

## Determination of Adulteration and Authenticity of Meat and Meat Products Using Chemical Properties and PCR Technique in Tabriz

Sadeghpour A<sup>1</sup>, Pirzadeh-Ashraf Kh<sup>1</sup>, Sehatkhah M<sup>2</sup>, Khandaghi J\*<sup>3</sup>

1. M.Sc Graduates of Food Science and Technology, Sarab Branch, Islamic Azad University, Sarab, Iran

2. Food And Drug Association -Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran

3. Assistant Professor of Department of Food Science and Technology, Sarab Branch, Islamic Azad University, Sarab, Iran

\* *Corresponding author.* Tel: +989144054509, Fax: +984143225135, E-mail: khandaghi@iausa.ac.ir

Received: Aug 16, 2019 Accepted: Dec 30, 2019

### ABSTRACT

**Background & objectives:** Nowadays, consumers are demanding more accurate and clear food information than ever before, and meat products are no exception. Given the relatively high cost of raw meat, the possibility of adulteration is not unthinkable. The importance of detecting fraud meat products is due to the inclusion of other types of meat or cheap carcass components or the non-compliance of the ingredients listed in the product label. It is important to identify frauds in meat products for economic, security, religious and health reasons, so institutions concerned with the quality and health of food products must monitor this issue in various and precise ways.

**Methods:** In this study, chemical properties (fat, protein, carbohydrate, ash and moisture contents) of 58 samples of meat products offered in Tabriz were evaluated by the methods mentioned in the Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Also, the meat authenticity of 47 samples of raw meat and red meat products in terms of mixing meat or other parts of chicken carcass with them was investigated using PCR technique.

**Results:** The results showed that 41.38% of the tested samples had values contrary to the permissible limits set by the Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Also, cases of fraud in the samples through mixing poultry meat in the samples were found whether in standardized products such as processed and semi-processed products or in raw meat samples, so that overall, 87.23% of the obtained samples were not confirmed for product authenticity.

**Conclusions:** This study showed that fraud and incorrect information on the label of red meat products in terms of poultry meat adulteration in them in Tabriz city is very high and this fact further reveals the need for accurate, continuous and regular monitoring of health institutions on this high-consumption food product.

**Keywords:** Adulteration; Authenticity; Meat Products; Chemical Properties; PCR; Tabriz

# تشخیص تقلبات و بررسی اصالت گوشت و فرآورده‌های گوشتی با استفاده از خواص شیمیایی و تکنیک PCR در شهر تبریز

علیرضا صادقیپور<sup>۱</sup>، خلیل پیرزاده اشرف<sup>۱</sup>، محمدرضا صحت‌خواه<sup>۲</sup>، جلیل خندقی<sup>۳\*</sup>

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد سراب، دانشگاه آزاد اسلامی، سراب، ایران

۲. کارشناس آزمایشگاه غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، معاونت غذا و دارو، تبریز، ایران

۳. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سراب، دانشگاه آزاد اسلامی، سراب، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۴۴۰۵۴۵۰۹ فکس: ۰۴۱۴۳۲۲۵۱۳۵ ایمیل: khandaghi@iausa.ac.ir

## چکیده

**زمینه و هدف:** با توجه به هزینه نسبتاً بالای گوشت خام، امکان تقلب در محصولات غذایی گوشتی دور از ذهن نیست. اهمیت پی‌بردن به تقلب در محصولات گوشتی از نظر اختلاط سایر انواع گوشت‌ها و یا اجزای ارزان‌قیمت لاشه و یا عدم رعایت ترکیبات ذکر شده در برچسب محصولات است. تشخیص تقلب در محصولات گوشتی از جنبه‌های مختلفی مانند اقتصادی، امنیتی، مذهبی و سلامتی حائز اهمیت است، لذا نهادهای ناظر بر کیفیت و سلامت در جامعه باید با روش‌های گوناگون و دقیق به این مهم بپردازند.

**روش کار:** در این تحقیق ویژگی‌های شیمیایی (مقادیر چربی، پروتئین، کربوهیدرات، خاکستر و رطوبت) تعداد ۵۸ نمونه محصولات گوشتی عرضه شده در سطح شهر تبریز به روش‌های ذکر شده در استانداردهای ملی ایران مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین اصالت گوشت تعداد ۴۷ نمونه گوشت خام و فرآورده‌های گوشت قرمز از نظر اختلاط گوشت و یا سایر قسمت‌های لاشه مرغ در آنها، با استفاده از تکنیک PCR بررسی شد.

**یافته‌ها:** نتایج تحقیق نشان داد ۴۱/۳۸ درصد نمونه‌های آزمایش شده دارای مقادیر مغایر با حدود مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ایران بودند. همچنین تقلب در نمونه‌ها بصورت اختلاط آلایش مرغی در آنها، چه در فرآورده‌های صنعتی دارای نشان استاندارد مانند محصولات فرآوری شده و نیمه فرآوری شده و چه در گوشت‌های خام قابل مشاهده بود بطوری که در مجموع، ۸۷/۲۳ درصد از نمونه‌های اخذ شده از نظر اصالت گوشت محصول، مورد تأیید قرار نگرفت.

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که میزان تقلبات و درج اطلاعات نادرست در برچسب محصولات گوشت قرمز از نظر اختلاط آلایش مرغی در آنها در شهر تبریز بسیار بالا بوده و این مسئله ضرورت نظارت دقیق، مستمر و منظم نهادهای بهداشتی بر روی این محصول غذایی پرمصرف را بیش از پیش آشکار می‌نماید.

**واژه‌های کلیدی:** تقلب، اصالت، فرآورده‌های گوشتی، خواص شیمیایی، PCR، تبریز

پذیرش: ۹۸/۱۰/۹

دریافت: ۹۸/۵/۲۵

## مقدمه

و سلامت گوشت و فرآورده‌های آن امری لازم و ضروری می‌باشد. امروزه و به‌خصوص در جوامع شهری، فرآورده‌های گوشتی مانند سوسیس و کالباس در رژیم غذایی مردم دنیا جایگاه ویژه‌ای دارد به طوری که آلمان به عنوان بزرگترین تولیدکننده

علیرغم افزایش تنوع در غذاهای مصرفی و گوناگونی فرهنگ تغذیه‌ای، گوشت به عنوان غذای رایج و منبع اصلی پروتئین جایگاه اصلی خود را در رژیم غذایی خانواده‌ها حفظ کرده است، بنابراین توجه به بهداشت

فرآورده‌های گوشتی، دارای سرانه مصرفی بیش از ۴۰ کیلوگرم در سال است و سرانه مصرف در ایران بیش از ۵ کیلوگرم است (۲،۱). فرآورده‌های گوشتی، فرآورده‌هایی را می‌نامند که حداقل نیمی از آن‌ها را گوشت تشکیل داده باشد. بیشتر محصولات گوشتی تهیه شده در کشور ما کالباس و سوسیس‌های حرارت‌دیده می‌باشند (۲). با در نظر گرفتن هزینه نسبتاً بالای گوشت خام، امکان تقلب و جایگزینی بافت‌های غیرمجاز دامی بجای گوشت قرمز در این محصولات غذایی دور از ذهن نیست (۴،۳).

موضوع تقلب و استفاده از بافت‌های غیرمجاز نه تنها از لحاظ مادی به مصرف‌کننده ضرر می‌زند بلکه متقلب به طور ناآگاهانه می‌تواند با این عمل باعث انتقال بسیاری از عوامل عفونی و بیماری‌های مشترک بین دام و انسان شود (۵-۷). بافت‌های غیرمجاز طبق تعریف موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران شامل امعاء و احشا، پستان، کبد، ریه، طحال، مثانه، نخاع و همچنین بافت‌های غده‌ای و غضروفی (رگ و پی)، چربی‌های صفاقی و گوشت سر و صورت (گوشت کله) است و استفاده از آنها ممنوع است. همچنین استفاده از گوشت مرغ و بافت‌هایی نظیر سنگدان و چینه‌دان مرغ در محصولات تهیه شده از گوشت قرمز نیز ممنوع می‌باشد (۸). این بافت‌ها از نظر قیمت بسیار ارزان‌تر از گوشت قرمز می‌باشند که این موضوع سودجویان را به سمت تقلب سوق می‌دهد. نکته قابل تامل در بحث تقلبات زمانی است که گوشت در فرآورده‌های گوشتی و به صورت مخلوط و چرخ‌شده و غیر قابل تفکیک با چشم غیر مسلح بکار رفته باشد.

تاکنون تلاش‌ها و بررسی‌های زیادی در جهت شناسایی تقلبات محصولات گوشتی در دنیا صورت گرفته است. اهمیت پی‌بردن به این تقلبات از نظر عدم رعایت ترکیبات ذکر شده در برچسب محصولات بوده و به وسیله روش‌هایی مانند تجزیه شیمیایی (۹-۱۳) و مطالعه بافت‌شناسی (۱۴-۱۶) و یا اسپکتروسکوپی (۱۷) مورد ارزیابی قرار گرفته است. پارامترهایی مانند

مقدار چربی‌تام، پروتئین‌تام، نشاسته، خاکستر و رطوبت فرآورده‌های گوشتی، از فاکتورهای رایجی هستند که در بررسی خواص شیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۱،۱۰). از طرفی تشخیص تقلبات مربوط به اصالت گوشت و به عبارتی گوشت گونه دام مورد استفاده در تهیه محصولات گوشتی از جنبه‌های مختلفی مانند اقتصادی، امنیتی، مذهبی و سلامتی حائز اهمیت است و در تحقیقات گوناگون، روش‌های مختلفی برای این منظور مورد استفاده قرار گرفته است که عمدتاً مبتنی بر تشخیص DNA و شناسایی پروتئین‌ها می‌باشد (۲۳-۱۸). یکی از روش‌های رایج در تشخیص DNA، تکنیک PCR است که در آن قطعاتی از DNA سلول‌های مختلف تا چندین هزار بار تکثیر و بزرگمائی<sup>۱</sup> می‌شوند. در نهایت برای مشاهده نتایج واکنش‌های انجام گرفته در PCR از ژل الکتروفورز<sup>۲</sup> که روشی برای جداسازی قطعات DNA بر اساس وزن مولکولی آنها است استفاده می‌شود (۲۴).

این تحقیق با هدف بررسی تقلبات گوشت خام و محصولات فرآوری شده گوشتی عرضه شده در سطح شهر تبریز با استفاده از سنجش خصوصیات شیمیایی آن‌ها و همچنین ارزیابی اصالت نمونه‌ها از لحاظ اختلاط گوشت و سایر قسمت‌های لاشه مرغ در آن‌ها با استفاده از تکنیک PCR، صورت گرفت.

## روش کار

### نمونه برداری

در این پژوهش نمونه‌ها بصورت تصادفی از فروشگاه‌ها و کبابی‌های سطح شهر تبریز طی سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ جمع‌آوری شدند. جامعه آماری در این مطالعه، ۸ برند موجود و پرمصرف فرآورده‌های گوشتی با درصد‌های گوشت و تاریخ‌های تولید متفاوت و کبابی‌هایی از هر یک از مناطق ۸ گانه

<sup>1</sup> Amplification

<sup>2</sup> Gel Electrophoresis

شهرداری کلان‌شهر تبریز بود. در مجموع تعداد ۵۸ نمونه از فرآورده‌های گوشتی برای اندازه‌گیری شاخص‌های شیمیایی و ۱۹ فرآورده گوشت قرمز (با توجه به برچسب محصول) جهت بررسی اصالت گوشت و تعداد ۲۸ نمونه گوشت چرخ‌کرده نیز برای بررسی مولکولی اصالت گوشت مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری کدگذاری شده و برای انجام آزمایشات در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند. گوشت خام گاو و مرغ (نمونه‌های شاهد آزمون) از یکی از قصابی‌های شهر تبریز، خریداری شد.

#### ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی

برای این منظور ابتدا مقدار ۱۰۰ گرم از نمونه‌ها داخل مخلوط‌کن کاملاً خرد و یکنواخت‌شده و مطابق دستورالعمل‌های ذکر شده در استانداردهای ملی ایران و از نظر پارامترهای مقادیر چربی‌تام، پروتئین‌تام، نشاسته، خاکستر و رطوبت به‌صورت درصدوزنی، مورد ارزیابی قرار گرفتند. اساس اندازه‌گیری چربی جوشاندن نمونه در اسید رقیق و سپس استخراج آن با حلال هگزان می‌باشد (۲۵). اصول محاسبه مقدار پروتئین تام نمونه‌ها نیز عبارت است از هضم کامل مواد آلی با اسید سولفوریک غلیظ و کاتالیزورهای سولفات پتاسیم و اکسید سلینیوم و تبدیل مواد ازته آلی به ماده ازته معدنی و سپس تقطیر و اندازه‌گیری مقدار ازته با در نظر گرفتن ضریب پروتئینی گوشت (۲۶). در آزمون تعیین مقدار نشاسته، ابتدا نمونه مورد آزمایش با اسید کلریدریک هیدرولیز و پس از اضافه شدن نمک مس دو ظرفیتی و تیتراسیون مقدار یون مس احیاناً شده، میزان گلوکز آزاد شده و در نهایت مقدار نشاسته از روی آن تعیین گردید (۲۷). برای اندازه‌گیری خاکستر نیز بطور خلاصه پس از خشک‌کردن، کربونیزه‌کردن و سپس سوزاندن نمونه در دمای  $550 \pm 25$  درجه سلسیوس،

نمونه‌ها را سرد کرده و نهایتاً باقیمانده حاصله تعیین شد (۲۸). اساس آزمون اندازه‌گیری رطوبت عبارت است از حرارت دادن نمونه خرد و همگن در دمای  $103 \pm 2$  درجه سلسیوس تا زمان ثابت شدن وزن نمونه‌ها (۲۹).

برای ارزیابی قابل قبول بودن کیفیت محصولات مورد آزمایش، مقادیر هریک از پارامترهای تست شده با مقادیر مجاز در استاندارد ملی ایران (با توجه به نوع محصول) مقایسه شد (۳۰-۳۳).

#### سنجش ملکولی

##### الف) استخراج اسید نوکلئیک (DNA)

اولین مرحله از آزمون‌های انجام گرفته بر روی نمونه‌ها استخراج اسید نوکلئیک خالص از آنها است. برای این منظور ابتدا نمونه‌ها با استفاده از تیغ بیستوری استریل به قطعات بسیار ریز تبدیل شد و استخراج DNA آن به روش Salt-Extraction انجام شد (۳۴). بطور خلاصه در این روش پس از یک مرحله لیز یا تجزیه، از پروتئیناز K به منظور حذف پروتئین‌ها استفاده و برای جدا کردن بهتر اسیدهای نوکلئیک از غلظت بالای نمک کمک گرفته می‌شود. در نهایت اسیدهای نوکلئیک با رسوب دهی توسط ایزوپروپانول و شستن با اتانول خالص می‌شوند.

##### ب) انجام واکنش PCR

به منظور انجام آزمایش PCR، مقدار ۲۵ میکرولیتر شامل یک میکرولیتر DNA استخراج شده (که تقریباً معادل ۵۰ نانوگرم می‌باشد)، ۱۹ میکرولیتر PCR Master Kit (Cinagene, Iran 616301394)، یک میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها و آب دوبار تقطیر شده (تا رسیدن به حجم) در داخل میکروتیوب‌های مخصوص PCR وارد و در دستگاه ترموسایکلر Eppendorf مدل Nexus gradient قرار گرفت (۳۵). الیگونوکلئوتیدی‌های پرایمر بکاررفته در این مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. پرایمرهای اختصاصی گونه‌های گاو و مرغ

منبع	وزن ملکولی	دمای Annealing	توالی پرایمر	نام پرایمر
۳۲	۲۷۱	۵۸	5'-GCC ATA TAC TCT CCT TGG TGA CA-3' (23) 5'-GTA GGC TTG GGA ATA GTA CGA-3' (21)	F R سیتوکروم b (گاو)
۳۳	۱۸۳	۶۰	5'-TGA GAA CTA CGA GCA CAA AC-3' (20) 5'-GGG CTA TTG AGC TCA CTG TT-3' (20)	F R 12s rRNA (مرغ)

### یافته‌ها

#### نتایج اندازه‌گیری خواص شیمیایی

نتایج خصوصیات شیمیایی اندازه‌گیری شده در فرآورده‌های گوشتی با درصدهای گوشت مختلف و از برندهای متفاوت در مراکز عرضه در سطح شهر تبریز در جدول ۲ نشان داده شده‌است. همانطور که مشاهده می‌شود در مجموع تعداد ۸، ۱۲، ۳، ۱ و ۱۳ نمونه به ترتیب به دلیل چربی بالاتر، پروتئین کمتر و نشاسته، خاکستر و رطوبت بالاتر، با مقادیر مجاز تعیین‌شده در استاندارد ملی کشورمان مغایرت داشتند و بیشترین مغایرت به ترتیب ناشی از مقدار رطوبت و پروتئین محصولات گوشتی بوده است.

#### نتایج سنجش ملکولی

نتایج این سنجش در جدول ۳ نشان داده شده‌است. همانطور که مشاهده می‌شود تقلب در نمونه‌ها بصورت اختلاط گوشت یا آلودگی مرغی در آنها، چه در فرآورده‌های صنعتی دارای نشان استاندارد مانند محصولات فرآوری‌شده و نیمه فرآوری‌شده (شامل سوسیس، کالباس، همبرگر و کباب لقمه) که مجوزهای مختلف مانند نشان سیب سلامت وزارت بهداشت را دارند و چه در محصولات فله‌ای و بدون نام و نشان مانند همبرگرهای دست‌ساز و گوشت خام چرخ‌کرده، قابل مشاهده است، بطوری که در مجموع ۸۷/۲۳ درصد از نمونه‌های اخذشده از نظر اصالت گوشت محصول، مورد تأیید قرار نگرفت.

نتایج چند نمونه بررسی‌شده به روش PCR در تصویر گرفته‌شده از دستگاه ژل داکئومنتیشن، بصورت باندهای روشن ناشی از حرکت قطعات ژن مورد نظر در میدان الکتریکی در ژل الکتروفورز نشان داده شده‌است (شکل ۱).

مطابق برنامه‌ریزی دمایی- زمانی بکاررفته در این مطالعه، مدت ۵ دقیقه حرارت ۹۵ درجه سلسیوس برای دناتوراسیون اولیه اعمال و به دنبال آن ۳۴ سیکل که هر یک شامل ۳۰ ثانیه دمای ۹۵ درجه سلسیوس (مرحله ذوب<sup>۱</sup>)، ۴۰ ثانیه دمای ۶۰ و ۵۸ درجه سلسیوس برای هر یک از پرایمرها (مرحله چسبیدن پرایمر<sup>۲</sup>) و ۳۰ ثانیه دمای ۷۲ درجه سلسیوس (مرحله ساخته‌شدن رشته مکمل DNA الگو<sup>۳</sup>) اعمال گردید. در پایان سیکل‌ها نیز ۵ دقیقه دمای ۷۲ درجه سلسیوس اعمال و پس از رسیدن دمای محتویات میکروتیوب‌ها به ۴ درجه سلسیوس، محصولات PCR از دستگاه ترموسایکلر خارج شدند.

پس از انجام PCR، ژل آگارز ۱/۵ درصد (Invitrogen, G501802) تهیه و پس از سرد و سفت‌شدن ژل در تانک الکتروفورز (Bio-Rad)، روی آن محلول بافری TBE<sup>۴</sup> ریخته شد. محصولات PCR پس از مخلوط‌شدن با لودینگ بافر 1X TAE (حاوی ۲ میکرولیتر در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر ژل) همراه با رنگ Sibergreen (Nanobiotech, M1742-1) در گوده‌های ژل قرار داده‌شد. در تمامی ژل‌ها مارکر<sup>۵</sup> ۱۰۰ bp (Fermentase, S17041SN 0623) و محصول PCR بارگذاری گردید. نهایتاً نتایج در دستگاه ژل‌داک (Vilber Lourmat, EBOX-VX2) مشاهده شد.

<sup>1</sup> DNA Melting or Denaturation Step

<sup>2</sup> Annealing Step

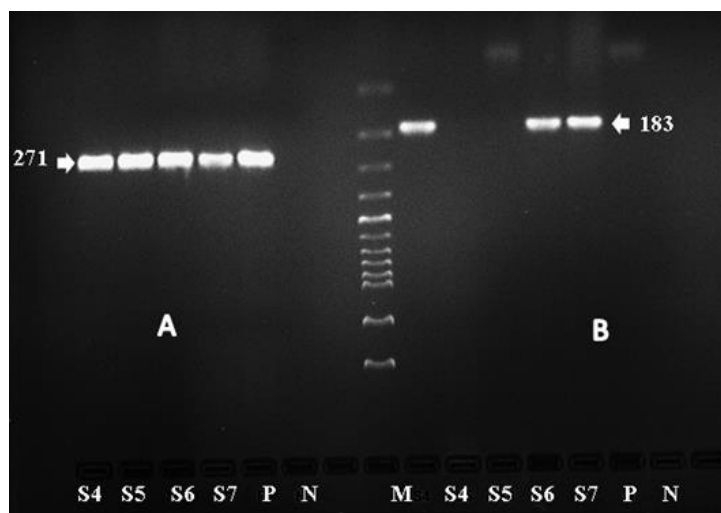
<sup>3</sup> Elongation or Extension Step

<sup>4</sup> TRIS/Acetate/EDTA

<sup>5</sup> Marker/Ladder

جدول ۳. نتایج بررسی ملکولی اصالت گوشت و فرآورده‌های گوشت قرمز عرضه شده در شهر تبریز در سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸

نوع محصول	تعداد کل	تعداد نمونه‌های دارای اختلاط آلایش مرغی	درصد نمونه‌های رد شده
فرآوری شده و نیمه فرآوری شده	۱۹	۱۴	۷۳/۶۸
خام	۲۸	۲۷	۹۶/۴۲



شکل ۱. PCR با پرایمرهای (A) گاو و (B) مرغ. M: مارکر (۱۰۰ bp)، S4 تا S7: نمونه‌های ۴ تا ۷، P: کنترل مثبت و N: کنترل منفی (بدون DNA)

جدول ۲. مقایسه مقادیر (درصد وزنی) چربی، پروتئین، نشاسته، خاکستر و رطوبت با مقادیر مجاز، طبق استانداردهای ملی ایران در فرآورده‌های گوشتی در شهر تبریز در سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸

نوع فرآورده	چربی تام		پروتئین تام		نشاسته		خاکستر		رطوبت	
	بیش از	در حد	بیش از	در حد	بیش از	در حد	بیش از	در حد	بیش از	در حد
سوسیس و کالباس	۲۵	۴۳/۱	۲۲	۸۸	۰	۱۰۰	۰	۱۰۰	۱۴	۵۶
همبرگر	۲۴	۴۱/۳۸	۲	۹۱/۷	۲	۸/۳	۱	۹۵/۸۴	۲۱	۸۷/۵
کیباب‌لحمه	۵	۰/۸۶	۵	۱۰۰	۵	۱۰۰	۰	۱۰۰	۴	۸۰
مرغ برگر	۳	۰/۰۵	۲	۶۷	۱	۳۳	۰	۱۰۰	۳	۱۰۰
ناگت مرغ	۱	۰/۰۲	۱	۰	۱	۱۰۰	۱	۱۰۰	۱	۱۰۰

## بحث

امروزه مطالبه اطلاعات دقیق و شفاف محصولات غذایی از سوی مصرف کنندگان بیش از هر

زمان دیگری صورت می‌پذیرد و فرآورده‌های گوشتی نیز از این مسئله مستثنی نیستند. گزارشاتی مانند حضور گوشت اسب در محصولات گوشت قرمز

گاوی هشدار برای نشان دادن پیچیدگی مسئله تقلبات و کشف آن در مواد اولیه بکاررفته در این محصولات غذایی می‌باشد (۳۶،۵). از اهداف عمده مبحث تغذیه و سلامت در محصولات گوشتی می‌توان به کاهش انرژی دریافتی (از طریق کاهش مقدار چربی محصول) و کاهش مقدار سدیم دریافتی (از طریق کاهش مقدار نمک بکاررفته در محصول) اشاره نمود (۳۷). به هر حال باید توجه داشت بالاتر بودن مقدار چربی‌تام و یا مقدار نشاسته در محصولات می‌تواند سبب بالاتر رفتن انرژی دریافتی شده و مشکلات عدیده‌ای مانند بیماری‌های قلبی-عروقی را ایجاد کند (۳۸). گرچه بالابودن نشاسته می‌تواند حاکی از بکارگیری بالاتر پروتئین‌های گیاهی در محصول نیز باشد. یکی از نشانه‌های بالا بودن مقدار خاکستر، افزایش استفاده از نمک‌ها در فرآورده است. مواردی مانند رطوبت بالاتر فرآورده نیز علاوه بر افزایش شانس فساد ماده غذایی، نشان‌دهنده جایگزین شدن آب با سایر عناصر مغذی بوده و البته رابطه معکوسی نیز با مقدار پروتئین بکاررفته در محصول دارد (۱۰). در بخشی از این مطالعه روش مرسوم و سنتی بررسی ویژگی‌های شیمیایی مقدار چربی، پروتئین، کربوهیدرات، خاکستر و رطوبت در محصولات نیمه‌فرآوری شده و فرآوری شده گوشتی مورد استفاده قرار گرفت. در یک تحقیق در کشور مکزیک که بر روی نمونه‌های سوسیس انجام شد نتایج نشان داد ۱۴ درصد نمونه‌ها دارای مقادیر بالای کربوهیدرات بودند، گرچه هیچکدام از آنها پروتئین کمتر از حد مجاز تعیین شده نداشتند (۱۳). در مطالعه مشابه دیگری که در یونان بر روی انواع سوسیس‌ها انجام شد، حدود یک‌چهارم نمونه‌های آزمایش شده مقادیر بالاتر از حد مجاز برای چربی نشان دادند، ضمن اینکه بیشترین نوسان در بین مقادیر فاکتورهای اندازه‌گیری شده به چربی اختصاص داشت (۳۹). در ایران نیز مطالعاتی در مورد ارزیابی کیفیت و ایمنی فرآورده‌های گوشتی بر اساس سنجش پارامترهای

شیمیایی مختلف، انجام شده است. از جمله در تحقیق انجام گرفته توسط کامکار و همکاران در ۶۸ نمونه سوسیس، فاکتورهای مقدار چربی، پروتئین، کربوهیدرات، خاکستر و رطوبت مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج نشان داد در نمونه‌های سوسیس ۵۰-۴۰ درصد، به ترتیب ۳۸/۹، ۵۰ و ۵/۶ درصد از موارد به دلیل رطوبت، کربوهیدرات و پروتئین بالاتر از حد استاندارد و در فرآورده‌های ۶۰-۵۰ درصد به ترتیب ۳۸/۹، ۱۴/۷، ۶۱/۸، ۱۰۰ و ۱۷/۸ درصد از موارد به دلیل رطوبت، چربی، کربوهیدرات، خاکستر و پروتئین بالاتر و بالاخره در محصولات ۹۰-۶۰ درصد به ترتیب ۱۲/۵، ۷۵، ۵۰، ۹۳/۷ و ۵۶/۲ درصد از نمونه‌ها به دلیل رطوبت، چربی، کربوهیدرات، خاکستر و پروتئین بالاتر از حد مجاز مردود و غیرقابل مصرف بودند (۱۰). همچنین در مطالعه‌ای که در شهر سبزوار و بر روی ۶۴ نمونه فرآورده‌های حرارت دیده گوشتی (سوسیس و کالباس) انجام گرفت، نتایج نشان داد مقادیر چربی، کربوهیدرات، خاکستر، رطوب و نیتريت به ترتیب در ۲۵، ۵۰، ۲۱/۹، ۲۹/۷ و ۲۹/۷ درصد از نمونه‌ها بالاتر و در ۱۵/۶٪ از نمونه‌ها مقدار پروتئین اندازه‌گیری شده پائین‌تر از حد استاندارد بوده‌اند (۱۱).

یکی دیگر از جنبه‌های سلامت و ایمنی محصولات گوشتی، تشخیص تقلبات مربوط به اصالت گوشت می‌باشد که از نظر اقتصادی، امنیتی و مذهبی نیز حائز اهمیت است. از متداول‌ترین روش‌های بررسی این موضوع، متدهای مبتنی بر تشخیص DNA و شناسایی پروتئین‌ها می‌باشد (۲۳-۱۸). یکی از روش‌های رایج تشخیص پروتئین استفاده از تکنیک الیزا می‌باشد (۴۰) و از آنجائی که استفاده از این روش‌ها همواره مشکلاتی مانند واکنش‌های متقاطع و نتایج کاذب را بدنبال دارد و نیز با توجه به اینکه حضور و تشخیص پروتئین یک پارامتر وابسته به سن و نوع بافت لاشه بکاررفته در فرآورده گوشتی است، به نظر می‌رسد روش‌های بر پایه تشخیص DNA با استفاده

از تکنیک PCR در تشخیص اصالت گوشت‌ها روش مناسب‌تری هستند چرا که در اینجا مهم نیست DNA استخراج شده از عضله یا سایر قسمت‌های لاشه و یا حتی بافت چربی باشد و در هر نوع بافتی قابل تشخیص است (۴۱). تنها محدودیت تکنیک PCR این است که قادر به تشخیص کمی مقدار اختلاط گوشت نبوده و فقط به رخداد این پدیده اشاره می‌کند گرچه در تشخیص تقلبات مربوط به اصالت گوشت، همین موضوع برای رد کیفیت بهداشتی فرآورده گوشتی حائز اهمیت است و درصد اختلاط معمولاً اهمیتی ندارد.

تکنیک‌های مختلفی در PCR برای شناسایی تقلبات در اصالت گوشت‌ها در محصولات گوشتی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۲۰). در روش‌های مولکولی، شناسایی و اطمینان از تطابق DNA تکثیرشده با توالی پرایمر انتخاب شده، یک مرحله حساس و ضروری است (۴۲). هدف بخش دوم از این تحقیق بکارگیری روشی سریع و با هزینه کمتر (به واسطه جایگزینی روش یک مرحله‌ای به جای استفاده از دو آزمون مجزای PCR ساده) در تشخیص تقلب اختلاط آلایش مرغ در محصولات گوشت قرمز با بکارگیری پرایمرهای طراحی شده از ژن‌های میتو کندریایی سیتوکروم b، برای گوشت گاو و ژن ۱۲S rRNA، برای گوشت ماکیان بوده است. عملکرد اختصاصی پرایمرهای بکاررفته در این مطالعه در تحقیقات دیگری نیز به اثبات رسیده است (۱۸، ۱۹، ۳۸، ۴۳). استفاده از DNA میتو کندریایی به دلایلی مانند تعداد کپی‌های فراوان آن در تمام سلول‌ها و پائین بودن احتمال نوترکیبی آن نسبت به سایر انواع ژن‌ها از ارجحیت برخوردار است، ضمن اینکه مقاومت حرارتی و تعداد کپی‌های بالای این ژن، شانس بقای آن در شرایط مختلف را افزایش داده و تضمین‌کننده مقدار کافی محصول PCR در آزمایشات می‌باشد (۱۸).

یکی از تقلبات رایج، استفاده و اختلاط گوشت مرغ (که حدوداً یک چهارم قیمت گوشت گاو را دارد) بدون

اشاره به آن در برچسب محصولات است. مطالعات نشان می‌دهد که درج اطلاعات نادرست در برچسب محصولات گوشتی در نقاط مختلف دنیا بیش از ۲۰ درصد است (۴۴، ۴۵)، ولی این ارقام در ایران بسیار بالاتر از این مقدار است. به عنوان مثال هاشم‌زادگان و همکاران در مطالعه‌ای برای سنجش مولکولی تقلب گوشت مرغ در انواع همبرگر نشان دادند که در تمامی نمونه‌های مورد آزمایش، تقلب بصورت جایگزینی بخشی از گوشت گاو با گوشت مرغ صورت گرفته است (۱۹). همچنین در مطالعه پرچمی‌نژاد و همکاران، از نمونه‌های مختلف سوسیس مورد آزمایش به روش PCR در شهر تهران، همگی برخلاف برچسب فرآورده حاوی آلایش مرغی تشخیص داده شدند (۱۸).

### نتیجه‌گیری

مقایسه نتایج این تحقیق با مطالعات مشابه نشان می‌دهد که در ایران، درصد بالایی از محصولات گوشتی خام و همچنین فرآورده‌های آماده و نیمه‌آماده گوشتی که بخصوص در جوامع شهری سهم نسبتاً بزرگی از سبد غذایی خانوار را تشکیل می‌دهند، با استانداردهای موجود مغایرت دارند و این مسئله لزوم نظارت مستمر و منظم نهادهای ناظر بر بهداشت و سلامت جامعه مانند وزارت بهداشت، سازمان دامپزشکی و موسسه استاندارد، در کنار بکارگیری روش‌های نوین برای کشف انواع تقلبات در مواد غذایی را بیش از پیش آشکار می‌کند.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته شده از دو پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سراب با کدهای MS-۱۱۳۹ و MS-۱۱۴۱ می‌باشد.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافی ندارند.



## References

- 1-Naseri-Razlighi A, Naseri-Razlighi A. Technology of sausage production. Tehran: Jahaade Daneshgahi Publication, 2005: 23-53. [In Persian]
- 2- Rokni N. Science and technology of meat industry. 5<sup>th</sup> ed. Tehran: University of Tehran press, 2006: 18-86. [In Persian]
- 3- Alikord M, Momtaz H, keramat J, Kadivar M, Homayouni Rad A. Species identification and animal authentication in meat products: a review. *Food Measure*. 2018; 12: 145–155.
- 4- Barai BK, Nayak RR, Singhal RS, Kulkarni PR. Approaches to detection of meat adulteration. *Trends in Food Sciences and Technology*. 2002; 31(2): 69-72.
- 5- Cavin C, Cottenet G, Blancpain C, Bessaire T, Frank N, Zbinden P. Food Adulteration: From Vulnerability Assessment to New Analytical Solutions. *Chimia*. 2016; 70: 329–333.
- 6- Jay JM. Microorganisms in fresh ground meats: The relative safety of products with low versus high numbers. *Meat Science*. 1996; 43: 59-66.
- 7- Jime´nez-Colmenero F, Carballo J, Cofrades S. Healthier meat and meat products: their role as functional foods (Review). *Meat Science*. 2001; 59: 5–13.
- 8- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Sausages-Specification and test methods (Amd.No.2). 3th revision, 2017; ISIRI No. 2303A. [In Persian]
- 9- Alikord M, keramat J, Momtaz H, HomayouniRad A. A comparative study of meat products authentication in Isfahan, Tabriz and Tehran. *Journal of Food Science and Technology*. 2017; 63(14): 315-323. [In Persian]
- 10- Kaamkaar A, Hoseini H, Baahonar A. Determination of chemical composition of Sausage product in Iran. *Pajouhesh and Sazandegi*. 2005; 69: 36-41.
- 11- Yaaghoobifar MA, Shaakeri-nejhaad A, Akaaberi A. Comparison of quality and safety of sausage products offered in Sabzevaar with standards. *Journal of Sabzevaar University of Medical Sciences*. 2009; 16(2): 114-120.
- 12- Hoseini H, Rokni N, Kaamkaar A. Collagen and Related Indices of Quantitative Values Indicators in Quality Control of Heated Red Meat Products in Iran. *Journal of Food Science and Technology*. 2006; 3(4): 23-30. [In Persian]
- 13- Dominquez R, Soares H. Quality meat science characterization of different brands of bologna in Mexico, Chemical and microbiological evaluation. *Archivos-Latino Americanos-Nutrition*. 1989; 38(2): 345-356.
- 14- Izadi F, Sadeghinejad J, Hajimohamadi B, Sheibani MT. Efficacy of Histological Examination in Detection of Fraud in Minced Meat. *Journal of Health*. 2016; 7(4): 386-394. [In Persian]
- 15- Sadegi E, Khazaei M, Almasi A, Shariatifar N, Bohlouei S, Tahvilian R. Detection of unpermitted tissues in different kinds of sausages in distribution meat centers in Kermanshah. *Ofoogh-e-Danesh*. 2009; 17(1): 55-59. [In Persian]
- 16- Fekri M, Hosseini H, Eskandari S, Jahed GH, Adib-Moradi M. Histological study of sausages in point of unpermitted edible tissues assessment and its relationship to collage and hydroxyprolin of product. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 2013; 41(10): 107-116. [In Persian]
- 17- Vlachos A, Arvanitoyannis LS, Tserkezou P. An Updated Review of Meat authenticity methods and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2016; 65(7): 1061-1096.
- 18- Parchami Nejad F, Hosseni SE, Tafvizi F, Tajabadi Ebrahimi M, Sharifan A. Fraud identification in beef sausage in Tehran province using mitochondrial genes of animal species. *Food Hygiene*. 2014; 4(13): 81-97. [In Persian]
- 19- Hashemzadegan M, Hosseini E, Tafvizi F, Bayat M. Molecular assay of chicken meat fraud in premium burgers by Simplex and Duplex PCR. *Journal of Food Hygiene*. 2018; 8(2): 1-13. [In Persian]
- 20- Doosti A, Ghasemi Dehkordi P, Rahimi E. Molecular assay to fraud identification of meat products. *Journal of Food Science and Technology*. 2011; 51(1): 148-152.

- 21- Karabasanavar NS, Singh SP, Kumar D, Shebannavar SN. Development and application of highly specific PCR for detection of chicken (*Gallus gallus*) meat adulteration. *European Food Research Technology*. 2013; 236: 129–134.
- 22- Mane BG, Mendiratta SK, Tiwari AK, Bhilegaokar KN. Detection of Adulteration of Meat and Meat Products with Buffalo Meat Employing Polymerase Chain. *Food Analytical Methods*. 2012; 5: 296–300.
- 23- Montowska M, Pospiech E. Authenticity Determination of Meat and Meat Products on the Protein and DNA Basis. *Food Reviews International*. 2011; 27:84–100.
- 24- Karimi M, Zeinali S. PCR (Translation). Authors: McPherson MJ and Moller SG, Tehran: Andisheye Zohor Publication, 2004: 84-117. [In Persian]
- Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology diagnosis and management*, 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven press, 1990.
- 25- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Meat and meat products-Determination of total fat content-Test methods. 2<sup>nd</sup> revision, 2003; ISIRI No. 742. [In Persian]
- 26- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Meat and meat products-Determination of total protein content-Test methods. 2015; ISIRI No. 924. [In Persian]
- 27- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Determination method of starch content in meat products (without using alcohol). 1<sup>st</sup> revision, 1996; ISIRI No. 4105. [In Persian]
- 28- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Meat and meat products- Meat and meat products-Determination of total ash – Test method. 1<sup>st</sup> revision, 1992; ISIRI No. 744. [In Persian]
- 29- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Meat and meat products-Determination of moisture content-Test methods. 1<sup>st</sup> revision, 2003; ISIRI No. 745. [In Persian]
- 30- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Raw frozen Hamburger- Specification and test methods. 4<sup>th</sup> revision, 2016; ISIRI No. 2304. [In Persian]
- 31- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Meat and meat products-Raw frozen Chickenburger- Specification and test methods. 1<sup>st</sup> revision, 2016; ISIRI No. 6937. [In Persian]
- 32- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Raw frozen Kebabloghmeh- Specifications. 2<sup>nd</sup> revision, 2017; ISIRI No. 6938. [In Persian]
- 33- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Frozen breaded chicken products- Specification and test methods. 2<sup>nd</sup> revision, 2014; ISIRI No. 9868. [In Persian]
- 34- Cawthorn DM, Steinman HA, Witthuhn RC. Comparative study of different methods for the extraction of DNA from fish species commercially available in South Africa. *Food Control*. 2011; 22: 231-244.
- 35- ISO 21569. Foodstuffs- Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms & dried products- qualitative nucleic acid based methods. 2005.
- 36- Sentandreu MA, Sentandreu E. Authenticity of meat products: Tools against fraud (Review). *Food Research International*. 2014; 60: 19-29.
- 37- Vandendriessche F. Meat products in the past, today and in the future. *Meat Science*. 2008; 78: 104–113.
- 38- Dalmaso A, Fontanellab E, Piattib P, Civeraa T, Rosatic S, Bottero MT. A multiplex PCR assay for the identification of animal species in feedstuffs. *Molecular and Cellular Probes*. 2004; 18: 81–87.
- 39- Ambrosiadis J, Soultos N, Abraham A, Bloukas JG. Physicochemical, microbiological and sensory attributes for the characterization of Greek traditional sausages. *Meat Science*. 2004; 66(2): 279-287.
- 40- Hoseini H, Barazandegan Kh, Akhoondzadeh A, Shemshadi B, tavakoli H, Khaksar R. Determination the kind of meat content of Patties marketed in Tehran in 2009. *Journal of Food Science and Technology*. 2009; 3: 95-100. [In Persian]
- 41- Janosi A. Species specific detection of meat by Polymerase Chain Reaction techniques. PhD thesis, Budapest University. 2006.
- 42- Kesmen Z, Sahin F, Yetim H. PCR assay for the identification of animal species in cooked sausages. *Meat Science*. 2007; 77: 649-653.
- 43- Frezza D, Favaro M, Vaccari G, Von-Holst C, GiambraV, Anklam E. et al., A Competitive Polymerase Chain Reaction–Based Approach for the Identification and Semi-quantification of

- Mitochondrial DNA in Differently Heat-Treated Bovine Meat and Bone Meal. *Journal of Food Protection*. 2003; 66(1): 103–109.
- 44- Ballin NZ, Vogensen FK, Karlsson AH. Species determination-Can we detect and quantify meat adulteration? *Meat Science*. 2009; 83(2): 165-174.
- 45- Nešić K, Stojanović D, Baltić MZ. Authentication of meat and meat products vs. detection of animal species in feed-what is the difference? 59th International Meat Industry Conference, MEATCON. 2017.