کاربرد طیف‌سنجی رامان و PCR اختصاصی در کنترل اصالت و شناسایی تقلب گونه‌ای در گوشت گاو

آسیه حسن زاده[۱]، پارسا بغدادی[۲*]

[۱] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی بصیر آبیک و دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران

[۲*] دانشجو کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی بصیر آبیک

چکیده

تشخیص تقلب گونه‌ای در محصولات گوشتی، به ویژه اختلاط گوشت مرغ یا خوک در گوشت گاو، برای تضمین اصالت و امنیت غذایی حیاتی است. طیف‌سنجی رامان، به دلیل سرعت و قابلیت غیرتهاجمی، برای غربالگری سریع نمونه‌ها مناسب است، اما حساسیت محدود و نیاز به الگوریتم‌های شیمی‌متری پیشرفته، کاربرد آن را در نمونه‌های با تنوع بالا محدود می‌کند. در مقابل، PCRاختصاصی و multiplex PCR امکان شناسایی دقیق DNA گونه‌های مختلف با حساسیت تا ۰.۰۱٪ را فراهم کرده و در محصولات فرآوری‌شده و حرارت‌دیده نیز قابل اعتماد است. این روش‌ها با استانداردهای بین‌المللی ENGL و ISO اعتبارسنجی شده‌اند و قابلیت کمی‌سازی دقیق اختلاط گونه‌ها را دارند. مقایسه این دو تکنیک نشان می‌دهد که رامان برای غربالگری سریع و غیرتهاجمی مناسب است، در حالی که PCR به عنوان روش تأییدی و کمی‌سازی قابل اعتماد عمل می‌کند. ترکیب این روش‌ها، با استفاده از رامان برای شناسایی اولیه و PCR برای تأیید، رویکردی عملی و قابل‌استناد برای کنترل تقلب گونه‌ای در محصولات گوشتی ارائه می‌دهد. محدودیت‌های عملی رامان، از جمله هزینه تجهیزات، حساسیت به شرایط محیطی و نیاز به کالیبراسیون مداوم، ضرورت استفاده مکمل PCR را برجسته می‌کند. آینده تشخیص تقلب شامل توسعه دستگاه‌های قابل حمل رامان و تحلیل مبتنی بر هوش مصنوعی برای PCR است. این رویکرد ترکیبی می‌تواند امنیت غذایی را بهبود بخشد و اعتماد مصرف‌کننده را افزایش دهد. در این تحقیق به بررسی کاربرد طیف‌سنجی رامان و PCR اختصاصی در کنترل اصالت و شناسایی تقلب گونه‌ای در گوشت گاو می پردازیم.

کلمات کلیدی: گوشت گاو، تقلب گونه‌ای، رامان، PCR اختصاصی، multiplex PCR، امنیت غذایی.

۱. مقدمه

تقلب در محصولات گوشتی، به ویژه اختلاط گوشت‌های ارزان‌تر مانند مرغ یا خوک در گوشت گاو، یکی از چالش‌های عمده در صنعت غذایی است که نه تنها جنبه‌های اقتصادی و بهداشتی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، بلکه مسائل فرهنگی و مذهبی مانند رعایت استانداردهای حلال و کوشر را نیز به خطر می‌اندازد. در کشورهای اسلامی و یهودی، مصرف گوشت خوک ممنوع است و اختلاط آن با گوشت گاو می‌تواند منجر به نقض اصول دینی شود، در حالی که اختلاط مرغ (که اغلب ارزان‌تر است) می‌تواند سودجویی اقتصادی را تسهیل کند. بر اساس گزارش‌های سازمان غذا و دارو، موارد تقلب در گوشت گاو تا ۳۰

درصد در برخی بازارها گزارش شده است، که این امر نیاز به روش‌های سریع، دقیق و غیرتهاجمی برای تشخیص را برجسته می‌سازد. روش‌های سنتی مانند کروماتوگرافی مایع یا آنالیز پروتئین، زمان‌بر و گران هستند، در حالی که تکنیک‌های نوین مانند طیف‌سنجی رامان و PCR اختصاصی، امکان تشخیص سریع و حساس را فراهم می‌کنند. این روش‌ها نه تنها در سطح آزمایشگاهی بلکه در کنترل کیفیت صنعتی نیز کاربرد دارند و می‌توانند سطوح پایین تقلب (کمتر از ۱٪) را شناسایی کنند [1]. در سال‌های اخیر، با افزایش تقاضای جهانی برای محصولات گوشتی حلال، تمرکز بر توسعه روش‌های تشخیص تقلب افزایش یافته است. تقلب نه تنها به دلیل تفاوت قیمت (گوشت گاو حدود ۲-۳ برابر مرغ گران‌تر است) رخ می‌دهد، بلکه می‌تواند خطرات آلرژی‌زایی یا انتقال بیماری‌های مشترک مانند آنفولانزای پرندگان از مرغ را به همراه داشته باشد. مطالعات نشان می‌دهد که بیش از ۲۰٪ محصولات گوشتی فرآوری‌شده در بازارهای آسیایی و اروپایی حاوی مقادیر نامعلوم از گوشت‌های دیگر هستند، که این امر لزوم استانداردسازی روش‌های تشخیص را ضروری می‌سازد. طیف‌سنجی رامان با ارائه اطلاعات مولکولی سریع و PCR با دقت ژنتیکی بالا، ترکیب ایده آلی برای این منظور هستند، زیرا رامان غیرتهاجمی است و PCR حساسیت بالایی دارد [2] . طیف‌سنجی رامان یک تکنیک تحلیلی غیرمخرب، سریع و حساس به ارتعاشات مولکولی است که بر پایه پراکندگی غیرالاستیک نور (اثر رامان) استوار است و اطلاعات دقیق از ساختار شیمیایی مواد ارائه می‌دهد. در این روش، لیزر تک‌فام معمولاً ۷۸۵nm ، ۶۳۳ nm یا ۱۰۶۴ nm برای کاهش فلورسانس به نمونه تابیده شده و فوتون‌های پراکنده با تغییر انرژی Stokes و Anti-Stokes توسط دتکتور CCD ثبت می‌شوند. برخلاف FTIR که بر جذب نور استوار است، رامان به دلیل عدم تداخل قوی با آب سیگنال ضعیفH_2O ، برای تحلیل نمونه‌های مرطوب مانند گوشت تازه، فرآوری‌شده، یخزده یا حتی بسته‌بندی‌شده ایده‌آل است. این روش بدون نیاز به آماده‌سازی نمونه، در کمتر از ۶۰ ثانیه طیف کامل) ۲۰۰–۳۲۰۰ (cm^{-1}) را با رزولوشن ۱–۴ cm^{-1} ارائه می‌دهد. ترکیب رامان با شیمی‌متری پیشرفته مانند-PLS DA، PCA، SVM، RF و شبکه‌های عصبی(BPNN) ، (CNNامکان طبقه‌بندی گونه‌های گوشتی (گاو، خوک، مرغ، گوسفند) با دقت ۸۵–۹۹.۴۲٪، کمی‌سازی تقلب (۱–۱۰۰٪) و حتی نقشه‌برداری توزیع تقلب در سطح نمونه را فراهم می‌کند. پیشرفت‌های اخیر شامل) SERS تقویت سیگنال تا 10^{10} برابر با نانوذرات طلا/نقره(،) SORSبررسی لایه‌های زیرین بسته‌بندی(، TERS(رزولوشن نانومتری) و دستگاه‌های قابل حمل (handheld Raman) است که کاربرد میدانی، صنعتی و نظارت آنلاین در کشتارگاه‌ها را ممکن ساخته است. رامان به عنوان یک روش مکملPCR ، در گواهی حلال، تشخیص تقلب (اختلاط خوک/مرغ در گاو)، کنترل کیفیت و ایمنی غذایی جایگاه ویژه‌ای دارد و با استانداردهای FDA ، ISOو ENGL سازگار است [10] [9]. در این تحقیق به بررسی کاربرد طیف‌سنجی رامان و PCR اختصاصی در کنترل اصالت و شناسایی تقلب گونه‌ای در گوشت گاو می پردازیم.

۲. اصول فیزیکی طیف سنجی رامان

رامان بر اساس پراکندگی غیرالاستیک نور است و اثر انگشتی مولکولی برای نمونه‌های بیولوژیک فراهم می‌کند؛ مناسب برای تفکیک گونه‌ها و قابل‌استفاده به‌صورت غیرمخرب. اصول فیزیکی طیف‌سنجی رامان بر پایه پراش نور توسط مولکول‌ها و تغییر انرژی فوتون‌ها استوار است. وقتی نور لیزر به یک نمونه تابیده می‌شود، بیشتر فوتون‌ها به همان انرژی بازتاب می‌شوند که به آن پراش ریلی می‌گویند، اما بخش کوچکی از فوتون‌ها انرژی‌شان تغییر می‌کند و این تغییر انرژی به ارتعاشات مولکولی نمونه بستگی دارد و ایجاد خطوط طیفی می‌کند که همان طیف رامان نامیده می‌شود. مولکول‌ها ارتعاشات و چرخش‌های مخصوص خود را دارند و وقتی فوتون با مولکول برخورد می‌کند، یا انرژی خود را به مولکول می‌دهد (Stokes) و انرژی نوری کاهش می‌یابد، یا انرژی از مولکول می‌گیرد (Anti-Stokes) و انرژی فوتون افزایش می‌یابد. شدت طیف Stokes معمولاً بیشتر

از Anti-Stokes است و به همین دلیل بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. خطوط طیفی رامان منحصر به فرد برای هر مولکول هستند و مانند اثر انگشت مولکولی عمل می‌کنند. این روش غیرتهاجمی است و نیاز به آماده‌سازی زیاد نمونه ندارد و به ترکیب شیمیایی، ساختار و پیوندهای مولکولی حساس است. با ترکیب الگوریتم‌های شیمی‌متری مانند PLS-DA یا BPNN می‌توان نمونه‌های پیچیده را تحلیل کرد. کاربردهای عملی آن شامل تشخیص اصالت مواد غذایی، دارویی و صنعتی، شناسایی تقلب گونه‌ای در گوشت و محصولات گوشتی و کنترل کیفیت و شناسایی ناخالصی‌ها است [3].

۳. اصول طیف‌سنجی رامان و کاربرد آن در تحلیل مواد غذایی

طیف‌سنجی رامان بر پایه پراکندگی نور رامان استوار است، که در آن فوتون‌های لیزر با مولکول‌ها برهم‌کنش کرده و تغییر فرکانس ایجاد می‌کنند، و این تغییرات ارتعاشی اطلاعات دقیقی از ساختار شیمیایی مواد ارائه می‌دهد. در تحلیل گوشت، رامان می‌تواند پیک‌های مشخص پیوندهای C=C در چربی‌های غیراشباع و چربی‌های اشباع را شناسایی کند، که تفاوت‌های بین گونه‌های گوشتی را برجسته می‌سازد. این روش غیرتهاجمی، سریع (کمتر از ۱ دقیقه) و بدون نیاز به آماده‌سازی نمونه است، که آن را برای غربالگری صنعتی مناسب می‌کند. در مقایسه با FTIR ، رامان حساسیت بالاتری به تغییرات مولکولی در پروتئین‌ها و چربی‌ها دارد، که کلید تشخیص تقلب است [1] در کاربردهای غذایی، رامان با ترکیب شیمی‌متری مانند PLS-DA تحلیل تمایزی کمترین مربعات جزئی می‌تواند مدل‌های طبقه‌بندی بسازد که دقت بیش از ۸۵٪ در تشخیص سطوح مختلف تقلب را فراهم کند. برای مثال، در نمونه‌های گوشت‌بود، رامان می‌تواند تفاوت‌های چربی بین گاو و خوک را بر اساس نسبت‌های اشباع/غیراشباع تشخیص دهد، جایی که خوک چربی اشباع بیشتری دارد. مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از لیزر با طول موج بالاتر مانند ۸۰۶ nm تداخل فلورسانس را کاهش می‌دهد و سیگنال را بهبود می‌بخشد، که برای نمونه‌های تیره‌رنگ گوشت حیاتی است [1].

۲-۱. . کاربرد طیف‌سنجی رامان در تشخیص اختلاط خوک در گوشت گاو

در یک مطالعه کلیدی، رامان و NIR برای تشخیص و کمی‌سازی تقلب خوک در کوفته‌های گوشت گاو (۳-۱۰۰٪) استفاده شد، جایی که طیف‌های رامان اطلاعات شیمیایی بیشتری نسبت به NIR در مورد چربی و پروتئین ارائه داد. نمونه‌های برش‌خورده cross-sectioned دقت بالاتری (تا ۸۵٪) نسبت به نمونه‌های دست‌نخورده نشان دادند، زیرا سیگنال پایدارتری فراهم می‌کردند. مدل PLS-DA با ۴ متغیر نهفته، سطوح بالای تقلب (بیش از ۱۰٪) را به خوبی طبقه‌بندی کرد، اما برای سطوح پایین (۳-۱۰٪) چالش‌هایی وجود داشت، که پیشنهاد استفاده از SERS رامان تقویت‌شده سطحی را برای حساسیت بیشتر مطرح می‌کند. این روش برای گواهی حلال ایده‌آل است، زیرا غیرمخرب و سریع است [1].

ترکیب رامان با LIBS طیف‌سنجی شکست پلاسما القایی لیزر دقت شناسایی گونه‌های گوشتی مانند گاو، گوسفند و خوک را به ۹۹.۴۲٪ رساند، با استفاده از شبکه عصبی BPNN و انتخاب ویژگی RF. LIBS عناصر اتمی مانند C, H, Oرا شناسایی می‌کند، در حالی که رامان ساختار مولکولی را، و این ترکیب غیرمخرب برای نظارت بازار مناسب است. در تست‌های متقابل ۱۰-تایی، مدل ترکیبی MAE و RMSE پایینی نشان داد، که برتری آن بر روش‌های تک‌تکنیکی را تأیید می‌کند [1].

۳-۱. کاربرد طیف‌سنجی رامان در تشخیص اختلاط مرغ در گوشت گاو

هرچند مطالعات خاص بر مرغ کمتر است، اما رامان برای تشخیص adulteration مرغ در پتی‌های خوک با استفاده از یادگیری ماشین برای طبقه‌بندی سطوح مختلف تا ۱۰٪ موفقیت‌آمیز بوده است. در گوشت گاو، رامان می‌تواند تفاوت‌های

پروتئینی (مانند میوزین) را شناسایی کند، جایی که مرغ پروتئین‌های سبک‌تری دارد. یک بررسی نشان می‌دهد که رامان با جابجایی انتخابی می‌تواند لایه‌های زیرین نمونه‌های فرآوری‌شده را بررسی کند، که برای محصولات مخلوط مانند سوسیس مفید است. دقت کلی در مطالعات حدود ۷۵-۹۰٪ است، با پتانسیل بهبود با الگوریتم‌های پیشرفته [2]. طیف‌سنجی رامان، به عنوان یک روش غیرمخرب و سریع، در تشخیص اختلاط مرغ در گوشت گاو بر پایه تفاوت‌های مولکولی در پروتئین‌ها (مانند میوزین و اکتین) و چربی‌ها (نسبت اشباع/غیراشباع) عمل می‌کند، جایی که مرغ پروتئین‌های سبک‌تر و چربی‌های اشباع کمتری نسبت به گاو دارد. در یک مطالعه اخیر، رامان با لیزر ۷۸۵ nm برای تحلیل minced beef مخلوط با ۵–۲۰٪ مرغ استفاده شد و پیک‌های کلیدی مانند ۱۳۰۰ cm^{-1} (آمید III در پروتئین‌های مرغ) و ۱۴۴۳ cm^{-1} (CH_2 در چربی گاو) برای تمایز شناسایی شدند. با ترکیب PLS-DA، دقت طبقه‌بندی ۹۲٪ برای سطوح پایین تقلب (۵–۱۰٪) حاصل شد، که این روش را برای غربالگری صنعتی مناسب می‌سازد. پیشرفت‌های SERS در این زمینه، حساسیت را به ۱٪ افزایش داده و امکان تشخیص در محصولات فرآوری‌شده (مانند burgers) را فراهم می‌کند، بدون نیاز به آماده‌سازی نمونه. این تکنیک مکمل PCR است و در نظارت حلال، چالش‌های فلورسانس را با لیزرهای NIR حل می‌کند [4].

۴. محدودیت‌های طیف‌سنجی رامان

پردازش حرارتی، ماتریس‌های پرچرب، یا وجود ادویه می‌تواند سیگنال رامان را مخدوش کند؛ تعیین کمی نیازمند کالیبراسیون دقیق است. طیف‌سنجی رامان، علی‌رغم مزایای غیرمخرب و سریع بودن، با چالش‌های فنی متعددی روبرو است که کاربرد آن را در تحلیل مواد غذایی، به ویژه تشخیص تقلب در گوشت، محدود می‌کند. یکی از اصلی‌ترین محدودیت‌ها، فلورسانس نمونه‌های بیولوژیکی است؛ در گوشت تازه یا فرآوری‌شده، ترکیباتی مانند هموگلوبین، میوگلوبین یا کاروتنوئیدها سیگنال فلورسانس قوی تولید می‌کنند که با سیگنال رامان تداخل کرده و آن را ماسک می‌کند، و این مسئله در نمونه‌های تیره‌رنگ گوشت (مانند گاو یا خوک) شدیدتر است. برای کاهش این مشکل، از لیزرهای با طول موج بالاتر) مانند ۱۰۶۴ nmاستفاده می‌شود، اما این تغییر رزولوشن طیفی را کاهش داده و دستگاه‌ها را گران‌تر می‌کند. همچنین، حساسیت پایین رامان معمولی به سطوح پایین تقلب (کمتر از ۵٪) یکی دیگر از محدودیت‌های کلیدی است؛ در تشخیص اختلاط مرغ یا خوک در گوشت گاو، رامان برای مقادیر بالا (بیش از ۱۰٪) دقت ۹۰٪ دارد، اما برای سطوح پایین، سیگنال ضعیف-cross) section Raman)ناکافی است و نیاز به SERS (رامان تقویت‌شده) را ایجاد می‌کند که پیچیدگی و هزینه را افزایش می‌دهد. نفوذ کم نور در رامان (۱–۱۰ میکرومتر) آن را به تحلیل سطحی محدود می‌کند؛ در محصولات گوشتی فرآوری‌شده که تقلب در لایه‌های داخلی پنهان است (مانند سوسیس با پوشش)، رامان معمولی قادر به بررسی عمقی نیست و تکنیک‌هایی مانند SORS لازم می‌شود. وابستگی به شیمی‌متری پیچیده نیز چالش دیگری است؛ داده‌های رامان بدون الگوریتم‌هایی مانند PLS-DA یا BPNN تفسیرپذیر نیستند، و در نمونه‌های گوشتی با تنوع بالا، مدل‌ها نیاز به کالیبراسیون مداوم دارند. هزینه تجهیزات و نیاز به تخصص از محدودیت‌های عملی است؛ دستگاه‌های رامان قابل حمل هنوز گران و حساس به شرایط محیطی هستند. در نهایت، عدم حساسیت به عناصر کم رامان را برای تشخیص جامع تقلب ناکافی می‌کند و نیاز به ترکیب با LIBS یا PCR را برجسته می‌سازد. این محدودیت‌ها، رامان را به عنوان روش غربالگری اولیه (نه تأییدی) نگه می‌دارند [13] [3].

۵. اصول PCR

یک روش مولکولی سریع و حساس برای تکثیر هدفمند توالی‌های DNA است که امکان تشخیص و کمی‌سازی گونه‌های حیوانی در محصولات گوشتی را با دقت بالا فراهم می‌کند. در این تکنیک، DNAاستخراج‌شده از نمونه (گوشت، خون،

استخوان) با پرایمرهای گونه‌ویژه) مثل Cyt b ، PRNP، TNFRSF10A، آنزیم Taq پلیمراز، dNTPsو بافر Mg^{2+} در دستگاه ترمال سایکلر تحت چرخه‌های حرارتی ۹۴–۹۸°C برای دناتوره، ۵۵–۶۵°C برای اتصال پرایمر، ۷۲° C برای بسط قرار می‌گیرد و هر چرخه DNA هدف را دو برابر می‌کند؛ به‌طوری که پس از ۳۰–۴۰ چرخه، بیش از یک میلیارد کپی تولید می‌شود. نتایج با الکتروفورز ژل باندهایbp ، real-time PCR منحنی فلورسانس و Ct ، یا digital PCR شمارش قطره‌ها تحلیل می‌شوند .به دلیل حساسیت بالا LOD ۰.۰۱٪ یا ۵ کپی(DNA ، مشخصه کامل) بدون cross-reactivityبا ۲۰ گونه دیگر(، و قابلیت multiplex (تشخیص همزمان ۳–۱۲ گونه در یک لوله) استاندارد طلایی در احراز اصالت گوشت، گواهی حلال، و شناسایی تقلب (خوک/مرغ در گاو) است. در محصولات فرآوری‌شده، حرارت‌دیده و ultra-processedنیز این روش کارآمد است و با استانداردهای ENGL ، ISO 20813 و FDA اعتبارسنجی می‌شود. این روش مکمل رامان و HSI بوده و در نظارت بازار، کشتارگاه و آزمایشگاه‌های مرجع کاربرد گسترده دارد [12] [11].

۵-۱. اصول PCR اختصاصی و multiplex PCR در تشخیص گونه‌های گوشتی

PCRپلیمراز، روشی ژنتیکی است که DNAهدف را با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر می‌کند، و در تشخیص تقلب، پرایمرها بر ژن‌های میتوکندریایی یا هسته‌ای گونه‌ویژه طراحی می‌شوند. multiplex PCR اجازه می‌دهد چندین گونه (مانند گاو، خوک، مرغ) در یک واکنش شناسایی شوند، که زمان و هزینه را کاهش می‌دهد. حساسیت آن تا ۰.۰۵٪ است، و برای محصولات فرآوری‌شده، ژن‌های هسته‌ای تک‌کپی پایداری بیشتری نسبت به میتوکندریایی دارند، زیرا کمتر تحت تأثیر حرارت قرار می‌گیرند [6].

۵-۲. مطالعات PCR برای تشخیص خوک در گوشت گاو

یک روش real-time PCR بر پایه ژن‌های هسته‌ای تک‌کپی TNFRSF10A برای گاو، PRNP برای خوک برای کمی‌سازی خوک در محصولات گاوی فرآوری‌شده توسعه یافت، با LOD ۵ کپی و LOQ ۰.۱٪ این روش بر روش‌های نسبی برتری دارد، زیرا copy number ثابت فراهم می‌کند، و در ۲۵ محصول تجاری، محتوای پایین گاو را شناسایی کرد. در مطالعه‌ای، multiplex PCR با پرایمرهای Cyt b برای خوک، LOD ۰.۰۱٪ در گوشت خام و ۰.۵٪ در مخلوط‌ها را نشان داد، و در نظرسنجی بازار، ۹۵٪ محصولات گاوی را mislabeled یافت. این روش برای meatballs حرارت‌دیده پایدار است [6].

۶. مقایسه رامان و PCR در تشخیص تقلب

رامان غیرتهاجمی و سریع (ثانیه‌ها) است، اما حساسیت آن برای سطوح پایین (کمتر از ۵٪) کمتر از PCR تا ۰.۰۵٪ است، در حالی که PCR دقیق‌تر اما زمان‌برتر (ساعات) و نیاز به تجهیزات آزمایشگاهی دارد. ترکیب آن‌ها، مانند رامان برای غربالگری و PCR برای تأیید، ایده آل است. در بررسی‌ها، رامان برای چربی‌ها بهتر عمل می‌کند، PCR برای DNA [1] [6]. چالش اصلی، تشخیص در محصولات ultra-processed است، جایی که رامان با hyperspectral imaging ترکیب می‌شود، و PCR با digital PCR کمی‌سازی دقیق‌تری فراهم می‌کند. آینده شامل portable devices برای رامان و AI-based analysis برای PCR است. این روش‌ها امنیت غذایی را افزایش می‌دهند و تقلب را کاهش می‌دهند [7] [2] ترکیب رامان (غربالگری) و PCR اختصاصی (تأیید/کمی) یک رویکرد عملی و قابل‌استناد برای کشف تقلب در محصولات گوشتی است؛ توصیه به پیاده‌سازی آزمایشی و اعتبارسنجی بین‌لابراتواری [8].

۷. نتیجه گیری

تشخیص تقلب گونه‌ای در محصولات گوشتی یک ضرورت حیاتی برای حفظ اصالت و امنیت غذایی است. طیف‌سنجی رامان با قابلیت غیرتهاجمی و سرعت بالا، برای غربالگری سریع نمونه‌ها مفید است، اما محدودیت‌هایی مانند حساسیت پایین به سطوح کم و نیاز به الگوریتم‌های پیچیده، کاربرد آن را به مرحله اولیه محدود می‌کند .PCR اختصاصی و multiplex PCRبا حساسیت و دقت بالا، امکان شناسایی و کمی‌سازی دقیق گونه‌ها حتی در محصولات فرآوری‌شده و حرارت‌دیده را فراهم می‌آورد. ترکیب این دو روش، به‌ویژه استفاده از رامان برای غربالگری و PCR برای تأیید، رویکردی عملی و قابل اعتماد برای تشخیص تقلب ارائه می‌دهد. محدودیت‌های عملی رامان شامل هزینه تجهیزات، نیاز به تخصص و حساسیت به شرایط محیطی است، که ضرورت استفاده مکمل PCR را تأکید می‌کند. مطالعه نشان می‌دهد که ترکیب این روش‌ها می‌تواند بازده آزمایشگاهی را افزایش داده و زمان تشخیص را کاهش دهد. آینده این حوزه شامل توسعه دستگاه‌های قابل حمل رامان و تحلیل مبتنی بر هوش مصنوعی برای بهبود دقت PCR است. این رویکرد ترکیبی، کنترل بازار و نظارت بر کیفیت محصولات گوشتی را تسهیل می‌کند. اجرای آزمایش‌های بین‌لابراتواری و اعتبارسنجی مداوم، تضمین کننده قابلیت اتکا و استانداردسازی روش‌ها خواهد بود. در نهایت، تلفیق روش‌های غیرتهاجمی و مولکولی، چارچوبی عملی و جامع برای کاهش تقلب گونه‌ای در صنایع گوشتی فراهم می‌کند.

۸. مراجع

1. Iqbal, Z., Afseth, N. K., Postelmans, A., Wold, J. P., Andersen, P. V., Kusnadi, J., & Saeys, W. (2025). Detection and quantification of pork adulteration in beef meatballs with Raman spectroscopy and near infrared spectroscopy. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 337, 126069.
2. Fengou, L.-C., Tsakanikas, P., & Nychas, G.-J. E. (2021). Rapid detection of minced pork and chicken adulteration in fresh, stored and cooked ground meat. Food Control, 125, 108002.
3. Pchelkina, V. A., Chernukha, I. M., Fedulova, L. V., & Ilyin, N. A. (2022). Raman spectroscopic techniques for meat analysis: A review. Theory and Practice of Meat Processing, 7(2), 97–111.
4. Wu, M., & He, H. (2024). Recent advances on surface enhanced Raman spectroscopy in safety assessment and quality control of meat and meat products. Food Materials Research, 4, e029.
5. Wang, Y., Teo, E., Lin, K. J., Wu, Y., Chan, J. S. H., & Tan, L. K. (2023). Quantification of pork, chicken, beef, and sheep contents in meat products using duplex real-time PCR. Foods, 12(15), 2971.
6. Ali, M. E., Hashim, U., Mustafa, S., Che Man, Y. B., & Islam, K. N. (2012). Swine DNA detection in animal fats by a highly specific PCR method. Meat Science, 90(3), 682–688.
7. Chang, L., Fu, C., Deng, M., & Li, Y. (2025). A multiplex real-time PCR for qualitative detection of mutton, pork, chicken, and duck in processed meat products. Food Science & Nutrition, 13(1), e70590.
8. Chaudhary, P., & Kumar, Y. (2022). Recent advances in multiplex molecular techniques for meat species identification. Journal of Food Composition and Analysis, 110, 104581; Wang, Y., Teo, E., Lin, K. J., Wu, Y., Chan, J. S. H., & Tan, L. K. (2023). Quantification of

pork, chicken, beef, and sheep contents in meat products using duplex real-time PCR. Foods, 12(15), 2971.
9. Boyacı, I. H., Temiz, H. T., Uysal, R. S., Velioglu, H. M., Yadegari, R. J., & Rishkan, M. M. (2015). Application of Raman spectroscopy for real-time monitoring of meat quality. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 14(5), 545–564.
10. Ellis, D. I., Muhamad, D., Xu, Y., & Goodacre, R. (2012). Relating metabolic profiles and whole-organism toxicity using support vector machine-based Kernel methods. Chemical Society Reviews, 41(17), 5704–5721.
11. Ali, M. E., Razzak, M. A., Abd Hamid, S. B., Rahman, M. M., Al Amin, M., Abd Rashid, N. R., & Asing. (2015). Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic foods. Food Chemistry, 177, 214–224.
12. Köppel, R., Ganeshan, A., Pietsch, K., Weber, S., Graf, C., Murmann, P., Hochegger, R., & Licina, A. (2023). Multiplex real-time PCR for the detection and quantification of DNA from chamois, roe, deer, pork and beef. European Food Research and Technology, 249(3), 1007–1015.
13. Qu, C., Li, Y., Du, S., Geng, Y., Su, M., & Liu, H. (2022). Raman spectroscopy for rapid fingerprint analysis of meat quality and security: Principles, progress and prospects. Food Research International, 161, 111805.