بررسی تطبیقی اصالت فراورده‌های گوشتی در سه جامعه‌ی آماری اصفهان، تبریز و تهران

مهسا علی‌کرد[1]، جواد کرامت[2]، حسن ممتاز[3]، عزیز همایونی‌راد[4*]

١- دانشجو،کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع‌غذایی،دانشکده تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
٢- دانشیار، گروه مهندسی علوم وصنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
٣- دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد شهرکرد، شهرکرد، ایران
٤- دانشیار،گروه علوم وصنایع غذایی، دانشکده تغذیه، دانشگاه علوم‌پزشکی تبریز، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: ٩٤/٠٩/٠٢ تاریخ پذیرش: ٩٥/٠٦/٠٢)

چکیده

جهت بررسی تطابق نوع گوشت درج شده بر روی برچسب فراورده‌های گوشتی با محتویات آنها روش‌های مختلفی وجود دارد. یکی از روش‌های دقیق و سریع، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرکب[1] می‌باشد. هدف این تحقیق بررسی اصالت نوع گوشت مصرفی در مقایسه با برچسب درج شده بر روی محصول است.

در این بررسی ٣٥ نمونه از سه برند در شهرهای اصفهان، تهران و تبریز و در سه محصول خام (گوشت چرخ‌کرده)، نیمه‌فراوری (همبرگر یا کباب لقمه آماده) و فراوری‌شده (سوسیس) تهیه گردید. بررسی‌ها در سه تکرار و در توالی پرایمرهای ١٥٣، ١٤٥، ٢٢٧ و ١٠٤ جفت باز نوکلئوتیدی به ترتیب جهت شناسایی گونه اسب، الاغ ، خوک و گاو/گوسفند انجام پذیرفت. استخراج DNA با استفاده از کیت استخراجی DNA سیناژن ایران انجام و سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرکب برای نمونه‌ها انجام شد همچنین برنامه‌ای برای فرایند تکثیر در دستگاه واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به کاربرده شد.

در مجموع از شش (١٧ ٪) تقلب صورت گرفته چهار مورد (١١٪) مربوط به گوشت اسب و دو مورد (٦ ٪) مربوط به گوشت الاغ بوده است. اکثر تقلبات در محصولات گوشتی فراوری شده با برچسب گوشت قرمز در سوسیس ٤٠٪ و یا ٥٠٪ بوده است.

یافته‌های نشان داد متاسفانه تقلب در فراورده‌های گوشتی وجود دارد. وجود این امر مختل کننده سلامت جامعه، مغایر با شرع و اخلاق و برهم زننده اعتماد مردم به نظام تجارت سالم می‌باشد. لذا اجباری شدن رعایت استاندارد در محصولات گوشتی توسط تولیدکنندگان و نظارت جدی بر آنها ضروری است.

کلید واژگان: تشخیص، گوشت، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرکب، گونه.

*مسئول مکاتبات: homayounia@tbzmed.ac.ir

1. Multiplex-PCR

۱- مقدمه

وعده‌های غذایی با ترکیب گوشت و فراورده‌های گوشتی، تامین‌کننده‌های اصلی پروتئین و اسیدهای آمینه‌ی ضروری بدن بوده که بیانگر اهمیت مصرف آن‌ها در تغذیه انسان می‌باشد. نگرانی‌های اخیر در رابطه با تولید مواد غذایی گوشتی ناسالم نظیر شیوع برخی بیماری‌ها (جنون گاوی، آنفولانزای حیوانی و غیره) و همچنین سوء استفاده‌ی برخی از تولیدکنندگان موادغذایی، موجب توجه بیشتر به ترکیبات تشکیل دهنده‌ی محصولات غذایی گوشتی شده است. از این رو برچسب‌گذاری صحیح محصولات به خصوص در محصولات فراوری شده که توانایی تشخیص یک جز از سایر اجزا دشوار است، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.

گوشت گاو یکی از پرمصرف‌ترین گوشت‌ها بوده و گاهی نیز با گوشت گوسفند، گاومیش، خوک، الاغ و غیره مخلوط می‌شود [۱]. در کشورهای اسلامی به دلیل تاکید بر مصرف گوشت حلال، حساسیت نسبت به نوع ذبح و گوشت مصرفی مطابق با آنچه برروی برچسب محصول درج شده، مورد توجه مسلمانان قراردارد. با این وجود برچسب محصولات ممکن است ضمانت کافی را در مورد محتوای واقعی آنها فراهم نکند، بنابراین شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده محصولات فراوری شده لازم و ضروری می‌باشد.

انواع تقلب در فراورده‌های گوشتی را می توان هشت دسته تقسیم کرد که شامل مشخص نبودن منشاء جغرافیایی گوشت بر روی برچسب محصولات، جایگزینی گوشت حیوانات اهلی با شکاری ، وجود افزودنی‌های شیری یا گیاهی نامشخص، فروش محصولات غیربومی به عنوان محصول بومی، گونه گوشت استفاده شده در محصولات گوشتی، ترکیبات گوشتی نامشخص مانند بازمانده‌های گوشتی مکانیکی[۲]، پلاسمای خونی و غیره که از گاوهای دچار انسفالوپاتی[۳] تهیه شده‌است، مواد اولیه نامشخص(جایگزینی مواد اولیه ارزان به جای مواد گران قیمت) وفروش گوشت یخ‌زدایی شده به عنوان گوشت تازه باشد [۲].

شناسایی نوع گوشت براساس دو روش شناسایی پروتئینی و DNA می‌باشد [۳]. شناسایی پروتئینی با روش الکتروفورز [٤، ٥] و با روش اسپکتروسکوپی بالاخص NIR [٦] و کروماتوگرافی بالاخص کروماتوگرافی مایع[٤]و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[٥] جهت پروتئین و کروماتوگرافی گازی[٦]جهت شناسایی چربی [۹-۷]. و برای گوشت خام و حرارت دیده از طریق شناسایی تروپونین I یا پروتئین‌های سارکوپلاستیک و هموگلوبین استفاده شده‌است [۱۰].

به منظور شناسایی نوع گوشت، مطالعاتی به صورت جهانی انجام شده است [۱۹-۱۱]. بالین و همکاران (۲۰۰۹) و کسمن و همکاران (۲۰۰۷) و کوما و همکاران (۲۰۱۲) با استفاده از روش Real-Time PCR به شناسایی نوع گوشت به صورت خام و فراوری شده پرداخته‌اند [۱۱، ۱۳، ١٤]. همچنین برای شناسایی اصالت گوشت حلال و تفکیک آن از گوشت حرام از روش‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[۷] و سایر روش‌های پروتئینی استفاده شده‌است [۱۵و ١٦]. استمولیس و همکاران (۲۰۱۰) با روش واکنش‌زنجیره‌ای پلیمراز وجود گوشت مرغ را در غذاهای چینی مورد ارزیابی قرار دادند [۱۹].

از جمله مطالعات صورت گرفته در زمینه شناسایی نوع گوشت می‌توان به تحقیق‌های پیرانی و همکاران (۱۳۸۸) در خصوص مناسب بودن روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرکب برای شناسایی گوشت بز ، گاو و گاومیش و همچنین هاشم زادگان و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی همبرگرهای شهر تهران در اثبات وجود پروتئین سویا بر خلاف برچسب تایید شده به همراه گوشت گاو در تمامی نمونه‌های همبرگر ممتاز اشاره کرد [۲۰،۲۱]. صادری و همکاران (۲۰۱۳) و قوتی و همکاران (۲۰۰۹) نیز با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلیمراز معمولی و مرکب ولی توالی پرایمر متفاوت جهت شناسایی گوشت گاو، گوسفند، مرغ و سایر پستانداران بهره برده‌اند [۲۲، ۲۳].

در آخرین تحقیقات صورت گرفته در شناسایی نوع گوشت با استفاده از واکنش زنجیره‌ی پلیمراز به وسیله آنزیم‌های

2. Mechanically recovered meat (MRM)
3. Bovine spongiform encephalopathy

4. Liquid Chromatography (LC)
5. HPLC
6. Gas Chromatography
7. Polymerase chain reaction (PCR)

محدودالاثر[8] در گونه‌های گاو، گوسفند، مرغ و اسب/ الاغ در ۲۲۴ نمونه‌ی تجاری جمع‌آوری شده از فروشگاه معتبر از طریق DNA میتوکندری (ژن سیتوکروم b) به ۷/۵۸ درصد تقلب در کل نمونه‌ها دست یافتند [۲۴]. همچنین روش Species-specific PCR به منظور شناسایی گونه‌های گاو، گوسفند، مرغ و الاغ در ۹۱ نمونه گوشت گوساله، ۵۳ نمونه مخلوط گوشت گوساله و گوسفند تهیه شده از فروشگاه‌های عرضه محصولات دامی خام(قصابی) به شناسایی ۴۷/۲ درصد نمونه گوشت مرغ و ۰/۷ درصد نمونه گوشت الاغ دست یافته اند که نشان‌دهنده کارآمدی روش‌های به کار رفته می‌باشند [۲۵].

در معدود مطالعاتی [۲۳، ۲۴] حضور گوشت خوک در فراورده پروتئینی شهرتهران بررسی شده است که با توجه به مرزی بودن شهر تبریز و حضور اقلیت‌نشین ارمنی زبان در اصفهان لزوم این بررسی احساس می‌شد.

هدف از این تحقیق بررسی اصالت فراورده‌های گوشتی تجاری و اثبات وجود یا عدم وجود گوشت اسب، الاغ و خوک در محصولات عرضه شده در فروشگاه‌های سه شهر اصفهان، تهران و تبریز می‌باشد. بدین منظور از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرکب و از برنامه‌ی جدیدی برای تکثیر در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز استفاده شده است. اکثر مطالعات صورت گرفته در ایران جهت بررسی کارآمدی روش‌های مورد استفاده بوده (۲۷ ،۲۰) و یا با استفاده از روش‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و با توالی پرایمرهایی متفاوت با آنچه دراین مطالعه به کاربرده شده انجام گرفته است [۲۵، ۲۴].

۲- مواد و روش‌ها

۳۵ نمونه‌های تجاری از سه شهر اصفهان، تهران و تبریز و از هر شهر سه برند مورد ارزیابی قرار گرفت. محصولات انتخابی از هر برند به صورت خام(گوشت چرخ‌کرده بسته‌بندی شده)، نیمه-فراوری (همبرگر یا کباب لقمه آماده) و فراوری شده(سوسیس با سه تنوع محصول ۴۰، ۵۰ و ۸۰ درصد گوشت قرمز و ۹۰ درصد گوشت در برخی از برندها) انتخاب گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده و تا زمان استخراج DNA در دمای۱۸- تا ۲۰- درجه سانتیگراد جهت جلوگیری از تخریب آنزیمی نگهداری شد. همچنین جهت نمونه‌های گوشت خالص خام از گونه‌های اسب، الاغ و گاو/گوسفند به عنوان کنترل مثبت از آزمایشگاه دامپزشکی شهرکرد و خوک از قسمت ارمنی نشین اصفهان و از بخش عضله حیوان انتخاب گردیدند.

استخراج DNA از تمامی نمونه‌های خام و محصولات گوشتی تجاری مورد مطالعه با استفاده از کیت استخراجی DNA سیناژن ایران براساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. جهت فرایند استخراج DNA ۵۰-۲۵ میلی‌گرم از هر نمونه برداشته و ابتدا با بافر لیزکننده و آنزیم پروتئاز K نمونه را متلاشی نموده سپس توسط محلول رسوب کننده ذرات را رسوب داده، مایع رویی را تخلیه و سپس با محلول شست و شو شسته تا DNA از نمک، پروتئین و بقایای سلولی عاری شود. در پایان DNA خالص بدست آمده تا زمان آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دمای ^{o}c ۲۰- نگهداری شد [۱۳]

چهار توالی پرایمرهای بکار رفته در این پژوهش جهت شناسایی همزمان گونه‌ها انتخاب شده‌اند که اطلاعات مربوط به هریک در جدول شماره ۱ ارائه گردیده است. یک جفت پرایمر از هریک از گونه‌ها انتخاب و برای سنتز سفارش داده شد.

۲۵ میکرولیتر از هر نمونه را در چهار میکروتیوب (به علت توالی نزدیک اسب و الاغ با هم) با ۵۰ میکرولیتر محلول واکنش و یک میکرولیتر پرایمر Forward و یک میکرولیتر پرایمر Reverse از هرگونه (سیناژن ایران) و ۰/۳ میکرولیتر آنزیم تگ پلیمراز(Fermentas, Lithuania) به همراه بازهای نوکلئوتیدی (Fermentas, Lithuania) ترکیب و در دستگاه واکنش زنجیره‌ای پلیمراز قرار داده شد. طبق برنامه داده شده به دستگاه(Eppendorf Mastercycler, Eppendorf-Nethel- Hinz GmbH, Hamburg,Germany) عملیات تکثیر ژن به صورت واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرکب انجام گرفت که برنامه کاربردی در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

8. RFLP-PCR

Table 1 Design of oligonucleotides of the animal species pork, donkey and horse primers

primers	Oligonucleotide primers	Amplicons (bp)
cattle	5´ GAA AGG ACA AGA GAA ATA AGG 3´	
	5´ TAG GCC CTT TTC TAG GGC A 3´	104
Donkey	5´ CATCCTACTAACTATAGCCGTGCTA 3´	
	5´ CAGTGTTGGGTTGTACACTAAGATG3´	145
Horse	5´ CTATCCGACACACCCAGAAGTAAAG 3´	
	5´ GATGCTGGGAAATATGATGATCAGA 3	153
pork	5´ CTA CAT AAG AAT ATC CAC CAC A 3´	
	5´ ACA TTG TGG GAT CTT CTA GGT 3	227

Table 2 Temperature programs used in PCR amplification with different primers

Program step		primers			
		horse	donkey	pork	ruminant
Initial denaturation		94 ˚C for 10 min	94 ˚C for 10 min	94 ˚C for 10 min	94 ˚C for 10 min
amplification	denaturation	95˚C for 1 min	95˚C for 1 min	95˚C for 1 min	95˚C for 1 min
	annealing	58 ˚C for 1 min	58 ˚C for 1 min	58 ˚C for 1 min	58 ˚C for 1 min
	extension	72˚C for 1.30 min	72˚C for 1.30 min	72˚C for 1.30 min	72˚C for 1.30 min
	Cycle number	34	34	34	34
Final extension		72˚C for 5 min	72˚C for 5 min	72˚C for 5 min	72˚C for 5 min

به منظور تشخیص محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از ژل آگار ۲٪ با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده گردید. برای تهیه آن ٦ گرم پودر آگار در ۲۰ میلی‌لیتر بافر ۱۰X ریخته شد و با استفاده از ماکروویو حل گردید. محلول آگار در دمای اتاق قرار داده شد تا سرد شود. سپس اتیدیوم‌بروماید اضافه و در قالب ژل که شانه‌های چاهک در آن قرار داده شده ریخته شد. در نهایت بعد از تهیه ژل نمونه‌ها را با loading dye ترکیب و در چاهک‌ها بارگذاری گردید. در یکی از چاهک ها نیز کنترل مثبت و در یکی دیگر از چاهک‌ها ladder (Fermentas, Lithuania) بارگذاری شد. سپس نمونه‌ها به چاهک‌های مربوطه تزریق و با ولتاژ ۹۰ ولت الکتروفورز شدند. در نهایت پس از طی زمان الکتروفورز، ژل از قالب خارج و بر روی صفحه‌ی GEL document system منتقل شد. سپس باندهای ایجاد شده در ژل‌ها در نور ماوراءبنفش بررسی گردیدند و نتایج آماری به صورت توصیفی ارائه شده است.

۳- یافته‌ها

به وسیله برنامه‌ی معرفی شده در این مطالعه با دناتوراسیون اولیه ۹٤ درجه سانتیگراد به مدت۱۰ دقیقه و ۹۵ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه، ۵۸ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه،۷۲ درجه سانتیگراد ۱/۵دقیقه و در نهایت تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتگراد به مدت۵ دقیقه در ۳٤ سیکل، اصالت محصولات گوشتی تجاری در سه شهر اصفهان، تهران و تبریز مورد بررسی قرار گرفت(شکل ۱).

شکل ۱ نشان می‌دهد که تشخیص اصالت گونه‌ها براساس یک روش کارا انجام شده است.

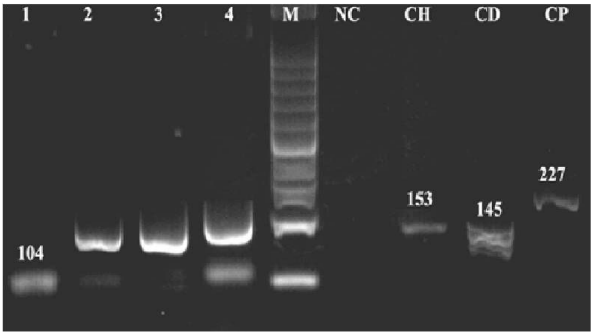

Fig 1 The result of multiplex-PCR on industrial meat products. 1, 2, 3 and 4= samples, M= Marker 100bp, NC=negative control, CH=positive control of Horse, CD=positive control of Donkey, CP=positive control of Pork, 104= band Ruminant, 153=band horse, 145=band Donkey, 227=band pork.

در مجموع ٤۲۰ آزمون برای ۳۵ نمونه مورد بررسی در چهار پرایمر و در سه تکرار برای نمونه‌ها انجام شد. در ۳۵ نمونه انتخاب شده، نهایتا شش مورد تقلب شناسایی شد که چهار مورد

مربوط به وجود گوشت اسب و دو مورد مربوط به گوشت الاغ بوده است (شکل ۲) و هیچ موردی از وجود گونه خوک مشاهده نگردید. در هر ۳۵ نمونه باند ١٠٤ جفت بازی، گونه‌ی گاو/گوسفند نیز تایید شد. اکثر تقلبات در محصولات گوشتی فراوری شده با برچسب گوشت قرمز در سوسیس ٤٠٪ و یا ٥٠٪ بوده است (جدول ۳). تقلبات مشاهده شده در سه شهر ، تهران و تبریز، اصفهان در نمودار تهیه شده در شکل ۳ ارائه شده است. جدول ۳ همچنان نشان می‌دهد از تعداد کل نمونه‌ها، ۲۸ نمونه سوسیس بوده و از این تعداد ٤ مورد وجود گوشت اسب و الاغ در آنها تایید گردید.

Table 3 List of 35 meat products samples tested in this study by using the assay and results obtained

No. of samples	Type of samples	Properties of binary meat mixture	Fragment of PCR amplification			
			145 bp	153bp	227 bp	104 bp
1	sausage	40% , A:1	-	+	-	+
2	sausage	50%, A:1	+	+	-	+
3	sausage	80%, A:1	+	-	-	+
4	sausage	40% , A:2	-	-	-	+
5	sausage	50%, A:2	-	-	-	+
6	sausage	80%, A:2	-	-	-	+
7	sausage	40% , A:3	-	-	-	+
8	sausage	50%, A:3	-	-	-	+
9	sausage	80%, A:3	-	-	-	+
10	sausage	90% , A:3	-	-	-	+
11	sausage	50%, A:4	-	-	-	+
12	sausage	40% , B:1	-	-	-	+
13	sausage	50%, B:1	-	-	-	+
14	sausage	80%, B:1	-	-	-	+
15	hum	B:1	-	-	-	+
16	sausage	40% , B:2	-	-	-	+
17	sausage	50%, B:2	-	-	-	+
18	sausage	80%, B:2	-	-	-	+
19	hum	B:2	-	-	-	+
20	sausage	40% , B:3	-	-	-	+
21	sausage	50%, B:3	-	-	-	+
22	sausage	80%, B:3	-	-	-	+
23	hum	B:3	-	-	-	+
24	hum	B:4	-	-	-	+
25	sausage	40% , C:1	-	-	-	+
26	sausage	50%, C:1	-	-	-	+
27	sausage	80%, C:1	-	-	-	+
28	hum	C:1	-	-	-	+
29	Minced meat	C:1	-	-	-	+
30	sausage	40% , C:2	-	+	-	+
31	sausage	50%, C:2	-	-	-	+
32	sausage	80%, C:2	-	+	-	+
33	hum	C:2	-	-	-	+
34	sausage	40% , C:3	-	-	-	+
35	sausage	50%, C:3	-	-	-	+

A, B and C are cities that collected samples respectively Tehran, Tabriz and Isfahan. 1, 2, 3 and 4 are brands of each cities.

(+): Present ones species in the sample, (-): Absent ones species in the sample.

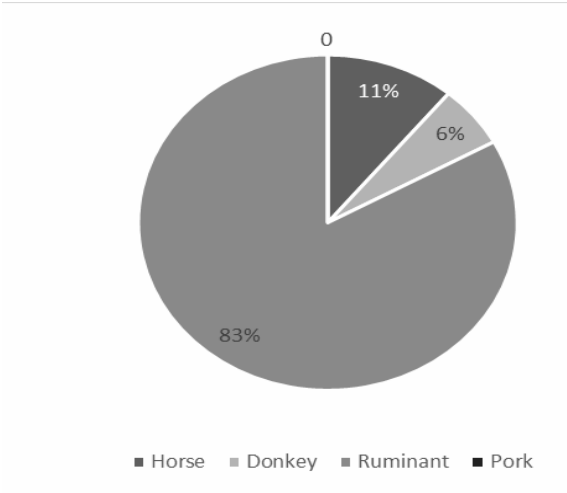

Fig 2 Result of 420 samples (35 sample in 4 species primers in 3 repeat).

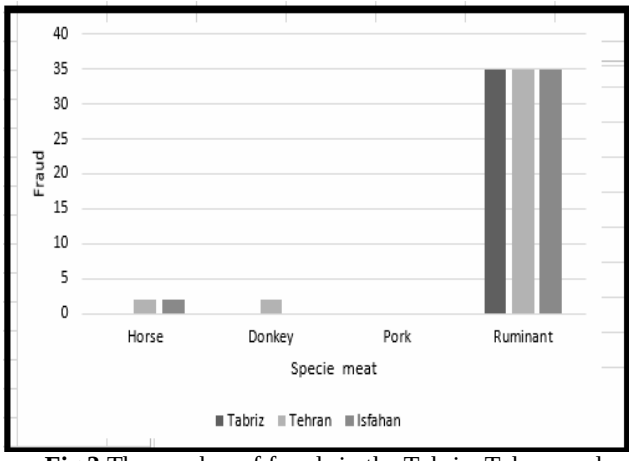

Fig 3 The number of frauds in the Tabriz, Tehran and Isfahan cities. 1 numbers, 7 number and 5 numbers fraud shown horse meat in Tabriz, Tehran and Isfahan cities. Only 2 numbers fraud shown donkey meat in Tabriz, Tehran.

٤- نتایج و بحث

شناسایی نوع گوشت مصرفی در محصولات گوشتی به دلایل مذهبی ، بهداشتی و اقتصادی حائز اهمیت است. طی سال‌های اخیر، محققان بسیاری با استفاده از تکنیک‌های مختلف بر پایه DNA ، نوع گوشت مصرفی را در محصولات گوشتی شناسایی کردند. مطالعه حاضر در همین راستا به منظور شناسایی نوع گوشت اسب، الاغ و خوک و بررسی میزان تقلب صورت گرفته در فراورده‌های گوشتی تجاری پرداخته شده‌است. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرکب امکان شناسایی همزمان چندین گونه را با استفاده از پرایمرهای اختصاصی امکان‌پذیر می‌سازد. تشخیص هر گونه با هیبرید شدن جفت توالی هدف با پرایمرهای۱۵۳، ۱٤٥ و ۲۲۷ جفت باز نوکلئوتیدی به ترتیب جهت شناسایی گونه اسب، الاغ و خوک استفاده و توالی ۱۰٤ جفت بازی برای شناسایی گونه گاو/گوسفند استفاده شده‌است. این روش، قابل اعتماد و حساس در شناسایی نوع گوشت‌ها بوده که محدودیت شناسایی آن ناچیز می‌باشد و قابلیت شناسایی کیفی و همزمان چندین نوع گوشت را فراهم می‌سازد. با توجه به نوع گونه‌های مورد ارزیابی(اسب، الاغ و خوک) که مکروه یا حرام هستند، تنها حضور و یا عدم حضور آن نوع گوشت مورد بررسی نشان‌دهنده‌ی تخلف می‌باشد.

استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرکب عدم تطابق مواد مندرج در برچسب محصولات با محتوای گوشتی ارائه شده به مصرف‌کننده را در سه شهر اصفهان، تهران و تبریز اثبات می‌نماید. در مجموع در ۳۵ نمونه مطالعه شده ۱۷ ٪ تقلب صورت گرفته که ۱۱٪ مربوط به گوشت اسب و ٦ ٪ مربوط به گوشت الاغ بوده است. اکثر تقلبات در محصولات تجاری گوشتی فراوری شده با درصد پایین گوشت قرمز (سوسیس ٤٠٪ و ٥٠ ٪) بوده که احتمالا با هدف صرفه اقتصادی بیشتر تولیدکننده مشاهده شد. استفاده از گوشت گاو/گوسفند در تمام نمونه‌ها اثبات شد که نشان‌دهنده استفاده از گوشت سایر حیوانات صرفا جهت کاهش هزینه‌های اقتصادی بوده است. در مطالعه دوستی و همکاران (۲۰۱٤) (۲٤) براساس روش تعیین اصالت RFLP-PCR نمونه‌های تجاری گونه‌های گاو، گوسفند ، مرغ و اسب/الاغ مورد بررسی قرار گرفت و ۷/٦ درصد تقلب در کل نمونه‌ها تایید شد. در مطالعه دوستی و همکاران (۲۰۱٤) (۲٤) هر گونه می‌بایست به صورت مجزا در یک آزمون شناسایی شود. اما روش استفاده شده در این مطالعه قابلیت شناسایی چندین گونه را به صورت همزمان دارد.یافته‌های مطالعه دوستی و همکاران (۲۰۱٤) (۲٤) تاییدی بر یافته‌های این تحقیق مبنی بر وجود تقلب در بازار گوشت و فراورده‌های گوشتی است.

در مطالعه موسوی و همکاران (۲۰۱٥) (۲٥) ۹۱ نمونه گوشت گوساله و ٥۳ نمونه گوشت مخلوط گاو وگوسفند با روش Species-specific –PCR مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها

این تحقیق حاکی از ٤٢/٢ ٪ تقلب در استفاده از گوشت مرغ و ٠/٧٪ گوشت الاغ بود. مزیت این مطالعه نسب به مطالعه موسوی و همکاران (٢٠١٥) (٢٥) بررسی نمونه‌های فراوری شده تجاری و گونه‌ی اسب و خوک علاوه بر توالی‌های گاو، گوسفند و الاغ می‌باشد.

در مطالعه اولکا و همکاران (٢٠١٥) (٢٦) با استفاده از روش Real time-PCR ٤٢ نمونه از محصولات گوشتی شامل گوسفند، بوقلمون، مرغ و خوک مورد بررسی قرارگرفت که در ٤ نمونه (١٠٪) وجود گوشت خوک مورد شد. مزیت روش به کار گرفته شده در مطالعه اولکا و همکاران (٢٠١٥) علاوه براستفاده از گونه‌های بوقلمون و مرغ، تعیین میزان نوع گوشت در نمونه-ی مورد بررسی می‌باشد. اما علت استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرکب در این مقاله صرف هزینه کمتر و نیز کفایت مسائل شرعی در اثبات حضور یا عدم حضور گونه مورد بررسی می‌باشد.

یعقوب علی و همکاران (٢٠١٥) (١٥) روش دقیق‌تری را جهت تعیین اصالت با دقت ٠/٠١ تا ٠/٠٢ نانوگرم در روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرکب معرفی کرده‌است. همچنین نتایج کاربردی روش آنها پنج گونه غیر شرعی شامل گوشت گربه، خوک، سگ، میمون و موش را در محصولاتی که تحت عنوان غذای حلال به فروش رسیده در مالایای هند نشان داد.

در مطالعه‌ی قوتی و همکاران (٢٠٠٩) (٢٣) با استفاده از واکنش زنجیره‌ای مرکب،١٠ نمونه شامل سوسیس، گوشت یخ زده و گوشت چرخ‌کرده [9] مورد بررسی قرار گرفت که گوشت خوک در هیچ نمونه‌ای یافت نشد. در ٤٠٪ از نمونه‌های سوسیس و ٣٠٪ نمونه‌های گوشت یخ‌زده [10]وجود گوشت ماکیان شناسایی شد. علاوه بر استفاده از گونه ماکیان، تفاوت در برنامه تکثیر کاربردی، توالی خوک مورد استفاده در روش مطالعه‌ی قوتی و همکاران نسبت به این مطالعه اختلاف دارد. مزیت این مطالعه نسبت به مطالعه قوتی و همکاران استفاده از گونه‌های اسب و الاغ می‌باشد.

9. ground meat
10. cold cut meat

٥- نتیجه‌گیری

یافته‌های این مقاله نشان داد متاسفانه تقلب در گوشت و فراوردهای گوشتی هرچند ناچیز وجود دارد. وجود این موارد مختل کننده‌ی سلامت جامعه، مغایر با شرع و اخلاق و برهم زننده اعتماد مردم به نظام تجارت کشور می‌باشد. بنابراین نظارت جدی توسط سازمان‌های ذیربط اجرای استاندارد های تولید نوع گوشت مصرفی بویسله مراکز تجاری تولیدکننده محصولات گوشتی بیشتر از گذشته ضروری به نظر می‌رسد.

٦- تشکر و قدردانی

با تشکر از دانشکده تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و دانشگاه آزاد شهرکرد و دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان که در انجام این طرح کمال همکاری را داشتند.

٧- منابع

[1] Teh AHT, Dykes, G.A. (2014). MEAT SPECIES DETERMINATION. 2th ed, Encyclopedia of Meat Sciences.
[2] Ballin, N. Z. (2010). Authentication of meat and meat products. Meat science; 86: 577–587.
[3] Montowska, M., Pospiech E. (2010). Authenticity Determination of Meat and Meat Products on the Protein and DNA basis. Food Reviews International; 27:1, 84-100.
[4] Yman, I. M., Sandberg, K. (1987). Differentiation of Meat from Horse, Donkey and Their Hybrids (Mule/Hinny) by Electrophoretic Separation of Albumin. Meat Science; 21: 15-23.
[5] Skarpied, H. J., Moe R. E., Indahl U. G. (2001). Detection of mechanically recovered meat and head meatfrom cattle in ground beef mixtures by multivariate analysis of isoelectric focusing protein profiles. Meat Science; 57: 227±234.
[6] Rojas, Z, E., Pérez-Marín, D., Pedro-Sanz, E. D., Guerrero-Ginel, J. E., Garrido-Varo A. (2012). Handheld NIRS analysis for routine meat quality control: Database transfer from at-line instruments. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems; 114: 30–35.
[7] Chen, F. C., Hsieh, Y. H. P. (2001). Separation and characterization of a porcine-specific

thermostable muscle protein from cooked pork. J Food Science. 66: 799–803.

[8] Chou, C. C., Lin, S. P., Lee, K. M., Hsu, C. T., Vickroy, T. W., & Zen, J. M. (2007). Fast differentiation of meats from fifteen animal species by liquid chromatography with electrochemical detection using copper nanoparticle plated electrodes. Journal of Chromatography B; 846(1–2): 230–239.

[9] Bandman E., Zdanis D. (1988). An Immunological Method to Assess Protein Degradation in Post-mortem Muscle, Meat Science; 22: 1-19.

[10] Hsieh, Y. H. P., Johnson, M.A., Wetzstein, C.J., Green, N. R. (1996). Detection of species adulteration in pork products using agar gel immunodiffusion and enzyme linked immunosorbent assay. Journal Food Qualality; 19:1–13

[11] Ballin, N. Z., Vogensen, F. K., Karlsson, A. H. (2009). Species determination – Can we detect and quantify meat adulteration. Meat Science; 83: 165–174.

[12] Kesmen, F Z., Yetim, S. H. (2007) PCR assay for the identification of animal species in cooked sausages. Meat Science; 77: 649–653.

[13] Kesmen, Z., Gulluce, A., Sahin F., Yetim H. (2009). Identification of meat species by TaqMan-based real-time PCR assay. Meat Science; 82: 444–449.

[14] Cammà, C., Domenico, M. D., Monaco, F. (2012). Development and validation of fast Real-Time PCR assays for species identification in raw and cooked meat mixtures, Food Control; 23, 400-404.

[15] Eaqub Ali Md., Abdur Razzak Md., Hamid S. B. A., Rahman Md. M., Amina Md. A., Rashid N. R. A., Asing. (2015). Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic foods. Food Chemistry; 214–224.

[16] Nakynsinge, K., Man, Y. B. C., Sazili, A. Q. (2012). Halal authenticity issues in meat and meat products, meat science; 91: 207-214.

[17] Desmarais, E., Lanneluc, I., Lagne, I. Direct amplification of length polymorphism (DALP) or how to get andcharacterize new genetic markers in many species. (1998). Nucleic Acids Research; 26: 1458–1465.

[18] Saez, R., Sanz, Y., Toldrá, F. (2004). PCR-based fingerprinting techniques for rapid detection of animal species in meat products. Meat Science; 66: 659–665.

[19] Stamoulis, p., Stamatis, C., Sarafidou, T., Mamuris, Z. (2010). Development and application of molecular markers for poultry meat identification in food chain. Food Control; 21: 1061–1065.

[20] Pirany. N, Elyasi Zarringhabaie2, G. (1388). Use of Mitochondrial Cytochrome Gene b for Simultaneous Detection of Cattle, Buffalo, Sheep and Goat Meat by Multiplex-PCR, Research Journal of Animal Science; 19: 1. [In Persian].

[21] Hashemzadegan, M., Tafvizi, F., Hosseini S B, M Bayat. (1393). Evaluate the compliance of the main raw material listed on labels excellent hamburgers in Tehran by molecular analysis. Journal of Innovation in Food Science and Technology; 6:22. [In Persian].

[22] Saderi, M.; Saderi, A. H.; Rahimi. G. (2013). Identification of bovine, ovine and caprine Pure and binaey mixtures of raw and heat processed meat using specific size markers targeting mitochondrial genome. Iranian Journal of veteninary research, Shiraz University; 14: 1, 29-34.

[23] Ghovvati, S., Nassiri, M. R., Mirhoseini, S. Z., Heravi Moussavi, S., Javadmanesh, A. (2009).Fraud identification in industrial meat products by Multiplex PCR assay. Food control; 20: 696-699.

[24] Doosti A1, Ghasemi Dehkordi P1, Rahimi E. (2014). Molecular assay to fraud identification of meat products, J Food Sci Technol; 51(1):148-52.

[25] Mousavi, S., Jahed Khaniki, G., Eskandari, S., Rabieib, M., Mirab Samiee, S., Mehdizadeh, M. (2015). Applicability of species-specific polymerase chain reaction for fraud identification in raw ground meat commercially sold in Iran. Journal of Food Composition and Analysis; 40: 47–51.

[26] Ulca, P., Balta, H., Çağın, I., Senyuva, H. (2013). Meat species identification and Halal authentication using PCR analysis of raw and cooked traditional Turkish foods. Meat Science Volume 94, Issue 3, July 2013, Pages 280–284.

[27] Jahed Khaniki, G. Rokni, N. (1385). Histological study of unpermitted tissues in heated meat products by using of Masson's trichrome stain. Construction Journal; 19: 3. [In Persian].

A comparative study of meat products authentication in Isfahan, Tabriz and Tehran

Alikord, M. [1], keramat, J. [2], Momtaz, H. [3], HomayouniRad, A. [4*]

1. M.D student, Department of Food Science & Technology Faculty of Nutrition Tabriz University of Medical Sciences
2. Associated Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
3. Associated professor of Microbiology,Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord branch, Shahrekord, Iran
4. Associate Professor, Food Technologist, Ph.D. Department of Food Science & Technology, Faculty of Nutrition, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

(Received: 2015/11/23 Accepted: 2016/08/23)

There are different ways to assess the label of meat products with their actual contents. One of the most convenient methods is multiplex-PCR Polymerase chain reaction.

For this issue, the multiplex polymerase chain reaction (PCR) method used DNA fragments of 153,145, 227 and 104 respectively to identify four species of meats (horse, donkey, pig and cattle/sheep).

Thirty five meat samples were obtained from three brands of raw meat (minced meat), prepared products (hamburger) and processed meat (sausage) from Isfahan, Tabriz and Tehran. DNA extraction was performed on all samples and then multiplex-PCR was performed. DNA fragments of 153,145,227 and 104 respectively to identify horse, donkey, pig and cattle/sheep meats. A new program is used for replication process in the polymerase chain reaction device.

Of those 35 samples, 6(17%) cases of fraud detected. Among 6 frauds 4(11%) cases were horse meat and 2 (6%) donkey. Most of frauds were in low percentage of meat products (sausage 40% and 50%).

Findings showed that fraud occurred in meat products. This disturbs public health, religious faith and fair-trade economic. Therefore, Food and Drug Association must watch the application quality control guidelines by meat producers.

Key words: Identification, Meat, Multiplex-PCR, Species.

* Corresponding Author E-Mail Address: homayounia@tbzmed.ac.ir