

DNA 条形码技术在食用血制品掺杂成分鉴别中的应用

Application of DNA barcoding technology in the identification of adulterated ingredients of edible blood products

励 炯¹ 吴 琼¹ 江 海¹ 扈明洁¹ 徐新怡^{2,3}

LI Jiong¹ WU Qiong¹ JIANG Hai¹ HU Ming-jie¹ XU Xin-yi^{2,3}

(1. 杭州市食品药品检验研究院, 浙江 杭州 310017; 2. 浙江方圆检测集团股份有限公司, 浙江 杭州 310017; 3. 浙江省市场监管生物安全重点实验室, 浙江 杭州 310017)

(1. Hangzhou Institute for Food and Drug Control, Hangzhou, Zhejiang 310017, China; 2. Zhejiang Fangyuan Test Group Co., Ltd., Hangzhou, Zhejiang 310017, China; 3. Key Laboratory of Biosafety Detection for Zhejiang Market Regulation, Hangzhou, Zhejiang 310017, China)

摘要:目的: 建立一种可食用血制品中 7 种动物源成分(包括猪、牛、羊、鸡、鸭、鹅、兔)掺杂鉴别的分析方法。方法: 血制品经 DNA 提取纯化及 PCR 扩增后, 将克隆测序结果提交至 7 种血制品的 DNA 条形码本地数据库进行序列比对。对血制品的预处理方式、DNA 提取方式以及 PCR 扩增条件进行选择和优化, 并建立常见血制品掺杂模型, 研究模型的最低掺杂检出率。结果: 7 种可食用血制品的 DNA 扩增效率为 100%, 各种掺杂模型中的最低掺杂检出率为 5%; 利用该法对 25 批次市售可食用血制品进行掺杂鉴定, 发现有 21 批次存在掺有其他动物源成分的情况。结论: 该方法简单、可靠, 可作为日常可食用血制品质量监督的检测方法。

关键词: DNA 条形码; 可食用血制品; COI; 掺杂

Abstract: Objective: A COI sequence-based full-length DNA barcoding technology was established to identify adulteration of seven animal-derived components (including pigs, cows, sheep, chickens, ducks, geese and rabbits) in edible blood products. Methods: After the blood products were extracted and purified by DNA extraction and PCR amplification, the clone sequencing results were submitted to the DNA barcode local database of the 7 blood products for sequence comparison. The pretreatment method, DNA extraction method and PCR amplification conditions of the blood products were also selected and optimized,

and various common blood product adulteration models were established to study the lowest adulteration detection rate of the models. Results: The results showed that the DNA amplification efficiency of seven edible blood products was 100%, and the minimum adulteration detection rate in various adulteration models was 5%; 25 batches of commercially available edible blood products were identified as adulterated using the method, and 21 batches were found to be adulterated with other animal-derived ingredients. Conclusion: The method is simple, reliable and can be used as a testing method for daily quality supervision of edible blood products.

Keywords: DNA mini-barcoding; edible blood products; cytochrome oxidase subunit I; adulteration

基金项目:国家市场监督管理总局科技计划项目(编号: 2021MK141); 浙江省市场监管生物安全重点实验室开放项目(编号: 2023BS001)

作者简介: 励炯(1983—), 男, 杭州市食品药品检验研究院副主任技师, 硕士。E-mail: jokelee2@126.com

收稿日期: 2023-03-06 **改回日期:** 2023-05-09

可食用动物血制品, 又叫血豆腐、血旺, 是一种肉制品加工生产副产品, 是以动物血液为原料制作成的一种传统食材, Q 弹爽口, 富含蛋白质(含量为 17%~22%)、矿物质和维生素等营养成分, 具有提高免疫力、预防贫血、解毒清肠等功能, 深受消费者喜爱^[1-2]。常见制作血豆腐的原料主要有鸭血、猪血、鸡血、鹅血、牛血、羊血、兔血 7 种畜禽类血液。由于各种动物的血液供应量受其体型及屠宰量等因素影响, 如理想条件下猪的采血量为 2.5 kg/头左右, 牛的为 15 kg/头左右, 家禽的为 0.1 kg/头左右。由于各种血豆腐的性状等相差不大, 而且现代食品加工工艺可以通过添加各种香精香料等添加剂来改变各种食品的性状、感官气味等, 普通消费者难以通过外观、色泽、气味来区分各种血豆腐, 部分不法商家为谋求利润, 通过添加其他动物源血液来冒充某种或某些血豆腐^[3-6]。

目前动物源食品掺杂鉴别技术主要分为两类: 基于

蛋白质的掺杂鉴别技术和基于 DNA 的掺杂鉴别技术。由于在深加工过程中,蛋白质容易变性,基于蛋白质的掺杂鉴别技术应用有所限制;而相对于蛋白质,DNA 在高温、高压、高盐、高糖等条件下,仍能保持相对稳定^[7-9]。近年来有很多研究^[10-12]采用 DNA 条形码技术来对物种进行鉴别,包括动物源食品的掺杂鉴别。该技术的基础是需要易扩增的、相对较短的、有足够变异的 DNA 片段,而线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I(cytochrome oxidase subunit I, COI)的基因片段完全符合要求,足够变异的 COI 基因片段保证了各物种间的特异性,可以实现对各种动物源成分的快速、准确鉴别。很多研究^[13-15]采用全片段的 COI 基因(大约 650 bp)的 DNA 条形码技术(full-length DNA barcoding)对物种进行鉴别,同时也有将此技术应用于食品掺杂鉴别检测中的。目前关于可食用血制品掺杂的方法研究不多,而且现有研究内容有很多局限性,比如研究的对象单一,没有系统地进行研究^[16-17];采用一般的传统分子生物学手段,利用特定引物进行扩增,导致其掺杂结果判断具有局限性,不能进行系统、全面的筛查^[18-20]。研究拟针对常见的可食用血制品掺杂情况,以全片段的 COI 基因的 DNA 条形码技术为基础,通过选择和优化预处理方法、DNA 提取方式、PCR 扩增条件等,建立 7 种血制品的 DNA 条形码本地数据库,并将克隆测序结果提交至本地数据库进行比对分析,以期建立一套可食用血制品中 7 种动物源成分掺杂鉴别的简单、可靠、系统的方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

猪、牛、羊、鸡、鸭、鹅、兔 7 种新鲜血液:采自屠宰场; 25 批次可食用血制品:市售;

DNeasy Blood & Tissue Kit 提取试剂盒、QIAxcel R DNA High Resolution Kit (1200)、QX Alignment Marker 15/600 bp、QX DNA Size Marker 15~1 500 bp:德国凯杰公司;

即用 PCR 扩增试剂、PCR 产物及 DNA 片段回收试剂盒:生工生物工程(上海)股份有限公司;

T4 连接试剂盒、pGEM-T 载体、DH5 α 感受态细胞:天根生化科技有限公司。

1.2 仪器与设备

梯度 PCR 仪:Veriti 96-Well 型,美国应用生物系统公司;

全自动毛细管电泳仪:QIAxcel Advanced 型,德国凯杰公司;

真空冷冻干燥器:EYELA FDU-1100 型,日本东京理化公司;

微量核酸蛋白测定仪:NanoDrop 1000 型,美国赛默飞公司;

高速离心机:3-18K 型,德国 Sigma 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 可食用血制品制备 新鲜血液无需特殊处理,直接取样提取 DNA;7 种动物血在实验室经过凝血、高温真空脱气、挤压脱水等加工后,制作成研究所需的单一来源的可食用血制品。

1.3.2 样品预处理 可食用血制品需进行以下处理:样品经料理机粉碎后置于烧杯中,加入 500 mL 生理盐水,超声(频率 20~40 kHz;功率 500~1 000 W)处理 30 min,经滤纸过滤后,将剩余的残渣重复上述超声处理 2 遍,置于-40 ℃冰箱预冷冻 3~5 h,再置于真空度 $<1 \times 10^{-4}$ Pa、温度 <-50 ℃的真空冷冻干燥箱内干燥处理 48 h,经料理机粉碎处理后,置于干燥器中常温保存。

1.3.3 DNA 提取 取预处理后的样品粉末 0.2 g 于 5 mL 离心管中,加入 2 mL ATL 缓冲溶液和 0.2 mL 蛋白酶 K,混合后于 56 ℃条件下裂解直至样品完全裂解澄清(2~3 h)。取上述液体 0.25 mL 上 DNA 净化柱,经 AW1 和 AW2 缓冲液洗柱膜后,用预热至 37 ℃的 AE 缓冲液洗脱 DNA,提取后的 DNA 模板置-20 ℃保存。同时做试剂空白。

1.3.4 COI 基因的扩增及扩增片段确认 参照文献[15],选择一对适合扩增 7 种可食用血制品的通用引物 COI-A(详细序列见表 2),扩增出猪、牛、羊、鸡、鸭、鹅、兔 7 种物种的 COI 的全片段基因,引物合成由杭州擎科生物技术有限公司完成,为便于后续测序在引物末端连接 M13。

采用 25 μ L 的 PCR 扩增体系,每个体系由以下试剂组成:各种血制品提取净化后的 DNA 模板 2 μ L,即用 PCR 扩增试剂 12.5 μ L,10 μ mol/L 的正向和反向引物各 0.5 μ L,最后用重蒸水补齐。全片段 DNA 条形码片段扩增程序见表 1。将扩增片段贮藏于-20 ℃,备用。

采用 QIAxcel 毛细管凝胶电泳分析系统对 PCR 扩增产物进行确认分析,对可食用血制品的全片段 COI 基因的扩增片段进行初步确认。将校准并平衡好的凝胶卡夹

表 1 全片段 DNA 条形码片段扩增程序

Table 1 The amplification program for full-length DNA barcode

程序	温度/℃	步骤	时间/min	循环数
程序 1	95	预变性	2.0	1
程序 2	95	变性	1.0	5
	46	退火	1.0	
	72	延伸	0.5	
程序 3	95	变性	1.0	35
	53	退火	1.0	
	72	延伸	0.5	
程序 4	72	延伸	10.0	1

置于仪器内,样品分析盘内分别放入已加入 10 μL DNA size marker 以及扩增产物的小管,经 DNA High Resolution Kit (1200)凝胶电泳分离后进行确认分析,时间为 5 min。确认后的扩增产物进行测序(杭州擎科生物技术有限公司),测序结果切除两端引物序列后,获得最终的目标片段序列。

1.3.5 PCR 产物克隆测序 由于掺杂鉴别试验的目标片段可能会是两种以上物种的混合物,所以采用克隆测序对可食用血制品中 7 种动物源血成分进行鉴别。克隆测序操作见图 1,将提取的 DNA 送杭州擎科生物技术有限公司进行测序。

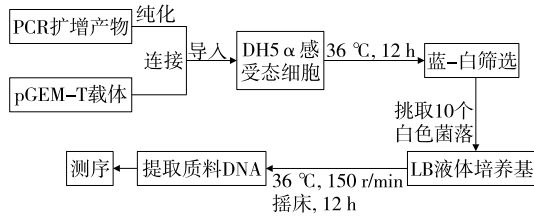


图 1 克隆测序操作流程
Figure 1 Clone sequencing flow chart

1.3.6 测序结果分析 全片段 *COI* 基因序列的测序结果经切除引物和质粒序列后,同时提交至 7 种可食用血制品的 DNA 条形码本地数据库 BLOOD 和 NCBI 数据库,经序列相似性比对,并根据得到的评分进行真伪鉴别。

2 结果与分析

2.1 样品预处理方式选择

可食用血制品一般需要经过凝固、胶化等工艺处理,并加入食盐、柠檬酸钠、食用胶(比如瓜尔胶)、氯化钙等配料。这些工艺处理会使得血制品呈现凝固胶状等特性,在进行 DNA 提取前,如果可食用血制品不进行预处理或者处理方式选择不当,极易引起样品混合不均一,造成被掺杂成分的漏检和误检。分别采用料理机粉碎法、液氮研磨法和真空冷冻干燥法对 20 份掺有 10% 比例猪源性成分的鸭血样品进行均匀性考察,然后依 1.3 试验方

法进行检测,结果见图 2。

3 种样品预处理方式中,经料理机直接粉碎处理的样品,掺杂的猪血检出率仅有 20%,可能是因血制品含有较高的胶质等添加物,用普通的料理机直接粉碎处理,混匀效果非常差;液氮研磨法处理后的样品,掺杂的猪血检出率不到 50%,是由于可食用血制品中含有较高的水分,样品在液氮研磨过程中非常容易结块,混匀效果一般;而经过真空冷冻干燥处理后的样品,掺杂的猪血检出率达到 100%,样品中的水分经升华后完全干燥,经料理机粉碎成粉末状样品后,样品均一性较高。所以最终采用真空冷冻干燥法对可食用血制品进行粉碎预处理。

2.2 DNA 提取方式优化

研究以采用微量核酸蛋白分析仪对 7 种纯可食用血制品检测所得的 DNA 质量浓度和纯度(即 DNA 在 260 nm 处的吸光值与在 280 nm 处的吸光值的比值,以 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 表示)为指标,对快速提取法和柱膜法两种 DNA 提取方式进行可靠性考察。并非测得的 DNA 浓度越高越好,一般情况下,如果能保证一定浓度(在 50~100 ng 的量)的 DNA 且 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 值在 1.8~2.0 范围内,则可认为该 DNA 提取方法可靠,所得的 DNA 质量较好。由图 3 可知,虽然 7 种可食用血制品通过快速提

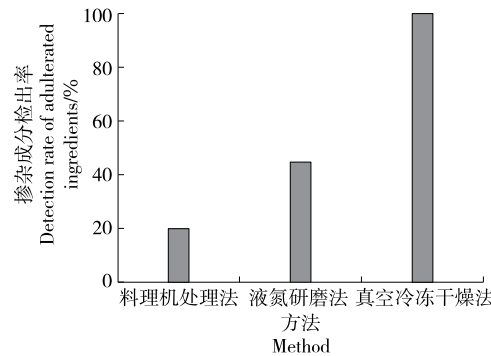


图 2 预处理方式对掺杂成分检出率的影响
Figure 2 Detection of duck blood products adulterated with pork blood model (10%) by three pretreatment methods

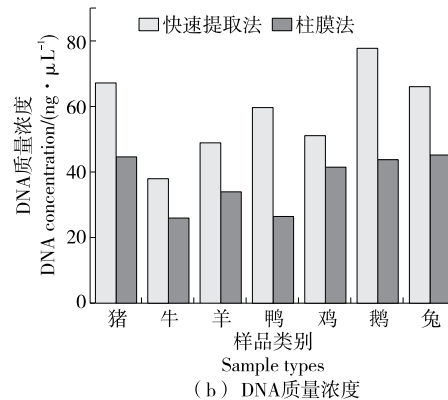
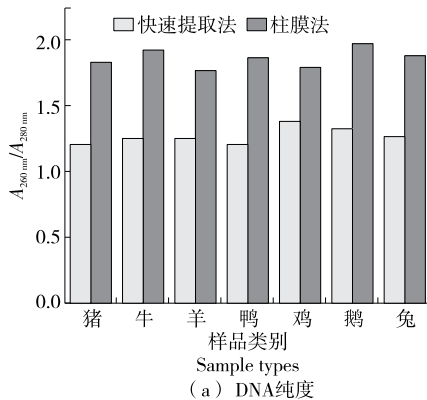


图 3 提取方法对 DNA 提取效果的影响

Figure 3 Effect of different extraction methods on the purity and concentration of DNA extracted from 7 pure blood products

取法得到的 DNA 质量浓度比柱膜法的高,但是其所得 DNA 的纯度较柱膜法低且 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 值在 1.19~1.40。快速提取法虽然相对柱膜法较简单快速,但是其缺少净化步骤,导致提取物中的杂质较多,DNA 纯度较低。由于 DNA 纯度高低对后续 PCR 扩增影响较大,因此选择柱膜法对血制品中的 DNA 进行提取。

由于掺杂鉴别试验的特殊性,样品需要有一定的代表性和均一性,如取样量不合适会导致漏检或误检,所以合适的取样量是决定检测方法可靠性的关键因素之一。针对血液和组织等生物样本,DNeasy 提取试剂盒建议取样量为 10~25 mg,试验依此对掺混样品的取样量进行考察,采用掺有 10%猪源性成分的鸭血样品,经冷冻干燥处理后,分别取其粉末 25,50,100 mg,各取 20 份,以掺杂成分(猪源性成分)检出率为评价指标,对取样量的代表性和可靠性进行考察,结果见图 4。随着取样量的增加,掺杂模型中的猪源性成分的检出率越来越高,当取样量为 100 mg 时,其检出率为 100%,说明取样量具有足够的代表性和均一性,而 DNeasy 血液与组织提取试剂盒建议的取样量不适合该方法。因此,取样量选择 100 mg。

2.3 DNA 条形码序列片段扩增条件优化

影响 DNA 目标片段的扩增效率的因素主要包括引物、DNA 模板浓度以及 PCR 扩增程序中的退火温度,其

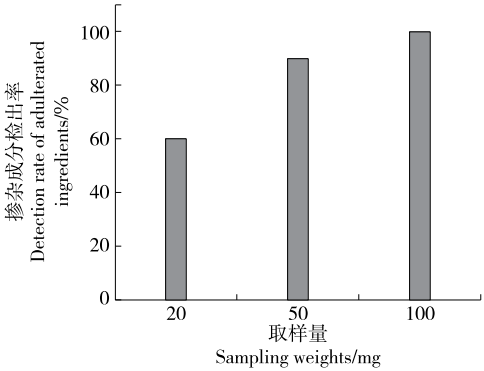


图 4 取样量对掺杂成分检出率的影响

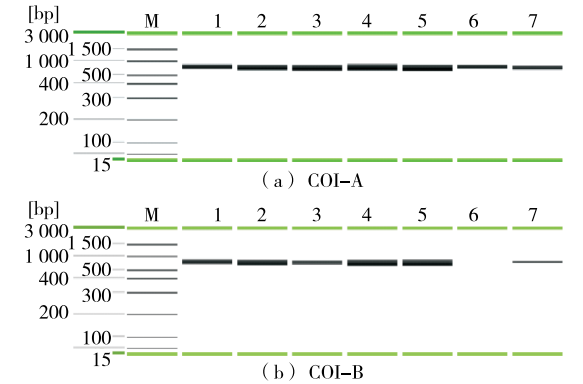
Figure 4 Detection of duck blood products adulterated with pork blood model (10%) by three sample weights

中最关键的是引物的选择。试验选择 CO I -A 和 CO I -B 两对通用引物(具体引物序列见表 2),并采用 QIAxcel 毛细管凝胶电泳分析系统对其扩增效率进行评估分析。结果(图 5)发现,引物 CO I -B 虽然能非常有效地扩增出 7 种可食用血制品的基因片段,但对鹅血的扩增效率基本为 0,其相对应的条带为空白;而引物 COI-A 能全部高效地扩增出大小为 658 bp 左右的目标片段。

表 2 基因引物序列

Table 2 Primer sequence of genes

名称	上游引物(F-Primer 5'-3')	下游引物(R-Primer 5'-3')
COI-A	TGTAACACGACGGCCAGTTCTC	CAGGAAACAGCTATGACTAGAC
	AACCAACCACAARGAYATYGG	TTCTGGGTGGCCRAARAAYCA
COI-B	TGTAACACGACGGCCAGTTCTC	CAGGAAACAGCTATGACTAGAC
	AACCAACCACAAAGACATTGG	TTCTGGGTGGCCAAAGAATCA



M. Marker(15~1 500 bp) 1. PCR 产物(猪) 2. PCR 产物(牛) 3. PCR 产物(羊) 4. PCR 产物(鸭) 5. PCR 产物(鸡) 6. PCR 产物(鹅) 7. PCR 产物(兔)

图 5 7 种可食用血制品(未掺杂)DNA 条形码的 PCR 扩增电泳图
Figure 5 Electrophoresis images of DNA mini-barcoding fragments amplified by PCR from 7 blood products

由于毛细管凝胶电泳上的毛细管输出端配置了光检测器,其扩增产物的扩增效率以荧光值(RFU)的形式被检测器记录,所以可以利用毛细管凝胶电泳分析系统记录的各个产物条带的荧光值,对扩增效率进行量化考察。

DNA 模板浓度过高或者过低,退火温度过高或者过低,均会影响 DNA 目标片段的扩增效率。DNA 模板用量及退火温度对 7 种可食用血制品的 COI 基因片段扩增效果的影响见图 6。由图 6 可知,当 DNA 模板用量为 2 μ L、退火温度为 53 $^{\circ}$ C 时,7 种可食用血制品 DNA 目标片段的扩增效果较好,条带的荧光值(RFU)最高,能保证方法的可靠性和灵敏度。7 种可食用血制品的测序结果见表 3。

2.4 可食用血制品掺杂模式考察

研究主要设定两种来源的动物血的掺杂模式,考察了 7 种可食用血制品的掺混情况,共 42 个可食用血制品掺杂模型,同时考察掺杂模型的检测灵敏度(即掺入的动物源血的最低比例),用建立的分析方法分析,结果发现,

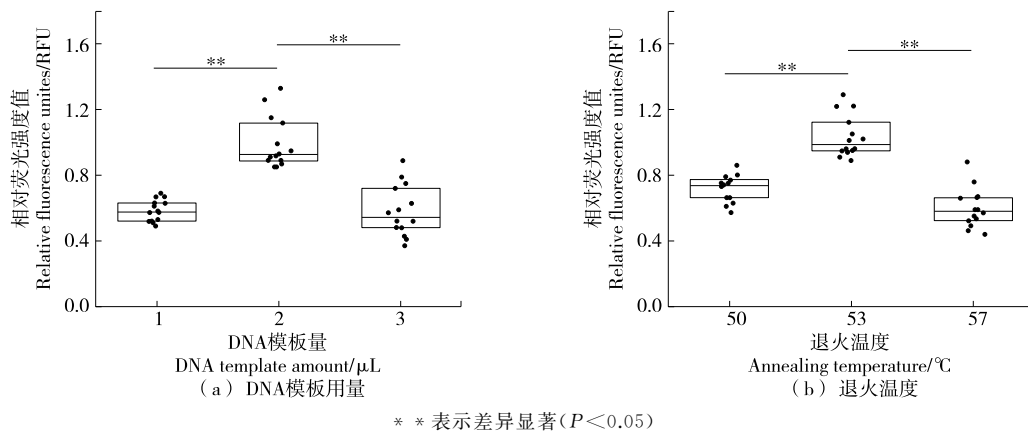


图6 DNA模板用量与退火温度对PCR扩增效果的影响

Figure 6 Effect of DNA template amount and different annealing temperatures on the PCR amplification efficiency of 7 edible blood products

表 3 7 种可食用血制品(未掺杂)DNA 条形码检测结果

Table 3 DNA barcoding results for 7 blood products found to contain one species

序号	纯血类别	基因相似度/%	物种匹配结果
1	猪血	99	<i>Sus scrofa</i> (野猪)
2	牛血	99	<i>Bos primigenius</i> (原始牛)
3	羊血	99	<i>Caprahircus</i> (山羊)
4	鸭血	98	<i>Anas platyrhynchos</i> (绿头鸭)
5	鸡血	99	<i>Gallusgallus</i> (普通家鸡)
6	鹅血	98	<i>Anser</i> (鹅属)
7	兔血	99	<i>Oryctolagus cuniculus</i> (家兔)

42 个可食用血制品掺杂模型中, 掺杂成分的检出比例最低为 5%, 可以满足日常掺杂鉴别要求。

2.5 基于 BLAST+ 的 7 种血制品的 DNA 条形码本地数据库建立

BLAST 是美国国家生物信息中心 (NCBI) 提供的局部碱基比对工具, 通过对目标序列与库中的已知序列进行碱基比对, 同时排除区分干扰序列, 检索出与目标序列相匹配的序列。常见的比对方式是采用在线 BLAST, 要求用户与 NCBI 服务器连接才能完成比对, 其优点是 NCBI 服务器上庞大的数据库, 能够提供较多的序列可能性, 缺点是比对时间较长, 比对结果可能会有偏差。BLAST 本地化工具 (BLAST+) 及其数据库可以通过自行构建的方法脱机运行, 其通过将所需的目标物种的测序结果建立一个标准的本地数据库, 后续的测序结果即可通过脱机检索建立的本地数据库进行比对, 使得查找更具有针对性, 速度更快, 结果更准确。

在计算机上按照 NCBI 提供的 BLAST+2.12.0 软件工具包。在本地电脑上安装 BLAST+之后,会在目录中形成两个文件夹(bin 和 doc),其中 bin 文件夹下为各种

比 对 程 序 , 包 括 核 酸 序 列 比 对 需 要 的 blastn.exe。 首 先 将 7 种 动 物 源 血 成 分 的 条 形 码 片 段 核 酸 序 列 存 为 单 一 的 FASTA 格 式 文 件 blood7, 然 后 使 用 BLAST+ 工 具 包 的 makeblastdb 命 令 (makeblastdb -in, \ blood7. fasta -dbtype nucl -parse_seqids -out Blood), 对 上 述 序 列 文 件 进 行 数 据 格 式 化 和 索 引 化 , 形 成 可 供 BLAST 检 索 的 本 地 数 据 库 Blood。

取掺杂模型、实际样品的测序结果。使用本地数据库的 `blastn` 命令将待检索序列结果对数据库进行检索, 结果自动保存于 `result.txt` 文件。在结果目录下打开 `result.txt` 文件, 根据比对得分 (Score) 情况进行结果分析。

2.6 实际样品检测

利用建立的 DNA 条形码技术对市售 25 批次的可食用血制品(鸭血豆腐)进行掺杂鉴别,其中包括 12 批次的鸭血豆腐、5 批次的猪血豆腐、4 批次的牛血豆腐、2 批次的羊血豆腐以及 2 批次的鹅血豆腐。结果(表 4)发现,有 4 批次的鸭血豆腐检出猪源性成分,1 批次的牛血豆腐检出猪源性成分,其他的血豆腐鉴定结果与其标签标示的品种一致。12 批次的鸭血豆腐中有 4 批次的鸭血豆腐检出猪源性成分,不合格率为 33%;5 批次的牛血豆腐中检出 1 批次的猪源性成分,不合格率为 20%;25 批次的血豆腐中一共检出 5 批次的掺混产品,不合格率为 20%。依据农业部标准 NY/T 3309—2018,采用实时荧光定量 PCR 方法对上述结果进行可靠性验证,发现其结果与该方法一致。

3 结论

通过对猪、牛、羊、鸡、鸭、鹅、兔 7 种血制品的预处理方式、DNA 提取及扩增条件的选择与优化,在全片段 *COI* 基因的 DNA 条形码技术的基础上,建立了一套适合 7 种常见可食用血制品掺杂鉴别的分析方法。真空冷冻干燥处理后的样品粉未经 DNA 提取纯化和扩增后,扩增

表 4 实际样品检测结果
Table 4 Results of samples

样品名称	DNA 条形码 鉴定结果	基因相 似度/%	判断 结果	实时荧光定性 PCR 法结果
鸭血 a	鸭血	99	符合	鸭源性成分
鸭血 b	检出猪源性成分	98	掺杂	猪源性成分
鸭血 c	检出猪源性成分	99	掺杂	猪源性成分
鸭血 d	鸭血	99	符合	鸭源性成分
鸭血 e	鸭血	99	符合	鸭源性成分
鸭血 f	鸭血	98	符合	鸭源性成分
鸭血 g	鸭血	98	符合	鸭源性成分
鸭血 h	检出猪源性成分	98	掺杂	猪源性成分
鸭血 i	鸭血	99	符合	鸭源性成分
鸭血 j	鸭血	99	符合	鸭源性成分
鸭血 k	检出猪源性成分	98	掺杂	猪源性成分
鸭血 l	鸭血	99	符合	鸭源性成分
猪血 a	猪血	98	符合	猪源性成分
猪血 b	猪血	99	符合	猪源性成分
猪血 c	猪血	98	符合	猪源性成分
猪血 d	猪血	99	符合	猪源性成分
猪血 e	猪血	99	符合	猪源性成分
牛血 a	羊血	97	符合	羊源性成分
牛血 b	羊血	98	符合	羊源性成分
牛血 c	检出猪源性成分	98	掺杂	猪源性成分
牛血 d	羊血	99	符合	羊源性成分
羊血 a	羊血	99	符合	羊源性成分
羊血 b	羊血	98	符合	羊源性成分
鹅血 a	鹅血	99	符合	鹅源性成分
鹅血 b	鹅血	98	符合	鹅源性成分

产物经切胶纯化后进行克隆测序,将测序结果与建立的 7 种血制品的 DNA 条形码本地数据库 Blood 进行比对。该方法基于特异性较强的 DNA 条形码技术,同时鉴定猪、牛、羊、鸡、鸭、鹅、兔 7 种血制品的真伪,其鉴定结果可靠、高效,可作为市售可食用血制品掺杂鉴别的一种手段。

参考文献

[1] 张露娟. 畜禽血液在食品工业中的应用[J]. 农产品加工, 2019 (10): 58-62.
ZHANG L J. The application of livestock and poultry blood in food industry[J]. Farm Products Processing, 2019(10): 58-62.
[2] 王玲. 畜禽血液的开发利用与研究进展[J]. 畜牧兽医杂志, 2018, 37(5): 42-43.
WANG L. Research progress and development and utilization of livestock and poultry blood[J]. Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 2018, 37(5): 42-43.

[3] 王鑫, 王道营, 徐为民, 等. 三种家禽血豆腐凝胶特性和滋味研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(7): 76-82.
WANG X, WANG D Y, XU W M, et al. Study on the gel properties and taste of three kinds of poultry blood tofu[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(7): 76-82.
[4] 杨雪松, 孙杨赢, 潘道东, 等. 阿拉伯胶、瓜尔豆胶复配对鸭血凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(5): 26-32.
YANG X S, SUN Y Y, PAN D D, et al. Effect of combination of gum arabic and guar gum on duck blood gel properties[J]. Food Science, 2018, 39(5): 26-32.
[5] 张莺莺, 王洪洋, 涂尾龙, 等. 9 种畜禽血液的氨基酸组成和蛋白质营养分析[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(5): 150-158.
ZHANG Y Y, WANG H Y, TU W L, et al. Analysis of amino acid composition and protein nutrition in nine kinds of animal blood samples[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(5): 150-158.
[6] 张莺莺, 涂尾龙, 王洪洋, 等. 10 种市售畜血豆腐产品食品安全指标的测定[J]. 上海农业学报, 2021, 37(4): 108-116.
ZHANG Y Y, WANG H Y, TU W L, et al. Food safety index of ten kinds of commercial edible domesticated animal blood tofu products[J]. Shanghai Agricultural Sciences, 2021, 37(4): 108-116.
[7] 李宗梦, 赵良娟, 王永芳, 等. 肉及肉制品分子生物学鉴别技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(2): 405-409.
LI Z M, ZHAO L J, WANG Y F, et al. Progress of molecular identification techniques used in meat and meat products[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(2): 405-409.
[8] 支琴, 郭金超, 龚强. 肉制品中动物源性成分 DNA 检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(16): 4 204-4 211.
ZHI Q, GUO J C, GONG Q. Advance in DNA analytical techniques for ingredients of animal origin in meat products[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(16): 4 204-4 211.
[9] SENTANDREU M A, SENTANDREU E. Authenticity of meat products: Tools against fraud[J]. Food Research International, 2014, 60: 19-29.
[10] 林晓伊, 李亘王, 冯宇, 等. 阿胶及其制品质量检测方法研究进展[J]. 食品与机械, 2021, 37(7): 207-212.
LIN X Y, LI D W, FENG Y, et al. Research progress of quality detection methods for donkey-hide gelatin and its products[J]. Food & Machinery, 2021, 37(7): 207-212.
[11] 钟文涛, 徐越, 王淑好, 等. 食品中常见病原微生物的 DNA 条形码识别技术[J]. 食品与机械, 2021, 37(2): 47-51.
ZHONG W T, XU Y, WANG S H, et al. Study on DNA barcoding identification technology of common pathogenic microorganisms in food[J]. Food & Machinery, 2021, 37(2): 47-51.
[12] PRIYANKA M, AMIT K, AKSHITHA N, et al. DNA barcoding: An efficient tool to overcome authentication challenges in the herbal market[J]. Plant Biotechnology Journal, 2016, 14(1): 8-21.
[13] HEBERT P D, CYWINSKA A, BALL S L. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 2003, 270 (1 512): 313-321.

(下转第 138 页)

- change of mushroom (*Agaricus bisporus*) polyphenoloxidase subjected to thermal treatment [J]. *Food Chemistry*, 2017, 214: 423-431.
- [14] 吴倩, 余元善, 刘淑媚, 等. 橄榄多酚氧化酶和过氧化物酶的抑制剂筛选及其热失活动力学[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(2): 157-162.
- WU Q, YU Y S, LIU S M, et al. Inhibitors of polyphenol oxidase and peroxidase in olive and their thermal inactivation kinetics[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2019, 35(2): 157-162.
- [15] 王富海. 丽江雪桃中两种形态多酚氧化酶的酶学性质和钝化效果的研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2021: 40-45.
- WANG F H. Enzymatic properties and passivation effects of two forms of polyphenol oxidase from Lijiang snow peaches [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2021: 40-45.
- [16] 李晓芳. 金银花远红外辐射干燥及品质特性研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2018: 44-45.
- LI X F. Research on the drying and quality characteristics of far-infrared radiation drying of flos *lonicerae* [D]. Luoyang: Henan University of Science and Technology, 2018: 44-45.
- [17] WI S G, CHUNG B Y, KIM J S, et al. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants[J]. *Micron*, 2007, 38(6): 553-564.
- [18] YAO L, FAN L, DUAN Z. Effect of different pretreatments followed by hot-air and far-infrared drying on the bioactive compounds, physicochemical property and microstructure of mango slices[J]. *Food Chemistry*, 2020, 305: 125477.
- [19] 石晓微, 刘云宏. 超声-远红外辐射干燥对香蕉片品质的影响[J]. *食品与机械*, 2021, 37(1): 204-209.
- SHI X W, LIU Y H. Effects of ultrasound combined far-infrared radiation drying on the quality of banana slices [J]. *Food & Machinery*, 2021, 37(1): 204-209.
- [20] LIU Y, SUN C, LEI Y, et al. Contact ultrasound strengthened far-infrared radiation drying on pear slices: Effects on drying characteristics, microstructure, and quality attributes [J]. *Drying Technology*, 2019, 37(6): 745-758.
- [21] 武丹露, 杨利珠, 张燕茹, 等. 超声波和加热处理对三疣梭子蟹肝胰腺丝氨酸蛋白酶的影响[J]. *中国海洋大学学报 (自然科学版)*, 2018, 48(10): 18-25.
- WU D L, YANG L Z, ZHANG Y R, et al. Effects of ultrasound and heat treatments on the activity of serine protease in hepatopancreas from swimming crab (*Portunus trituberculatus*) [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2018, 48(10): 18-25.
- [22] 樊佳玫. 甘油对秘鲁鲑鱼肌原纤维蛋白质构象及鱼糜凝胶的影响[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2019: 12-13.
- FAN J M. Effect of glycerol on myofibrillary protein conformation and surimi gel of Peru [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2019: 12-13.
- [23] ZHOU L, LIU W, XIONG Z, et al. Effect of ultrasound combined with malic acid on the activity and conformation of mushroom (*Agaricus bisporus*) polyphenoloxidase [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2016, 90: 61-68.
- [24] 王文宗, 李琳, 林鸿佳, 等. 超声波对多酚氧化酶酶活力的影响及其机理[J]. *食品科学*, 2010, 31(17): 331-334.
- WANG W Z, LI L, LIN H J, et al. Effect and mechanisms of ultrasonic treatment on polyphenol oxidase activity [J]. *Food Science*, 2010, 31(17): 331-334.
- [25] IQBAL A, MURTAZA A, MUHAMMAD Z, et al. Inactivation, aggregation and conformational changes of polyphenol oxidase from quince (*Cydonia oblonga* Miller) juice subjected to thermal and high-pressure carbon dioxide treatment[J]. *Molecules*, 2018, 23(7): 1743.
- [26] CHENG L, ZHU Z, SUN D W. Impacts of high pressure assisted freezing on the denaturation of polyphenol oxidase [J]. *Food Chemistry*, 2021, 335: 127485.
- [27] MURTAZA A, IQBAL A, LINHU Z, et al. Effect of high-pressure carbon dioxide on the aggregation and conformational changes of polyphenol oxidase from apple (*Malus domestica*) juice [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2019, 54: 43-50.

(上接第 48 页)

- [14] HAJIBABAEI M, SINGER G A C, HEBERT P D N, et al. DNA barcoding: How it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics[J]. *Trends in Genetics*, 2007, 23(4): 167-172.
- [15] IVANOVA N V, DEWAARD J R, HEBERT P D N. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA[J]. *Molecular Ecology Notes*, 2006, 6: 998-1002.
- [16] 吕二盼, 周正, 周巍, 等. 动物源性食品鸭血、猪血 DNA 提取及多重 PCR 鉴别研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(16): 228-231.
- LU E P, ZHOU Z, ZHOU W, et al. DNA extraction and multiple PCR distinction research of animal food duck blood and pig blood [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 33(16): 228-231.
- [17] LI T T, JALBANI Y M, ZHANG G L, et al. Detection of goat meat adulteration by real-time PCR based on a reference primer[J]. *Food Chemistry*, 2019, 277: 554-557.
- [18] SOARES S, AMARAL J S, MAFRA I, et al. Quantitative detection of poultry meat adulteration with pork by a duplex PCR assay[J]. *Meat Science*, 2010, 85(3): 531-533.
- [19] ASMAA G K. Multiplex PCR and 12Sr RNA gene sequencing for detection of meat adulteration: A case study in the Egyptian markets[J]. *Gene*, 2021, 764: 14502.
- [20] HASSAN B, HODA A S E, MAHMOUD M A. Detection of pork adulteration in processed meat by species-specific PCR-QIAxcel procedure based on D-loop and cytb genes [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98: 9805-9816.