دانشکده کشاورزی

گروه علوم دامی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

تشخیص کمی تقلب بافت طیور در سوسیس و کالباس گاوی با استفاده از تکنیک Real- Time PCR

سید جلیل داورپناه

شهریور ۱۳۹۰

دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

تشخیص کمی تقلب بافت طیور در سوسیس و کالباس گاوی با استفاده از تکنیک Real- Time PCR

سید جلیل داورپناه

اساتید راهنما

دکتر مجتبی طهمورث پور

دکتر محمد رضا نصیری

استاد مشاور

دکتر علی اصغر اسلمی نژاد

شهریور ۱۳۹۰

تعهد نامه

عنوان پایان نامه:

تشخیص کمی تقلب بافت طیور در سوسیس و کالباس گاوی با استفاده از تکنیک Real- Time PCR.

اینجانب سید جلیل داورپناه دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته ژنتیک و اصلاح دام دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی جناب آقای دکتر مجتبی طهمورث پور و جناب آقای دکتر محمد رضا نصیری متعهد می‌شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان‌نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می‌گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد یگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان‌نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان‌نامه تاثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.
- در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان‌نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

تاریخ

نام و امضاء دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم‌افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.

استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

دانشگاه فردوسی مشهد

دانشکده کشاورزی- گروه علوم دامی

تصویب نامه

این پایان نامه با عنوان « تشخیص کمی تقلب بافت طیور در سوسیس و کالباس گاوی با استفاده از تکنیک Real- Time PCR » توسط « سید جلیل داورپناه» در تاریخ ۱۳۹۰/۶/۳۰ با نمره۱۹.۳۱ و درجه ارزشیابی عالی در حضور هیات داوران با موفقیت دفاع شد.

هیات داوران:

ردیف	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	سمت در هیات	امضاء
۱	آقای دکتر مجتبی طهمورث پور	دانشیار	استاد راهنما	
۲	آقای دکتر محمدرضا نصیری	دانشیار	استاد راهنما	
۳	آقای دکتر علی اصغر اسلمی نژاد	استادیار	استاد مشاور	
۴	آقای دکتر سید حسن مرعشی	دانشیار	استاد مدعو	
۵	آقای دکتر سید علیرضا وکیلی	استادیار	استاد مدعو	
۶	آقای دکتر حسن کرمانشاهی	استاد	نماینده تحصیلات تکمیلی	

چکیده

متاسفانه در سالهای اخیر تقلبات در تولید مواد غذایی افزایش چشمگیری داشته است و شناسایی بقایای بافتهای دامی در مواد خوراکی اهمیت روزافزونی یافته است. لذا تشخیص اختصاصی گونه ها و شناسایی گروه های حیوانی مورد استفاده در مواد غذایی امری ضروری می باشد. به دلیل حضور DNA در همه سلول ها، می توان جهت تشخیص گونه حیوانی از آن استفاده کرد. یکی از بهترین راه های تشخیص تقلب در مواد غذایی استفاده از روشهای مولکولی مبتنی بر PCR می باشد. در این تحقیق از توالی 12S rRNA از mtDNA برای تشخیص تقلب استفاده شد. آغازگرهای اختصاصی طراحی شده جایگاه ژنی 12S rRNA طیور در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به منظور تشخیص تقلب در ۱۳ نمونه سوسیس و کالباس به کار گرفته شد. قطعه‌ی ۹۱ جفت بازی که با استفاده از آغازگر طیور تکثیر شد را در داخل ناقل pTZ57R/T همسانه سازی شد. پلاسمید نوترکیب، استخراج گردید و پس از تعیین غلظت، رقت سازی شد و به عنوان DNA استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. نتایج با استفاده از منحنی استاندارد حاصل از پلاسمید حاوی قطعه‌ی ۹۱ جفت بازی از جایگاه ژنی 12S rRNA (R^2 = % 98) تعیین کمیت شدند. کمی سازی در دامنه‌ی وسیع خطی(۵۰ تا ۵۰۰۰۰۰۰ کپی) جهت ارزیابی تعداد کپی‌های قطعه‌ی هدف در نمونه‌های سوسیس و کالباس مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۱۰۰٪ نمونه‌های سوسیس وکالباس بر پایه گوشت گاو دارای مقادیر متفاوتی از آلودگی بافت طیور بودند. بنابراین تکنیک Real-time PCR می‌تواند به عنوان روشی مرجع برای تشخیص کمی دقیق تر تقلبات معرفی گردد.

کلید واژه‌ها: تشخیص تقلب، کمی‌سازی، mtDNA، 12S rRNA، Real-Time PCR.

پس از حمد و سپاس الهی و سلام بی کران بر حضرت بقیه الله العظم (عج)

اینجانب وظیفه خود می دانم که از راهنمایی های اساتید عزیز آقایان دکتر مجتبی طهمورث پور و دکتر محمد رضا نصیری تشکر و سپاسگزاری کنم همچنین از آقای مهندس امیر طاهری به خاطر همراهی هایشان در تمامی مراحل انجام این تحقیق تشکر ویژه دارم. از تمامی دوستان و آشنایان به ویژه دعاهای پاک مادرم، حمایت های پدرم و صبوری همسرم بی نهایت سپاسگزارم.

در پایان با توجه به این مطلب که تمامی نقایص تحقیق انجام گرفته از جانب این بنده حقیر بوده، این تلاش را هر چند ناقابل، به محضر قطب عالم امکان حضرت مهدی (عجل الله تعالی فرجه الشریف) تقدیم می کنم، به امید آنکه قدمی در زمینه سازی ظهور برداشته باشم.

فهرست مطالب

۱- مقدمه ۱

۱-۱- اهمیت موضوع ۱

۱-۲- اهداف تحقیق ۳

۲- بررسی منابع ۵

۲-۱- ضرورت شناسایی ناخالصی ها در مواد غذایی ۵

۲-۲- روش های رایج تقلب در فرآورده های گوشتی ۶

۲-۳- روش های تشخیص ناخالصی ها در مواد غذایی ۷

۲-۳-۱ - روش ریزبینی (میکروسکوپی) ۷

۲-۳-۱-۱- معایب روش ریزبینی ۷

۲-۳-۲- روش ELISA ۸

۲-۳-۳- روش Near Infrared Microscopy ۹

۲-۳-۴- روش کروماتوگرافی مایع (HPLC) ۹

۲-۳-۵- روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) ۹

۲-۳-۵-۱- مزایای تکنیک های مبتنی بر DNA ۱۰

۲-۴- مقایسه روش های مختلف تشخیص ناخالصی ها ۱۱

۲-۵- نشانگرهای DNA در تشخیص تقلبات ۱۲

۲-۶- انواع DNA و RNA های مورد استفاده در تشخیص تقلب ۱۳

۲-۶-۱- Ribosomal RNA (rRNA) ۱۳
۲-۶-۲- DNA ژنومی یا کروموزومی ۱۳
۲-۶-۳- DNA میتوکندری (mtDNA) ۱۳
۲-۷- اهمیت mtDNA در گونه های مختلف ۱۵
۲-۷-۱- تشخیص اختصاصی گونه ها ۱۵
۲-۷-۲- تنوع ژنتیکی ۱۶
۲-۸- مزایای mt DNA در تشخیص تقلب ۱۶
۲-۹- مروری بر تحقیقات صورت گرفته بر روی mtDNA ۱۷
۲-۱۰- مهندسی ژنتیک در QRT-PCR ۱۹
۲-۱۰-۱- تاریخچه همسانه‌سازی ژن ۱۹
۲-۱۰-۲- روش TA Cloning ۲۰
۲-۱۰-۳- ابزارهای کار مهندسی ژنتیک ۲۱
۲-۱۰-۴- مراحل همسانه‌سازی ژن ۲۱
۲-۱۰-۵- ناقلین همسانه‌سازی ۲۲
۲-۱۰-۶- ناقل pTZ57R/T ۲۴
۲-۱۱- میزبان‌ها ۲۵
۲-۱۲- روشهای کمیسازی اسیدهای نوکلئیک ۲۷
۲-۱۲-۱- مشکلات آنالیزهای کمی در واکنش PCR معمولی ۲۸
۲-۱۲-۲- اساس روش PCR رقابتی ۲۹

۲-۱۳- روش Real-time PCR ۳۰
۲-۱۳-۱- برخی مفاهیم و اصطلاحات Real-time PCR ۳۳
۲-۱۳-۱-۱- خط پایه ۳۳
۲-۱۳-۱-۲-گزارشگر نرمال شده یا Rn ۳۳
۲-۱۳-۱-۳- منحنیهای استاندارد ۳۵
۲-۱۳-۱-۴- دامنه دینامیکی ۳۷
۲-۱۳-۲- مقایسه Real-time PCR و PCR معمولی ۳۹
۲-۱۳-۳- مقایسه Real-time PCR و RT-PCR به شیوه معمولی ۳۹
۲- ۱۳- ۴- رنگهای گزارشگر ۴۰
۲-۱۳-۵- استفاده از سایبرگرین ۴۱
۲-۱۳-۶- ماده آزمایشی در آزمایشات Real-time PCR ۴۲
۲-۱۳-۷- قطعه هدف ۴۳
۲-۱۳-۸- طراحی آغازگر های اختصاصی Real-time PCR ۴۳
۲-۱۳-۹- کنترلهای واکنش ۴۴
۲-۱۳-۱۰- رنگ مرجع خنثی استفاده شده در دستگاه ABI 7300 ..... ۴۵
۲-۱۳-۱۱- اثر پرایمر دایمر بر PCR کمی ۴۶
۲-۱۳-۱۲- روشهای مختلف تعیین کمیت بوسیله Real-time PCR ۴۷
۲-۱۳-۱۲-۱- تعیین کمیت مطلق ۴۷
۲-۱۳-۱۲-۲- تعیین کمیت نسبی ۴۸
۲-۱۳-۱۳- کاربردهای استفاده از تکنیک Real-time PCR ۴۹

۳- مواد و روشها ۵۱
۳-۱- نمونه‌گیری ۵۱
۳-۲- روش استخراج DNA از بافت گاوی سوسیس و کالباس با استفاده از کیت Bioneer ۵۱
۳-۳- تعیین کیفیت و کمیت DNA استخراج شده ۵۲
۳-۴- طراحی آغازگرها ۵۳
۳-۵- انجام PCR برای ردیابی قطعه هدف توالی 12s rRNA از mtDNA ۵۳
۳-۵-۱- برنامه حرارتی مورد استفاده جهت تکثیر قطعه ی هدف ۵۴
۳-۵-۲- مواد و مقادیر لازم برای انجام PCR برای یک واکنش ۵۴
۳-۶- همسانه‌سازی قطعه الگو در باکتری DH5α ۵۵
۳-۶-۱- تهیه محیط کشت باکتری ۵۵
۳-۶-۲- کشت خطی و کشت مایع باکتری DH5α ۵۶
۳-۶-۳- تهیه سلول‌های مستعد ۵۶
۳-۶-۴- واکنش لیگاسیون ۵۷
۳-۶-۵- انتقال پلاسمیدها به باکتری ۵۸
۳-۶-۶- غربالگری پرگنه‌ها ۵۸
۳-۶-۷- استخراج پلاسمید نوترکیب با استفاده از کیت Roche ۵۹
۳-۶-۸- تعیین کیفیت و کمیت پلاسمید نوترکیب استخراج شده ۶۰
۳-۶-۹- روشهای استفاده شده جهت تأیید صحت پلاسمید نوترکیب ۶۰
۳-۶-۹-۱- کلونی PCR ۶۰
۳-۶-۹-۲- هضم دوآنزیمی پلاسمید ۶۱

۳-۷- Real-Time PCR ۶۲
۳-۷-۱- ساخت استاندارد با استفاده از DNA پلاسمیدی ۶۲
۳-۷-۲- مراحل ساخت رقت های ساخته شده ۶۳
۳-۷-۳- مرحله واکنش زنجیرهای پلیمراز در Real-Time PCR ۶۷
۳-۷-۴- کنترل منفی (NTC) ۶۸

۴- نتایج و بحث ۶۹
۴-۱- تعیین کمیت و کیفیت DNA ۶۹
۴-۲- برسی محصولات PCR ۷۱
۴-۳- همسانه‌سازی قطعه 12S rRNA ۷۲
۴-۳-۱- تأیید صحت توالی همسانه‌شده ۷۳
۴-۳-۱-۱- اندازه‌گیری کمیت و کیفیت پلاسمید نوترکیب ۷۳
۴-۳-۱-۲- نتایج هضم دوآنزیمی ۷۴
۴-۴- نتایج حاصل از Real-time PCR ۷۶
۴-۴-۱- نتایج منحنیهای تکثیر استانداردها ۷۶
۴-۴- ۲- نتایج منحنی ذوب حاصل از نمونه ها ۷۷
۴-۴-۳- نتایج منحنیهای سایبرگرین و راکس ۷۸
۴-۴- ۴- رسم منحنی استاندارد ۷۹
۴-۴- ۵- محاسبه تعداد نسخههای نمونههای مجهول با استفاده از معادله منحنی استاندارد ۸۲
۴-۴- ۶- محاسبه بازدهی تکثیر در Real-time PCR ۸۵

۵- نتیجه گیری و پیشنهادات ۸۷

۶- فهرست منابع: ۸۹

فهرست جداول

جدول ۲-۱. ساختار انتهایی ′۳ محصولات تولیده بوسیله Taq پلیمراز ۲۱

جدول ۲- ۲. عناصر ژنتیکی ناقل pTZ57R/T ۲۵

جدول ۲- ۳. خصوصیات ژنتیکی باکتری DH5α ۲۶

جدول ۲- ۴. مزایا و معایب RT-PCR در مقابل cPCR ۳۲

جدول ۳ - ۱ . مشخصات آغازگر طراحی شده ۵۳

جدول ۳ - ۲ . برنامه حرارتی مورد استفاده جهت تکثیر قطعه ی هدف ۵۴

جدول ۳ - ۳ . مواد و مقادیر لازم برای انجام PCR برای یک واکنش ۵۴

جدول ۳ - ۴ . وزن های محاسبه شده پلاسمید مورد نیاز برای تعداد نسخه های متفاوت. ۶۴

جدول ۳ - ۵ . محاسبه غلظت نهایی از هر رقت استفاده شده ۶۵

جدول ۳ - ۶ . رقت سازی جهت ساخت منحنی استاندارد ۶۶

جدول ۳ - ۷ . مواد و مقادیر لازم برای انجام واکنش Real-Time PCR ۶۷

جدول ۳ - ۸ . برنامه حرارتی استفاده شده توسط دستگاه ABI ۶۸

جدول۴-۱ . مختصات و ویژگی های منحنی استاندارد در آزمایش. ۸۰

جدول۴-۲ . گزارش نتایج استانداردها. ۸۱

جدول۴-۳ . جدول گزارش نتایج نمونه های مجهول با استفاده از منحنی استاندارد ۸۳

جدول ۴-۴ .بررسی تقلب در نمونه های مختلف ۸۴

فهرست اشکال

شکل ۲– ۱. شمای کلی انجام همسانه‌سازی..... ۲۰

شکل ۲– ۲ . نقشه پلاسمید pTZ57R/T و مکان‌های برشی آن..... ۲۴

شکل ۲– ۳. فاز ثابت در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز..... ۲۹

شکل ۲– ۴. مفهوم دلتا Rn..... ۳۴

شکل ۲– ۵. منحنی استاندارد ایجاد شده با استفاده از یک سریال رقتی ۱۰ برابر..... ۳۶

شکل ۲–۶. منحنی استاندارد در یک واکنش ضعیف..... ۳۸

شکل ۲– ۷ . منحنی استاندارد در یک واکنش مطلوب..... ۳۸

شکل ۲– ۸ . مقایسه مراحل RT-PCR معمولی و Real- Time PCR برای تعیین کمیت..... ۴۰

شکل ۲– ۹ . سازوکار رنگ سایبرگرین..... ۴۲

شکل ۲– ۱۰ . منحنی ذوب یک واکنش نامطلوب PCR..... ۴۶

شکل ۲– ۱۱ . نمایی از روش تعیین کمیت مطلق..... ۴۸

شکل ۳ – ۱ . دستگاه ABI (Applied Biosystems 7300) مورد استفاده در این تحقیق..... ۶۲

شکل۴–۲ . خروجی نانودراپ اسپکتروفتو متری..... ۷۱

شکل۴–۳ . تکثیر قطعه ۹۱ جفت بازی از توالی 12S rRNA در نمونه های مورد مطالعه..... ۷۲

شکل۴–۴ . پرگنه‌های آبی رنگ تولید شده از باکتری‌های حاوی پلاسمید (کنترل منفی)..... ۷۲

شکل۴–۵ . پرگنه‌های سفیدرنگ تولید شده از باکتری‌های دریافت کننده پلاسمید نوترکیب..... ۷۳

شکل۴–۶ . خروجی نانودراپ اسپکتروفتو متری..... ۷۴

شکل۴-۷ . تأیید صحت توالی قطعه همسانه‌شده توسط هضم دوآنزیمی.....۷۵

شکل۴-۸ . منحنی واکنش تکثیری استاندارد ها.....۷۶

شکل۴-۹ . منحنی ذوب.....۷۷

شکل۴-۱۰ . Component plot.....۷۸

شکل۴-۱۱ . منحنی استاندارد رسم شده توسط نرم افزار ABI.....۷۹

فهرست علائم و اختصارات

علائم	لاتین	فارسی
µg	Microgram	میکروگرم
µl	Microlitre	میکرولیتر
Bp	Base pair	جفت باز
cPCR	Competitive PCR	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز رقابتی
Ct	Cycle Treshold	سیکل آستانه
DNA	Deoxyribonocleic Acid	اسید دزوکسی ریبو نوکلئیک
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay	الایزا
Kg	Kilogram	کیلوگرم
LB	Lauria – Bertani	لوریا- برتانی
NCBI	National center of biotechnology information	مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی
Ng	Nanogram	نانوگرم
NTC	Non Template Control	کنترل منفی
PCR	Polymerase Chain Reaction	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
qPCR	Quantitative PCR	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی
qRT-PCR	Quantitative Real-time PCR	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی در زمان واقعی
Rpm	round per minute	دور در دقیقه
RT-PCR	Real-time PCR	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی
NIRM	Near Infrared Microscopy	طیف سنجی با مادون قرمز
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism	چند شکلی حاصل از طول قطعات هضم
MBM	Meat and bone meal	گوشت و پودر استخوان
MCS	Multiple Cloning Site	جایگاه چندگانه همسانه سازی

فصل اول

۱- مقدمه

۱-۱- اهمیت موضوع

نگرانی های مصرف کنندگان مواد غذایی به جهت احتمال وجود تقلب در محصولاتی که ظاهر آن دلیلی بر صحت سلامتی محصول ندارد کاملا منطقی به نظر می رسد. امروزه با توجه به رشد بسیار بالای جمعیت و به موازات آن، نیاز روز افزون مصرف کنندگان به محصولات و فرآورده های دام وطیور، همواره عده زیادی از تولید کنندگان مواد غذایی در تکاپوی یافتن راهکارهایی اصولی برای کاهش هزینه های مواد اولیه مورد استفاده خود هستند تا ازاین طریق موفق به افزایش منافع مالی خود شوند، که این راهکارها همیشه معقول ومنطقی نیستند و متاسفانه در سالهای اخیر تقلبات در تولید مواد غذایی افزایش چشمگیری داشته است و در همین راستا شناسایی بقایای بافتهای دامی در مواد خوراکی مورد استفاده انسان، طیور و دامهای اهلی اهمیت روزافزونی یافته است (چنگ و همکاران، ۲۰۰۴، فرانسیسکو وهمکاران، ۲۰۰۷، مایرز وهمکاران، ۲۰۰۱).

به لحاظ وجود بیماریهای چون جنون گاوی و آنفولانزای پرندگان، دلایل اقتصادی ، عقاید مذهبی و مسائل بهداشتی، شناسایی گونه های حیوانی مورد استفاده در فرآورده های پروتئینی مصرفی انسان بسیار با اهمیت است. اتحادیه اروپا با وضع قوانین سختگیرانه و بر چسب گذاری بر روی محصولات مواد غذایی، آنها را کنترل می نماید.

گاهی اوقات اطلاعات مندرج بر روی محصولات غذایی تضمینی بر صحت آن نیست. لذا توسعه روشهای که بتواند وجود انواع گونه های حیوانی استفاده شده در مواد غذایی را شناسایی و اثبات نماید جهت کنترل مواد غذایی تولید شده ضروری به نظر می رسد(دی پینتو وهمکاران، ۲۰۰۵).

با توجه به این مطلب که تشخیص اجزای تشکیل دهنده فراورده های غذایی همیشه از طریق روش های فیزیکی و شیمیایی مقدور نمی باشد، لذا استفاده از روشهای جدید دقیق امری ضروری است. امروزه تکنیک های که بر اساس مولکول پروتئین و DNA پایه گذاری شده باشد به شکل گسترده ای مورد استفاده قرار می گیرد. از جمله روشهای توسعه داده شده در این زمینه می توان به الکترو فورز، نقطه ایزوالکتریک، کروماتوگرافی، هیبریداسیون DNA ، ELISA و PCR اشاره کرد. پیشرفت فوق العاده علم بیوتکنولوژی در سالهای اخیر و دقت بسیار بالای تکنیکهای مولکولی مبتنی بر PCR، بررسی روشهایی که بتواند با سرعت زیاد ودقت بسیار بالا در تشخیص تقلبات و شناسایی انواع گونه های حیوانی (گاو، گوسفند، بز، اسب سانان و خوک سانان) در فرآورده های پروتئینی مورد استفاده در تغذیه انسان مانند سوسیس کالباس و گوشت چرخ کرده و خوراک دام و طیور بشدت قابل لمس بوده وفقدان آن مشهود است. بر همین مبنا جهت حمایت از حقوق مصرف کنندگان باید از روشهای مولکولی مبتنی بر PCR جهت بررسی اعمال

تقلب در مواد غذایی و محصولات جانبی فرآورده های دامی وخوراک دام و طیور به بهترین نحو ممکن بهره گرفت.(وولف و لودی، ۲۰۰۱، ماتسوناگا وهمکاران، ۱۹۹۹).

۱-۲- اهداف تحقیق

با توجه به مطالبی که بیان شد هدف از این تحقیق بهینه سازی روش Real Time PCR جهت تشخیص کمی گونه حیوانی مورد استفاده در مواد غذایی فرآوری شده گوشتی و شناسایی کمی تقلب می باشد. از جمله اهداف دیگر این تحقیق استفاده از روشی با قابلیت اطمینان بالا می باشد ، تا بتوان اطلاعات دقیق تری ارئه کرد و از مزایای این تحقیق دقت بسیار بالای تکنیک Real Time PCR ، توانایی بررسی آنالیز داده ها ، قابلت اعتماد بالای نتایج و تکرارپذیری آن می باشد. امید است با فراهم کردن زمینه تشخیص دقیق تر تقلبات در مواد خوراکی توجه بیشتر مسئولین مربوطه را به دنبال داشته باشد.