مروری بر رویکردهای بیوتکنولوژیکی مدرن، در آنالیز ژلاتین حلال

سید محمد علی ابن التراب[۱]، فرشته صحرائی[۱*]، فاطمه وفامهر[۱]

۱-گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

دریافت مقاله: ۹۹/۱۲/۲

پذیرش مقاله: ۰۰/۴/۳۱

کلمات کلیدی:

غذای حلال

ژلاتین

پروتئین

دئوکسی ریبونوکلئیک اسید

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

چکیده

سابقه و هدف: با افزایش تمایل مصرف‌کنندگان مسلمان و غیرمسلمان در سال‌های اخیر به تهیه محصولات با برچسب حلال، بازار جهانی حلال گسترش یافته است. در واقع اسلام فقط یک دین نیست بلکه روشی است برای زندگی، که حتی در آن غذا خوردن هم دارای احکام ویژه‌ای بوده است به گونه‌ای که قرآن کتاب آسمانی مسلمانان در آیات بسیاری به تشریح این مفهوم پرداخته و به طور خاص، ۴۱ آیه از قرآن به غذا و نوشیدنی‌های حلال مربوط می‌باشد. ژلاتین یکی از محصولاتی است که به دلیل شرایط تولید و نگرانی از حضور مشتقاتی بر پایه خوک، سبب نگرانی‌هایی برای مصرف مسلمانان شده است. به همین منظور بررسی منشأ محصولاتی که با برچسب حلال روانه بازار می‌شوند امری ضروری می‌باشد. ژلاتین به عنوان یک منبع غذایی (Generally Recognized as Safe)، از کلمه لاتین Gelatus، به معنای سفت یا منجمد گرفته شده و کاربرد آن از حدود سال ۱۷۰۰ میلادی متداول شده است. این ماده جامد، نیمه شفاف، بی رنگ یا زرد کم رنگ،ترد و شکننده و بی مزه و یکی از پرمصرفترین مواد پروتئینی کلوئیدی در صنایع غذایی و دارویی، صنعتی و پزشکی به شمار می‌رود. همچنین این ماده دارای وزن مولکولی بالایی است که نه تنها در آب بلکه در گلیسرول و پروپیلن گلایکول نیز محلول می‌باشد.

نتایج: روش‌های مختلفی برای شناسایی منشأ ژلاتین تولیدی بیان شده است که بیشتر آنها بر مبنای شناسایی پروتئین و DNA استوار هستند. روش‌های مبتنی بر پروتئین شامل، تکنیک‌های ایمونولوژیکی مانند الایزا (ELIZA) و روش‌های کروماتوگرافی، طیف سنجی تبدیل فوریه (FTIR) رسوب شیمیایی و روش‌های مبتنی بر شناخت DNA شامل PCR مبتنی بر پرایمرهای اختصاصی-گونه ای، Real-Time PCR، RFLP-PCR و PCR-Southern hybridization on chip است.

نتیجه‌گیری: با بررسی‌ترکیب مهم ژلاتین، و با معرفی روش‌های مهم آزمایشگاهی شناسایی منشأ ژلاتین به بیان توضیحاتی در مورد روش‌های فوق، با تکیه بر رویکردهای بیوتکنولوژی مدرن در آنالیز ژلاتین، بپردازیم.

استناد (ونکوور): ابن التراب س م ع، صحرائی ف، وفامهر ف. مروری بر رویکردهای بیوتکنولوژیکی مدرن، در آنالیز ژلاتین حلال. مجله پژوهشنامه حلال. تابستان ۱۴۰۰؛۴(۲): ۷۷ -۸۸.

مقدمه

در سال‌های اخیر با افزایش تمایل مصرف کنندگان مسلمان و غیرمسلمان به تهیه محصولات با برچسب حلال، بازار جهانی حلال گسترش یافته است. اسلام به‌عنوان دومین دین پر جمعیت جهان برای محصولات غذایی حلال بازار مناسبی می‌باشد. در قرآن، کتاب آسمانی مسلمانان، به‌طور خاص ۴۱ آیه از قرآن کریم به غذا و نوشیدنی‌های حلال مربوط می‌باشد. فرآورده‌های غذایی حلال، عبارت است از آنچه به موجب شرع مقدس اسلام، خوردن و آشامیدن آن منع نگردیده است و ضمن رعایت قوانین شرعی تولید و عرضه می‌گردد(۱، ۶).

* نویسنده مسئول: فرشته صحرائی، آدرس پست الکترونیکی: Fereshte.sahraeii@gmail.com، شماره تماس: ۰۹۱۲۵۰۵۳۸۱۷

This paper is open access under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license

https://doi.org/10.30502/H.2021.135717

اصول تهیه مواد غذایی حلال عبارتند از: ۱- خوردن لاشه حیوانات مجاز و حلال گوشت که به صورت شرعی ذبح شده باشند ۲- تمام اجزای حیوانات حرام گوشت مانند خوک، مجاز نمی‌باشد ۳- مواد غذایی فاقد خون باشد ۴- مواد غذایی فاقد الکل باشد بر اساس فتوای شورای علمای اندونزی[1](MUI) تمام غذاهای تخمیری یا نوشیدنی‌هایی که دارای بیش از ۱درصد اتانول هستند در دسته مواد غذایی حرام قرار دارند(۵،۳).

از دسته حیوانات حرام گوشت می‌توان به گوشت خوک اشاره کرد؛ همه مشتقات خوک[2] (PD) مانند گوشت خوک، لارد، ژلاتین خوکی و سایر محصولات برای مسلمانان ممنوع است؛ بنابر مطالب ذکر شده، شناسایی مواد غذایی غیر حلال برای مسلمانان امری ضروری است؛ از این رو برچسب گذاریِ دقیق مواد غذایی، باعث می‌شود که مصرف کنندگان با آگاهی کامل، مواد غذایی مورد نیاز خود را خریداری نمایند. طبق استاندارد ملی ایران برچسب گذاری موادغذایی بایستی توصیفی از خصوصیات تغذیه‌ای محصول غذایی برای اطلاع مصرف کننده باشد بنابراین برچسب حلال باید نشان دهنده حلیت آن ماده غذایی و مواد تشکیل دهنده آن باشد که در این میان ممکن است برخی تولید کنندگان برای کسب سود اقتصادی بیشتر مرتکب تخلف شده و دست به تقلب بزنند؛ به عنوان مثال محصولات خوکی معمولاً ارزان‌تر از محصولات گوسفندی و یا گاوی می‌باشند، در نتیجه ممکن است برخی تولید کنندگان، برای کسب سود اقتصادی بیشتر، دست به تقلب زده و در برچسب محصولات ژلاتینی، از واژه ژلاتین گاوی به جای ژلاتین خوکی استفاده کنند، بنابر این شناسایی منشأ محصولاتی مانند ژلاتین حائز اهمیت می‌باشد(۲، ۱۲-۷).

از سوی دیگر به دلیل اعمال فرآیندهای پیچیده در طی فرآوری محصول، تغییرات پس از پخت و شباهت خصوصیات فیزیکوشیمیایی ژلاتین حاصل از منشأ خوکی و گاوی، شناسایی منشأ ژلاتین تولیدی با روش‌های متداول امکان پذیر و قابل اطمینان نبوده و یا زمان بر است؛ در نتیجه توسعه روش‌های آنالیزی دقیق، پیشرفته، دارای حساسیت و اختصاصی که در عین حال دارای قابلیت اجرا در کوتاه‌ترین زمان ممکن باشد، برای شناسایی گونه‌های منبع ژلاتین و محصولات ژلاتینی، توسط آزمایشگاه‌های کنترل کیفیت محصولات ضروری می‌باشد. در این راستا تاکنون، تکنیک‌هایی برای شناسایی گونه‌های منشأ ژلاتین به کار رفته است که به دو دسته تقسیم می‌شوند: دسته اول، تکنیک‌هایی که بر مبنای پروتئین هستند و شامل روش‌هایی از جمله روش‌های کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا، طیف سنجی، رسوب شیمیایی و ایمنوشیمیایی می‌باشد که هر کدام از این روش‌ها دارای مزایا و معایبی هستند و برای طیف خاصی از محصولات ژلاتینی، به کار می‌روند. دسته دوم تکنیک‌هایی بر پایه DNA می‌باشند که از موفق‌ترین این روش‌ها می‌توان به واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[3] (PCR) اشاره کرد(۲، ۸، ۱۰).

هدف از این مقاله مروری، بیان خلاصه‌ای از روش‌های آزمایشگاهی شناسایی منشأ ژلاتین، با تکیه بر رویکردهای بیوتکنولوژیکی مدرن در آنالیز ژلاتین حلال می‌باشد.

ژلاتین

نام ژلاتین به عنوان یک منبع غذایی[4](GRAS)، از کلمه لاتین Gelatus، به معنای سفت یا منجمد گرفته شده و کاربرد آن مربوط به سال ۱۷۰۰ میلادی است. تاریخچه ژلاتین، به دلیل پیدا شدن تکه ای از آن در مقبره ملکه راچسپات و کشف لوحه در شهر قدی‌می‌تبس، حداقل با فراعنه مصر، همزمان می‌باشد(۱۳).

ژلاتین از زمان قدیم شناخته شده و به نام چسب استخوان معروف بود، اما برای اولین بار در سال ۱۶۸۱ پاپی به کمک دیگ معروف خود که پیشتاز اتوکلاوهای امروزی بود تهیه نمود(۱۳-۱۶). ژلاتین مخلوطی پلی پپتیدی است که از منابع گوناگون کلاژن مانند هیدرولیز کلاژن موجود

[1] Majelis Ulama Indonesia
[2] Pig Derivatives
[3] Polymerase Chain Reaction
[4] Generally Recognized as Safe

در قسمت‌های مختلف حیوانات تهیه می‌شود، کلاژن پروتئینی رشته‌ای است که بخش اصلی پوست، استخوان و بافت همبند حیوانات را تشکیل می‌دهد، در نتیجه منبع، سن و گونه حیوان و فرآیند تولید ژلاتین خواص فیزیکوشیمیایی آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد. تاکنون، ۲۷ نوع کلاژن شناسایی شده است که نوع I آن فراوان‌ترین نوع کلاژن بوده که در بافت همبند یافت می‌شود(۱۶-۲۰).

از ویژگی‌های بارز مولکول‌های کلاژن، حضور یک واحد سه پپتیدی تکراری به صورت Gly-X-Y در توالی‌های آمینو اسیدی آن است که در آن X و Y به‌ترتیب پرولین و ۴-هیدروکسی پرولین می‌باشد که سبب می‌شود ژلاتین تولیدی شباهت زیادی با کلاژن مولدش داشته باشد و منجر به بروز خواصی مانند نرمی، کشش و تشکیل ژل برگشت پذیر شود(۸، ۲۱).

ژلاتین یک ماده‌ی جامد، نیمه شفاف، بی رنگ یا زرد کم رنگ،ترد و شکننده و بی‌مزه و یکی از پرمصرف‌ترین مواد پروتئینی کلوئیدی در صنایع غذایی، دارویی، صنعتی و پزشکی می‌باشد که دارای وزن مولکولی بالایی بوده و در آب، گلیسرول و پروپیلن گلایکول نیز محلول می‌باشد(۸، ۱۶-۱۷، ۱۹).

استفاده از ژلاتین به منظور افزایش خاصیت ارتجاعی، دوام و تثبیت مواد، بسیار زیاد است، همچنین یکی از معدود پروتئین‌های مناسب جهت تولید صنعتی، با استفاده از محصولات جانبی کارخانجات صنایع گوشت و ماهی، می‌باشد. یکی دیگر از کاربردهای آن در صنایع غذایی فراوری و فرمولاسیون مواد غذایی از جمله، تشکیل کف وامولسیون به دلیل توانایی بالا در جذب آب، ویژگی‌های سطحی عالی، تثبیت کنندگی بافت، ایجاد حالت خامه‌ای و کاهش مصرف چربی در فرآورده‌های کم چرب و ایجاد ژل آن می‌باشد(۲، ۲۲-۲۴).

ترکیبات اصلی ژلاتین پروتئین، نمک‌های معدنی و آب می‌باشد. درصد پروتئین در ژلاتین خشک حدود ۹۸ درصد و در حالت معمول حدود ۹۰ درصد است که این پروتئین‌ها از آمینو اسیدهای اصلی و فرعی تشکیل شده اند و به دلیل پیچیدگی‌های ساختمان کلاژن و همچنین تنوع روش‌های ساخت ژلاتین،ترکیب و توالی آمینو اسیدی ژلاتین‌های حاصل از منابع مختلف متفاوت می‌باشد. همه انواع آمینو اسیدها به غیر ازتریپتوفان با نسبت‌های متفاوت در ژلاتین وجود دارند. بر اساس ساختار اولیه، حدود ۲۰ درصد ژلاتین حاوی اسیدهای آمینه بازی و اسیدی و ۸۰ درصد باقی مانده، شامل اسیدهای آمینه غیر قطبی است که سبب ایجاد خاصیت امولسیونی ژلاتین در سراسر زنجیره آلفا می‌شود. ژلاتین از یک واحد سه تایی تکراری به صورت Gly-X-Y تشکیل شده است که بر اساس آن گلاسین فراوان‌ترین اسید آمینه ژلاتین می‌باشد. X و Y به‌ترتیب اسیدهای آمینه پرولین و هیدروکسی پرولین هستند که میزان آن‌ها برابر با ۲۵درصد از وزن ژلاتین خشک است که سبب پایداری ساختار ژلاتین می‌شود. بنابر مطالب ذکر شده آمینو اسیدهای اصلی ژلاتین، Glycine، Proline و Hydroxy Proline می‌باشند که هریک باعث ایجاد خاصیتی در ژلاتین می‌گردند، به عنوان مثال دمای ذوب و دمای تشکیل ژل به نسبت پرولین و هیدروکسی پرولین وابسته است(۸، ۲۱، ۲۵-۳۰).

بر اساس فرآیند تیمار کلاژن، دو نوع ژلاتین حاصل می‌شود:

ژلاتین نوع A که همان ژلاتین خوراکی است و منبع اولیه برای تولید آن، پوست خوک می‌باشد که برای تولید کلاژن تحت تیمار اسیدی قرار گرفته و نقطه ایزوالکتریک[5] (pI) در محدوده ۹-۶ قرار دارد.

ژلاتین نوع B که ژلاتین حاصل از استخوان و ضایعات پوست گاو می‌باشد و عمدتا برای اهداف دارویی استفاده می‌گردد که برای تولید آن، کلاژن تحت تیمار بازی قرار گرفته و pI آن به ۵ می‌رسد.

در واقع تیمار اسیدی برای کلاژن‌هایی که پیوندهای متقاطع کمتری دارند و معمولا در پوست خوک و ماهی یافت

[5] Isoelectric Point

می‌شوند مناسب است که به دلیل داشتن چربی زیاد، از واکنش‌های صابونی شدن جلوگیری می‌کند درحالیکه تیمار بازی برای کلاژن‌های پیچیده‌تر مناسب می‌باشد(۸، ۳۰).

اهمیت شناسایی منبع ژلاتین تولیدی

در تولید تجاری تقریبا تنها منابع مهم تولید ژلاتین، پوست خام گاو، گوسفند و خوک و استخوان گاو و خوک می‌باشد، این در حالی است که استفاده صنعتی از ژلاتین و کلاژن غیر پستانداران نیز در حال رشد می‌باشد. البته امروزه ژلاتین برخی از ماهی‌ها به صورت تجاری در دسترس بوده ولی مطلوبیت آن در مقایسه با ژلاتین خوک و گاو کمتر می‌باشد(۳، ۱۳-۱۵، ۳۱).

باوجود کاربرد وسیع ژلاتین، همواره نگرانی‌هایی در زمینه مصرف آن وجود دارد که بیشتر بر پایه ملاحظات مذهبی و بهداشتی است. به عنوان مثال ادیان اسلام و یهودیت مصرف هر گونه محصول وابسته به گوشت خوک را ممنوع می‌داند و پیروان این مذاهب ژلاتین حاصل از خوک را مصرف نمی‌کنند و ژلاتین گاوی نیز در صورتی که کشتار منبع آن، مطابق الزامات دینی صورت گرفته باشد قابل مصرف می‌باشد. این درحالی است که برای هندوها محصولات با منشأ گاوی ممنوع است و برای گیاه خواران، مصرف محصولات حیوانی و مشتقات آن ممنوع می‌باشد(۱۳، ۱۷، ۲۹، ۳۲).

از دیدگاه پزشکی و بهداشتی مساله اصلی پریون‌ها هستند که با شیوع آن در سال ۱۹۸۶ در انگلستان و گسترش آن به کشورهای دیگر منجر به محدودیت استفاده از ژلاتین گردید و استفاده از ژلاتین گاوی استخراج شده از گاو ناقل پروتئین‌های پریونی که مربوط به انسفالوپاتی[6] اسفنجی شکل (BSE) باشد ممنوع شد که مصرف آن موجب ایجاد واکنش ایمنی می‌گردید. با این حال طبق اعلام رسمی کمیته علمی اتحادیه اروپا در سال ۲۰۰۳، خطر مرتبط با ژلاتین استخوان گاو نزدیک به صفربود و فرآیند تولید ژلاتین مانع موثری در برابر انتقال پریون‌های BSE می‌گردد. این در حالی است که عدم انتقال این خطر هنوز مورد تأیید تمام جامعه جهانی قرار نگرفته و تحقیقات فشرده ای برای شناسایی و توسعه جایگزین‌هایی برای ژلاتین مشتق شده از منابع پستانداران صورت گرفته است(۸، ۱۳، ۱۷)

از نظر اقتصادی نیز، با توجه به اینکه مراحل تولید ژلاتین خوکی کوتاه‌تر از (حدود ۳۰ روز) و تولید ژلاتین گاوی (بین ۶۰-۸۰ روز) زمان می‌برد و فرآیند تولید ژلاتین گاوی پیچیده و سخت‌تر از ژلاتین خوکی است، ژلاتین خوکی ارزان‌تر می‌باشد. در نتیجه ممکن است که بعضی از تولید کنندگان برای کسب سود اقتصادی بیشتر دست به تقلب زده و در برچسب محصولات ژلاتینی، از نام ژلاتین خوکی به جای ژلاتین گاوی استفاده کنند (۸،۱۳).

با توجه به دلایل فوق، محققان به دنبال یافتن گونه‌های جدید جایگزین گاو و خوک برای تولید ژلاتین هستند و تاکنون موفق به کشف منابع دیگری مانند جلبک دریایی، استخوان و پوست حاصل از مرغ و ماهی و بوقلمون شده اند اما با توجه به گزارشات مختلفی که در مورد منابع تولید ژلاتین وجود دارد، همچنان گاو و خوک فراوان‌ترین منابع مورد استفاده در تولید ژلاتین هستند. در نتیجه شناسایی گونه‌های حیوانی منشأ ژلاتین و فرآورده‌های مختلف آن، از جنبه بهداشتی، مذهبی و اقتصادی اهمیت به سزایی دارد.

۱-روش‌های تشخیص منابع ژلاتین

با توجه به نگرانی‌های موجود و اطمینان از صحت اطلاعات مندرج بر روی برچسب محصول، تضمین سلامت، تجارت عادلانه و دفاع از عقاید مذهبی، به منظور بررسی منشأ ژلاتین‌های تولیدی، روش‌هایی مطرح شده است که با توجه به فرآیندهای تولید ژلاتین و pHهای مختلف و حرارت بالا در حین تولید این روش‌ها متفاوت هستند و هر کدام مزایا و معایب خاص خود را داشته و بیشتر بر پایه شناسایی پروتئین و DNA استوار است(۸، ۳۳).

۱-۱- روش‌های آنالیز مبتنی بر پروتئین

[6] Encephalopathy

تکنیک‌های ایمونولوژیکی مانند الایزا و روش‌های کروماتوگرافی، طیف سنجی تبدیل فوریه و رسوب شیمیایی از مهم‌ترین روش‌های این گروه هستند. البته این روش‌ها، نسبت به حرارت حساس می‌باشند و برای نمونه‌هایی که در معرض حرارت بالا قرار گرفته اند قابل استفاده نیستند. شایان ذکر است که در صورت استفاده از روش‌های ایمنی شناسی بر مبنای آنتی بادی پلی کلونال، برای گروهی از پروتئین‌های خاص مقاوم به حرارت در محصولات بر پایه گوشت خوک، به دلیل احتمال ایجاد واکنش متقاطع، دقت و حساسیت کار به میزان زیادی کاهش خواهد یافت. در نتیجه به دلیل وجود محیط‌های شدیدا بازی یا اسیدی و نیز حرارت بالا در تولید ژلاتین، روش‌های شناسایی بر پایه پروتئین، غالباً جهت تشخیص منشأ حیوانی ژلاتین مناسب نیستند(۸، ۳۳، ۳۴).

با توجه به مطالب ذکر شده در این مقاله مروری فقط به بیان توضیحات مختصری در ارتباط با دو روش الایزا[7] (ELIZA) و طیف سنجی تبدیل فوریه[8] (FTIR) پردازیم.

۱-۱-۱- ELIZA

الایزا روشی بیوشیمیایی است که بر مبنای خواص ایمونولوژیکی که اساسا جهت تشخیص آنتی بادی یا آنتی ژن نمونه‌ها استفاده می‌شود. دو نوع از رایج‌ترین روش‌های عیارسنجی ایمنی الایزای غیر مستقیم و سندویچ می‌باشند که بر مبنای تعامل بین یک پروتئین حیوانی خاص و یک آنتی بادی است که از این طریق آن را شناسایی می‌کند. این روش نسبتا ساده بوده و به منظور انجام این آزمون، از آنتی بادی‌های مونوکلونال (MAbs) و پلی‌کلونال (PAbs) استفاده می‌شود. MAbها از سلول‌های هیبریدوما تولید می‌شوند که خاصیت انتخابی خاصی بر روی آنتی ژن هدف دارند و تولید آن‌ها زمان بر و پر هزینه است. از این آزمایش در صنعت غذای حلال به منظور تشخیص حضور مشتقات خوک در محصولاتی مانند سوسیس استفاده می‌شود بدین صورت که MAbها در برابرتروپونین I گوشت خوک به‌طور موفقیت آمیزی بین گونه‌ها در غذاهای خام و فرآوری شده تمایز ایجاد می‌کنند(۳۵).

۱-۱-۲- FTIR

جهت تشخیص تقلبات گونه‌ای در فرآورده‌های غذایی، روش طیف سنجی مادون قرمز در سال ۱۹۹۲ توسط آقای ون دورت[9] استفاده گردیده شد. در این روش از مادون قرمز برای آنالیز اجزاء تشکیل دهنده نمونه استفاده می‌شود و اجازه شناسایی کیفی اجزای نمونه را می‌دهد. طیف مادون قرمز با یک فرکانس مشخص به نمونه تابانده می‌شود و هنگامی‌که پیوند اتم‌های تشکیل دهنده ماده، مرتعش می‌شوند، فرکانس ارتعاشات به شکل منحنی‌های جذب که به طیف فروسرخ نمونه تبدیل می‌شوند ثبت می‌گردد. فناوری اسپکتروسکوپی تبدیل فوریه مادون قرمز یک تکنیک ریاضی است که برای بدست آوردن قسمت اوج هر فرکانس منفرد به کار رفته و تبدیل فوریه توسط یک کامپیوتر برای آنالیز طیف مورد استفاده انجام می‌شود(۱۱، ۳۶-۳۸).

از این تکنیک به منظور تشخیص منشأ ژلاتین نخستین بار توسط هاشیم[10] و همکاران در سال ۲۰۱۰ استفاده شد. اساس شناسایی منبع ژلاتین بر مبنای توصیف گروه‌های عاملی آن است بدین صورت که طیف IR مربوط به ژلاتین‌های خوکی و گاوی بسیار به هم نزدیک هستند و بین طول موج‌های Cm-1 ۴۰۰۰-۶۵۰ قرار دارند. بنابراین به منظور تعیین منابع ژلاتینی ناشناخته، تغییر شکل پیوندهای N-H را در محدوده‌های Cm-1 ۱۲۰۰-۱۶۶۰ و Cm-1 ۳۲۹۰-۳۲۸۰ طیف مادون قرمز نمونه‌های ژلاتینی، آنالیز می‌کنند زیرا این مناطق اطلاعاتی در مورد منبع ژلاتین ارائه می‌دهند. مزیت‌های این روش شامل عدم نیاز به آماده سازی نمونه یا حداقل آماده سازی و زمان سریع انجام آزمایش می‌باشد محدودیت‌های آن نیز درجه خلوص بالای نمونه می‌باشد که آنالیز ژلاتین حاصل از منابع گوشتی مخلوط و همچنین فرآورده‌های حاوی ژلاتین را با محدودیت ایجاد کرده است(۲، ۸).

[7] Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
[8] Fourier Transfor Infrared Spectroscopy
[9] Van de voort
[10] Hashim

سبی[11] و همکاران در سال ۲۰۱۶، روش FTIR را در تشخیص و طبقه بندی ژلاتین‌های گاو، خوک و ماهی بررسی نمودند. ابتدا، ژلاتین‌های ماهی، خوک و گاو بصورت جداگانه با غلظت‌های مختلف در آب دیونیزه حل شده و همچنین مخلوطی از ژلاتین‌های گاوی و خوکی بطور مشابه تهیه کردند که بعد از اجرای آزمون فوق طیف‌های ATR - FTIR محلول‌های ژلاتین با رزولوشن 4 cm-1 (طیف‌ها از – 600 4000 cm-1) ثبت شدند و ۱۶ اسکن برای هر طیف دریافت شد که نتایج این پژوهش نشان داد، ژلاتین گاو، خوک و ماهی با استفاده از تجهیزات ATR-FTIR با موفقیت طبقه بندی شده و مخلوطی از ژلاتین خوکی و گاوی از ژلاتین‌های خالص خوکی و گاوی تفکیک شد. بدین ترتیب، تکنیک ATR-FTIR می‌تواند برای تشخیص گونه ژلاتین استفاده گردد، چرا که درمقایسه با سایر روش‌های آنالیتیکی بسیار ساده و ارزان است و تمایز بین منابع ژلاتینی را بهبود می‌بخشد(۲، ۳۹).

۱-۲- روش‌های آنالیز مبتنی بر DNA

عنوان موثرترین بیومارکر برای شناسایی منشأ و منبع گونه‌های حیوانی در فرآورده‌های مختلف از جمله فرآورده‌های ژلاتینی DNA می‌باشد، که می‌توان از هر دو DNA میتوکندریایی و هسته ای استفاده کرد اما از آنجاکه DNA هسته ای در هر سلول فقط یک عدد می‌باشد استفاده از آن به منظور تشخیص گونه، کارایی چندانی ندارد و DNA میتوکندریایی به دلیل فراوانی و پایداری بیشتر در تشخیص گونه برای ژلاتین و فرآورده‌های ژلاتینی کاربرد بیشتری دارد. از جمله ژن‌های رایج میتوکندریایی که برای تعیین منشأ گونه‌ها استفاده می‌شوند می‌توان به سیتوکروم b، سیتوکروم اکسیداز I، ناحیه D-Loop، 12s rRNA و 16s rRNA اشاره کرد.این حالی است که از میان روش‌های مبتنی بر DNA PCR موثرترین و مناسب‌ترین روش می‌باشد. همچنین رایج‌ترین تکنیک‌های جهت تشخیص و شناسایی گونه‌های حیوانی در ژلاتین و فرآورده‌های ژلاتینی شامل PCR مبتنی بر پرایمرهای اختصاصی-گونه ای[12]، Real-Time PCR، PCR- RFLP [13] و PCR-Southern hybridization on chip می‌باشد(۸، ۴۰).

۱-۲-۱- Species-Specific PCR

از جمله روش‌های ساده و مورد اطمینانی که می‌تواند در آزمایشگاه‌های کنترل کیفی و لابراتورهای تشخیصی برای شناسایی فرآورده‌های حلال و حرام نظیر مشتقات خوکی مورد استفاده قرار گیرد و برای تست تشخیصی فراورده‌هایی نظیر سس و بیسکویت موفق عمل کرده است. با این روش می‌توان یک توالی ژنی خاص را به صورت خیلی حساس در مخلوطی از غذاهای مختلف که حاوی توالی‌های ژنی گوناگون هستند شناسایی کرد و نحوی که نیازی به انجام توالی یابی و RFLP-PCR نباشد (۸، ۴۱- ۴۲).

در این روش قسمتی از DNA میتوکندریایی به کمک یک جفت پرایمر اختصاصی در دستگاه‌ترموسایکلر تکثیر می‌شود سپس عملیات الکتروفورز بر روی ژل آگارز یا ژل پلی آکریل آمید به کمک رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید یا Red-Jel انجام می‌گردد. این تکنیک به دو صورت Single plex و Multiplex قابل انجام می‌باشد. در روش Multiplex، پرایمر Forward یک منطقه حفاظت شده از توالی هدف را مورد توجه قرار می‌دهد اما پرایمر برگشت از گونه ای به گونه دیگر متفاوت است. محصول PCR مخلوطی از قطعات DNA، با طول متفاوت است و توسط الکتروفورز بر روی ژل آگارز قابل جداسازی می‌باشد. تشخیص همزمان چند گونه در این روش، سبب کاهش در هزینه و زمان می‌شود. البته پیچیدگی این روش و حساسیت متفاوت نسبت به DNAهای الگوی با طول متفاوت این روش را کمی نامناسب ساخته است در مقابل اگرچه روش Single plex توانایی تشخیص چند گونه را به‌صورت همزمان ندارد اما روش دقیق‌تر و حساس‌تری است و آماده سازی نمونه در روش فوق آسان‌تر

[11] Cebi
[12] Species-Specific PCR
[13] Restriction Fragment Length Polymorphism

و سریع‌تر می‌باشد. ضمنا حساسیت این روش وابسته به طول قطعات محصول PCR می‌باشد. مزایای این روش در مقایسه با سایر روش‌های مولکولی مانند RFLP هزینه پایین و سرعت بالاتر آن می‌باشد (۸، ۴۳، ۴۰).

سلطان[14] و همکاران در سال ۲۰۲۰ میلادی، به بررسی DNA ژلاتین‌های با منشأ گاو، خوک و ماهی به روش Multiplex PCR پرداختند با بررسی تعیین توالی DNA به کمک این روش، مشخص شد که از ۳۵ نمونه غذا با برند حلال، DNA ۲ نمونه، ۹۹ تا ۱۰۰ درصد متعلق به خوک می‌باشد.

همچنین در پژوهشی دیگر، لی[15] و همکاران در سال ۲۰۱۶ میلادی، به بررسی این روش در تعیین منشأ کپسول‌های ژلاتینی بر پایه ژلاتین گاوی، خوکی و ماهی بر اساس ژن 16S rRNA پرداختند؛ از ۲۸ نمونه کپسول ژلاتینی با برندهای مختلف استفاده کردند که نتایج PCR ۲۷ نمونه با برچسب حلال مطابقت داشته اما یک نمونه که در برچسب آن ذکر شده کپسول ژلاتینی بر پایه ماهی تیلاپیا، فقط حاوی ژلاتین بر مبنای گاو بود. طبق گزارشات این محققین می‌شود از این روش می‌توان برای تأیید سریع صحت کپسول‌های ژلاتینی استفاده کرد(۴۴).

شعبانی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ میلادی از تکنیک فوق به کمک پرایمرهای طراحی شده بر اساس ژن سیتوکروم b میتوکندریایی، برای ارزیابی منشأ ژلاتین در محصولات مختلف با دقت ۰/۱ درصد استفاده کردند. نتایج نشان داد همه نمونه‌ها به جز نمونه کنترل مثبت که حاوی DNA خوک بود، حاوی ژلاتین گاوی هستند. بدین ترتیب نتایج فوق حاکی از مناسب بودن روش ذکر شده به منظور احراز هویت ژلاتین و محصولات غذایی حاوی ژلاتین بود(۴۵).

۱-۲-۲- RFLP-PCR

این روش بر مبنای الگوهای غیر یکسانی است که بر اثر هضم آنزیمی ناحیه‌ای خاص از DNA به وسیله آنزیم‌های محدود کننده مشخص می‌شود. الگوهای غیر همسان به علت تفاوت DNA بسته به حضور یا عدم حضور جایگاه آنزیم‌های محدود کننده به وجود می‌آیند، که می‌توان آن‌ها را توسط هضم آنزیمی‌و سپس الکتروفورز، ردیابی نمود. از ژن سیوتوکروم b میتوکندری در این روش استفاده می‌شود. این روش کاربرد زیادی در تأیید فرآورده‌های حلال دارد و بیشترین کاربرد آن شناسایی تقلب‌های غذایی در محصولات گوشتی مخلوط می‌باشد و به دلیل استفاده از پرایمرهای اختصاصی دقیق‌تر، توانایی آن در تشخیص و تمایز گونه‌های مشابه به لحاظ ژنتیکی، بیشتر بوده ولی هزینه بالا، پیچیدگی کار و تکرار پذیری پایین‌تر، باعث محدودیت کاربرد آن نسبت به روش‌های مبتنی بر استفاده از پرایمرهای اختصاصی شده است(۸، ۴۰).

موروگایا[16] و همکاران در سال ۲۰۰۹، از این تکنیک برای تشخیص DNA گونه‌های حیوانی خوک، گاو، گاومیش، مرغ و بلدرچین به منظور تعیین حلال بودن فراورده‌های گوشتی، به کمک ژن سیتوکروم b استفاده نمودند که نتایج حاصله نشان داد روش فوق به خوبی اختلاف ژنتیکی بین گونه‌ها را نشان می‌دهد(۸، ۴۶).

همچنین آیدا[17] و همکاران در سال ۲۰۰۷، از این تکنیک جهت شناسایی مشتقات خوکی در چهار محصول سوسیس، سبوس، بیسکویت و نان با استفاده از ژن سیتوکروم b میتوکندریایی، استفاده کردند. نتایج حاکی از آن بود که این تکنیک برای محصولات سبوس، برنج و بیسکویت نامناسب بوده، درحالی‌که برای سوسیس بسیار مناسب می‌باشند. در نتیجه روش فوق می‌تواند به خوبی برای شناسایی تقلبات در محصولات بر پایه ژلاتین خوکی استفاده گردد(۸، ۴۷).

۱-۲-۳- Real time PCR

این روش از ادغام PCR کلاسیک و ویژگی‌های شیمی-فیزیک مواد فورسنت به وجود آمده و به منظور اندازه گیری میزان تغییرات مواد فلورسنت در مخلوط واکنش از دستگاه

[14] Sultana
[15] Lee
[16] Murugaiah
[17] Aida

دیجیتال استفاده می‌شود. مزایای این روش سرعت و اختصاصیت بیشتر آن نسبت به PCR کلاسیک می‌باشد، به گونه ای که نسبت به PCR کلاسیک تعداد بیشتری نمونه را در زمان کمتر مورد بررسی قرار می‌دهد با این حال مهمترین محدودیت آن، هزینه بالای تجهیزات و ابزار مورد استفاده است. از این روش به منظور بررسی بیان ژن و شناسایی میکروارگانیسم‌ها و به تازگی برای تعیین گونه‌های جانوری مورد استفاده در غذا، استفاده می‌شود(۸، ۴۸).

پرستام[18]و همکاران در سال ۲۰۱۷، به مقایسه روش‌های ELISA و Real time PCR در تشخیص گوشت گاو و خوک در فرآورده‌های گوشتی پرداختند و از ۱۵ نمونه با درصدهای مختلف گوشت خوک و گاو استفاده کردند که نتایج نشان دهنده این بود که روش Real time PCR، قادر به تشخیص گوشت خوک با دقت ۰/۱ درصد و گوشت گاو با دقت ۰/۵ درصد بود درحالیکه دقت روش ELIZA برای تشخیص گوشت خوک ۱۰ درصد و گوشت گاو ۱ درصد می‌باشد. همچنین بعد از مخلوط نمونه‌های مرجع، باز هم این روش Real timr PCR، بود که با دقت بالاتری نسبت به روش ELIZA، عمل کرد(۴۹).

کانگ[19]و همکاران نیز در سال ۲۰۱۸، به بررسی تقلب حضور گوشت خوک در محصولات فرآوری شده با گوشت گاو به روش Real time PCR، بر اساس ژن 18S rRNA، پرداختند که نتایج نشان دهنده موفقیت این روش در شناسایی مقادیر متفاوت گوشت خوک با دقت ۰/۰۱ درصد بود(۵۰).

PCR-Southern hybridization on chip -۴-۲-۱

روش فوق، بسیار دقیق و حساس است اما بسیار گران قیمت است و قادر به ردیابی ژن هدف تا غلظت ng/µL ۰/۰۰۱ می‌باشد. در این روش از جفت پرایمرهای بیوتینه شده ژن سیتوکروم b میتوکندری استفاده می‌شود و پروب‌های اختصاصی بر روی Gene Chip تثبیت می‌گردند تا به محصول PCR متصل شده و در انتها با استفاده از دستگاه اسکنر، نتایج مورد بررسی قرار می‌گیرند. مزیت قابل توجه این روش، حساسیت بالای آن است که در محصولات خیلی فرآوری شده نیز پاسخ مناسبی حاصل می‌شود(۴۸، ۸).

عبد مطلب[20]و همکاران در سال ۲۰۱۵ از این روش و همچنین روش PCR معمولی، برای تأیید هویت حلال کپسول‌های ژلاتینی به کمک ژن سیتوکروم b میتوکندریایی، استفاده کردند. که نتایج تحقیقات آنها نشان داد که از ۲۰ نمونه آزمایش شده، ۶ کپسول ژلاتینی بر پایه ژلاتین خوکی است در حالیکه هیچکدام از آن‌ها با استفاده ازConventional PCR از نظر منشأ خوکی، مثبت نبودند(۵۱).

نتیجه‌گیری

استفاده از روش‌های میتنی بر DNA، برتری بیشتری نسبت به عمده روش‌های مبتنی بر پروتئین و دیگر روش‌ها دارد. تا زمانیکه آزمون‌ها بر روی ژلاتین خام صورت گیرد، این تفاوت فاحش نیست، اما زمانیکه ژلاتین یا فرآورده‌های آن خرد شده یا با ژلاتین گونه‌های دیگر مخلوط و یا تحت تاثیر فشار و حرارت بالا قرار گیرند، ساختار پروتئینی آنها دچار تغییرات عمده شده و در اثر تجزیه و دناتوره شدن کارایی خود را به منظور تعیین منشأ ژلاتین توسط روش‌های مبتنی بر پروتئین، از دست می‌دهند. از طرفی دیگر نیمه عمر پروتئین‌ها کوتاه بوده و همچنین پروتئین‌های یکسان ممکن است از بافتی به بافت دیگر یکسان نبوده و ساختار آن‌ها با هم تفاوت داشته باشد. در مقابل مولکول DNA، یک مولکول پایدارو مقاوم بوده و در برابر شرایط سخت فرآیندهای غذایی از جمله پختن و استریلیزاسیون که همراه با دما و فشار بالا می‌باشد، مقاومت بیشتری دارا می‌باشد همچنین مولکول DNA، در تمام سلول‌های بدن وجود داشته و در تمام بافت‌ها یکسان می‌باشد بنابراین امکان

[18] Perestam
[19] Kang
[20] Abd Mutalib

استخراج DNA از هر بافتی وجود دارد. البته طیف سنجی FTIR نیز می‌تواند برای شناسایی و تعیین ژلاتین خوکی مورد استفاده قرار گیرد به گونه ای که با انتخاب منطقه فرکانس بهینه، قادر به ارائه بهترین مدل پیشگویانه و توصیفی، به سرعت و بدون آماده سازی نمونه هستیم. همچنین این تکنیک سریع، آسان و غیر مخرب بوده و میتوان از آن بعنوان یک روش آنالیزی سبز یاد کرد، چرا که در این روش برای آماده سازی نمونه‌ها هیچ گونه حلال و یا معرفی که برای محیط زیست مضر باشد، استفاده نمی‌گردد.

بدین‌ترتیب با توجه به معایب ذکر شود در مورد روش‌های بر پایه پروتئین، و همچنین مزایای روش‌های بر پایه DNA، از جمله فراوانی محتوای ژنتیکی آن نسبت به پروتئین، حضور در سلول‌های همه بافت‌های بدن و همچنین حد تشخیص بسیار کم و سرعت بالا، استفاده از این روش‌ها برای شناسایی منشأ ژلاتین تولیدی مناسب‌تر می‌باشد البته همان طور که پیش‌تر اشاره شده روش FTIR نیز به دلیل سهولت در استفاده از آن و همچنین قابلیت تفکیک بالای آن می‌تواند در این زمینه مناسب باشد که نیازمند تحقیقات بیشتر است.

تضاد منافع

نتایج حاصل از این مطالعه با منافع نویسندگان و محققان در تعارض نیست.

References

1. National Standard of Iran, Halal Food, General Guide. 2009. [In Persian]
2. Akbarzadegan R, Ahri H, Sharifan A, Mohammadi N. A review of studies on the identification of solvent gelatin using the FTIR method. The first national congress of halal food. 2019.
3. Khoshbooi Lahijani L, Allah Yari Beyk S, Ahri H. A review of the identification and modification of fish gelatin properties as a source of solvent gelatin. The first national congress of halal food. 2019. [In Persian]
4. Khoshdoni Farahani Z, Hojjatoleslami M. Application of biosensors as a rapid method for detecting solvent compounds in food products. The first national congress of halal food. 2019. [In Persian]
5. Raisi Ardali F, Sharifan A, Janat B, Sabah S, Zargaran S and Fooladgar S. A review of the application of nanotechnology in the production of biosensors used in the detection of food alcohol. The first national congress of halal food. 2019. [In Persian]
6. Riaz M, Chaudry M. Halal Food Production. CRC Press: Boca Raton. London,NewYork,Washington. 2003. Availabe From: http://www.al-rida.net/attachments/040_halal.pdf
7. National Standard of Iran.Nutrition Labeling Guide. 2014. [In Persian]
8. Mahmoudi M. Study on the identification of solvent gelatin in hard pharmaceutical gelatin capsules available in the market by qualitative PCR: Non-Governmental - Islamic Azad University - Islamic Azad University, Pharmaceutical Sciences Branch - Faculty of Pharmacy. 2016. [In Persian]
9. Al-Kahtani H, Ismail E, Ahmed M. Pork detection in binary meat mixtures and some commercial food products using conventional and real-time PCR techniques. Food chemistry. 2017; 219: 54-60. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.108
10. Hashim D, Man Y, Norakasha R, Shuhaimi M, Salmah Y, Syahariza Z. Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins. Food chemistry. 2010; 118(3): 856-60. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.049
11. Lo Y, Shaw P. DNA-based techniques for authentication of processed food and food supplements. Food Chemistry. 2018; 240: 767-74. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.022
12. Rohman A, Arsanti L, Erwanto Y, Pranoto Y. The use of vibrational spectroscopy and chemometrics in the analysis of pig derivatives for halal authentication. International Food Research Journal. 2016; 23(5).
13. Shahi T, Ghorbani M. New methods of identifying the source of gelatin to evaluate its safety and quality control. Twenty-first National Congress of Food Science and Technology of Iran. 2013. [In Persian]
14. Aberomand A. Production of Edible Gelatin From Fishery Wastes. JWSS. 2007; 11 (1) :409-19. [In Persian]

and immunology. 2003; 130(1): 17-24. http://dx.doi.org/10.1159/000068370

26. Eysturskarð J, Haug I, Elharfaoui N, Djabourov M, Draget K. Structural and mechanical properties of fish gelatin as a function of extraction conditions. Food hydrocolloids. 2009; 23(7): 1702-11. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.01.008

27. Gilsenan P, Ross-Murphy S. Rheological characterisation of gelatins from mammalian and marine sources. Food Hydrocolloids. 2000; 14(3): 191-5. http://dx.doi.org/10.1016/S0268-005X(99)00050-8

28. Gómez-Guillén M, Ihl M, Bifani V, Silva A, Montero P. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (Ugni molinae Turcz). Food Hydrocolloids. 2007; 21(7): 1133-43. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.08.006

29. Haug I, Draget K, Smidsrød O. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. Food hydrocolloids. 2004; 18(2): 203-13. http://dx.doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00065-1

30. Jamilah B, Harvinder K. Properties of gelatins from skins of fish—black tilapia (Oreochromis mossambicus) and red tilapia (Oreochromis nilotica). Food chemistry. 2002; 77(1): 81-4. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00328-4

31. Choi S, Regenstein J. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. Journal of Food Science. 2000; 65(2): 194-9. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15978.x

32. Irwandi J, Faridayanti S, Mohamed E, Hamzah M, Torla H, Che Man Y. Extraction and characterization of gelatin from different marine fish species in Malaysia. International Food Research Journal. 2009; 16(3): 381-9.

33. Doosti A, Dehkordi P, Rahimi E. Molecular assay to fraud identification of meat products. Journal of food science and technology. 2014; 51(1): 148-52. https://dx.doi.org/10.1007%2Fs13197-011-0456-3

34. Nakyinsige K, Man Y, Sazili A. Halal authenticity issues in meat and meat products. Meat science. 2012; 91(3): 207-14. http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.015

35. Chen F, Hsieh Y. Porcine troponin I: a thermostable species marker protein. Meat science. 2002; 61(1): 55-60. https://doi.org/10.1016/s0309-1740(01)00162-0

36. Defernez M, Wilson R. Mid-infrared spectroscopy and chemometrics for determining the type of fruit used in jam. Journal of the

http://dorl.net/dor/20.1001.1.24763594.1386.11.1.31.3

15. Gómez-Guillén M, Giménez B, López-Caballero M, Montero M. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. Food hydrocolloids. 2011; 25(8): 1813-27. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.007

16. Schrieber R, Gareis H. Gelatine handbook: theory and industrial practice: John Wiley & Sons. 2007.

17. Asgarzadeh F, Atai M and Choobkar N. Investigation of solvent gelatin from lighthouse fish and farmed carp (Cyprinus carpio). The first national congress of halal food. 2019. [In Persian]

18. Hall GM. Fish processing: sustainability and new opportunities: Wiley Online Library. 2011.

19. Jayathilakan K, Sultana K, Radhakrishna K, Bawa A. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. Journal of food science and technology. 2012; 49(3): 278-93. https://dx.doi.org/10.1007%2Fs13197-011-0290-7

20. Karim AA, Bhat R. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. Trends in food science & technology. 2008; 19(12): 644-56. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.08.001

21. Russell J, Dolphin J, Koppang M. Selective analysis of secondary amino acids in gelatin using pulsed electrochemical detection. Analytical chemistry. 2007; 79(17): 6615-21. http://dx.doi.org/10.1021/ac070819w

22. Pollack S. Silicone, fibrel, and collagen implantation for facial lines and wrinkles. The Journal of dermatologic surgery and oncology. 1990; 16(10): 957-61. https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.1990.tb01560.x

23. Saddler J, Horsey P. The new generation gelatins: a review of their history, manufacture and properties. Anaesthesia. 1987; 42(9): 998-1004. https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.1987.tb05376.x

24. Tabarestani H, Maghsoudlou Y, Motamedzadegan A, Mahoonak A. Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (Onchorhynchus mykiss). Bioresource Technology. 2010; 101(15): 6207-14. http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.071

25. André F, Cavagna S, André C. Gelatin prepared from tuna skin: a risk factor for fish allergy or sensitization? International archives of allergy

Science of Food and Agriculture. 1995; 67(4): 461-467. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740670407

37. Griffiths P, De Haseth J. Fourier transform infrared spectrometry. 2nd edition. John Wiley & Sons; 2007.

38. Paradkar M, Sivakesava S, Irudayaraj J. Discrimination and classification of adulterants in maple syrup with the use of infrared spectroscopic techniques. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2003; 83(7): 714-21. https://doi.org/10.1002/jsfa.1067

39. Cebi N, Durak M, Toker O, Sagdic O, Arici M. An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. Food Chemistry. 2016; 190: 1109-15. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.065

40. Ali M, Kashif M, Uddin K, Hashim U, Mustafa S, Man YBC. Species authentication methods in foods and feeds: the present, past, and future of halal forensics. Food Analytical Methods. 2012; 5(5): 935-55. http://dx.doi.org/10.1007%2Fs12161-011-9357-3

41. Alaraidh I. Improved DNA extraction method for porcine contaminants, detection in imported meat to the Saudi market. Saudi Journal of Biological Sciences. 2008; 15(2): 225-9.

42. Montiel-Sosa J, Ruiz-Pesini E, Montoya J, Roncales P, Lopez-Perez M, Pérez-Martos A. Direct and highly species-specific detection of pork meat and fat in meat products by PCR amplification of mitochondrial DNA. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2000; 48(7): 2829-32. https://doi.org/10.1021/jf9907438

43. Aida A, Man Y, Wong C, Raha A, Son R. Analysis of raw meats and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication. Meat science. 2005; 69(1): 47-52. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.020

44. Lee J, Kim M, Jo C, Jung Y, Kwon K, Kang T. Specific PCR assays to determine bovine, porcine, fish and plant origin of gelatin capsules of dietary supplements. Food chemistry. 2016; 211: 253-9. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.060

45. Shabani H, Mehdizadeh M, Mousavi S, Dezfouli E, Solgi T, Khodaverdi M, et al. Halal authenticity of gelatin using species-specific PCR. Food Chemistry. 2015; 184: 203-6. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.140

46. Murugaiah C, Noor Z, Mastakim M, Bilung L, Selamat J, Radu S. Meat species identification and Halal authentication analysis using mitochondrial DNA. Meat science. 2009; 83(1): 57-61. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.03.015

47. Aida A, Che Man Y, Raha A, Son R. Detection of pig derivatives in food products for halal authentication by polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2007; 87(4): 569-572. http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2699

48. Martín I, García T, Fajardo V, Rojas M, Pegels N, Hernández P, et al. SYBR-Green real-time PCR approach for the detection and quantification of pig DNA in feedstuffs. Meat Science. 2009; 82(2): 252-9. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.01.023

49. Perestam A, Fujisaki K, Nava O, Hellberg R. Comparison of real-time PCR and ELISA-based methods for the detection of beef and pork in processed meat products. Food Control. 2017; 71: 346-52. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.017

50. Kang T, Tanaka T. Comparison of quantitative methods based on SYBR Green real-time qPCR to estimate pork meat adulteration in processed beef products. Food chemistry. 2018; 269: 549-58. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.141

51. Abd Mutalib S, Muin N, Abdullah A, Hassan O, Mustapha W, Sani N, et al. Sensitivity of polymerase chain reaction (PCR)-southern hybridization and conventional PCR analysis for Halal authentication of gelatin capsules. LWT-Food Science and Technology. 2015; 63(1): 714-9. http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.006

A Review of Modern Biotechnological Approaches in Halal Gelatin Analysis

Seyed Mohammad Ali Ebnetorab[1], Fereshteh Sahraei[1 *], Fatemeh Wafamehr[1]

1- Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO

Received: 20 February 2021

Acceptance: 21 June 2021

Keywords:

Halal Food
Gelatin
Protein
Deoxyribonucleic Acid
Polymerase Chain Reaction

ABSTRACT

Background and objective: The global market of halal products has expanded as Muslim and non-Muslim consumers desires have been increased in recent years to use products with halal labels. Islam is not just a religion, but a way of life, in which even eating has special rules, as the Qur'an, the holy book of Muslims, explains this concept in many verses, and in particular, 41 verses of the Qur'an is related to halal foods and beverages. Due to production conditions and concerns about the presence of pig-based derivatives, Gelatin is one of the products that has caused concerns among Muslims. For this reason, it is necessary to investigate the origin of products that are marketed with halal labels. Gelatin as a GRAS source is derived from the Latin word Gelatus, meaning hard or frozen, and has been used since about 1700 AD. It is a solid, translucent, colourless or pale yellow, brittle and tasteless and is one of the most widely used colloidal protein materials in the food and pharmaceutical, industrial and medical industries. It also has a high molecular weight that is soluble not only in water but also in glycerol and propylene glycol. The use of gelatin in the food industry includes food processing and formulation, including foam and emulsion, due to its high ability to absorb water, stabilizing tissue, creating a creamy state and reducing fat consumption in diet products.

Results: Various methods have been proposed to identify the origin of the produced gelatin, most of which are based on the identification of proteins and DNA. Protein-based methods include immunological techniques such as ELIZA and chromatographic methods, Fourier transform spectroscopy (FTIR) and chemical precipitation, DNA recognition methods including PCR based on species-specific primers, Real-Time PCR, RFLP-PCR and PCR-Southern hybridization on chip.

Conclusion: explain about the important components of gelatin and then, by introducing important laboratory methods to identify the origin of gelatin, we describe the methods above, relying on modern biotechnology approaches in gelatin analysis.

OPEN ACCESS

Use your device to scan and read the article online

Citation (Vancouver): Ebne ALtorab SMA, Sahraei F, Wafamehr F. A Review of Modern Biotechnological Approaches in Halal Gelatin Analysis. Journal of Halal Research. Summer 2021; 4(2): 77-88. [In Persian]
https://doi.org/10.30502/H.2021.135717

*Correspondance to: Fereshteh Sahraei, Email: Fereshte.sahraeii@gmail.com, Tel: +98-0912 505 3817

This paper is open access under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license