مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۷، شماره ۴، ۱۴۰۱، ۲۱۲-۲۰۳
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: 2251-6190
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی

بررسی تقلب استفاده از بافت‌های غیرمجاز در سوسیس و کالباس‌های تولید شده در استان همدان

حدیث قادری[۱]، محمدرضا پژوهی‌الموتی[۲]، علی کلانتری‌حصاری[۳]

[۱] دانش آموخته دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
[۲] گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
[۳] گروه پاتوبیولوژی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۳۰ شهریور ماه ۱۴۰۱، **تاریخ پذیرش:** ۱ آذر ماه ۱۴۰۱
10.22059/jvr.2022.350769.3308 20.1001.1.20082525.1401.77.4.1.2

چکیده

زمینهٔ مطالعه: امروزه گوشت یکی از نیازهای تغذیه‌ای بسیار مهم جامعه می‌باشد که قیمت آن نسبت به سایر گروه‌های غذایی بالاتر است. در سال‌های اخیر به‌دلیل تغییر سبک زندگی انسان‌ها استفاده از فرآورده‌های گوشتی افزایش چشم‌گیری یافته است. تقلبات در فرآورده‌های گوشتی به‌دلایل مختلف از جمله ارزش اقتصادی گوشت انجام می‌گیرد، از این‌رو به کارگیری روش‌های شناسایی سریع و دقیق این تقلبات بسیار مهم می‌باشد.

هدف: تعیین بافت‌های غیرمجاز با استفاده از روش بافت‌شناسی و همچنین تعیین گونه‌های غیرمجاز به‌کار رفته در سوسیس و کالباس‌های تولید شده در واحدهای تولیدی استان همدان هدف مطالعه حاضر می‌باشد.

روش‌کار: برای این کار در طول سه ماه تابستان ۱۴۰۰، تعداد ۵۰ عدد نمونه از واحدهای تولیدی فعال استان همدان و موجود در سطح بازار شهر همدان جمع‌آوری و برای بررسی بافت‌شناسی و تعیین گونه حیوانی با آزمون PCR به آزمایشگاه انتقال یافت. برای آزمون بافت‌شناسی براساس استاندارد ملی به شماره ۶۱۰۳ نمونه‌ها به‌ترتیب وارد مراحل تثبیت، پاساژ بافتی (آبگیری، شفاف‌سازی، آغشتگی به پارافین)، بلوک‌گیری، برش و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین شدند. جهت تعیین نوع گونه حیوانی استفاده شده در تولید نمونه‌های جمع‌آوری شده از روش PCR استفاده شد.

نتایج: وجود بافت‌های غیرمجاز از جمله بافت‌های استخوانی، بافت غضروفی (غضروف مفصلی و تنفسی)، پوست و اندام غده‌ای را نشان داد. همچنین نتایج آزمون PCR نشان داد در ۱۰۰ درصد نمونه‌های با برچسب گوشت قرمز ارزیابی شده، گوشت مرغ یافت شد.

نتیجه‌گیری نهایی: وجود بافت‌های غیرمجاز و استفاده از گوشت مرغ در سوسیس و کالباس‌های با برچسب گوشت قرمز در محصولات تولیدی استان همدان مشهود است.

کلمات کلیدی: بافت‌شناسی، تقلبات، گوشت قرمز، گوشت مرغ، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: علی کلانتری‌حصاری، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

مقدمه

گوشت به‌عنوان مهم‌ترین منبع پروتئین و انرژی، جزء مهمی از رژیم غذای جوامع انسانی می‌باشد. افزایش تقاضا و محدودیت تولید گوشت به‌عنوان یک چالش برای کشورهای جهان است. با وجود سرانه مصرف بالای گوشت (در حدود ۲۱ کیلوگرم) در برخی از کشورهای صنعتی، مصرف سرانه گوشت در ایران به ۱۱ کیلوگرم می‌رسد که برای نیاز بدن کافی نیست و باعث سوء تغذیه می‌گردد (۱).

فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده یکی از پرمصرف‌ترین محصولات گوشتی در ایران و سراسر دنیا می‌باشند. جوان بودن جمعیت کشور، افزایش اشتغال و همچنین سرعت و سهولت تهیه این فرآورده‌ها، تنوع محصولات، قیمت ارزان و ارزش تغذیه‌ای بالای

این محصولات باعث افزایش مصرف آن‌ها شده است. افزایش قیمت گوشت قرمز نیز تمایل افرادی که توانایی خرید آن را ندارند، به مصرف سایر فرآورده‌های گوشتی به‌ویژه سوسیس و کالباس را افزایش داده است (۲،۳).

Sausages که در ایران به فرآورده‌های گوشتی سوسیس و کالباس موسوم‌اند، به محصولاتی گفته می‌شود که حاوی گوشت و افزودنی باشند. در ایران به فرآورده‌های گوشتی با قطر بزرگ کالباس و با قطر کوچک سوسیس گفته می‌شود. طبق تعریف دیگر فرآورده گوشتی فرآورده‌هایی هستند که حداقل نیمی از آن‌ها از گوشت تشکیل شده است که از نظر مصرف راحت بوده و معمولاً بدون نیاز به پختن مصرف می‌گردند (۴). استفاده از فرآورده‌های گوشتی به‌عنوان تأمین‌کننده پروتئین و جایگزینی آن به‌جای درصدی از گوشت مصرفی می‌تواند پاسخگوی بخشی از نیازهای تغذیه‌ای جامعه باشد. سرانه مصرف سوسیس و کالباس در ایران ۱/۵ کیلوگرم است. بیش از پانصد نوع محصول گوشتی با اسامی مختلف وجود دارد در سایر نقاط در جهان نیز تعداد این محصولات بسیار فراوان می‌باشد و به ۱۲۰۰ نوع می‌رسد (۱).

انواع مختلف سوسیس و کالباس با استفاده از گوشت (۴۰ تا ۹۰ درصد) آرد، نشاسته، پروتئین حیوانی و روغن مایع و غیره تهیه می‌شوند؛ بنابراین این فرآورده‌های غذایی نسبتاً کامل بوده و مواد آن کامل‌تر از گوشت می‌باشد. در صورت افزایش مصرف سوسیس و کالباس از مصرف گوشت کاسته شده و نیازی به واردات گوشت نمی‌باشد (۵).

براساس استاندارد ملی ایران فرآورده گوشتی باید فاقد بافت‌ها و اندام‌های غیرمجاز دام و طیور مانند دستگاه گوارش دام و طیور مانند لب دام، حفره‌های دهانی، زبان، مری، چینه‌دان طیور، پیش‌معده و سنگدان طیور، پیش‌معده‌های دام، شیردان، کبد، روده‌ها و رکتوم، اندام‌های غده‌ای مانند پانکراس، غدد بزاقی و فوق‌کلیوی، اندام‌ها و بافت‌های لنفاوی متراکم شامل: عقده‌های لنفاوی، تیموس، طحال، بورس فابرسیوس، لوزه‌ها و فولیکول لنفاوی، اندام‌های دستگاه تنفس مانند ریه، نای و حنجره اندام‌های دستگاه تناسلی مانند: کلیه، مثانه، کلوآک، پستان، گوشت سر و صورت دام، قلب، دم، پوست، بافت استخوانی، بافت پوششی، بافت عصبی مرکزی، بافت غضروف الاستیک، بافت غضروف شفاف باشد (۴). بافت‌های غیرمجاز ارزش تغذیه‌ای پایینی داشته، از لحاظ بهداشتی نسبت به بافت عضلانی دارای بار میکروبی بالاتری می‌باشند. همچنین برخی از افزودنی‌های گیاهی در فرآورده‌های گوشتی، به‌عنوان مواد آلرژی‌زا تلقی می‌شوند. با توجه به این‌که حضور بافت‌های غیرمجاز در این نوع از فرآورده‌های گوشتی، تهدید جدی برای سلامت مصرف‌کنندگان می‌باشد و همچنین مصرف بعضی از این بافت‌ها از نظر دین اسلام حرام بوده و کراهت شرعی دارد، به‌کارگیری روش‌های تشخیصی اختصاصی برای تشخیص این بافت‌ها ضرورت پیدا می‌کند (۶).

با توجه به قیمت بالای برخی مواد غذایی، تولیدکنندگان می‌توانند آن‌ها را با موادی که دارای هزینه پایین‌تری هستند جایگزین نمایند. همچنین تقلب می‌تواند جایگزینی گونه‌ای با ارزش غذایی کمتر به‌جای گونه‌ای با ارزش غذایی بیشتر نیز باشد. ممکن است افرادی به برخی از رژیم‌های غذایی آلرژی داشته باشند و استفاده از آن‌ها پیامدهای جبران‌ناپذیری را به‌همراه داشته باشد (۷). از جمله تقلب‌هایی که در مورد فرآورده‌های گوشتی انجام می‌شود، می‌توان به افزودن مواد ازته غیرپروتئینی به‌نحوی‌که در آزمون‌های کنترل، مقدار ازت بالاتر به نظر برسد، افزودن پودر استخوان به فرآورده‌های گوشتی مانند سوسیس و کالباس، مخلوط کردن گوشت با گوشت حیوانات ارزان قیمت، افزودن پودر خون به همبرگر و سوسیس و کالباس، رعایت نکردن فرمول و استاندارد فرآورده‌های گوشتی و افزودن مقادیر زیاد مواد پرکننده و افزودن نیتریت و نیترات به‌مقدار بیش از حد، برای بهبود رنگ و جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها در موارد آلودگی شدید اشاره نمود (۸).

برای تشخیص اختصاصی گونه‌ها و بافت‌های غیرمجاز و شناسایی گروه‌های حیوانی از قبیل نشخوارکنندگان (جهت حفظ سلامت عمومی) و جلوگیری از گسترش بیماری، آزمون سالم بودن تولیدات پروتئینی حیوانی در مواد غذایی به‌کار گرفته می‌شود. در اسلام، فرآورده‌های گوشتی حاوی خوک حرام و گوشت الاغ و اسب مکروه است. از این‌رو، این یک وظیفه مهم برای آزمایشگاه‌های کنترل مواد غذایی است که بتوانند تمایز گونه‌ای مواد خام مورد استفاده برای تهیه غذای صنعتی و شناسایی گونه‌های حیوانی در محصولات غذایی را انجام دهند (۹). آزمایش اصالت گونه‌های جانوری موجود در غذا به‌دلایل اقتصادی، ایمنی، قانونی، مذهبی و بهداشتی مهم است. مقررات برچسب‌گذاری مواد غذایی نیاز به ارزیابی گونه‌های گوشت موجود در محصولات غذایی را بیشتر می‌کند. مصرف محصولات حاوی پروتئین‌های گوشتی اعلام نشده می‌تواند باعث ایجاد واکنش‌های آلرژیک در افراد مستعد شود (۱۰). میزان تقلب در محصولات گوشتی پخته شده بیشتر از گوشت خام است. استفاده از گوشت طیور به‌دلیل اختلاط بافت

مرغ بدون استخوان با فرآورده‌های گوشت قرمز خرد شده یکی از رایج‌ترین تقلبات در تولید فرآورده‌های گوشتی است (۱۱).

استفاده از روش بافت‌شناسی به‌عنوان یک آزمایش کنترل کیفی در صنایع غذایی برای اولین بار از سال ۱۹۱۰ مورد استفاده قرار گرفته است. روش‌های بافت‌شناسی قادر به شناسایی مستقیم و تفریق اجزاء تشکیل‌دهنده فرآورده‌های گوشتی است و امکان تشخیص مستقیم ترکیب و نوع بافت را در فرآورده‌های گوشتی میسر می‌سازد و از آن می‌توان در شناسایی تقلبات بافتی استفاده کرد. بنابراین روش‌های بافت‌شناسی می‌توانند در کنترل کیفیت فرآورده‌های گوشتی حرارت دیـده کمک نمایند و استانداردها و قوانین گوشت و فرآورده‌های آن را تکمیل نمایند. غالب روش بافت‌شناسی صورت گرفته در ارتباط با تشخیص تقلبات فرآورده‌های گوشتی، استفاده از روش معمول رنگ‌آمیزی بافت‌ها (هماتوکسیلین- ائوزین) بوده است (۱۲).

در مطالعه حاضر سعی شد فرآورده‌های تولیدی در کارخانه‌های فعال استان همدان و سوسیس و کالباس‌های موجود در فروشگاه‌های سطح شهر همدان از نظر وجود بافت‌های غیرمجاز و نوع گوشت مورد استفاده مورد ارزیابی قرار گیرند.

مواد و روش کار

این طرح در تابستان ۱۴۰۰ انجام شد. در مطالعه حاضر ۵۰ نمونه سوسیس و کالباس (شامل ۲۷ نمونه سوسیس و ۲۳ نمونه کالباس) از کارخانه‌های فعال استان همدان و نمونه‌های موجود در فروشگاه‌های شهر همدان طی بازه ۳ ماهه و با فواصل ۱۵ روزه جمع‌آوری و پس از کد گذاری به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان منتقل شدند. در مجموع تعداد ۳۲ نمونه از برند A و ۱۸ نمونه از برند B در این طرح نمونه‌برداری شد (جدول ۱).

جهت بررسی بافت‌شناسی، براساس استاندارد ملی ۶۱۰۳ و a۶۱۰۳ از هر محصول تعداد ۱۲ عدد نمونه اخذ و جهت تثبیت در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. پس از تثبیت، نمونه‌ها وارد مراحل پاساژ بافتی (شامل مراحل آبگیری با الکل صعودی، شفاف سازی با گزیلول و آغشتگی با پارافین)، بلوک‌گیری، برش بافتی (با استفاده از دستگاه میکروتوم)، رنگ‌آمیزی (با روش هماتوکسیلین- ائوزین) و بررسی بافتی شدند.

جهت تشخیص منشأ حیوانی عضلات اسکلتی استفاده شده در نمونه‌های جمع‌آوری شده از روش PCR استفاده شد. برای این کار تکه‌های مختلف از سوسیس و کالباس اخذ و تا انجام مراحل PCR در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای نمونه‌برداری از نمونه‌های سوسیس و کالباس با رعایت بهداشت و به‌صورت استریل ۰/۱۰ گرم از نمونه توسط تیغ اسکالپل یک‌بار مصرف جدا و به‌داخل میکروتیوب منتقل شد. جهت استخراج DNA نمونه‌ها از کیت BIOFOOD MIXED kit خریداری شده از شرکت Biotools استفاده شد. این کیت شش گونه حیوانی را که معمولاً در غذای انسان (گاو، گوشت خوک، مرغ، اسب، بز و گوسفند) مورد استفاده قرار می‌گیرند را با استفاده از یک ژن میتوکندریایی بسیار حفاظت شده (سیتوکروم b) شناسایی می‌کند. دستورالعمل کیت BIOFOOD MIXED براساس روش Multiplex PCR بوده که نتیجه آن شامل یک باند اندازه خاص برای هر یک از گونه‌های شناسایی شده می‌باشد. جزئیات پرایمرهای اختصاصی استفاده شده جهت تعیین نوع گوشت هر حیوان در جدول ۲ ارائه شده است. برای استخراج DNA ابتدا نمونه آماده شده با ۶۰۰ میکرولیتر از بافر هضم‌کننده (Lysis Buffer) و ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز k به‌مدت ۲۰ ثانیه مخلوط (ورتکس) شده سپس داخل بن‌ماری در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ ساعت قرار داده شد. هر ۱۵ تا ۲۰ دقیقه یک‌بار نمونه‌ها خارج شده و تکان داده شدند. در ادامه ۲۰ میکرولیتر دیگر از پروتئیناز k به نمونه‌ها اضافه و سپس به‌مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شدند. سپس به‌مدت ۵ ساعت در بن ماری ۵۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا محلول کاملاً شفاف شود. در ادامه نمونه‌ها سانتریفیوژ شده (دمای ۳ درجه سانتی‌گراد، با دور RPM ۱۲۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه)، محلول رویی را دور ریخته محلول باقی‌مانده به میکروتیوپ جدید انتقال داده شد. به محلول باقی‌مانده میزان ۵۵۰ میکرولیتر از محلول Binding Buffer اضافه شده و سپس ۱۵ ثانیه مخلوط شدند. محلول حاصل سانتریفیوژ شده (به‌مدت ۱۰ دقیقه و دور RPM ۱۲۰۰) و محلول شفاف رویی مجدداً با شرایط ذکرشده سانتریفیوژ شد. در نهایت خلوص DNA با استفاده از دستگاه نانودراپ بررسی شد.

برای انجام Multiplex PCR ابتدا با استفاده از نرم‌افزار BLAST موجود در سایت اطلاعاتی NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) میزان اختصاصیت این پرایمر مورد بررسی قرار گرفت. پس از مطمئن شدن از اختصاصیت این پرایمرها برای مراحل بعدی تکثیر DNA از روش PCR استفاده گردید.

جدول ۱. نمونه‌برداری از انواع برندهای سوسیس و کالباس‌های تولید شده در استان همدان و موجود در فروشگاه‌های شهر همدان.

برند A				
نوع فرآورده	۴۰ تا ۵۰ درصد	۵۱ تا ۶۰ درصد	۶۱ تا ۸۰ درصد	۸۱ تا ۹۰ درصد
سوسیس	۵	۸	۷	۰
کالباس	۳	۰	۶	۳
برند B				
نوع فرآورده	۴۰ تا ۵۰ درصد	۵۱ تا ۶۰ درصد	۶۱ تا ۸۰ درصد	۸۱ تا ۹۰ درصد
سوسیس	۰	۷	۰	۰
کالباس	۰	۵	۶	۰

جدول ۲. پرایمرهای اختصاصی طراحی شده جهت تعیین نوع گوشت هر حیوان (۱۳).

پرایمر	توالی پرایمر (5'→3')	تعداد جفت باز تکثیرشده (bp)
بز	F: ATA TCAATCGGGTTTCTAGGATTTATT R: AGTTGGGATAGCGATAATTATGGTAGT	۱۵۷
مرغ	TGA GAA CTA CGA GCA CAA AC F: GGG CTA TTG AGC TCA CTG TT R:	۲۲۷
گاو	CTAGAAAAGTGTAAGACCCGTAATATAAG F: CTTATATTACGGGTCTTACACTTTTCTAG R:	۲۷۴
گوسفند	CTATGAATGCTGTGGCTATTGTCGCA F: TGCGACAATAGCCACAGCATTCATAG R:	۳۲۹
خوک	CTA CAT AAG AAT ATC CAC CAC A F: R: ACA TTG TGG GAT CTT CTA GGT	۳۹۷
تک‌سمیان	CTATCCGACACACCCAGAAGTAAAG F: GATGCTGGGAAATATGATGATCAGA R:	۴۳۹

جدول ۳. بررسی نمونه‌های دارای بافت غیرمجاز در سوسیس و کالباس‌های تولید شده در استان همدان و موجود در فروشگاه‌های شهر همدان.

سوسیس			کالباس		
بافت‌های غیرمجاز	تعداد	درصد	بافت‌های غیرمجاز	تعداد	درصد
بافت استخوانی	۶	۲۲	بافت استخوانی	۰	۰
بافت غضروفی	۶	۲۵/۷	بافت غضروفی	۳	۲۳
بافت‌های لنفاوی	۰	۰	بافت‌های لنفاوی	۰	۰
گوشت سر و دم	۰	۰	گوشت سر و دم	۰	۰
اندام غده‌ای	۱	۳/۷	اندام غده‌ای	۰	۰
اندام دستگاه تنفس	۱	۳/۷	اندام دستگاه تنفس	۰	۰
اندام دستگاه تناسلی	۰	۰	اندام دستگاه تناسلی	۰	۰
قلب	۰	۰	قلب	۰	۰
پوست	۵	۱۸/۵۱	پوست	۳	۲۰
بافت پوششی	۰	۰	بافت پوششی	۰	۰
بافت عصبی مرکزی	۰	۰	بافت عصبی مرکزی	۰	۰
مجموع نمونه‌های دارای بافت غیرمجاز	۱۹	۷۳/۶۱	مجموع نمونه‌های دارای بافت غیرمجاز	۱۰	۴۳
مجموع نمونه بررسی‌شده	۲۷	۱۰۰	مجموع نمونه بررسی‌شده	۲۳	۱۰۰

نتایج

نتایج بافت‌شناسی: در مطالعه حاضر ۵۰ نمونه (۲۷ نمونه سوسیس و ۲۳ نمونه کالباس) از لحاظ افزودن بافت‌های غیرمجاز به‌روش بافت‌شناسی مورد ارزیابی قرار گرفتند که ۲۹ نمونه دارای بافت غیرمجاز بودند. مجموع تقلبات در نمونه سوسیس ۱۹ مورد (۷۰ درصد) و در نمونه کالباس ۱۰ مورد (۴۳ درصد) بود. فراوانی این بافت‌های غیرمجاز با تفکیک نمونه در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۴. بررسی تقلبات و بافت‌های غیرمجاز برحسب درصد گوشت در سوسیس و کالباس‌های تولید شده در استان همدان و موجود در فروشگاه‌های شهر همدان.

سوسیس			کالباس		
بافت غیرمجاز	تعداد نمونه‌های ۴۰ تا ۶۰ درصد گوشت	تعداد نمونه‌های ۶۱ تا ۹۰ درصد گوشت	بافت غیرمجاز	تعداد نمونه‌های ۴۰ تا ۶۰ درصد گوشت	تعداد نمونه‌های ۶۱ تا ۹۰ درصد گوشت
بافت استخوانی	۵	۱	بافت استخوانی	۰	۰
بافت غضروفی	۳	۵	بافت غضروفی	۲	۴
اندام دستگاه تنفس	۱	۰	اندام دستگاه تنفس	۰	۰
اندام غده‌ای	۱	۰	اندام غده‌ای	۰	۰
پوست	۷	۱	پوست	۴	۱

بیشترین فراوانی بافت غیرمجاز در نمونه‌های سوسیس و کالباس بافت غضروفی (به‌ترتیب با درصد فراوانی ۲۵/۷ و ۲۳ درصد) بود. در بین سوسیس‌ها و کالباس‌های با درصد گوشت کمتر (۴۰ تا ۶۰ درصد) میزان استفاده از بافت‌های غیرمجاز بیشتر بود و پوست بیشترین فراوانی را در بین بافت‌های غیرمجاز در این محصولات به‌خود اختصاص داده بود. درصد بافت‌های غیرمجاز برحسب درصد گوشت سوسیس‌ها و کالباس‌ها در جدول ۴ ارائه شده است. همچنین در آزمون بافت‌شناسی در دو نمونه کالباس از یک برند مقاطع کیست سارکوسیست در داخل سلول‌های عضلانی نیز مشاهده گردید. تصویر بافت‌های غیرمجاز مشاهده شده در نمونه‌های مورد بررسی در تصویر ۱ ارائه شده است.

نتایج آزمون PCR: نتایج بررسی آزمون **PCR** برای تعیین گونه حیوانی استفاده شده در تولید سوسیس‌ها و کالباس‌ها نشان داد که تمام نمونه‌های مورد بررسی با برچسب گوشت قرمز، گوشت مرغ نیز وجود داشت. در مطالعه حاضر وجود گوشت بز، مرغ، گاو، گوسفند، خوک و تک‌سمیان مورد بررسی قرار گرفت که به جز گوشت مرغ و گوشت گاو گوشت سایر حیوانات مشاهده نشد (تصویر ۲).

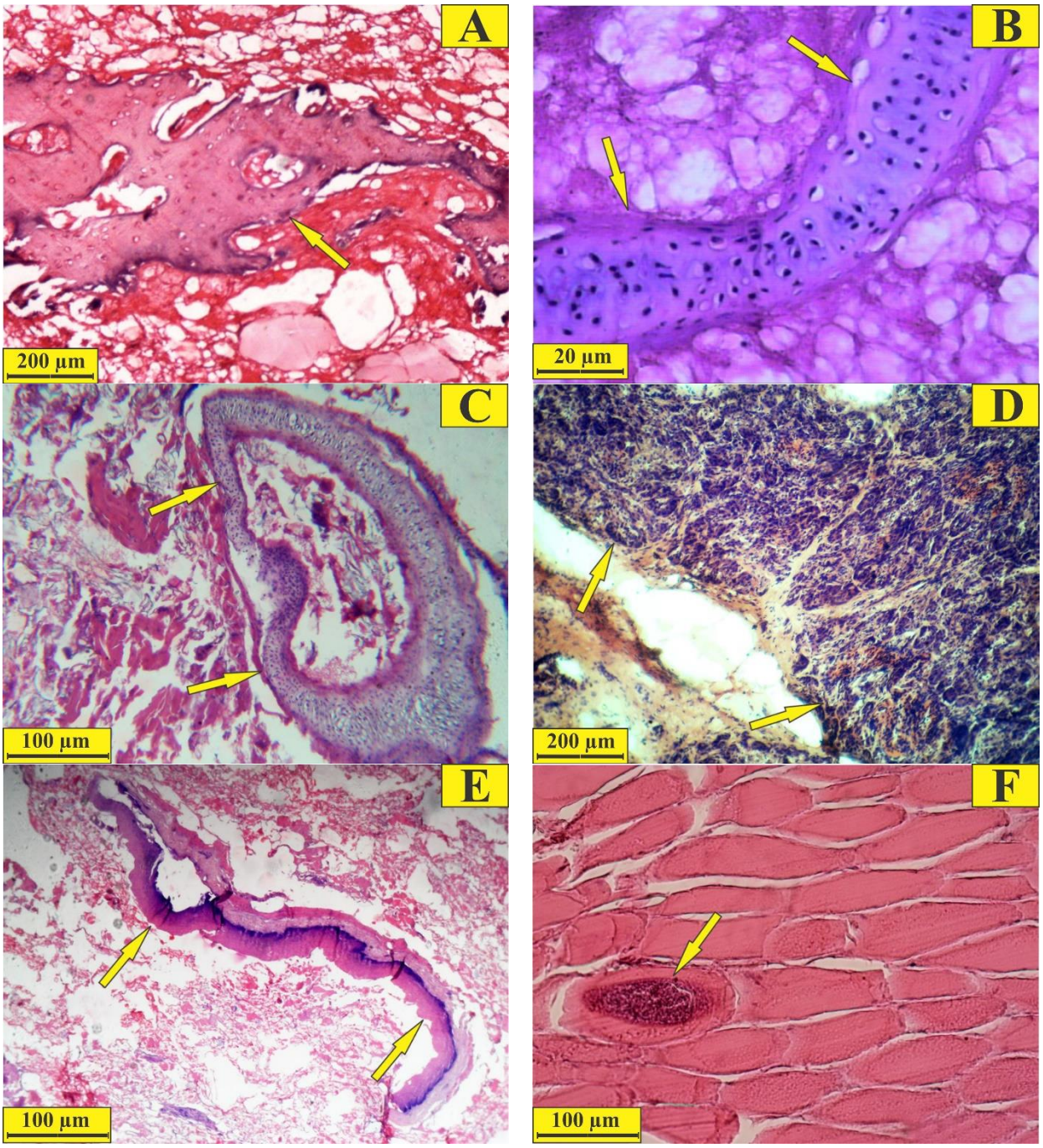
بحث

امروزه مطالبه اطلاعات دقیق و شفاف محصولات غذایی از سوی مصرف‌کنندگان بیش از هر زمان دیگری صورت می‌پذیرد و فرآورده‌های گوشتی نیز از این مسئله مستثنی نیستند. استفاده از تکنیک PCR در تشخیص اصالت گوشت‌ها روش مناسبی است (۱۴). در روش‌های مولکولی شناسایی و اطمینان از تطابق DNA تکثیر شده با توالی پرایمر انتخاب شده، یک مرحله حساس و ضروری است (۱۵). در مطالعه‌ای به‌منظور شناسایی گونه حیوانی استفاده شده در ۹۱ نمونه گوشت گوساله با استفاده از روش PCR، نشان داده شد که در ۲/۴۷ درصد نمونه‌ها گوشت مرغ و ۰/۷ درصد نمونه‌ها گوشت الاغ وجود داشت (۱۶). در مطالعه دیگری با استفاده از آزمون PCR ناخالصی‌های محصولات گوشتی از نظر وجود سویا مورد بررسی گرفت و نتایج نشان داد که ۱۰۰ درصد محصولات سوسیس، ۲۰ درصد کتلت مرغ، ۳۳ درصد محصولات کالباس، ۶۰ درصد محصولات همبرگر و ۱۵ درصد محصولات کباب لقمه سویا داشتند (۱۷).

Alikord و همکاران در سال ۲۰۱۷ از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرکب جهت شناسایی گوشت مصرفی در فرآورده‌های گوشتی خام و پخته استفاده کردند. یافته‌ها نشان داد در مجموع از شش مورد (۱۷ درصد) تقلب صورت گرفته چهار مورد (۱۱ درصد) مربوط به گوشت اسب و دو مورد (۶ درصد) مربوط به گوشت الاغ بوده است و هیچ‌گونه موردی از گوشت خوک مشاهده نشد. استفاده از گوشت گاو/گوسفند در تمام نمونه‌ها اثبات شد که نشان‌دهنده استفاده از گوشت سایر حیوانات صرفاً جهت کاهش هزینه‌های اقتصادی بوده است (۱۸).

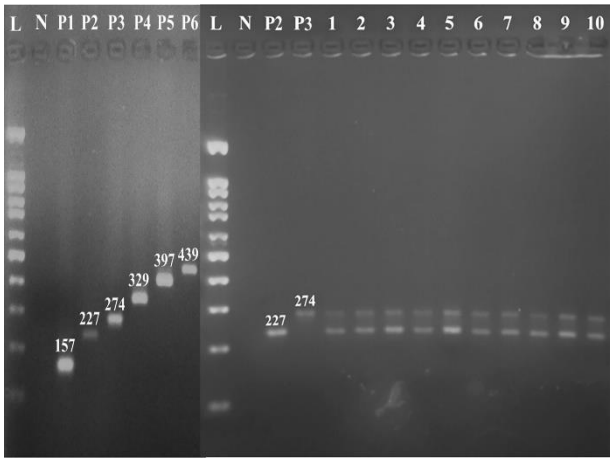
در گزارش Eaqub Ali و همکاران در سال ۲۰۱۵ از روش PCR جهت تعیین منشأ مواد اولیه در تولید فرآورده‌های گوشتی استفاده شد. نتایج نشان‌دهنده وجود پنج گونه غیرشرعی شامل گوشت گربه، خوک، سگ، میمون و موش در محصولاتی که تحت عنوان غذای حلال به فروش می‌رسیدند بود (۱۹).

یکی از تقلبات رایج، استفاده از گوشت مرغ (که در بازه زمانی مطالعه حاضر قیمت گوشت مرغ یک چهارم گوشت قرمز بود) و آلایش‌های آن بدون درج آن در برچسب فرآورده‌های گوشتی خام و حرارت دیده است. مطالعات نشان می‌دهد که درج اطلاعات نادرست در برچسب فرآورده‌های گوشتی بیش از ۲۰ درصد است (۲۰،۲۱). اختلاط گوشت مرغ و آلایش‌های آن در فرآورده‌های گوشتی که روی آن‌ها برچسب گوشت قرمز درج شده در سال‌های اخیر گزارش شده است. نتایج مطالعه حاضر بر روی نمونه‌های سوسیس و کالباس که بر روی آن‌ها برچسب گوشت قرار داشت نشان داد که در ۱۰۰ درصد نمونه‌ها گوشت مرغ به‌کار رفته است.



تصویر ۱. بافت‌های غیرمجاز مشاهده شده در نمونه‌های مورد بررسی. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین. A- مقطع استخوان در فرآورده سوسیس ۴۰ درصد (برند B)؛ B- مقطع غضروف شفاف در فرآورده کالباس ۶۰ درصد (برند A)؛ C- غضروف تنفسی در فرآورده سوسیس ۴۰ درصد (برند A)؛ D- مقطع غده بزاقی در نمونه سوسیس ۴۰ درصد (برند A)؛ E- مقطع پوست در فرآورده سوسیس ۴۰ درصد (برند A)؛ F- مقاطع از کیست سارکوسیست در کالباس ۸۰ درصد (برند B).

در مطالعه Hosseni و همکاران در سال ۲۰۱۴، ده برند مختلف از سوسیس‌های گوشت قرمز تهیه شده از سطح استان تهران به منظور تعیین نوع گوشت به‌کار رفته با استفاده از روش PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تعیین گوشت گاو و مرغ، پرایمرها براساس ژن سیتوکروم b میتوکندریایی طراحی و قطعات *bp* ۲۷۴ و *bp* ۱۸۳به‌ترتیب برای گوشت گاو و مرغ تکثیر گردید. نتایج PCR اختصاصی نشان داد که تمام نمونه‌ها برخلاف برچسب درج شده روی آن‌ها حاوی آلایش مرغی بودند (۲۲).



تصویر ۲. نتایج آزمون PCR نمونه‌های با برچسب گوشت قرمز. L: نردبان ژنی- N: کنترل منفی- P1: کنترل مثبت گوشت بز (۱۵۷ bp)؛ P2: کنترل مثبت گوشت مرغ (۲۲۷ bp)؛ P3: کنترل مثبت گوشت گاو (۲۷۴ bp)؛ P4: کنترل مثبت گوشت گوسفند (۳۲۹ bp)، P5: کنترل مثبت گوشت خوک (۳۹۷ bp)؛ P6: کنترل مثبت گوشت اسب (۴۳۹ bp)؛ ۱۰-۱: نمونه‌های سوسیس و کالباس مورد آزمون.

در مطالعه‌ای دیگر Lakzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۶ با استفاده از آزمایش Real Time PCR به شناسایی و اندازه‌گیری میزان بافت‌های مرغی در محصولات گوشتی با برچسب تهیه شده از گوشت قرمز پرداختند. نتایج حاصل از مطالعه نشان دهنده وجود ۸۴ درصد و ۲۶ درصد بافت مرغ به‌ترتیب در نمونه‌های سوسیس و برگر می‌باشد (۲۳).

Sadeghpour و همکاران در سال ۲۰۲۲ اصالت ۴۷ نمونه گوشت خام و فرآورده‌های گوشتی قرمز شهر تبریز را از نظر اختلاط گوشت و یا سایر قسمت‌های لاشه مرغ در آن‌ها، با استفاده از تکنیک PCR مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که در نمونه‌های فرآورده‌های صنعتی دارای نشان استاندارد مانند محصولات فرآوری شده و نیمه‌فرآوری شده و چه در گوشت‌های خام، آلایش مرغ به‌صورت اختلاط وجود دارد. به‌طوری‌که مجموعاً در ۸۷/۲۳ درصد از نمونه‌های اخذ شده تقلب صورت گرفته است (۲۴).

Al-Qassab و همکاران در سال ۲۰۱۹ مطالعه‌ای بر روی ۱۱۴ نمونه سوسیس گوشت قرمز با درصدهای ۴۰، ۵۵ و ۷۰ از ۱۰ شرکت مختلف در سطح تهران انجام دادند. پس از استخراج DNA از سوسیس‌های استخراج شده با روش multiplex PCR تکثیر داده شدند. نتایج نشان دادند که در ۶۰ سوسیس (۵۲/۶ درصد) فقط DNA مربوط به مرغ قابل ردیابی بود. در ۴۸ نمونه سوسیس (۴۲/۱ درصد) DNA گاو و مرغ و در ۶ نمونه (۵/۳ درصد) DNA مربوط به گاو قابل تشخیص بودند. استفاده از گوشت مرغ در سوسیس که با برچسب گوشت قرمز عرضه شده، ممکن است به‌علت قیمت ارزان‌تر این گوشت در مقایسه با گوشت قرمز باشد که سبب می‌شود تولیدکننده سود بیشتری دریافت کند (۲۵).

Julini و همکاران در سال ۱۹۷۹ استفاده از بافت‌های غیرمجاز حیوانی مانند عصب، استخوان، پوست، کلیه و پستان را در سوسیس گزارش کردند. در این مطالعه بافت‌های استخوانی و پوست مشاهده شد ولی بافت عصبی، کلیه و پستان مشاهده نشد (۲۶).

Prayson و همکاران در سال ۲۰۰۸ روی هشت برند مختلف همبرگر در آمریکا مطالعات بافت‌شناسی انجام دادند. که هر هشت برند دارای بافت‌های غیرمجاز همبند، عروق خونی، چربی و اعصاب محیطی بودند؛ و در هفت نمونه عضله اسکلتی، در چهار برند بافت گیاهی، در سه برند بافت غضروفی و بافت استخوان در دو برند همبرگر مشاهده شد (۲۷)؛ و همچنین Prayson و همکاران در سال ۲۰۰۸ مطالعه مشابهی را بر روی هشت برند هات‌داگ انجام دادند و بافت‌هایی مانند استخوان، کلاژن، عروق خونی، بافت گیاهی، پوست، چربی و اعصاب محیطی مشاهده شدند (۲۸). بافت پوست در این مطالعه مشاهده شد.

در مطالعه دیگری بررسی وجود بافت‌های غیرمجاز بر روی ۲۰ نمونه شامل کباب لقمه، سوسیس، همبرگر دست‌ساز و کباب‌کوبیده انجام شد و نتایج آزمون بافت‌شناسی نشانگر وجود بافت‌هایی مثل بافت همبند که در تمام نمونه‌ها، سنگدان در دو نمونه، چربی در هفت نمونه، سویا در یازده نمونه، غضروف در پنج نمونه و تخمدان در یک نمونه بود (۲۹). در مطالعه حاضر بافت‌های سنگدان و تخمدان مشاهده نشد.

در ایران برای اولین بار Rokni و همکاران در سال ۱۹۹۷ به بررسی بافت‌شناسی و هیستومتریک کالباس‌های حرارت دیده پرداختند که نتایج آن شامل: مشاهده عضلات مخطط به‌صورت توده‌های صورتی‌رنگ به‌عنوان بافت مجاز و مشاهده غده بزاقی و لیگامنت پس‌سری به‌عنوان بافت غیرمجاز در این مطالعه بودند که نشان‌دهنده استفاده از گوشت سر در این فرآورده‌ها بود. در مطالعه حاضر در یک نمونه مقطع بافت غده بزاقی مشاهده شد که می‌تواند نشان‌دهنده استفاده از گوشت سر و کله باشد، ولی لیگمانت پس‌سری

مشاهده نشد. طبق استاندارد شماره ۲۳۰۳ استفاده از گوشت سر و کله در سوسیس و کالباس غیرمجاز است (۳۰).

همچنین Sadeghi و همکاران در سال ۲۰۱۳ به ارزیابی بافت‌های غیرمجاز در سوسیس و کالباس عرضه‌شده در شهر کرمانشاه پرداختند که نتایج این بررسی نشان داد بافت‌های غیرمجازی از جمله بافت گیاهی در همه نمونه‌ها، بافت چربی، قلبی، غضروف و استخوان بالغ، استخوان نابالغ، طحال، مری، آئورت، غدد بزاقی، غدد ترشحی لوله گوارش، گره لنفاوی، مو، زبان، پستان، اپی‌درم پوست، عصب، بافت همبند، عضله صاف و رگ بود. از تکنیک‌های بافت‌شناسی جهت شناسایی برخی عوامل انگلی نظیر سارکوسیست هم استفاده شده است (۳۱). علاوه بر این Jahed Khaniki و همکاران در سال ۲۰۰۴ با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین به بررسی وجود بافت‌های غیرمجاز در همبرگر پرداختند. نتایج نشان داد که میزان آلودگی نمونه‌ها به انگل سارکوسیست ۶/۲۵ درصد و بافت‌های آماسی ۵ درصد می‌باشد و مقدار زیادی بافت گیاهی نیز مشاهده شد (۳۲). همچنین Jahed Khaniki و Kia در سال ۲۰۰۶ با استفاده از روش بافت‌شناسی به مطالعه میزان شیوع کیست سارکوسیست در فرآورده‌های گوشتی همبرگر ایران پرداخته و نتایج نشان داد که آلودگی نمونه‌ها به انگل سارکوسیست حدود ۶۰ درصد است (۳۳).

در مطالعه دیگری همبرگرهای خام عرضه‌شده در شهر تهران از نظر کیست‌های سارکوسیست مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در هیچ‌یک از نمونه‌های تولید صنعتی کیست انگل مشاهده نشد؛ اما در یکی از نمونه‌های دست‌ساز کیست انگل مشاهده گردید (۳۴). در مطالعه حاضر هم در دو نمونه از کالباس‌ها انگل سارکوسیست مشاهده گردید.

متأسفانه بحث تقلب در فرآورده‌های گوشتی که مختل‌کننده سلامت جامعه، مغایر با شرع و اخلاق و برهم زننده اعتماد مردم به نظام تجارت سالم می‌باشد موضوعی بسیار مهم در صنعت مواد غذایی می‌باشد. لذا اجباری شدن رعایت استاندارد و کنترل کیفیت در محصولات گوشتی توسط تولیدکنندگان و نظارت جدی بر آن‌ها ضروری است. همچنین شناسایی نوع گوشت مصرفی در محصولات گوشتی به‌دلایل مذهبی، بهداشتی و اقتصادی اهمیت دارد. از این رو در مطالعه حاضر برای اولین بار به بررسی سوسیس و کالباس‌های تولیدی در واحدهای استان همدان و محصولات موجود در فروشگاه‌های شهر همدان با استفاده از آزمون بافت‌شناسی و تکنیک PCR جهت تشخیص تقلبات فرآورده‌های گوشتی استفاده شد. با توجه به نتایج مشاهده شد که بیشترین میزان بافت‌های غیرمجاز شامل بافت‌های استخوان، غضروف و پوست بود، هرچند در برخی نمونه‌های اندام تنفسی و غده‌ای نیز مشاهده گردید. همچنین وجود آلایش‌های مرغی در نمونه‌های گوشت قرمز نیز کاملاً مشهود بود. نتایج نشان داد که روش‌های استفاده شده می‌توانند در کنترل کیفیت فرآورده‌های گوشتی خام و حرارت دیده (سوسیس و کالباس) بسیار مؤثر باشند.

نتیجه‌گیری نهایی: مطالعات نشان داد که امکان استفاده از بافت‌های غیرمجاز در محصولات گوشتی وجود دارد و با توجه به نتایج حاصل از بررسی بافت‌شناسی در مطالعه حاضر می‌توان بیان کرد که برخی از سوسیس‌ها و کالباس‌های موجود در شهر همدان دارای بافت‌های غیرمجاز از قبیل استخوان، غضروف، پوست و غدد بزاقی است. همچنین در مطالعه حاضر کیست سارکوسیست نیز مشاهده شد؛ که می‌تواند تهدیدی برای سلامت مصرف‌کنندگان باشد. در نتیجه بایستی بیان داشت که بهتر است کنترل و نظارت دقیق‌تری توسط سازمان‌ها و دستگاه‌های نظارتی و بهداشتی صورت گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از تمام عزیزانی که در طی مطالعه و نگارش این مقاله یاری‌گرمان بودند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Maghami ND, Nabipour A, Mohsenzadeh M, Torabi M. Histological and stereological approaches for detection of tissues and fraud in some meat products. Vet Res Forum. 2022; 13(1): 47. doi: 10.30466/vrf.2020.115238.2742 PMID: 35601776
2. González-Rodríguez M, Redruello-Requejo M, Samaniego-Vaesken MD, Montero-Bravo A, Puga AM, Partearroyo T, et al. Low-and no-calorie sweetener (lncs) presence and consumption among the portuguese adult population. Nutrients. 2021; 13(11): 4186. doi: 10.3390/nu13114186 PMID: 34836441
3. Halagarda M, Wójciak KM. Health and safety aspects of traditional european meat products. a review. Meat Sci. 2022; 184: 108623. doi: 10.1016/j.meatsci.2021.108623 PMID: 34753110
4. Asadi MR, Taghavi M, Kalantari-Hesari A, Ghorbanzadeh B. The role of histological test in reducing the use of unauthorized tissues in meat products between years of 2014

and 2017. VJ. 2019; 128: 31-40. doi: 10.22092/VJ.2019.116357.1387 (In Persian)
5. Long L, Yan W, He Y, Dong L, Xing Z, Li C, et al. Development of a duplex digital PCR method to quantify five genetically modified soybean events. Food Anal Methods. 2022; 15(2): 294-306. doi: 10.1007/s12161-021-02104-2
6. Liscio C, Hopley C. Development of a reference measurement procedure and certified reference material for the determination of hydroxyproline in meat. Food Anal Methods. 2016; 9(6): 1461-9. doi: 10.1007/s12161-015-0329-x
7. Olsen P, Borit M. The components of a food traceability system. Trends Food Sci Technol. 2018; 77: 143-9. doi: 10.1016/j.tifs.2018.05.004
8. Karabasanavar N, Girish PS, Kumar D, Singh SP. Detection of beef adulteration by mitochondrial D-loop based species-specific polymerase chain reaction. Int J Food Prop. 2017; 20(2): 2264-71. doi: 10.1080/10942912.2017.1369103
9. Hossain MM, Uddin SM, Sultana S, Bonny SQ, Khan MF, Chowdhury ZZ, et al. Heptaplex polymerase chain reaction assay for the simultaneous detection of beef, buffalo, chicken, cat, dog, pork, and fish in raw and heat-treated food products. J Agric Food Chem. 2019; 67(29): 8268-78. doi: 10.1021/acs.jafc.9b02518
10. Li X, Guan Y. Specific identification of the adulterated components in beef or mutton meats using multiplex PCR. J AOAC Int. 2019; 102(4): 1181-5. doi: 10.5740/jaoacint.18-0338
11. Kuswandi B, Gani AA, Ahmad M. Immuno strip test for detection of pork adulteration in cooked meatballs. Food Biosci. 2017; 19: 1-6. doi: 10.1016/j.fbio.2017.05.001
12. Hajimohammadi B, Fattahi K, Kavyani Yekta Z, Sadeghinezhad J, Morovvati H, Akhondzadeh Basti A. Experimental study of the histological method for quantitative detection of meat in kabab and cooked sausage model. J Vet Res. 2020; 75(3): 366-70. doi: 10.22059/JVR.2020.239180.2681 (In Persian)
13. Dalmasso A, Fontanella E, Piatti P, Civera T, Rosati S, Bottero M. A multiplex PCR assay for the identification of animal species in feedstuffs. Mol Cell Probes. 2004; 18: 81-7. doi: 10.1016/j.mcp.2003.09.006 PMID: 15051116
14. Cavin C, Cottenet G, Blancpain C, Bessaire T, Frank N, Zbinden P. Food adulteration: from vulnerability assessment to new analytical solutions. CHIMIA. 2016; 70(5): 329-33. doi: 10.2533/chimia.2016.329 PMID: 27198809
15. Kesmen Z, Sahin F, Yetim H. PCR Assay for the identification of animal species in cooked sausages. Meat Sci. 2007; 77: 649-53. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.05.018 PMID: 22061954
16. Mousavi S, Jahed Khaniki G, Eskandari S, Rabieib M, Mirab Samiee S, Mehdizadeh M. Applicability of species-specific polymerase chain reaction for fraud identification in raw ground meat commercially sold in Iran. J Food Compost Anal. 2015; 40: 47-51. doi: 10.1016/j.jfca.2014.12.009
17. Bazyari S, Zamanizadeh HZ, Mizani M, Sharifan A. Evaluation of presence of soya protein in some commercial meat products by polymerase chain reaction assays. Food Sci Nutr. 2015; 12: 33-40.
18. Alikord M, Momtaz H, Yadegarfar G, Keramat J, Homayooni Rad A. Identification in meat products authentication. J Food Res. 2017; 27 (4): 73-86.
19. Eaqub Ali M, Abdur Razzak MA, Hamid SB, Rahman MM, Amina M, Rashid NR. Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in islamic foods. Food Chem. 2015; 177: 214-24. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.12.098 PMID: 25660879
20. Ballin NZ, Vogensen FK, Karlsson AH. Species determination-can we detect and quantify meat adulteration? Meat Sci. 2009; 83(2): 165-74. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.06.003 PMID: 20416768
21. Nešić K, Stojanović D, Baltić MZ. Authentication of meat and meat products vs. Detection of animal species in feed–what is the difference?. IOP Conf Ser: Earth Environ Sci. 2017; 85(1): 012043. doi: 10.1088/1755-1315/85/1/012043
22. Hosseni HS, Tafvizi F, Tajabadi Ebrahimi M, Sharifan A. Fraud identification in beef sausage in Tehran province using mitochondrial genes of animal species. Food Hyg. 2014; 4(1): 81-9.
23. Lakzadeh L, Hosseinzadeh S, Shekarforoush SS, Fazeli M. Quantitative detection of chicken meat routine mislabeling in emulsion type sausages and burgers by SYBR green real time PCR assay. Iran Agric Res, 2016; 35(1): 49-54.
24. Sadeghpour A, Pirzadeh-Ashraf Kh, Sehatkhah M, Khandaghi J. Determination of adulteration and authenticity of meat and meat products using chemical properties and PCR technique in Tabriz. J Health Sci. 2022; 11(4): 478-88. doi: 10.29252/j.health.11.4.478 (In Persian)
25. Al-Qassab T, Kamkar A, Shayan P, Khanjari A. Mislabeling in cooked sausage is a seriously increasingly problem in food safety. Iran J Vet Med. 2019; 13(1): 101-13. doi: 10.22059/IJVM.2018.267894.1004935 (In Persian)
26. Julini M, Parisi E, Chicco G. Histological aspects of common frauds in sausage manufacture. Ann Fac Med Chir Univ Studi Perugia. 1979; 26: 231-44.
27. Prayson BE, McMahon JT, Prayson RA. Applying morphologic techniques to evaluate hotdogs: What is in the hotdogs we eat? Ann Diagn Pathol. 2008; 12(2): 98-102 . doi: 10.1016/j.anndiagpath.2007.04.012 PMID: 18325469
28. Prayson BE, McMahon JT, Prayson RA. Fast food hamburgers: What are we really eating? Ann Diagn Pathol. 2008; 12(6): 406-9 .doi: 10.1016/j.anndiagpath.2008.06.002 PMID: 18995204
29. Latorre R, Sadeghinezhad J, Hajimohammadi B, Izadi F, Sheibani MT. Application of morphological method for detection of unauthorized tissues in processed meat products. J Food Qual Hazards Control. 2015; 2(2): 71-4.
30. Rokni N, Rezaian M, Dayani Dardashti A. Histological & histometrical study of different heated sausages. J Vet Res. 1997; 52(1): 62-75.
31. Sadeghi E, Hashemian AH, Mohammadi M, Mohammadi R. Study on the microbiological and chemical characterization of the meat products consumed in Kermanshah in 2012. Iran J Nutr Sci Food Technol. 2013; 7(5): 281-286.
32. Jahed Khaniki Gh, Rokni ND. Histological detection of soya in freezing raw hamburger of Iran. Pajouhesh and Sazandegi. 2004; 62: 71-5.
33. Jahed Khaniki Gh, Kia EB. Detection of the sarcocystis cysts from meat supplied for hamburger in Iran by histological method. J Med Sci. 2006; 6(1): 18-21.
34. Hosseini H, Khaksar R, Shemshadi B. Study of sarcocyst in raw, ready to sell hamburgers in Tehran. Food Sci Nutr. 2008; 4(4): 65-71.