

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2025.80074

基于数字 PCR 技术的猪肉制品中 鸡源性和鸭源性成分定量检测

杨晓莉^{1,2} 辛 乐^{1,2} 崔 迎^{2,3} 李宏铎^{2,3} 由亚宁¹

(1. 陕西省食品药品检验研究院, 陕西 西安 710000; 2. 国家药品监督管理局药品微生物检测技术重点实验室, 陕西 西安 710000; 3. 西安市食品药品检验所, 陕西 西安 710000)

摘要: [目的] 建立猪肉中鸡肉、鸭肉掺假数字 PCR 定量检测方法。[方法] 根据猪肉、鸭肉和鸡肉的单拷贝特异性基因设计引物及探针, 构建了肉制品中动物源性成分的数字 PCR 定量检测方法, 并进行方法的检测低限、灵敏度和特异性验证, 引入转换系数 K 将拷贝数转换为肉类的质量分数, 并用于检测 20 份市售肉制品样品。[结果] 建立了猪肉中鸡肉、鸭肉掺假数字 PCR 定量检测方法, 其前处理中引入了冻干法制备样本。该方法对猪源性、鸡源性、鸭源性成分的检测低限均为 5 pg/mL, 各样本浓度与实测拷贝数相关系数 $R^2 > 0.99$; 可以区分 0.1% 的混合比例, 方法灵敏度高; 仅以猪、鸭和鸡源性为模板的反应中检测到阳性液滴, 方法特异性良好; 定量检测公式为 $\omega_{猪}/\omega_{鸭} = 2.60 \times Q_{猪}/Q_{鸭}$, $\omega_{猪}/\omega_{鸡} = 5.43 \times Q_{猪}/Q_{鸡}$, K 值分别为 2.60 和 5.43。20 份市售样品中 3 份样品检出不同程度的掺假现象。[结论] 研究建立的数字 PCR 方法具有良好的特异性、灵敏性、准确性和适用性, 可实现猪肉加工制品中鸭源性和鸡源性成分的定量检测。

关键词: 数字 PCR; 动物源性成分; 定量检测; 鸡源性成分; 鸭源性成分; 食品掺假

Quantitative detection of chicken and duck derivatives in pork products based on digital PCR technique

YANG Xiaoli^{1,2} XIN Le^{1,2} CUI Ying^{2,3} LI Hongduo^{2,3} YOU Yaning¹

(1. Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an, Shaanxi 710000, China;

2. NMPA Key Laboratory for Testing Technology of Pharmaceutical Microbiology, Xi'an, Shaanxi 710000, China;

3. Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an, Shaanxi 710000, China)

Abstract: [Objective] To establish a polymerase chain reaction (PCR) quantitative detection method for chicken and duck adulteration in pork. [Methods] Primers and probes are designed based on single-copy genes specific to porcine, duck, and chicken. Then, a digital PCR quantitative detection method is established for derivatives in meat products, while verification is conducted on the detection limit, sensitivity, and specificity of the method. Additionally, a conversion coefficient K is introduced to convert copy number into the mass fraction of meat. Afterwards, the established method is applied to detect adulteration in 20 commercially available meat product samples. [Results] A digital PCR quantitative detection method is established for chicken and duck adulteration in pork. The freeze-drying method is introduced for sample preparation in the pre-treatment. The detection limits are 5 pg/mL for porcine, chicken, and duck derivative samples, with a correlation between the concentration of each sample and the measured copy number of $R^2 > 0.99$. A mixing ratio of 0.1% is distinguishable, indicating high sensitivity. Only positive droplets are detected when using porcine, chicken, and duck derivative samples as templates, confirming high specificity. The quantitative detection formulas are $\omega_{pig}/\omega_{duck} = 2.60 \times Q_{pig}/Q_{duck}$, and $\omega_{pig}/\omega_{chicken} = 5.43 \times Q_{pig}/Q_{chicken}$, with K values of 2.60 and 5.43, respectively. Adulteration to varying degrees is detected in 3 of the 20 commercially available

基金项目: 陕西省市场监督管理局科技计划项目(编号: 2022KY12); 陕西省市场监督管理局科技计划项目(编号: 2023KY16)

通信作者: 杨晓莉(1978—), 女, 陕西省食品药品检验研究院主任药师, 硕士。E-mail: yangxiaoli0206@163.com

收稿日期: 2025-02-06 改回日期: 2025-11-21

引用格式: 杨晓莉, 辛乐, 崔迎, 等. 基于数字 PCR 技术的猪肉制品中鸡源性和鸭源性成分定量检测[J]. 食品与机械, 2026, 42(2): 51-57.

Citation: YANG Xiaoli, XIN Le, CUI Ying, et al. Quantitative detection of chicken and duck derivatives in pork products based on digital PCR technique[J]. Food & Machinery, 2026, 42(2): 51-57.

samples. [Conclusion] The digital PCR method developed in this study demonstrates satisfactory specificity, sensitivity, accuracy, and applicability, achieving quantitative detection for duck and chicken derivatives in processed pork products.

Keywords: digital PCR; animal-derivative; quantitative detection; chicken derivative; duck derivative; food adulteration

肉类及其制品因富含蛋白质及多种营养物质,是人体蛋白质、必需氨基酸、维生素及微量元素等的重要来源^[1]。随着市场经济的繁荣,生活水平的持续提高,消费者对高质量肉制品的需求快速上涨^[2]。据统计,2023年中国的猪肉、羊肉、牛肉及禽肉总产量高达9 641万t,同比增长4.5%,猪肉、羊肉、牛肉及禽肉分别增长4.6%,1.3%,4.8%,4.9%^[3]。然而,近年来市场上肉品掺假现象却频繁发生,如欧洲的“马肉丑闻”。中国陕西也曾出现过鸭肉冒充牛羊肉,以及鸡肉冒充猪肉等的案例,动物源性食品掺假对食品行业带来严重的影响,也极大地损害了消费者的权益^[4]。目前肉类掺假的检测方法主要集中在蛋白质和DNA的分析。由于蛋白质不稳定,故基于蛋白质的方法如免疫学^[5]、光谱法^[6-7]、色谱法^[8]适用于检测肉类产品的初级加工,而基于DNA的方法用于检测各种加工肉类产品^[9]。实时荧光PCR因其灵敏度和准确度高而成为使用最广泛的基于DNA的方法^[10]。目前,肉类掺假实际检测中,以PCR定性方法检测为主,但肉制品的生产加工环境可能造成不同肉类相互污染,因其灵敏度高易导致判定出现假阳性,无法区分故意掺假和意外污染^[11]。因此,需建立肉制品中动物源性成分检测的定量方法。定量检测可分为相对定量和绝对定量。相对定量方法受到单一方法可以同时检测到的肉类种类较少的局限性的影响,无法适用于具有复杂肉类成分的加工肉制品^[12-13],故针对复杂样本的动物源性食品掺假需要探究一种绝对定量的检测方法。

数字PCR(digital PCR, d PCR)适用于对靶基因拷贝数的绝对定量分析,相比普通PCR法和q PCR法, d PCR法灵敏度更高,能够检测到极低含量的掺假成分,且能够直接定量拷贝数浓度^[14-15],通过核酸的拷贝数差异,反推出细胞数量的差异,最终计算出不同肉源的成分比例,即使原始样品中目标DNA的拷贝数很少,数字PCR也可以实现精准定量,有利于检测微量的肉类掺假^[16-19],同时, d PCR法无须标准曲线,不依赖于内标基因^[20];不受复杂基质干扰,在面对肉类加工制品等复杂样品时,依然能够有效地检测和定量目标DNA,减少了基质效应对检测结果的影响^[21]。所以d PCR是肉类掺假鉴别的潜在方法。

研究拟针对猪肉、鸭肉和鸡肉的单拷贝特异性基因设计相关引物及探针,构建对猪源样本、鸭源样本和鸡源样本定量检测的d PCR方法,以期实现肉制品中猪源、鸡源和鸭源成分的定量检测。

1 材料与amp;方法

1.1 主要材料与试剂

马肉、羊肉、骆驼肉、鹌鹑肉、小黄鱼、猪肉、鸭肉、鸡肉、猪肉肠、鸡肉肠等:市售;

猪源基因引物和探针、鸡源基因引物和探针、鸭源基因引物和探针:生工生物工程(上海)股份有限公司;

动物基因组提取试剂盒:美国Promega公司;

QIAcuity Probe PCR kit:德国Qiagen公司。

1.2 主要仪器与amp;设备

冷冻干燥机:ALPHA2-4LSC型,德国Martin-Christ公司;

纳米芯片集成式数字PCR仪:QIAcuity Four型,德国Qiagen公司;

荧光定量PCR仪:LightCycler 480 II型,瑞士罗氏集团;

微量荧光核酸测定仪:NanoDrop One型,基因有限公司。

1.3 试验条件

1.3.1 设计引物与amp;探针 从GenBank网站数据库中获取已公布的猪、鸡和鸭3种动物的核基因组序列,通过应用生物信息学分析分别筛选出3种动物基因组序列的保守区域,利用Beacon Designer软件进行特异性引物和探针的设计,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,3种动物的特异性引物和探针序列见表1。

1.3.2 样本的制备 使用冷冻干燥机,将样本经-80℃冻干处理72 h后制备成冻干粉,-18℃保存以备使用。通过冻干处理可以去除食品深加工造成的不必要的影响,同时去除脂类物质和水分对质量分析带来的不便^[22]。冻干粉也方便制作不同比例的混合样本作为标准样本进行试验。为了防止不同类型样本间受到污染,所有的样本完成前处理过程后都分开保存。

1.3.3 DNA模板的提取 取40 mg冻干粉进行DNA模板的提取,参照商业DNA提取试剂盒使用说明进行基因组DNA提取。使用微量荧光核酸测定仪进行核酸含量的测定,也可以使用传统的DNA提取方法进行核酸纯化。

1.3.4 数字PCR检测体系反应条件 反应体系体积为40 μL,包括数字PCR mix(4×)10 μL,上、下游引物及探针各0.16 μL,模板3 μL,无菌超纯水补足至40 μL,混匀后12 000 r/min离心2 min。反应参数:95℃ 2 min, 95℃

表1 特异性引物和探针
Table 1 Specific primers and probes

物种	引物和探针名称	序列信息
猪(<i>ATP8</i> 基因)	P-F	CGACAAGCAACCCTCACAC
	P-R	TGCGAGGGCGGTAATGAT
	P-P	FAM-CTTCGCCTTCCACTTTATCCTGCCATTC-TAMRA
鸡(<i>ND1</i> 基因)	C-F	CGACAACCCAACCCTTACC
	C-R	AGGAAGGTGAGGTGGATGATA
	C-P	FAM-ACACTTCTCCTCCCCTTTGCAATCGC-TAMRA
鸭(<i>cytb</i> 基因)	D-F	GGCCACACAAATCCTCACAG
	D-R	TGTGTTGGCTACTGAGGAGAAA
	D-P	FAM-CCTACTGGCTATGCACTACACCGCAGAC-TAMRA

15 s, 60 °C 30 s, 40个循环。

1.4 DNA提取效果评价

按RB/T 032—2020《基因扩增检测方法确认与验证指南》执行。

1.5 数字PCR方法探针的特异性

用猪、鸭和鸡源性种属特异性基因引物分别扩增9种动物源性品:猪、鸭、牛、驴、兔、狐狸、鸽子、鹅、鸡,灭菌去离子水作为空白对照模板,采用1.3的方法检测,确定该方法的特异性。

1.6 转换系数(*K*)的确定和验证

分别使用特异性引物和探针扩增稀释后的猪源、鸡源、鸭源样本,从而获得其检测低限。猪源性、鸭源性和鸡源性成分定量方法线性动态范围测试分别利用10倍梯度稀释的DNA作为模板,具体质量浓度见表2。

表2 DNA模板质量浓度

Table 2 DNA template mass concentration

序号	质量浓度	序号	质量浓度
1	5 μg/mL	5	500 pg/mL
2	500 ng/mL	6	50 pg/mL
3	50 ng/mL	7	5 pg/mL
4	5 ng/mL		

研究引入一个转换系数(*K*),将检测出的拷贝数转换为混合样品中猪肉和鸡肉/鸭肉的质量分数。混合样品中猪肉与鸡肉/鸭肉的质量分数之比为:

$$\frac{\omega_{猪}}{\omega_{鸭/鸡}} = \frac{Q_{猪}}{C_{猪}} \div \frac{Q_{鸭/鸡}}{C_{鸭/鸡}} = \frac{C_{鸭/鸡}}{C_{猪}} \times \frac{Q_{猪}}{Q_{鸭/鸡}}, \quad (1)$$

式中:

ω ——质量分数, %;

Q ——检测出的拷贝数;

C ——单位体积的拷贝数, μL^{-1} 。

在固定的检测体系中,对于特定的畜禽肉种,可以认为单位质量肉中的基因拷贝数是恒定的,故可将 $C_{鸭/鸡}/C_{猪}$ 当作一个常数,即转化系数*K*。因此,式(1)可简化为

$$\frac{\omega_{猪}}{\omega_{鸭/鸡}} = K \times \frac{Q_{猪}}{Q_{鸭/鸡}}. \quad (2)$$

为确定*K*的值,以表2中质量浓度为5 pg/mL~5 μg/mL的猪肉、鸭肉、鸡肉DNA为模板进行检测,计算转换系数*K*的平均值,使用表3中不同比例混合样品进行检测,以转换系数*K*进行计算,并与实际混合样品中的鸭肉/猪肉、鸡肉/猪肉比例进行比较分析,验证*K*值的准确性。

表3 混合样品DNA浓度

Table 3 DNA concentration of mixed samples

序号	混合样品比例	序号	混合样品比例
Y1	50%猪肉+50%鸭肉	Y5	50%猪肉+50%鸡肉
Y2	90%猪肉+10%鸭肉	Y6	90%猪肉+10%鸡肉
Y3	99%猪肉+1%鸭肉	Y7	99%猪肉+1%鸡肉
Y4	99.9%猪肉+0.1%鸭肉	Y8	99.9%猪肉+0.1%鸡肉

1.7 市售样品的检测和分析

从市售肉制品中抽取20份样品,采用研究建立的数字PCR方法,分别对其进行猪源性、鸡源性、鸭源性成分定量检测,通过统计市售样品标签成分含量与检测结果的符合情况,验证建立检测方法的适用性。

2 结果与分析

2.1 DNA提取效果评价

以猪肉冻干粉的DNA提取物为起始工作液,并将此工作液进行4倍系列稀释(1:4, 1:16, 1:64, 1:256),将5份DNA样品溶液进行扩增分析,以稀释因子的对数值为横坐标(即 $-\lg 1/4$, $-\lg 1/16$, $-\lg 1/64$, $-\lg 1/256$),对应的平均Ct值为纵坐标,绘制关系曲线如图1所示。曲

线方程为 $Y=14.0775-3.28622X$, 曲线斜率为 -3.2862 , 相关系数 R^2 为 0.9988 , 工作液推导 Ct 值与测量 Ct 值之差 ΔCt 值为 0.069 。RB/T 032—2020《基因扩增检测方法确认与验证指南》要求, 绘制的标准曲线斜率为 $-3.6\sim-3.1$, 线性相关系数 >0.98 , 工作液推导 Ct 值与测量 Ct 值之差 ΔCt 值 <0.5 , 说明 DNA 提取物中无抑制剂影响。

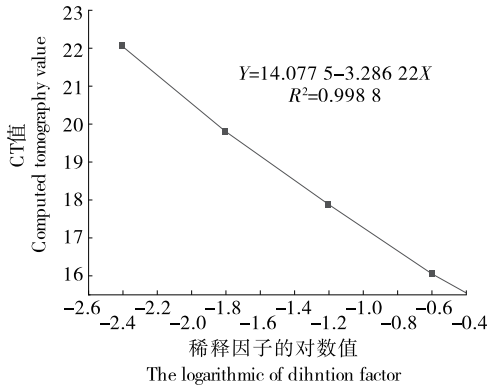


图 1 DNA 提取效果的标准曲线

Figure 1 Standard curve of DNA extraction efficiency

2.2 数字 PCR 方法探针的特异性

数字 PCR 方法的准确性取决于引物和探针^[23], 线粒体 DNA (mtDNA) 被广泛运用在食品中动物源性成分检测, 但其在动物组织和不同个体间存在拷贝数差异, 基于 mtDNA 的检测方法难以在肉制品掺假检测时对其中的动物源性成分进行准确定量, 相较于 mtDNA, 单拷贝核 DNA 数量相对稳定, 在开展肉制品掺假的定量检测时具有显著优势。选取猪、鸭、鸡的单拷贝核 DNA 基因 *ATP8*、*cytb*、*ND1* 作为检测的靶基因。

以猪、鸭、牛、驴、兔、狐狸、鸽子、鹅、鸡共 9 种畜禽肉的基因组 DNA 为模板, 设置双蒸水为空白对照, 开展 dPCR 的检测。如图 2 所示, 仅含靶基因肉种均出现特异性扩增, 空白对照及非靶向基因肉种均未出现微滴扩增, 且各反应生成的总微滴数均 $>25\ 000$ 个, 符合泊松分布的统计要求, 表明所建立的扩增体系具有良好的扩增特异性。

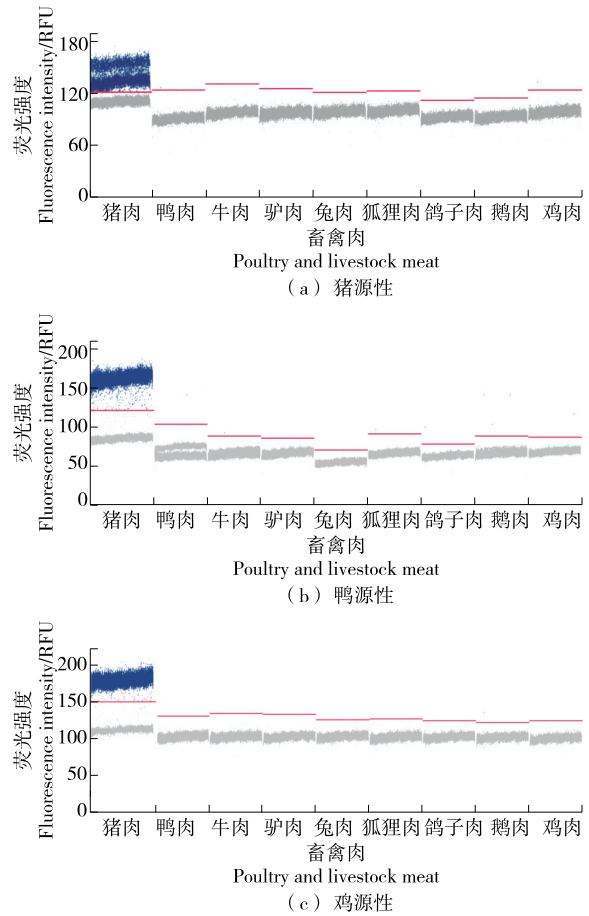


图 2 猪源性、鸭源性、鸡源性引物扩增其他动物源性成分结果

Figure 2 Results of primer amplification of other animal sources by porcine, duck, and chicken derivatives

2.3 K 值的确定与验证

以不同浓度的猪肉、鸭肉、鸡肉 DNA 为模板, 分别测定猪、鸭、鸡的 *ATP8*、*ND1*、*cytb* 基因拷贝数, 并计算 K 值。由表 4 可知, 在不同的鸭肉/鸡肉和猪肉 DNA 浓度比下, K

表 4 K 值的确定

Table 4 K value determination

质量浓度/ ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	DNA 基因拷贝数平均值/ μL^{-1}			鸭肉/猪肉		鸡肉/猪肉	
	猪源性	鸭源性	鸡源性	K 值	K 值平均值	K 值	K 值平均值
5 000.0	4 520.4	过饱和	过饱和	/	2.60	/	5.43
500.0	509.8	1 162.9	2 559.9	2.28		5.02	
50.0	44.9	124.6	252.1	2.78		5.62	
5.0	4.8	13.1	26.8	2.75		5.64	
0.5	0.5	1.2	2.4	2.58		5.42	

值表现出较好的稳定性,借助 K 值可将鸭肉/鸡肉和猪肉的基因拷贝数之比转换为不同肉种间的质量分数。鸭肉/猪肉 K 值的平均值为2.60,鸡肉/猪肉 K 值的平均值为5.43。

为验证 K 值的准确性,用已知混合样品比例的鸭肉/猪肉和鸡肉/猪肉进行检测,用固定值 K 值(鸭肉/猪肉 K 值=2.60,鸡肉/猪肉 K 值=5.43)计算鸭肉/鸡肉的质量分

数。如表5所示,检测值与混合样品的真实比例相比,鸭肉/猪肉回收率为80.72%~103.28%,鸡肉/猪肉回收率为81.34%~104.77%。该结果表明, K 值在实际鸭肉/猪肉和鸡肉/猪肉混合样本中具有较好的稳定性,可用于猪肉中鸭肉、鸡肉的实际定量检测,即定量式为:

$$\omega_{猪}/\omega_{鸭} = 2.60 \times Q_{猪}/Q_{鸭}, \quad (3)$$

$$\omega_{猪}/\omega_{鸡} = 5.43 \times Q_{猪}/Q_{鸡} \quad (4)$$

表5 K 值的准确性和稳定性验证

Table 5 Verification of K value accuracy and stability

序号	混合样品比例	dPCR 结果/ μL^{-1}			回收率/%
		猪源性	鸭源性	鸭源性	
Y1	50%猪肉+50%鸭肉	262.1	/	594.1	93.15
Y2	90%猪肉+10%鸭肉	267.8	/	61.5	81.11
Y3	99%猪肉+1%鸭肉	264.0	/	5.6	80.72
Y4	99.9%猪肉+0.1%鸭肉	250.0	/	0.7	103.28
Y5	50%猪肉+50%鸡肉	242.6	1 285.2	/	98.77
Y6	90%猪肉+10%鸡肉	265.8	127.8	/	81.34
Y7	99%猪肉+1%鸡肉	261.7	14.0	/	97.70
Y8	99.9%猪肉+0.1%鸡肉	246.7	1.4	/	104.77

2.4 数字聚合酶链式反应方法(LOD)的测定

以不同浓度的猪肉、鸡肉、鸭肉DNA为模板,通过dPCR方法分别测定猪、鸭、鸡的 $ATP8$ 、 $ND1$ 、 $cytb$ 基因拷贝数,绘制标准曲线(分别以猪肉、鸡肉、鸭肉DNA提取稀释液质量浓度的对数值为横坐标,对应基因拷贝数的对数值为纵坐标),所得标准曲线如图3所示,在500 ng/mL~5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的稀释液质量浓度范围内,不同肉种对应的标准曲线均呈现出良好的线性关系,相关系数 $R^2 > 0.99$,猪源成分、鸭源成分和鸡源成分DNA质量浓度的LOD值均达到了5 $\mu\text{g}/\text{mL}$,提取DNA基因拷贝数分别为1.065,0.055,0.554 μL^{-1} 。结果表明,稀释过程成功,单个引物扩增效率良好,适用于定量检测。

2.5 市售样品的检测和分析

为评估研究所建方法的适用性,将20份市售火腿肠、猪肉脯等深加工猪肉制品样品经DNA提取和扩增后进行检测,检测结果见表6。

20批样品中,有3批样品存在掺假现象。其中1和11号样品配料表中无鸭源性成分,但检测出鸭源性成分占比分别为5.86%和11.55%,存在为了降低成本,使用低廉肉品鸡肉替换高价肉品猪肉的现象。13号样品为原味猪肉脯,配料表为猪肉、白砂糖、鱼露、鸡蛋液、海藻糖,经验证鸡蛋液可提取并检测出鸭源性成分,若使用目前国家标准定性方法,应检出猪源性成分和鸡源性成分,该样

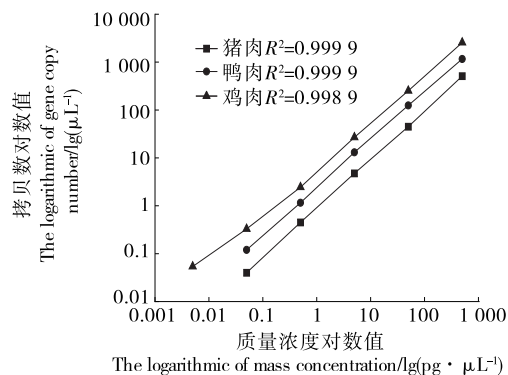


图3 猪肉、鸭肉、鸡肉DNA提取稀释液的质量浓度与靶标测定拷贝数相关性分析

Figure 3 Correlation analysis between mass concentration and target copy number of DNA extraction diluents from pork, duck, and chicken

品为合格样品;但鸡蛋液在配料表中排名为第4位,实际检测结果鸡源性成分占比99%远大于猪肉源性成分,存在恶意欺骗消费者的现象。1、2、3号样本中存在有鸭源性成分的检出,2、3、4、5、7、9号样本中存在有鸡源性成分的检出,但含量均低于0.5%,分析可能是生产过程中使用了鸭油等低细胞含量的原材料,有待进一步研究。研究结果表明,建立的dPCR方法适用于对猪肉及其相关制品中猪、鸡、鸭源性成分的定量检测。

表 6 20 份市售深加工肉制品检测结果
Table 6 Test results of 20 commercially available deep-processed meat products

序号	配料						鸡肉质量 鸭肉质量	
	肉类含量1-猪肉	dPCR-P(猪)/ μL^{-1}	肉类含量2-鸡肉	dPCR-J(鸡)/ μL^{-1}	肉类含量3-鸭肉	dPCR-J(鸭)/ μL^{-1}	分数/%	分数/%
1	猪肉	8 912.4	无	3 014.0	无	0.052	5.86	0.000 25
2	猪肉	8 665.7	无	18.5	无	0.157	0.04	0.000 70
3	猪肉	9 012.3	无	12.8	无	0.053	0.03	0.000 23
4	猪肉	8 542.8	无	10.5	无	未检出	0.02	/
5	猪肉	8 243.2	无	6.1	无	未检出	0.01	/
6	猪肉	8 439.8	无	未检出	无	未检出	/	/
7	猪肉	8 580.5	无	6.1	无	未检出	0.01	/
8	猪肉	8 926.3	无	未检出	无	未检出	/	/
9	猪肉	8 945.1	无	157.4	无	未检出	0.32	/
10	猪肉	9 120.2	无	未检出	无	未检出	/	/
11	猪肉	8 547.1	无	6 059.0	无	未检出	11.55	/
12	猪肉	8 874.5	无	未检出	无	未检出	/	/
13	猪肉	16.2	全蛋液	8 697.6	无	未检出	99.00	/
14	猪肉	3 692.5	鸡肉	3 172.7	无	未检出	13.66	/
15	猪肉	5 383.1	鸡肉	4 551.6	无	未检出	13.47	/
16	猪肉、皮	7 003.2	鸡肉	5 386.2	无	未检出	12.41	/
17	猪肉	8 191.4	鸡肉	5 382.5	无	未检出	10.79	/
18	猪肉	2 138.7	鸡肉	5 625.4	无	未检出	32.63	/
19	猪肉	3 359.2	鸡肉	2 857.4	无	未检出	13.54	/
20	猪肉	8 914.6	鸡肉	4 780.2	无	未检出	8.99	/

3 结论

该研究建立了一种精准稳定的猪肉及其相关制品中猪、鸡、鸭源性成分的数字 PCR 定量检测方法。选取猪、鸡、鸭的单拷贝核 DNA 基因 *ATP8*、*ND1*、*cytb* 基因作为特异性靶基因,靶向识别效果优良;通过分析模拟混合样本中预设的靶向与非靶向肉种质量分数与实际拷贝数的对应关系,推算得到猪肉/鸭肉、猪肉/鸡肉之间的 *K* 值分别为 2.60 和 5.43,进而构建出猪肉中鸭源性成分、鸡源性成分的定量检测式分别为 $\omega_{猪}/\omega_{鸭}=2.60 \times Q_{猪}/Q_{鸭}$, $\omega_{猪}/\omega_{鸡}=5.43 \times Q_{猪}/Q_{鸡}$,经验证,研究建立的方法在模拟样品和实际检测中准确性和稳定性良好。目前,中国标准体系中,检测掺假肉类产品只有定性标准方法,研究建立的肉类掺假定量检测方法不仅适用于猪肉加工制品的掺假检测,还能够有效区分猪肉制品中的“故意掺假”与“意外污染”情况,减少检测过程中对结果的假阳性判定,提升检测准确性。

参考文献

[1] CASTRO P M, REIS A F. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet[J]. Meat Science, 2013, 93(3):

586-592.

[2] 施姿鹤, VOGLMEIR J, 刘丽. 肉及其加工制品的掺假鉴别技术研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(23): 319-326.
SHI Z H, VOGLMEIR J, LIU L. Recent progress in techniques for adulteration identification of meat and meat products[J]. Food Science, 2019, 40(23): 319-326.

[3] 中华人民共和国 2023 年国民经济和社会发展统计公报[J]. 中国统计, 2024(3): 4-21.
Statistical bulletin on national economic and social development of the People's Republic of China in 2023[J]. China Statistics, 2024(3): 4-21.

[4] 史艳宇, 王莹, 石虹, 等. 微滴数字 PCR 方法检测畜肉食品中鸭源性成分[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(3): 583-588.
SHI Y Y, WANG Y, SHI H, et al. Detection of duck-derived materials in meat products by droplet digital PCR[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(3): 583-588.

[5] SEDDAOUI N, AMINE A. Smartphone-based competitive immunoassay for quantitative on-site detection of meat adulteration[J]. Talanta, 2021, 230: 122346.

[6] LENG T, LI F, XIONG L A, et al. Quantitative detection of binary and ternary adulteration of minced beef meat with pork and duck meat by NIR combined with chemometrics[J]. Food

- Control, 2020, 113: 107203.
- [7] BANU S, ARMIN B, VELIOGLU M, et al. Identification of meat species in processed meat products by using protein based laser induced breakdown spectroscopy assay[J]. Food Chemistry, 2022, 372: 131245.
- [8] NALAZEK-RUDNICKA K, KLOSOWSKA-CHOMICZEWSHA I E, BROCKMEYER J, et al. Relative quantification of pork and beef in meat products using global and species-specific peptide markers for the authentication of meat composition[J]. Food Chemistry, 2022, 389: 133066.
- [9] KANG T S. Basic principles for developing real-time PCR methods used in food analysis: a review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 91: 574-585.
- [10] KONDURU B, SAGI S, PARIDA M. Dry reagent-based multiplex real-time PCR assays for specific identification of chicken, mutton, beef and pork in raw and processed meat products[J]. European Food Research and Technology, 2021, 247(3): 737-746.
- [11] JOANA S. AMARAL G S, BEATRIZ P P, et al. Quantitative detection of pork meat by EvaGreen real-time PCR to assess the authenticity of processed meat products[J]. Food Control, 2017, 72: 53-61.
- [12] LI T T, WANG J S, WANG Z Y, et al. Quantitative determination of mutton adulteration with single-copy nuclear genes by real-time PCR[J]. Food Chemistry, 2021, 344: 128622.
- [13] IWOB I A, SEBAH D, KRAEMER I, et al. A multiplex real-time PCR method for the quantification of beef and pork fractions in minced meat[J]. Food Chemistry, 2015, 169: 305-313.
- [14] HINDSON B J, NESS K D, MASQUELIER D A, et al. High-throughput droplet digital PCR system for absolute quantitation of DNA copy number[J]. Analytical Chemistry, 2011, 83(22): 8604-8610.
- [15] MASSANELLA M, SINGHANIA A, NADEJDA B B, et al. Differential gene expression in HIV-infected individuals following ART[J]. Antiviral Research, 2013, 100(2): 420-428.
- [16] 刘艳艳, 霍胜楠, 梁水美, 等. 化妆品中动物源性成分多重实时荧光PCR检测方法的研究[J]. 日用化学工业, 2016, 46(8): 479-484.
- LIU Y Y, HUO S N, LIANG S M, et al. Study of multiplex real-time fluorescent PCR detection method for animal originated components in cosmetics[J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2016, 46(8): 479-484.
- [17] 王萍, 乔勇升, 韩芷玲. 猪源性成分检测中3种DNA提取方法比较[J]. 生物加工过程, 2015, 13(6): 61-64.
- WANG P, QIAO Y S, HAN Z L. Comparison of three DNA extraction methods in detection of porcine-derived material[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2015, 13(6): 61-64.
- [18] 程月花, 陆利霞, 李壹, 等. PCR法检测鱼及其制品中的鱼源性成分[J]. 食品科学, 2017, 38(20): 279-285.
- CHENG Y H, LU L X, LI Y, et al. Establishment of PCR method for detection of fish-derived ingredients in fish and fish products[J]. Food Science, 2017, 38(20): 279-285.
- [19] 刘二龙, 卢丽, 凌莉, 等. 红薯源性成分微滴式数字PCR的检测与定量分析[J]. 现代食品科技, 2019, 35(7): 273-277, 285.
- LIU E L, LU L, LING L, et al. Detection and quantification of sweet potato components by droplet digital PCR[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(7): 273-277, 285.
- [20] 孙新城, 李侠颖, 许素月, 等. 肉与肉制品中食源性致病微生物快速检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(7): 32-38.
- SUN X C, LI X Y, XU S Y, et al. Research progress on rapid detection technology of foodborne pathogenic microorganisms in meat and meat products[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(7): 32-38.
- [21] 高媛, 马月花, 张盼盼, 等. 数字PCR技术在植物研究中的应用[J]. 园艺学报, 2024, 51(12): 2977-2988.
- GAO Y, MA Y H, ZHANG P P, et al. Application of digital PCR in plant research[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2024, 51(12): 2977-2988.
- [22] 柯丽婷, 宋丹丹, 王菲, 等. 猫传染性腹膜炎病毒实时荧光定量PCR(冻干型)检测方法的建立[J]. 中国兽医杂志, 2024, 60(10): 61-67.
- KE L L, SONG D D, WANG F, et al. Establishment of real-time fluorescence quantitative PCR (lyophilized type) detection method for feline infectious peritonitis virus[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2024, 60(10): 61-67.
- [23] WANG W J, LIU J J, ZHANG Q D, et al. Multiplex PCR assay for identification and quantification of bovine and equine in minced meats using novel specific nuclear DNA sequences[J]. Food Control, 2019, 105: 29-37.