

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2025.80797

食品中鸡蛋成分的微流体数字 PCR 检测方法研究

李 奔 卓一鸣 秦寄军 杨丽霞

(长沙市食品药品检验所, 湖南 长沙 410036)

摘要: [目的] 建立一种微流体数字 PCR 检测食品中鸡蛋成分的方法。[方法] 根据线粒体基因 ND1 设计特异性引物与荧光探针, 优化反应体系和扩增条件, 评价方法的特异性与灵敏度, 并应用于实际食品检测中。[结果] 试验方法可特异性检测鸡蛋成分, 未与鸭蛋、鹅蛋等其他常见家禽蛋成分产生交叉反应, 最适退火温度为 56 °C, 最适引物与探针浓度分别为 800, 200 nmol/L, 该条件下微流体数字 PCR 检出限为 5.30 copies/μL。将该方法应用于 20 批次食品样品的检测, 结果与样品标签标识一致。[结论] 试验建立的微流体数字 PCR 方法具有抗干扰、灵敏度高、快速简便等特点, 可应用于检测食品中的微量鸡蛋成分。

关键词: 微流体数字 PCR; 鸡蛋; 线粒体基因 ND1

Detection of egg components in food by microfluidic digital PCR

Li Ben Zhuo Yiming Qin Jijun Yang Lixia

(Changsha Institute for Food and Drug Control, Changsha, Hunan 410036, China)

Abstract: [Objective] To establish a detection method for egg components in food using microfluidic digital polymerase chain reaction (PCR) technology. [Methods] Specific primers and fluorescent probes are designed based on the mitochondrial gene nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase subunit 1 (ND1). Then, the reaction system and amplification conditions are optimized, and specificity and sensitivity are evaluated before being applied to actual food detection. [Results] The established method can specifically detect egg components, while no cross-reactivity is observed with other common poultry egg components, such as duck and goose eggs. The optimal annealing temperature is 56 °C, and the optimal concentrations of primers and probes are 800 nmol/L and 200 nmol/L, respectively. Under these conditions, the limit of detection (LOD) for microfluidic digital PCR is 5.30 copies/μL. Furthermore, the method is applied to detect 20 batches of food samples, yielding consistent results with the sample labels. [Conclusion] Characterized by anti-interference, high sensitivity, rapidity, and simplicity, the established microfluidic digital PCR method can be applied to detect trace egg components in food.

Keywords: microfluidic digital PCR; egg; mitochondrial gene ND1

动植物源性成分检测技术是验证食品标签真实性, 防止掺劣掺假, 以及原料溯源, 过敏原识别的关键技术手段^[1]。现有的动植物源性成分检测技术主要分为两类: ① 基于蛋白质检测, 如液相色谱—质谱、酶联免疫吸附试验 (ELISA)^[2-4]; ② 基于核酸检测, 如聚合酶链式反应 (PCR)、实时荧光定量 PCR (qPCR)、多重 PCR 及 DNA 测序技术^[5-8]。质谱、测序设备昂贵, ELISA 受基质影响大, 对于加工食品灵敏度不佳, PCR 技术则因其快速、准确、

灵敏等优点逐渐成为各检测机构首选, 中国也已颁布大量使用 PCR 方法的食品检测行业标准^[9]。

鸡蛋过敏是常见的食物过敏之一^[10], 尤其多见于儿童 (约 2% 的幼儿), 通常会引起皮肤出疹、咳嗽流涕、呕吐腹泻, 严重可致呼吸困难, 危及生命^[11-12]。食品中鸡蛋成分识别是致敏原标识管理的重要一环。但由于一颗鸡蛋内仅含有一个卵细胞, 其 DNA 物质平均含量极低, 致使常规 PCR 方法难以有效检测到加工食品中少量鸡蛋成

基金项目: 湖南省市场监督管理局科技计划项目 (编号: KJJH202539)

通信作者: 杨丽霞 (1981—), 女, 长沙市食品药品检验所正高级工程师, 博士。E-mail: yanglixia612@163.com

收稿日期: 2025-08-27 **改回日期:** 2026-02-24

引用格式: 李奔, 卓一鸣, 秦寄军, 等. 食品中鸡蛋成分的微流体数字 PCR 检测方法研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(8): 49-54.

Citation: Li Ben, Zhuo Yiming, Qin Jijun, et al. Detection of egg components in food by microfluidic digital PCR[J]. Food & Machinery, 2026, 42(8): 49-54.

分。新兴的微流体数字 PCR(dPCR)是一种高精度的核酸绝对定量技术,其将 PCR 反应体系通过微流体芯片分割成数万个独立的纳升级微孔,从而实现单分子 PCR 扩增及荧光信号计数,检测结果可精确至靶基因的具体拷贝数,是检测痕量 DNA 物质的有效方法^[13-15]。数字 PCR 技术现已被用于食品安全工作中的动植物源性成分、转基因作物、食源性致病菌检测等领域:李恩静等^[16]基于微滴式数字 PCR 技术检测了致敏原芒果成分,DNA 检测灵敏度可达 0.005 ng/ μ L;闫邦奇等^[17]建立了一种转基因玉米双重数字 PCR 定量检测方法,定量限可达 1.34 copies/ μ L;张雪等^[18]建立了一种即食果蔬制品中致泻大肠埃希氏菌数字 PCR 检测系统,对 3 个目的基因的检出限分别为 8.87,3.33,6.57 copies/ μ L。目前尚未有将数字 PCR 应用于鸡蛋成分检测的报道。试验拟建立一种加工食品中鸡

蛋成分的微流体数字 PCR 检测方法,为食品中鸡蛋原料溯源及过敏原成分检测提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

- 鸡蛋、鸭蛋、鹅蛋、鹌鹑蛋、鸽蛋:市售;
- 20 份食品样品(详见表 1):市售;
- 动物组织 DNA 提取试剂盒:凯杰生物工程(上海)有限公司;
- Premix Ex Taq™ (Probe qPCR):宝日医生物技术(北京)有限公司;
- 数字 PCR Absolute Q™DNA 数字 PCR 预混液(5 $\times$):赛默飞世尔科技(广州)有限公司;
- 引物、探针:生工生物工程(上海)股份有限公司。

表 1 食品样品信息
Table 1 Food sample information

编号	名称	过敏原标识	配料表
1	薯条	含有乳、大豆、麸质,可能含有花生、甲壳类、鱼类、蛋类	马铃薯粉、植物油、淀粉、乳粉
2	蛋黄派	麸质、蛋类、大豆、乳	鲜鸡蛋、小麦粉、大豆油、人造奶油
3	蛋糕	/	小麦粉、鸡蛋
4	黑金焦香月饼	含有蛋类、坚果,可能含有小麦、乳	红小豆、冬蓉馅、香蕉酱、核桃仁、小麦、鸡蛋
5	香煎薄饼	/	小麦粉、马铃薯、鸡蛋、芝麻、香葱
6	黑糖坚果沙琪玛	含有蛋类、麸质、坚果	小麦粉、鸡蛋、提子($\geq 1\%$)、南瓜籽仁($\geq 1\%$)、亚麻籽仁($\geq 1\%$)、扁桃仁($\geq 0.5\%$)
7	五仁月饼	含有麸质、蛋类、坚果、大豆、花生	小麦粉、玉米淀粉、鸡蛋液、瓜籽仁、豌豆、糯米、芝麻仁、蜜饯、花生仁、五香粉
8	咸蛋黄麦芽饼	含有小麦、乳、蛋,可能含有大豆	小麦、咸蛋黄、玉米淀粉
9	五仁月饼	含有麸质、大豆、蛋类、花生、坚果,可能含有乳	糯米粉、核桃仁、冬瓜蓉、白芝麻、糖玫瑰、糖桔饼蜜饯、西瓜子仁、杏仁、橄榄仁、小麦粉、鸡蛋液
10	马铃薯薄脆	含有小麦、乳,可能含有鸡蛋、大豆	小麦、植物油、马铃薯全粉、乳粉、洋葱粉、大蒜粉、鸡蛋、大豆
11	原味挂面	/	小麦粉
12	蛋仔饼	含有小麦、乳制品、鸡蛋	小麦粉、棕榈油、白砂糖、玉米淀粉、鸡蛋、麦芽糖浆、大麦麦芽提取物、乳清粉
13	法式软面包	含有小麦、蛋、大豆、乳成分	小麦粉($\geq 44\%$)、水、白砂糖、食用油脂制品、鸡蛋($\geq 9\%$)、植物油、面包专用糖浆、全脂乳粉($\geq 0.8\%$)
14	华夫饼	含有麸质的谷物及其制品、蛋类及其制品、大豆及其制品	小麦粉、鸡蛋(20%)、植物油、饮用水、海藻糖、山梨糖醇液、食用淀粉
15	吐司	含有麸质的谷物及其制品、乳及乳制品、大豆制品、蛋类及其制品	小麦粉、牛奶、人造奶油、白砂糖、鸡蛋、无水奶油、果葡糖浆、全脂乳粉、炼乳、起酥油
16	雪饼	可能含有大豆、麸质、鱼、蛋、甲壳类动物、乳制品	大米、植物油、米粉、淀粉
17	小馒头	麸质谷物、乳、蛋类	食用马铃薯淀粉、白砂糖、鸡蛋($\geq 8.8\%$)、低筋小麦粉、脱脂乳粉、蜂蜜
18	沙琪玛	含有乳制品、鸡蛋、含麸质谷物	植物油、专用小麦粉、葡萄糖浆、鲜鸡蛋($\geq 14\%$)
19	小丸煎饼	含有小麦、大豆、鸡蛋	小麦麸、白砂糖、鸡蛋、食用玉米淀粉、精炼植物油、人造奶油、芝麻
20	鸡蛋龙须挂面	含有麸质的谷物、鸡蛋	小麦粉、鸡蛋粉

1.2 主要仪器

微流体数字PCR仪:Quantstudio 3D型,美国ABI公司;

实时荧光定量PCR仪:Quantstudio 5型,赛默飞世尔科技(广州)有限公司;

电子天平:ME204型,梅特勒—托利多(上海)有限公司;

高速离心机:Velocity 15pro型,上海天美生化仪器设备有限公司;

核酸测定仪:Nanodrop one型,赛默飞世尔科技(广州)有限公司;

高速匀浆仪:ZW-800G型,温州维科生物实验设备有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

(1) 蛋类:将蛋黄蛋清混匀后煮熟,风干脱水,研磨成粉,称取50 g备用。

(2) 加工食品:粉碎后混匀,称取50 g备用。

1.3.2 核酸提取 按照DNA提取试剂盒说明书进行操作,稀释DNA质量浓度至10~50 ng/ μ L。

1.3.3 引物与探针 参照相关标准与文献[19—23],以不同鸡源性特异性基因为靶基因合成5组特异性引物,以提取的鸡蛋全DNA为模板进行染料法荧光PCR,筛选出最适引物组,并合成其相应荧光探针(见表2),探针5'端标记FAM,3'端标记BHQ。

1.3.4 PCR反应体系与程序 qPCR采用20 μ L体系,dPCR采用10 μ L体系,所用上、下游引物及探针浓度一致,均使用去离子水稀释至10 μ mol/L,具体反应体系及反应程序参数设置见表3。

1.3.5 验证引物与探针特异性 以提取的鸡蛋、鸭蛋、鹅蛋、鹌鹑蛋、鸽蛋DNA为模板分别进行qPCR试验,验证最佳引物的特异性。

1.3.6 优化反应参数

(1) 引物与探针浓度:以2种较为常用的配制^[24]为测试组,组1引物终浓度为0.8 μ mol/L,探针终浓度为

表2 引物与探针碱基序列

引物	序列(5'→3')
JF-1	ACATCCAGGTGGAGGAAAAGC
JR-1	CCCACCCGAGACCACCTAT
JF-2	GGCTGCAAGTCACCGTGGTA
JR-2	CCGCTAGCCAGAAGCTCAGC
JF-3	CCAACATGCCTTTAAACCCTCA
JR-3	GGAAGTGTAGCCTTCTGACTCG
JF-4	CAGAACCACACTCAACCTGTCTGA
JR-4	TCGGGGAAATGTCTTACTGCAAG
JF-5	CCCTCCTCCTTTCATCCTCAT
JR-5	GTCATAGCGGAACCGTGGATA
JP-5	CTATGAATCCGGGCCTC

0.2 μ mol/L;组2引物终浓度为0.5 μ mol/L,探针终浓度为0.2 μ mol/L。两组均以鸡蛋DNA为模板进行qPCR,根据结果Ct值判定较优组。

(2) 退火温度:根据引物碱基对计算所得的理论 T_m 值(58 $^{\circ}$ C),设置3个梯度退火温度56,58,60 $^{\circ}$ C,均以鸡蛋DNA为模板进行qPCR,根据结果Ct值判定最适退火温度。

1.3.7 测验方法灵敏度 使用微流体芯片进行dPCR,测试方法的检出下限:设置8个DNA质量浓度梯度,分别为0.005, 0.010, 0.020, 0.100, 0.500, 2.000, 10.000, 50.000 ng/ μ L,每个梯度设3个平行。将鸡蛋DNA梯度稀释后加入各反应体系中,对结果数据进行统计分析,计算方法的变异系数,确认检出限。

1.3.8 样品检测 以提取的20个批次市售食品样品DNA为模板,应用建立的dPCR方法检测其鸡蛋成分,以验证方法实用性。

1.3.9 数据处理 根据数字PCR反应结束后仪器显示的结果(copies/ μ L) $\times$ 稀释倍数(5),即为DNA样本中的基因拷贝数。

表3 反应体系与程序

Table 3 Reaction systems and programs

反应体系	qPCR/ μ L	反应体系	dPCR/ μ L
Premix Ex Taq Mix(2 $\times$)	10	数字PCR预混液(5 $\times$)	2
JF/10 μ mol/L	1.6	JF/10 μ mol/L	0.8
JR/10 μ mol/L	1.6	JR/10 μ mol/L	0.8
JP/10 μ mol/L	0.4	JP/10 μ mol/L	0.2
ROX Dye II (50 $\times$)	0.4	/	/
DNA模板	2	DNA模板	2
ddH ₂ O	补足总体积至20	ddH ₂ O	补足总体积至10
反应程序	95 $^{\circ}$ C 30 s, 95 $^{\circ}$ C 5 s, 56 $^{\circ}$ C 30 s, 40个循环	反应程序	94 $^{\circ}$ C 30 s, 94 $^{\circ}$ C 5 s, 56 $^{\circ}$ C 10 s, 40个循环

2 结果与分析

2.1 引物与探针筛选

由图 1 可知,5 组引物中只有第 3、4、5 组出现扩增,其 Ct 值分别为 39.062,38.456,32.099,其中第 5 组的 Ct 值最小,表明其扩增的目的基因 *ND1*^[25] 在鸡蛋全 DNA 中丰度相对较高,能显著提升 PCR 扩增的效率和方法的灵敏度,尤其适用于微量 DNA 的检测,因此选用第 5 组引物与探针进行后续试验。

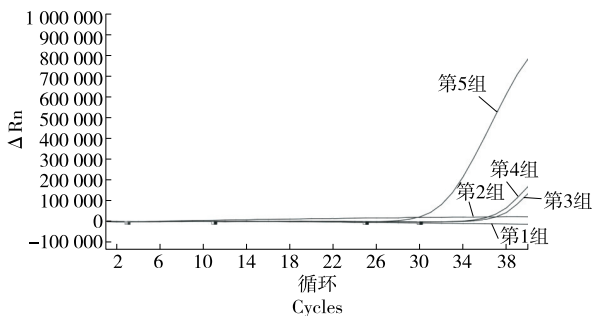


图 1 引物 qPCR 筛选结果

Figure 1 Primer screening results by qPCR

2.2 引物与探针特异性验证

由图 2 可知,第 5 组引物仅对鸡蛋 DNA 产生特异性扩增,而与鸭蛋、鹅蛋等近缘家禽蛋均无交叉反应,说明线粒体 *ND1* 基因在不同物种间的序列差异度高,为特异性引物设计提供了更优的靶点。该引物的特异性能够满足复杂食品基质中精准识别鸡蛋成分的需求,尤其适用于可能存在多种禽蛋交叉污染的加工食品检测。

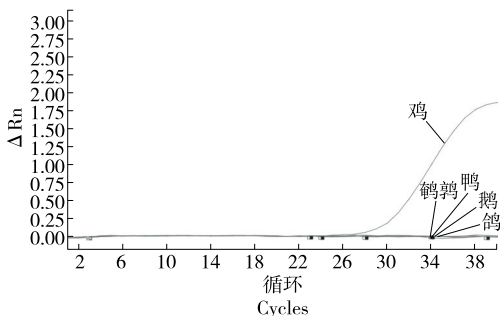


图 2 引物与探针特异性验证结果

Figure 2 Specificity validation results of primers and probes

2.3 反应条件优化

由图 3 和图 4 可知,从引物探针浓度来看,组 1 反应的 Ct 值为 23.346,略小于组 2 反应的,说明 0.8 μmol/L 引物与 0.2 μmol/L 探针组合的扩增效率略优。在退火温度筛选中,56 °C 时的 Ct 值最小,表明该温度下引物与模板的结合特异性和效率达到最佳平衡。当温度 ≥ 58 °C 时,Ct 值有所增大,是因为高温降低了引物与模板的结合效率,导

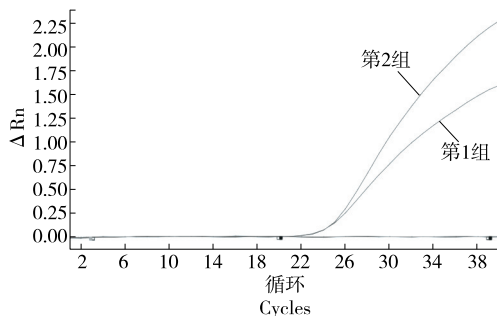


图 3 引物探针浓度筛选结果

Figure 3 Screening results of primer and probe concentration

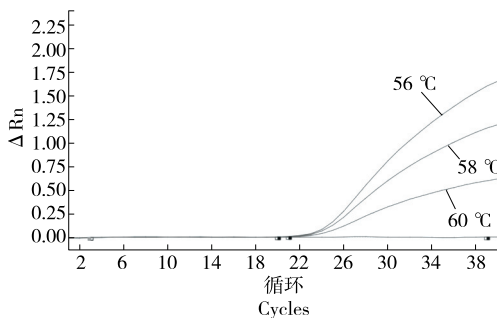


图 4 退火温度筛选结果

Figure 4 Annealing temperature screening results

致扩增速度减慢。综上,确定最适条件为 0.8 μmol/L 引物与 0.2 μmol/L 探针的组合及 56 °C 的退火温度。

2.4 dPCR 方法的灵敏度测验

由图 5 和表 4 可知,在 0.010~50.000 ng/μL 的 DNA 质量浓度范围内,试验方法的变异系数(CV)均 < 25%,符合 dPCR 方法学验证的稳定性要求^[26];当质量浓度降至 0.005 ng/μL 时,CV 升至 67.65%,结果离散度显著增加,表明该浓度已超出方法的可信检测范围。通过换算可知,试验方法在可信区间内的最低检测限为 5.30 copies/μL, dPCR 检测的高灵敏度主要源于两个方面:① 微流体 dPCR 将反应体系分割为数万个独立微孔,每个微孔内的模板分子被“单分子化”,有效降低了 PCR 抑制剂的干扰;② *ND1* 基因的高拷贝数特性,进一步提升了微量模板被

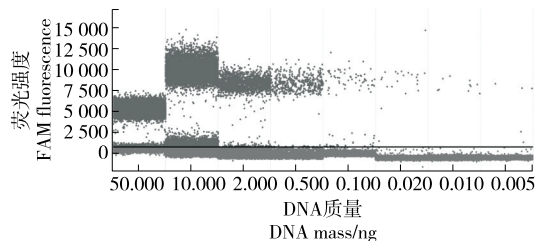


图 5 梯度浓度 DNA dPCR 检测结果

Figure 5 dPCR detection results of DNA concentration gradient

表4 梯度浓度DNA dPCR结果
Table 4 dPCR results of DNA concentration gradient

鸡蛋DNA质量浓度/ (ng·μL ⁻¹)	扩增体系中拷贝数/(copies·μL ⁻¹)			平均值/ (copies·μL ⁻¹)	鸡蛋DNA拷贝数/ (copies·μL ⁻¹)	标准偏差	变异系 数/%
	1	2	3				
50.000	4 816.94	5 001.00	4 940.89	4 919.61	24 598.05	93.86	1.91
10.000	1 004.58	980.91	974.30	986.60	4 933.00	15.92	1.61
2.000	189.04	183.51	191.09	187.88	939.40	3.92	2.09
0.500	51.97	48.41	50.43	50.27	251.35	1.79	3.55
0.100	10.66	8.85	12.01	10.51	52.55	1.59	15.09
0.020	2.60	2.15	2.38	2.38	11.90	0.23	9.45
0.010	1.13	1.02	1.02	1.06	5.30	0.06	5.99
0.005	0.34	0.57	0.11	0.34	1.70	0.23	67.65

捕获和扩增的概率。

dPCR高灵敏度特性具有重要的实际意义:一方面,对于经过高温、高压等深加工的食品,其DNA可能已发生部分降解,导致鸡蛋DNA含量极低,试验方法仍能实现精准检测;另一方面,对于食品标签中未标注但可能存在微量交叉污染的鸡蛋成分(如过敏原),试验方法的高灵敏度可有效避免因检测限不足导致的“假阴性”结果,为食品过敏原控制和食品安全监管提供了更可靠的技术手段。

2.5 加工食品样品检测

将试验方法应用于20批次实际食品样品检测,由图6可知,仅1号、11号无阳性微孔,其他样品均出现阳性扩增微孔,8号、10号、16号样品中基因拷贝数均低于试验方法检出限,说明这3个样品中检出鸡蛋成分,但含量极低。实际样品检测结果显示,dPCR检测结果与样品标签信息完全一致,证明了试验方法的实用性与可靠性。试验涉及的样品可能含有面粉、盐、糖、油脂等复杂基质,但并未对dPCR的检测结果产生明显干扰,其原因有:①微流体dPCR对PCR抑制剂具有较强的抗干扰能力;②DNA提取过程中有效去除了蛋白质、多糖、油脂等杂质,确保了模板DNA的纯度。

3 结论

建立了一种以鸡蛋线粒体基因ND1为靶基因的微流体数字PCR检测方法。该方法特异性佳,不受其他主要家禽DNA影响;方法耗时短,一般能在4 h内完成;结果数

据精准,无需制作标准曲线,避免了曲线偏差的影响;具有超高灵敏度,对目的基因的检出限可达5.30 copies/μL,且在复杂食品基质中表现出良好的抗干扰能力和稳定性。综上,试验方法适用于紧急检验任务及对样品中痕量DNA,如加工食品中鸡源性成分检测,该方法克服了传统PCR在检测灵敏度和抗干扰能力等方面的不足,有力拓展了分子生物学技术在食品检验检测领域的应用。后续将开发基于微流体dPCR的多通道检测体系,实现鸡蛋与其他常见过敏原(如牛奶、大豆、花生等)的同步检测。

参考文献

- [1] Xu J Y, Ye Y L, Ji J, et al. Advances on the rapid and multiplex detection methods of food allergens[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2022, 62(25): 6 887-6 907.
- [2] Ismail A M, Sani M S A, Azid A, et al. Food forensics on gelatine source via ultra-high-performance liquid chromatography diode-array detector and principal component analysis[J]. SN Applied Sciences, 2021, 3(1): 79.
- [3] 潘志文, 黄婉锋, 钱鑫, 等. 基于超高效液相色谱串联质谱法特征肽检测技术的阿胶鉴别与6种动物源性成分检查[J]. 中国药业, 2024, 33(11): 79-83.
- [4] Pan Z W, Huang W F, Qian X, et al. Identification of colla corii asini and examination of six animal heterologous components based on UPLC-MS/MS characteristic peptide detection technology[J]. China Pharmaceuticals, 2024, 33(11): 79-83.
- [5] Liu C Q, Su M N, Champ V D, et al. Validation procedures for quantification of food allergens by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) [J]. Methods in Molecular Biology, 2024, 2 717: 285-304.
- [6] Adenuga B M, Biltres R, Villa C, et al. Unravelling red deer (Cervus elaphus) meat adulteration in gourmet foods by quantitative real-time PCR[J]. Food Control, 2025, 168: 110872.
- [7] 蒋志伟, 夏若成, 陶瑞阳, 等. 鉴别6种常见食用肉类的多重PCR检测体系的构建及验证[J]. 法医学杂志, 2024, 40(3): 254-260.
- [8] Jiang Z W, Xia R C, Tao R Y, et al. Establishment and validation of a multiplex PCR detection system for the identification of six

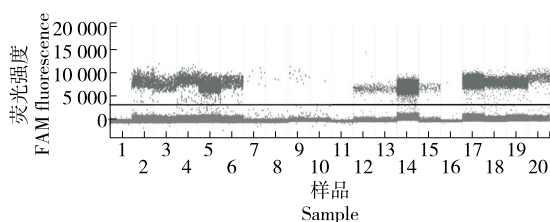


图6 20种加工食品样品dPCR检测结果

Figure 6 dPCR detection results of 20 processed food samples

- common edible meat components[J]. *Journal of Forensic Medicine*, 2024, 40(3): 254-260.
- [7] 金萍, 丁洪流, 张敏, 等. 双重实时荧光 PCR 法测定食品中大豆、小麦过敏原[J]. *食品与机械*, 2022, 38(9): 59-63, 102.
- Jin P, Ding H L, Zhang M, et al. Determination of soybean and wheat allergens in food by dual real-time fluorescence PCR[J]. *Food & Machinery*, 2022, 38(9): 59-63, 102.
- [8] 易姿, 杨丽霞, 钟非菲, 等. 食品中植物源性过敏原成分的 DNA 条形码鉴定[J]. *食品与机械*, 2025, 41(10): 20-26.
- Yi Z, Yang L X, Zhong F F, et al. Component identification of plant-derived allergens in food based on DNA barcoding[J]. *Food & Machinery*, 2025, 41(10): 20-26.
- [9] 路宇轩, 翟睿, 吴帆, 等. 肉类掺假检测方法及其研究进展[J]. *计量学报*, 2023, 44(6): 1 000-1 008.
- Lu Y X, Zhai R, Wu F, et al. Research progress on detection technology of meat adulteration[J]. *Acta Metrologica Sinica*, 2023, 44(6): 1 000-1 008.
- [10] Francis O L, Wang K Y, Kim E H, et al. Common food allergens and cross-reactivity[J]. *Journal of Food Allergy*, 2020, 2(1): 17-21.
- [11] Nigolian H, Caubet J C, Coattrenee Y. Egg allergy in children and adults[J]. *Revue Medicale Suisse*, 2021, 17(733): 675-679.
- [12] 杨文华, 叶惠玲, 王辉, 等. 鸡蛋过敏原及其脱敏技术研究进展[J]. *食品科学*, 2025, 46(10): 333-345.
- Yang W H, Ye H L, Wang H, et al. Research advances in hen's egg allergen and techniques for reducing its allergenicity[J]. *Food Science*, 2025, 46(10): 333-345.
- [13] Wang H, Chen L G, Sun L N. Digital microfluidics: a promising technique for biochemical applications[J]. *Frontiers of Mechanical Engineering*, 2017, 12(4): 510-525.
- [14] 冯秀晶, 易红梅, 任星旭, 等. 数字 PCR 技术及其在检测领域的应用[J]. *遗传*, 2020, 42(4): 363-373.
- Feng X J, Yi H M, Ren X X, et al. Digital PCR and its application in biological detection[J]. *Hereditas*, 2020, 42(4): 363-373.
- [15] 黄瑾, 梁涛波, 许恒毅. 数字 PCR 在生物学检测中应用的研究进展[J]. *生命科学*, 2021, 33(2): 255-264.
- Huang J, Liang T B, Xu H Y. Research progress of application of digital PCR in biological detection[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2021, 33(2): 255-264.
- [16] 李恩静, 王丹, 李龙, 等. 基于微滴数字 PCR 技术检测致敏原芒果成分[J]. *食品与机械*, 2024, 40(9): 50-55, 115.
- Li E J, Wang D, Li L, et al. Detection of allergen mango components by using droplet digital PCR technology[J]. *Food & Machinery*, 2024, 40(9): 50-55, 115.
- [17] 闫邦奇, 水克娟, 黎财慧, 等. 转基因玉米 MON87411 双重微滴式数字 PCR 定量检测方法的建立[J]. *现代食品科技*, 2025, 41(3): 378-386.
- Yan B Q, Shui K J, Li C H, et al. Establishment of a quantitative duplex droplet digital PCR detection method for genetically modified maize MON87411[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2025, 41(3): 378-386.
- [18] 张雪, 马丽侠, 叶德萍, 等. 即食果蔬制品中致泻大肠埃希氏菌检测微滴数字 PCR 系统的建立[J]. *食品工业科技*, 2025, 46(21): 357-365.
- Zhang X, Ma L X, Ye D P, et al. Establishment of a droplet digital PCR system for the detection of diarrheagenic *Escherichia coli* in ready-to-eat fruit and vegetable products[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2025, 46(21): 357-365.
- [19] 陈晨. 微滴式数字 PCR 技术用于牛羊肉掺假定量检测方法的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2018: 17.
- Chen C. Research on microbial digital PCR quantitative detection techniques of adulteration of beef and sheep[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2018: 17.
- [20] 杨华, 汪小福, 肖英平, 等. 牛肉及其制品中掺入鸡肉、鸭肉和猪肉的多重数字 PCR 快速检测方法研究[J]. *浙江农业学报*, 2017, 29(6): 994-1 000.
- Yang H, Wang X F, Xiao Y P, et al. Rapid detection of chicken, duck and pork blending in beef products by multiple digital PCR[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2017, 29(6): 994-1 000.
- [21] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. GB/T 38164—2019 常见畜禽动物源性成分检测方法 实时荧光 PCR 法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- State Administration for Market Regulation, Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 38164—2019 Identification of animal ingredient from common livestock and poultry—real-time PCR[S]. Beijing: Standards Press of China, 2019.
- [22] 中华人民共和国商务部. SB/T 10923—2012 肉及肉制品中动物源性成分的测定 实时荧光 PCR 法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- Ministry of Commerce of the People's Republic of China. SB/T 10923—2012 Identification of animal derived materials in meat and meat products real-time PCR method[S]. Beijing: Standards Press of China, 2013.
- [23] 国家市场监督管理总局. BJS 202309 鸭血中鸭鸡鹅源性成分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2023.
- State Administration for Market Regulation. BJS 202309 Determination of duck, chicken and goose-derived components in duck blood[S]. Beijing: Standards Press of China, 2023.
- [24] Group D, Huggett J F. The digital MIQE guidelines update: minimum information for publication of quantitative digital PCR experiments for 2020[J]. *Clinical Chemistry*, 2020, 66(8): 1 012-1 029.
- [25] Walia G K, Dhillon G K. DNA barcoding and molecular phylogeny of genus *Pseudagrion* (Odonata: Coenagrionidae) based on mitochondrial COI, ND1 and 16S rRNA genes[J]. *International Journal of Tropical Insect Science*, 2024, 44(4): 1 567-1 590.
- [26] Codex Alimentarius Commission, CAC. CAC/GL 74—2010 Guidelines on performance criteria and validation of methods for detection, identification and quantification of specific DNA sequences and specific proteins in foods[S]. Rome: Codex Alimentarius Commission, 2010.