصنوعی به قطر ۵ سانتیمتر گردید. بر روی پوشش شماره‌ای نوشته شد که بر طبق آن نوع بافت‌های غیر مجاز در نمونه مشخص می‌گردید. سپس فرآورده وارد اتاق پخت گردید و به مدت ۱/۵ ساعت تحت تأثیر حرارت ۸۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا حرارت لازم را ببینند. بعد از حرارت دادن، فرآورده در زیر دوش آب سرد قرار گرفت تا به اندازه کافی خنک شود (۵). برای انجام آزمایش‌های بافت شناختی ابتدا از کالباس‌ها نمونه برداری شد. بدین طریق که از دو انتها و وسط آن‌ها سه قطعه در اندازه‌های یک سانتیمتر مکعب برداشت شد. این نمونه برداری به صورت تصادفی از مقطع کالباس انجام گرفت. پس از نمونه برداری، نمونه‌ها توسط بافر فرمالین تثبیت شدند و پس از انجام روند معمول آزمایشگاه بافت شناسی قالب‌های پارافینی تهیه و مقاطعی به ضخامت ۶ میکرون بریده شده و با تری کروم ماسون رنگ شدند (۲، ۳).

مشاهدات و نتایج

پس از تهیه برش و رنگ آمیزی، نمونه‌ها مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند و نسوج مختلف به شرح زیر مشاهده و از آن‌ها فتومیکروگراف تهیه گردید.

الف- بافت عضلانی

گوشت حاوی بافت عضلانی مخطط و همبندی می‌باشد(۵، ۷). بافت عضلانی به علت عمل کاتریزاسیون در طول تولید کالباس‌های حرارت دیده خرد شده و به صورت قطعات ریز و پراکنده در برش میکروسکوپی دیده شدند. در تصویر شماره ۱ بافت عضلانی به رنگ قرمز و بافت همبندی به رنگ سبز مشاهده می‌شود.



تصویر شماره ۱. مقطع عرضی عضلات مخطط همراه با بافت همبندی (تری کروم ماسون، X۸۰) a) عضلات مخطط b) بافت همبندی.

ب - سنگدان مرغ

سطح اپی تلیوم را لایه‌ای صاف و ضخیم از ترشحات غدد فرا گرفته است و در تصویر شماره ۲ این لایه به رنگ صورتی روشن دیده می‌شود. در این تصویر مخاط سنگدان توسط سلول‌های بافت پوششی استوانه‌ای ساده و کوتاه پوشیده شده است. این سلول‌ها دارای سیتوپلاسمی قرمز روشن و هسته‌ای با رنگ آبی تیره دارند. مخاط به کفت‌های سنگدان داخل شده و به صورت سلول‌های غده‌ای دیده می‌شوند. این غدد به صورت لوله‌ای ساده و مستقیم هستند که سیتوپلاسم سلول‌های آن رنگ قرمز روشن و هسته رنگ تیره دارند و در داخل مجرای این غدد مواد ترشحی شاخصی به رنگ قرمز روشن وجود دارد. در زیر مخاط سنگدان بافت همبند سخت دیده می‌شود که در رنگ آمیزی با تری کروم ماسون به رنگ سبز مشاهده شد. بافت عضلانی سنگدان بسیار در هم، به صورت کلاف‌های پیچیده و به رنگ قرمز و با هسته تیره رنگ در وسط رشته‌های عضلانی و بافت همبندی ضخیمی در بین آن‌ها رؤیت شد.

ج- بافت نرم سر

بافت نرم سر در تصویر شماره ۳ به صورت توده‌ای غده ای و صورتی رنگ و حاوی تعداد زیادی آلوئول‌های ترشحی و مجاری غدد مشاهده شد. این واحدهای ترشحی اکثراً از نوع سروزی هستند و از چندین سلول

Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

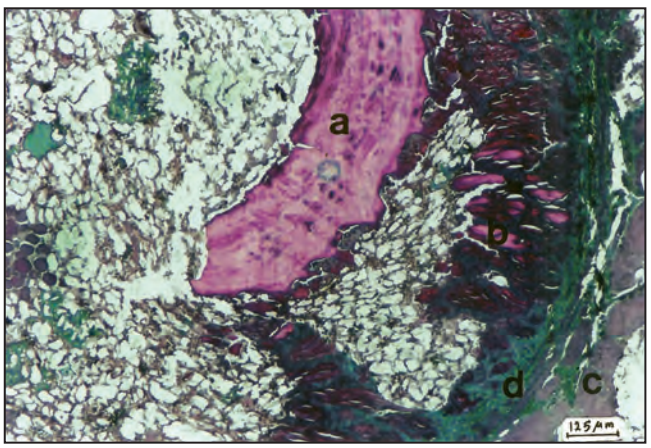
تشکیل شده‌اند. در این تصویر سلول‌ها با سیتوپلاسمی کف آلوده و به رنگ صورتی دیده شدند. هسته سلول‌های آسینی سروزی کروی شکل و نزدیک قاعده بوده و به رنگ آبی یا بنفش تیره در تصویر رؤیت شدند. آسینی‌های موکوسی نیز دارای سلول‌های مکعبی یا استوانه‌ای هستند که سیتوپلاسمی کف آلود و رنگ صورتی کمرنگ دارند و هسته آن‌ها آبی یا بنفش تیره است. در بافت همبندی غده بزاقی عروق خونی وجود دارد که لایه عضلانی اطراف عروق به رنگ قرمز و از بقیه قسمت‌ها تفکیک می‌شود.

د- ریه

بافت ریه حاوی آلوئول یا حبابچه می‌باشد و جدار آلوئول‌ها را بافت همبندی فرا گرفته است. در تصویر شماره ۴ ؛ سلول‌هارنگ تیره و هسته سلول‌های بنیادی رنگ آبی تیره دارد. در اطراف آلوئول‌های ریوی سلول‌ها و رشته‌های عضلانی وجود دارد که به رنگ قرمز تیره مشاهده می‌شوند. همچنین این تصویر مقطع بافت غضروفی مجرای تنفسی ریه را نشان می‌دهد که غضروف رنگ سبز دارد و سلول‌های غضروفی در داخل آن وجود دارند. در قسمت سمت راست این تصویر بخشی از آلوئول‌های دناتوره شده ریه مشاهده می‌شود.

د- پستان

در تصویر شماره ۵ بافت پستان مشاهده می‌شود. این بافت دارای لوب و لوبول‌هائی است که توسط انشعابات همبندی از یکدیگر مجزا گشته اند و رشته‌های کلاژن در اطراف هر لوب و لوبول وجود دارد و به رنگ سبز مشاهده شدند. در این تصویر لوبول‌های پستان حاوی ساختمان غده‌ای از نوع لوله‌ای – آلوئولی است. ساختمان سلول‌های ترشحی و جدار آلوئول‌ها به علت دناتوراسیون از بین رفته است و تنها هسته آن‌ها به رنگ آبی تیره مشاهده می‌شود. فضای داخلی آلوئول‌ها نیز به خوبی رؤیت می‌شوند.



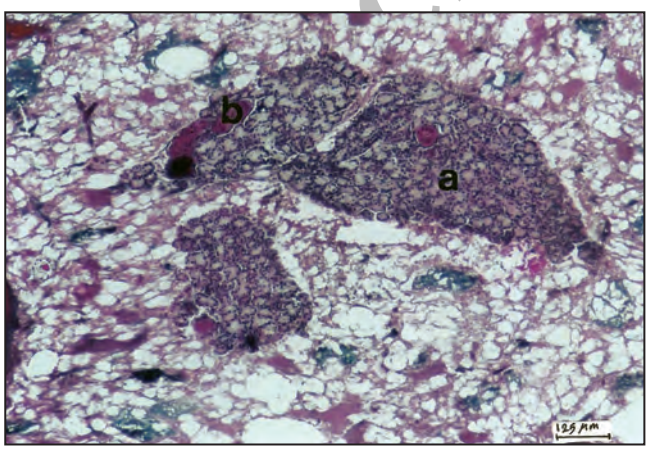
تصویر شماره ۲. مقطع بافت سنگدان مرغ (تری کروم ماسون،
a). (X۸۰) مواد شاخی در سطح اپی تلیوم.
b) مواد ترشحی در داخل غدد لوله ای c) عضلات d) بافت همبندی

ه - اندام‌های داخل حفره شکم

در رنگ آمیزی تری کروم ماسون ساختمان اندام‌های داخلی حفره شکم مانند شکمبه، نگاری و هزارلا به خوبی رنگ گرفته و قابل تمایز هستند. در تصویر شماره ۶ لایه شاخی اپی تلیوم شکمبه به رنگ قرمز تیره و بافت پوششی سنگفرشی مطبق با رنگ بنفش دیده شد. در شکمبه سلول‌های سنگفرشی بیشتر حالت وزیکولی یا باد کرده دارد و حاوی قطرات چربی می‌باشند که به صورت نقاط تو خالی و سفید رنگ مشاهده می‌شوند. در این اندام‌ها بافت همبندی سفت و نامنظم در ناحیه زیر مخاط پارین وجود دارد. این بافت حاوی رشته‌های کلاژن سبز رنگ بوده و هسته سلول‌های این بافت نیز به رنگ آبی تیره رؤیت گردید. در تصویر شماره ۷ پرز یا پرد انگشتی شکل به صورت عرضی دیده می‌شود. این پرزها به علت داشتن بافت همبندی رنگ سبز دارند و فاقد ماهیچه مخاطی می‌باشند. لایه عضلانی نیز مشاهده می‌شود که در زیر رشته‌های همبندی قرار دارد و به رنگ قرمز تیره دیده می‌شوند.

بحث

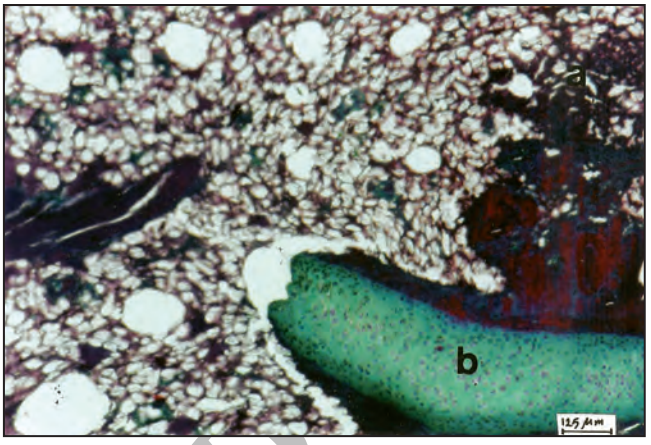
روند تولید در فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده به گونه‌ای است که در اثر کاتریزاسیون ساختمان عضلانی گوشت کاملاً خرد شده و شکل آن تغییر می‌یابد. به‌طوریکه مواد بافت عضلانی با دیگر محتویات کالباس مخلوط گردیده و همراه با عمل حرارت دادن بر روی منظره بافتی کالباس اثر می‌گذارند، عاملی که بیشتر بر روی ترکیبات کالباس تأثیر می‌گذارد حرارت است. زیرا حرارت موجب تغییر ماهیت ساختمان سلولی بافت‌های حیوانی و گیاهی می‌گردد. در تولید نمونه‌های مطالعه حاضر از حرارت ۸۰ درجه سانتیگراد بمدت ۱/۵ ساعت استفاده گردید. در این درجه حرارت تغییر ماهیت مواد پروتئینی فرآورده گوشتی ایجاد شده به‌طوریکه در تصویر شماره ۱ قدری تغییر ماهیت رشته‌های عضلانی مشاهده می‌شود. معمولاً پروتئین‌های میوفیبریل گوشت در حرارت بالاتر از ۶۵ درجه سانتیگراد منعقد می‌گردند و کلاژن و پروتئین‌های سارکوپلاسمیک در درجه حرارت‌های ۶۰-۴۵ درجه سانتیگراد به صورت محلول در می‌آیند(۲۰). با



تصویر شماره ۳. مقطع بافت غده بزاقی در بافت نرم سر.
تری کروم ماسون، a) .(X۸۰)
آسینی‌هاس سروزی b) عروق خونی.

www.SID.ir

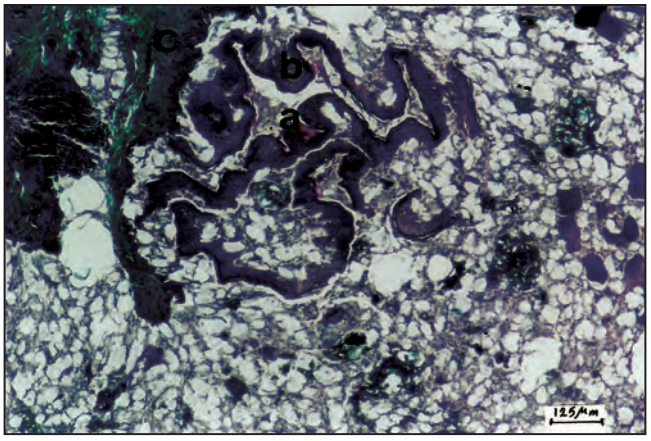
Archive of SID



تصویر شماره ۴. مقطع بافت غضروفی و ریه.
تری کروم ماسون، a) (X۸۰). آلوئول‌های ریوی دناتوره شده b) بافت غضروفی

وجود اینکه بافت بکاررفته در تهیه کالباس‌های حرارت دیده تغییر حالت می‌یابد باز هم بخشی از ساختمان بافتی ممکن است دست نخورده باقی بماند که می‌تواند ارزش بافت شناختی در این فرآورده را به همراه داشته باشد. این مسئله می‌تواند در مواردی که آنالیز بافتی مواد تشکیل دهنده فرآورده گوشتی، خصوصاً وجود بافت‌های نامناسب را به دنبال دارد حائز اهمیت باشد.

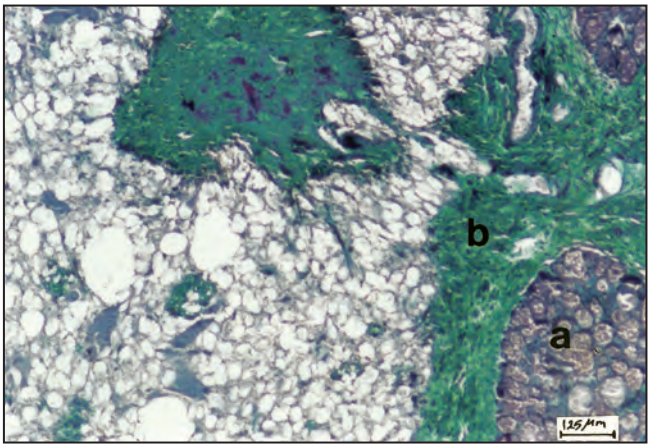
احتمال استفاده از اندام‌های غیر مجاز در فرآورده‌های گوشتی توسط تحقیقات مختلفی نشان داده شده است. به‌طوریکه Georgier و Vitanov در سال ۱۹۹۵ انواعی از اندام‌ها مانند غدد بزاقی، کبد و قلب (۱۴) و Huffmane و Cordray در سال ۱۹۸۲ اندام‌های کبد و قلب(۱۶) را در فرآورده‌های گوشتی مانند سوسیس شناسایی کرده‌اند. همینطور Julini و همکاران در سال ۱۹۷۹ به شناسایی بافت‌های نامناسب حیوانی مانند ریه، پوست، پستان، کلیه، عصب و غضروف در سوسیس پرداخته اند(۱۸). در تحقیقی دیگر Julini و همکاران در سال ۱۹۸۲ مواردی از گنجانیدن اندام‌های نامطلوب و غیر مجاز مانند معده و روده، عضله قلب، عقده‌های



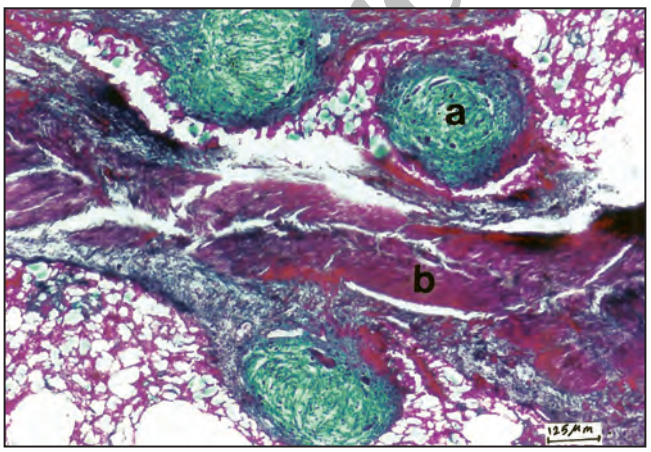
تصویر شماره ۶. بخشی از اندام داخلی حفره شکمی. تری کروم ماسون، X۸۰)
a) لایه شاخی b) بافت پوششی سنگفرشی مطبق c) رشته‌های کلاژن بافت همبندی

لنفاوی، طحال، دستگاه ادراری، غدد آندوکرین و بافت پوششی را با استفاده از روش‌های بافت شناسی تشخیص داده‌اند (۱۷). در تحقیقاتی دیگر رکنی و همکاران در سال ۱۳۷۹ به شناسایی بافت‌های غیر مجاز در کالباس‌های حرارت دیده با استفاده از روش‌های بافت شناسی پرداخته اند(۶). همچنین جاهد خانیکی و همکاران در سال ۱۳۸۳ بافت‌های غیر مجاز را در همبرگر با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین مورد بررسی و شناسایی قرار داده اند(۴).

هرکدام از بافت‌های غیر مجاز دارای ساختمان ویژه بافت شناسی می‌باشند که بر اساس مشخصه‌های بافتی در صورت وجود بخش کوچکی از بافت در فیلد میکروسکوپی می‌توان به نوع بافت حیوانی در فرآورده‌ها پی برد. در رنگ آمیزی تری کروم ماسون دو اسید به نامهای اسید فسفومولیبدیک[۱۱] (PMA) و اسید فسفو تنگستیک[۱۲] (PTA) بکار می‌رود. اسید فسفو تنگستیک به پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه باند می‌گردد اما با مواد قندی (کربوهیدرات) باند نمی‌شود. از اسید فسفومولیبدیک و اسید فسفو تنگستیک به عنوان رسوب دهنده پروتئین‌ها و اسیدهای



تصویر شماره ۵. مقطع بافت پستان.
تری کروم ماسون، a) (X۸۰). آلوئول‌های پستان b) بافت همبندی



تصویر شماره ۷. مقطع میکروسکوپی اندام داخلی حفره شکمی.
(تری کروم ماسون، a). (X۸۰) بافت همبندی پرد انگشتی b) بافت عضلانی

www.SID.ir

Archive of SID

آمینه استفاده می‌شود. در رنگ آمیزی تری کروم ماسون ساختمان‌هایی که اسید فسفومولیبدیک با آن‌ها باند می‌شود رنگ سبز روشن[۱۳] بخود می‌گیرند. اسید فسفومولیبدیک یا اسید فسفو تنگستیک در مقادیر بسیار کم با سیتوپلاسم سلول‌ها باند می‌شوند و در اینجا فوکسین اسید بکار رفته در ترکیب رنگ آمیزی تری کروم ماسون با اسید فسفومولیبدیک یا اسید فسفو تنگستیک برای باند شدن رقابت میکند و نهایتاً فوکسین اسید در سیتوپلاسم سلول جایگزین می‌شود و سیتوپلاسم رنگ فوکسین را به خود می‌گیرد و به رنگ قرمز در می‌آید. این مکانیسم در مورد رنگ آمیزی رشته‌های عضلانی نیز شکل می‌گیرد و این رشته‌ها به رنگ قرمز دیده می‌شوند. در رنگ آمیزی تری کروم ماسون تجمع و آمیختگی رنگ در کروماتین هسته سلول وجود دارد. مقدار زیادی یون‌های آهن در هسته تجمع پیدا کرده و هسته به رنگ تیره دیده می‌شود (۲، ۱۹). هسته سلول‌ها در فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده ممکن است به علت اعمال روند حرارتی از بین رفته باشند و خواص رنگ پذیری آن تغییر پیدا کند. به‌طوریکه در تصویر ۳، ۴ رنگ هسته سلول تیره تر شده است.

یکی از مواد تشکیل دهنده بافت‌های حیوانی، کلاژن می‌باشد. کلاژن به عنوان نماینده بافت همبندی است(۳). این ماده جزو گلیکو پروتئین‌های مهم می‌باشد که بخش اعظم آن را اسید آمینه گلیسین و پرولین تشکیل میدهند. رشته‌های کلاژن در رنگ آمیزی تری کروم ماسون به رنگ سبز در میآیند. زیرا رشته‌های کلاژن در مقادیر بیشتری نسبت به سیتوپلاسم سلول‌ها با اسید فسفومولیبدیک باند می‌گردند و همینطور هسته سلول‌ها قدرت جذب بسیار کمی برای این ماده دارند. ساختمان‌هائی که اسید فسفومولیبدیک با آن‌ها باند می‌شود در رنگ آمیزی تری کروم ماسون رنگ سبز روشن را بخود می‌گیرند (۱۹). رنگ سبز روشن به عنوان رنگ متقابل در رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون است و در متمایز کردن رشته‌های کلاژن از رشته‌های عضلانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این رنگ آمیزی رشته‌های کلاژن به رنگ سبز و رشته عضلانی به رنگ قرمز مشاهده شدند. Etherington و Sims در سال ۱۹۸۱ (۱۱)، و Flint و Pickering در سال ۱۹۸۴ (۱۳) به نمایش بافت همبندی کلاژن، تشخیص و برآورد میزان آن در فرآورده‌های گوشتی پرداختند. این محققین از روش رنگ آمیزی سیریوس قرمز استفاده کردند. در این رنگ آمیزی کلاژن حرارت دیده در فرآورده گوشتی به رنگ قرمز و رشته‌های عضلانی به رنگ زرد مشاهده شده است. نتایج مطالعه حاضر که از رنگ آمیزی تری کروم ماسون برای تفکیک رشته‌های کلاژن و عضلانی از یکدیگر استفاده شده است در مقایسه با نتایج رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین(۶) که رشته‌های کلاژن به رنگ بنفش مایل به قرمز و رشته‌های عضلانی به رنگ صورتی رویت می‌گردند کنتراست بهتری را نشان می‌دهد. همانطوریکه در تصویر شماره یک دیده می‌شود در رنگ آمیزی تری کروم ماسون به خوبی محدوده بافت کلاژنی از بافت عضلانی قابل تشخیص است و حتی می‌توان میزان بافت کلاژنی را تخمین زد. همچنین رنگ آمیزی تری کروم ماسون می‌تواند وجود بافت غضروفی در فرآورده‌های گوشتی را از سایر بافت‌ها مشخص نماید و از این نظر نیز می‌تواند دارای اهمیت باشد.

در تصاویر ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ به ترتیب بخشهایی از سنگدان مرغ، گوشت بافت نرم سر، ریه، پستان و سه قسمت اول معده نشخوار کنندگان مشاهده می‌شوند. مشخصه‌های بافتی این اندام‌ها به ترتیب عبارتنداز لایه ضخیم و کفت‌های غده‌ای و ساختمان عضلانی به هم پیچیده، آسینی‌های سروزی غده بزاقی، آلوئول‌های ریوی و برونشیول تنفسی، لوبول‌های پستان و آلوئول‌های شیری، بافت پوششی سنگفرشی مطلق و لایه شاخی نازک روی بافت پوششی و پرده‌ای انگشتی(۳). در تصاویر فوق به علت رنگ آمیزی مناسب، تفکیک اجزاء بافت به آسانی از یکدیگر صورت می‌گیرد و بر اساس این مشخصات میتوان به وجود و نوع بافت در منظره میکروسکپی کالباس پی برد و مشخص نمود که از بافت غیر مجاز استفاده شده است یا نه؟. روش رنگ آمیزی تری کروم ماسون با داشتن کنتراست مناسب در ساختمان‌های بافتی می‌تواند به عنوان یک رنگ آمیزی اختصاصی در کنترل تقلبات اندام‌های حیوانی غیر مجاز در کالباس‌های حرارت دیده استفاده شود.

پاورقی‌ها

1-Haematoxylin & Eosin
2-Toluidine blue
3-Van Gieson
4-Calleja
5-Sirius Red
6- Picro Sirius Red
7-Periodic acid Schiff
8-Masson's trichrome staining
9-Cutter
10-Hobart
11-Phosphomolybdic acid
12-Phosphotungestic acid
13-Light green

منابع مورد استفاده

۱. استاندارد شماره ۲۳۰۳، ۱۳۷۰؛ ویژگی‌های سوسیس و کالباس. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

۲. بهادری، مسلم، ۱۳۴۶؛ فن بافت شناسی. انتشارات دانشگاه تهران شماره ۱۱۲۰.

۳. پوستی، ایرج. و ادیب مرادی، مسعود. ۱۳۸۲؛ بافت شناسی مقایسه ای و هیستوتکنیک. انتشارات دانشگاه تهران. شماره ۱۹۴۴.

۴. جاهد خانیکی، غلامرضا، کامکار، ابوالفضل و فتحی، افشین. ۱۳۸۳؛ بررسی استفاده از بافت-های غیر مجاز در تولید همبرگرهای مصرفی شهرستان گرمسار در سال ۱۳۸۱؛ طلوع بهداشت فصلنامه پژوهشی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد. سال سوم، شماره سوم، صفحه ۳۸.

۵. رکنی، نوردهر، ۱۳۷۴؛ علوم و صنایع گوشت انتشارات دانشگاه تهران شماره ۲۲۶۶.

۶. رکنی، نوردهر، جاهد خانیکی، غلامرضا و پوستی، ایرج. ۱۳۷۹؛ تشخیص بافت‌های غیر مجاز در کالباس‌های حرارت دیده با استفاده از روش بافت شناسی.

www.SID.ir

Archive of SID

فصلنامه پژوهش و سازندگی، شماره ۴۷، صفحات ۷۶-۸۲.
۷. شهراسبی، حمزه و ناصری، علی، ۱۳۶۴؛ ارزش غذایی و روش‌های عملی کنترل بهداشتی و شیمیایی بعضی از فراورده‌های گوشتی ایران. انتشارات واحد فوق برنامه بخش فرهنگی دفتر مرکزی جهاد دانشگاهی تهران.
8-Bergeron, M., and Durand, P. 1977; Histological identification of different forms of soya in meat products. Annales dela Nutrition et L Alimentation. 31(2) : 261-270.
9-Bergeron, M., and Durand, P . 1976; Latechnique histologique (encongelation) application al etude dela probabilite del identification dun constituent. Ann fals. EXP. Chem. 69: 669-671.
10-Carey, A.M., Archer, N.A, Peiore, J.R.J.D., and Katula, A.W. 1984; Meat, Poultry and meat and poultry products. Histologic detection of cardiac musculature, soy flour , and partially defatted tissue in groud beef. Inter Laboratory Study Journal of the Association of Official Analytical Chemists. 67(1): 16-19.
11-Eththerington, D.J., and Sims, T.J. 1981; Detection and estimation of collagen. Journal of the Science of Food and Agriculture. 32: 539-546
12- Flint, F.O., and Firsth, B.M. 1983; Histochemical demonstration of collagen in comminuted meat products. The Analyst, 108: 757-759
13- Flint, F.O., and Pickerring, K. 1984; Demonstration of collagen in meat products by an improved picro-sirius Red polarization method. The Analyst, 109: 1505-1506.
14- Georgier, L., and Vitanov, S. 1995; Adulteration of mince and sausages. Khranitelana Promish Lenost (Bulgaria) 44(1): 15-16.
15- Hildebrant, G., and Hirst, L. 1985; Determination of the collagen, elastin and bone content in meat products. Journal of Food Science, 50: 568-572, 576.
16- Huffman, D.L., and Cordray, J.C. 1982; Processing Systems-particle reduction systems. In: International Symposium –Mreat Science and Technology. National Livestock and Meat Board, Chicago, pp. 229-234.
17- Julini, M., Parisi, E., and Minopulos, P. 1982; Histological aspects of commercial frauds in relation to sausage products. II. Annali dela Facolta Medicina Veterinari di Torino. 27: 485- 499.
18- Julini, M., Parisi, E., and Chicco, G. 1979; Histological aspects of common frauds in sausage manufacture. Annali dela Facolta Medicina Veterinari di Torino. 26: 231-244.
19- Kiernan, J.A. 1992; Histological and Histochemical methods. Second edition. Pergamon Press, Ltd,. London.
20- Priestley, R.J. 1979; Effects of Heating on Food stuff. Effect of heat treatment on meat. Applied Science Publishers, Ltd. London.

Archive of SID

www.SID.ir