

速冻调理牛羊肉制品质量分析以及源性成分检测

赵丽娟, 马占峰, 徐大江, 徐 晶

哈尔滨市产品质量综合检验检测中心, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2023年12月6日; 录用日期: 2024年1月5日; 发布日期: 2024年1月12日

摘 要

肉制品掺假是肉类行业的常见问题, 牛羊肉掺假在速冻调理牛羊肉制品中尤为常见。速冻调理牛羊肉制品掺假因损害消费者经济利益, 危害人体健康而引起广泛关注。基于核酸检测技术的PCR方法越来越广泛地应用于羊肉掺假的鉴定中。本文对用于羊肉掺假的几种PCR方法进行综述, 旨在为羊肉及其肉制品掺假检测技术的研究提供参考。

关键词

掺假食品, 牛羊肉制品, PCR, 检测技术

Quality Analysis and Source Component Detection of Quick-Frozen Prepared Beef and Mutton Products

Lijuan Zhao, Zhanfeng Ma, Dajiang Xu, Jing Xu

Harbin Product Integrated Inspection and Testing Center, Harbin Heilongjiang

Received: Dec. 6th, 2023; accepted: Jan. 5th, 2024; published: Jan. 12th, 2024

Abstract

Adulteration of meat products is a common problem in meat industry, especially in quick-frozen prepared beef and mutton products. The adulteration of quick-frozen prepared beef and mutton products has attracted wide attention because it harms consumers' economic interests and human health. PCR based on nucleic acid detection technology is more and more widely used in the iden-

tification of mutton adulteration. In this paper, several PCR methods for the adulteration of mutton were reviewed in order to provide reference for the detection of adulteration of mutton and its meat products.

Keywords

Adulterated Food, Beef and Mutton Products, PCR, Detecting Techniques

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肉类作为我国动物食品消费的主要来源以其高热量、高蛋白的特点成为人类优质蛋白摄入的主要来源[1]。随着各种火锅、焖锅、烧烤等餐饮形式的流行，速冻调理牛羊肉制品受到人们的普遍青睐，这也导致肉制品消费比例在我国食品行业所占的比重逐年增长。然而价格差异带来的经济利益驱使一些不法商贩和企业牛羊肉等高价肉制品中掺入低廉肉种、超量超范围使用添加剂以谋取高额利润，严重侵害了消费者权益和健康。传统的感官鉴别技术已经无法对速冻调理牛羊肉制品的真伪进行准确的鉴定。

2. 速冻调理牛羊肉制品质量现状

在我国速冻调理牛羊肉制品掺假已是行业内公开的秘密，然而由于缺乏相应检测技术的支撑以及部分无良商家经济利益的驱使，使得肉类掺假现象一直未得到有效监管。李楠等在超市、农贸市场和餐饮企业环节抽样，对 86 份牛、羊肉片样品开展源性成分检测，共有 30 份检出了猪、鸡、鸭成分，总掺假率为 34.9%；37 份牛肉片样品中 10 份检测出猪、鸡、鸭成分，掺假率 27.0%；49 份羊肉片样品中 20 份检测出猪、鸡、鸭成分，掺假率 40.8%。按照采样地点分类，可以看出农贸市场的掺假率最高，达到 77.3%；超市的掺假率最低，为 11.1% [2]。

3. 速冻调理牛羊肉制品常见质量问题

速冻调理牛羊肉制品常见用低价肉代替高价肉、超量超范围使用添加剂、标签作假等质量问题。

3.1. 原料肉造假

原料肉造假是目前速冻调理牛羊肉制品造假的主要方式之一。市场上各种便宜生鲜肉品如鸭肉因其颜色和形态与羊肉较为相似，是造假者首选原料肉。另外，一些毛皮养殖类动物如(狐狸、水貂等)取皮后剩下的肉经济价值不高，不法分子低价收购加工这类肉制品制成假羊肉牟利。这类肉制品在饲养过程中，饵料中添加了大量激素不宜食用。

3.2. 超量超范围使用添加剂

为改善产品口感、降低生产成本以及改善肉制品的组织结构，肉制品生产企业在生产环节使用一定量的添加剂。焦磷酸钠、六偏磷酸钠和三聚磷酸钠等常作为水分保持剂添加到速冻调理肉制品中，用以提高肉制品的保水性以及成品率。GB2760—2014《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》规定速冻调理肉制品中复合磷酸盐的最大使用量不超过 5 g/kg (以磷酸根计)，当膳食中磷酸盐摄入过多时，会导致人

体的钙磷比失衡。大量复合磷酸盐保水剂的使用能使假羊肉加水重量增加 20%~30% [3]。谷氨酰胺转氨酶(简称 TG 酶)常用于涮羊肉、火锅肉片等碎肉块重组,利用肉制品加工中的副产品(如小肉块、脱骨碎肉、肥肉等下脚料)在合适的条件下发生交联反应重组成大的肉块。GB2760—2014《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》规定以茂原链轮丝菌(又名茂源链霉菌)为来源生产的谷氨酰胺转氨酶可以作为加工助剂使用于速冻调理肉制品中。用 TG 酶生产重组肉时,不仅可以将碎肉粘结在一起,还可以将各种非肉蛋白交联到肉蛋白上,达到以假乱真的整块肉的视觉效果。

3.3. 标签作假

标签作假发生在销售环节,经销者使用低价产品冒充高价产品,如以混合牛羊肉卷冒充纯牛羊肉卷销售,或者在产品配料表中不标识低价原料肉,不标识全部配料(如添加剂、色素等),以次充好误导消费者。

3.4. 生产环节带入

速冻牛羊肉卷生产过程中,部分企业在生产牛羊肉卷的同时为满足市场需求还会共线生产混合肉卷。生产设备清洁不彻底的情况下,存在将混合肉卷生产用的原料肉带入牛羊肉卷的可能性。我国现行有效的源性成分检验方法灵敏度较高,较低含量的带入也有可能检出外源性成分。

在实际的抽检工作中,我们会发现这几种情况通常会同时存在,扰乱了速冻牛羊肉制品的消费市场。由于肉类产品种类繁多、成分复杂,而且掺杂物质种类多,外观组成和理化性质又很接近,通常很难用一般的化学方法判定真伪。有效的检测方法的开展,是有效监督并提升速冻牛羊肉制品质量的关键因素。

4. 速冻牛羊肉制品源性成分检测方法

常见的肉制品真伪鉴别方法包括基于形态学、代谢组学、蛋白质组学和基因组学这四大类真伪鉴别方法。其中基于聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)的 DNA(脱氧核糖核酸)分析方法应用最为广泛。通过生物体外的特殊 DNA 复制,将微量的 DNA 大幅增加,而后对不同物种特异性基因比对分析,设计出相应的特异性引物,满足对物种种源鉴别的需求。食品中肉类成分鉴定基因的选择以线粒体 DNA 为主。线粒体 DNA 是双链核外遗传物质,在动物体内含量丰富,具有分子量小、分子进化速度快、结构基因保守性强,物种间差异大,种间较为稳定等特点。

在速冻调理肉制品源性成分掺假的多种检测方法中,基于 DNA 的物种鉴定技术逐渐取代其他传统技术。普通 PCR、实时荧光定量 PCR 和数字 PCR 因其检测快速、特异性强和灵敏度高等优点广泛应用于各类检验检测领域,发展为源性成分检定的主要方法,这几种方法包括相同的反应动力学,但是产物的分析方法不同。目前食品检验检测领域源性成分鉴定的标准大部分是基于荧光定量 PCR 检测,少部分产品采用普通 PCR 方法,未见以数字 PCR 为基础的源性成分检验标准。

4.1. 普通 PCR 检测

普通 PCR 检验对扩增产物进行终点检测,在琼脂糖凝胶电泳上通过成像确定产物的大小及相对量。SN/T2978-2011《动物源性产品中鸡源性成分 PCR 检测方法》、SN/T3731.2-2013《食品及饲料中常见禽类品种的鉴定方法第 2 部分:鹅成分检测》以及 SN/T3731.5-2013《食品及饲料中常见禽类品种的鉴定方法第 5 部分:鸭成分检测》采用了普通 PCR 法进行源性成分检测。这类方法灵敏度高,特异性强,样品受加工处理及待鉴定基质中复杂干扰成分的影响较小,鉴定结果准确。由于需要手工制作琼脂糖凝胶电泳,普通 PCR 检测工作量较大、耗时较长,同时由于产物分析不是在闭管内进行的,存在一定的污染概率。PCR 扩增产物电泳检测结果阳性的,需要经过测序确证含有相关阳性成分才能进行阳性结果判定。

4.2. 实时荧光定量 PCR 检测

荧光定量 PCR 是在整个反应体系中加入荧光基团, 在扩增过程中实时监测荧光信号, 利用标准曲线对未知模板进行定量分析。依据荧光基团的不同, 实时荧光定量法分为染料和探针法。染料法的原理是染料与 DNA 双链结合并且产生荧光信号。染料处于游离态, 荧光信号弱, 但随着扩增产物不断增加, 荧光信号也随之增加。探针法的原理是目标序列和探针结合, 探针受到聚合酶作用降解, 荧光基团离开荧光猝灭基团, 产生荧光信号。GB/T38164-2019《常见畜禽动物源性成分检测方法实时荧光 PCR 法》、SN/T2051-2008《食品、化妆品和饲料中牛羊猪源性成分检测方法实时 PCR 法》和 SN/T3730-2013《食品及饲料中常见畜类品种的鉴定方法第 1-8 部分实时荧光 PCR 法》等标准规定了食品中源性成分实时荧光 PCR 检测方法。该方法具有自动化程度高、特异性强、灵敏度高、定量范围宽、实时监测结果等优点, 同时由于闭管进行检测降低了环境和样本之间污染的可能性。

4.3. 数字 PCR 检测

数字 PCR(digital PCR, dPCR)是近 20 年兴起的第 3 代 PCR 技术。通过对原始反应体系进行有限的大量分割, 将参与扩增的组分和体系中的模板分配到单个的反应单元中。理想状态下, 每个反应单元含有一个或没有目标分子。在 PCR 扩增结束之后, 采集每个反应单元信号, 含有靶标分子的单元经 PCR 扩增后呈现阳性信号, 另一部分不含有靶标分子的单元在 PCR 扩增后则显示为阴性, 利用阳性和阴性 PCR 反应单元数目计算样本中的靶标分子的绝对数量, 最后根据阳性反应的比例或泊松分布公式计算样本的原始浓度或拷贝数获得最终结果。这种定量方法无需依赖标准曲线和内参基因, 可实现对样品的绝对定量检测, 无需考虑引物扩增效率, 具有灵敏度高、重复性好、抗干扰等优点。

目前, 转基因食品检测领域颁布了部分数字 PCR 相关标准, 食品源性成分检测方面并无此类标准出台。数字 PCR 技术对肉及其制品掺假成分进行定性筛查和定量检测的研究才刚刚起步, 有少部分学者开始建立不同动物源性成分的检测体系。王珊等建立了一种定量检测羊肉制品中羊源性与猪源性成分的方法, 并通过比较数字 PCR 法与实时荧光 PCR 法的检测结果, 认为数字 PCR 检测技术可通过各目标成分基因拷贝数的显著差异来判断掺假样品是污染所致还是故意添加, 而实时荧光 PCR 则无法进行判别[4]。

5. 小结与讨论

受经济利益驱使, 速冻调理牛羊肉制品中源性成分掺假是速冻调理肉制品掺假的主要和直接方式, 这种掺假模式技术手段不高, 成本低廉。在食品安全检测方面应该有针对性的制定相关标准, 进行监管。基于核酸检测的 PCR 技术是目前应用较为广泛的方法, 由于基因的热稳定性高于蛋白质, 因此给肉类加工品掺假的检测带来了长足的飞跃。普通 PCR、荧光定量 PCR 和数字 PCR 三种检测方法均可实现牛羊肉制品源性成分的鉴定, 可以检测到最高不超过 1% (质量分数)的微量的掺假[5]。普通 PCR 由于产物分析不是闭管进行的, 存在一定污染可能性。荧光定量 PCR 由于是在闭管中进行检测的, 降低了污染的可能性, 可检测出肉类掺假物种, 现有国家标准可实现对速冻调理肉制品中掺假成分的定性检测, 简单快速, 准确可靠, 但其无法达到精准定量分析, 无法确定掺假程度, 所以待进一步的定量检测研究。数字 PCR 根据质量与 DNA 拷贝数之间的线性关系, 可精确检测出肉制品的掺假的拷贝数, 特异性强, 灵敏度高, 耗时短, 但无现行有效的国家标准可参照。随着技术的发展, 建立一种耗时短、花费少、灵敏度高的检测方法是肉类产假行业的必然之事, 随着肉制品掺假检测技术的逐步成熟, 肉制品掺假必将寸步难行。尽管肉及肉制品掺假并不一定会对人体健康造成危害, 但对消费者来说依然存在潜在食品安全隐患和经济利益的损失, 必须用严厉的监管手段予以打击。

参考文献

- [1] 李志敏, 黄莉丹, 李迎利, 邓亚菲. PCR 技术检测羊肉中掺假动物源性成分[J]. 中国食品工业, 2022(17): 91-95.
- [2] 李楠, 王佳慧, 沈青, 李凤琴, 徐进, 江涛. 北京地区牛、羊肉片中鸭、鸡、猪源性成分调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(3): 227-232.
- [3] 刘达玉, 肖龙泉, 张壺, 王卫. 假羊肉泛滥成因及其制假滥象[J]. 现代食品, 2018(2): 32-35.
- [4] 王珊, 李志娟, 苗丽. 微滴式数字 PCR 与实时荧光 PCR 检测羊肉制品中羊源和猪源性成分方法的比较[J]. 肉类工业, 2015(7): 38-41.
- [5] 中国国家标准化管理委员会. 常见畜禽动物源性成分检测方法实时荧光 PCR 法 GB/T38164-2019 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.