DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250411001
引用格式: 郭雨湄, 贾振军, 樊宇航, 等. 实时荧光定量聚合酶链式反应与微滴式数字聚合酶链式反应结合在肉类掺假定量检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(15): 167–173.
GUO YM, JIA ZJ, FAN YH, *et al*. Application of real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction and droplet digital polymerase chain reaction for quantitative detection of meat adulteration [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(15): 167–173. (in Chinese with English abstract).

实时荧光定量聚合酶链式反应与微滴式数字聚合酶链式反应结合在肉类掺假定量检测中的应用

郭雨湄[1], 贾振军[2], 樊宇航[2], 刘 瑞[1*]

(1. 中国人民公安大学侦查学院, 北京 100038;
2. 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 北京 100081)

摘 要: 目的 探究实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, qPCR)与微滴式数字聚合酶链反应(droplet digital polymerase chain reaction, ddPCR)结合在肉类掺假定量检测中的应用。**方法** 本研究采用 qPCR 和 ddPCR 技术, 针对牛、羊、猪等肉类样品建立特异性引物和探针检测体系, 以评估北京市肉类市场的掺假情况。**结果** “昌 5”样品存在羊肉和猪肉的掺杂, 且掺杂比例为 17:10。qPCR 在定性检测中表现出高灵敏度和特异性, 而 ddPCR 实现了掺假比例的绝对定量, 两者结合显著提高了检测准确性。**结论** 本研究建立的 qPCR-ddPCR 联用方法具有高灵敏度和特异性, 适用于肉类掺假的快速精准检测, 为食品安全监管提供了可靠的技术支持。

关键词: 肉类掺假; 实时荧光定量聚合酶链反应; 微滴式数字聚合酶链反应; 羊肉; 猪肉; 食品安全

Application of real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction and droplet digital polymerase chain reaction for quantitative detection of meat adulteration

GUO Yu-Mei[1], JIA Zhen-Jun[2], FAN Yu-Hang[2], LIU Rui[1*]

(1. *School of Criminal Investigation*, *People's Public Security University of China*, *Beijing* 100038, *China*;
2. *Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100081, *China*)

ABSTRACT: Objective To explore the application of the combination of real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) in the quantitative detection of meat adulteration. **Methods** This study employed qPCR and ddPCR technologies to develop a detection system with specific primers and probes for beef, lamb and pork samples, aiming to assess meat

收稿日期: 2025-04-11
基金项目: 中国人民公安大学刑事科学技术双一流创新研究专项(2023SYL06)
第一作者: 郭雨湄(2000—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全与品质检验鉴定。E-mail: 592887356@qq.com
***通信作者:** 刘瑞(1987—), 女, 博士, 讲师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: liurui1987110@126.com

adulteration in the Beijing market. **Results** The experimental results revealed that the sample “Chang 5” contained adulteration of lamb and pork at a ratio of 17:10. qPCR demonstrated high sensitivity and specificity in qualitative detection, while ddPCR enabled absolute quantification of adulteration proportions. The combination of these 2 methods significantly improved detection accuracy. **Conclusion** The established qPCR-ddPCR combined method exhibits high sensitivity and specificity, making it suitable for rapid and precise detection of meat adulteration. This approach provides reliable technical support for food safety regulation.

KEY WORDS: meat adulteration; real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction; droplet digital polymerase chain reaction; mutton; pork; food safety

0 引 言

近年来，随着经济的快速发展和人们生活水平的不断提高，食品安全问题日益受到广泛关注。肉类作为人们日常饮食中的重要组成部分，其质量和安全性直接关系到消费者的健康和权益[1]。然而，由于利益驱动，市场上肉类掺假、肉制品污染现象时有发生[2−4]。2024 年 4 月，国务院食安办等部门部署各地开展严厉打击肉类产品违法犯罪专项整治行动[5]，截至目前已查办一批肉类产品违法犯罪案件，截至 11 月底，全国共接到肉类产品相关举报 1.4 万起、查实举报 4000 余起；行政执法立案 1.4 万起，查获涉案物品 9000 余 t；查办假冒牛(羊、驴)肉制品违法案件 1000 余起；公安机关刑事立案 2400 余起、抓获犯罪嫌疑人 6000 余人。

肉类掺假问题不仅对消费者的健康构成威胁，还可能引发清真食品的信仰问题[6]，进而影响民族团结和社会稳定[7−8]。欧盟定量成分声明强制要求肉制品需要标识出所有成分及其净含量，并规定肉的主要成分为骨骼肌，结缔组织和脂肪等成分需单独列出且规定了最高含量[9]。因此，建立一种快速、准确、灵敏的肉类掺假检测方法，对于保障食品安全、维护消费者权益具有重要意义。

当前，肉类掺假的检测手段主要包括：感官鉴定方法，光谱分析技术[10−11]，基于免疫学原理的检测技术[12]，生物质谱技术[13]，基于核酸层面的 DNA 扩增分析技术[14−16]等。实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, qPCR)和微滴式数字聚合酶链式反应(droplet digital polymerase chain reaction, ddPCR)是目前常用的核酸定量检测技术。qPCR 技术具有灵敏度高、特异性强、操作简便等优点，能够实现对目标核酸的定性检测[17−18]。然而，qPCR 的定量检测需要依赖标准曲线，存在一定的局限性[19]，ddPCR 技术则克服了这一缺点，其通过将反应体系分割成数万个微滴，实现对目标核酸的绝对定量检测，目前已应用于基因表达量[20]、微生物丰度[21]、转基因产品含量[22]及食品成分的定量检测[23−24]，此技术具有更高的准确性和可靠性[25−26]。将 qPCR 和 ddPCR 相结合，可以充分发挥两种技术的优势，实现对肉类掺假的快速、准确检测。

北京市作为中国的首都，人口众多，民族成分复杂，清真食品需求量大。根据第七次全国人口普查数据，北京市少数民族户籍人口数量为 104.8 万，其中回族 27.4 万，占北京市少数民族的 26.1%[27]。在某些区域，如牛街、教子胡同、花市、长营、马甸、于家务等地，以及大兴、昌平、顺义、密云等远郊区县，清真居民相对集中。因此，保障北京市肉类产品的质量和安全性，对于维护清真食品的信仰和民族团结具有重要意义。近年来，北京市市场监督管理局在打击食品领域违法行为，特别是肉类掺假案件方面采取了严厉措施，根据国务院食安办、公安部、农业农村部、市场监管总局的通知，从 2024 年 4 月至 11 月，全国将开展严厉打击肉类产品违法犯罪专项整治行动，以生猪、肉牛、肉羊、肉鸡及其肉类产品为重点，深挖违法犯罪源头线索，对全链条开展专项整治。然而，由于检测技术的局限性，部分肉类掺假行为仍难以被及时发现和查处。因此，建立一种适用于北京市肉类掺假检测的高效方法，对于提高食品安全监管水平、保障消费者权益具有重要意义。

本研究旨在采用 qPCR 和 ddPCR 相结合的方法，对北京市肉类样品中的掺假情况进行检测。通过对不同肉类样品的定性与定量分析，揭示肉类掺假的现状和规律，为食品安全监管部门提供技术支持和参考依据，进一步推动食品安全监管工作的深入开展。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实际样品为北京市区内被市民举报掺假的 5 类肉类样品，含牛、羊、猪等肉类样品以及羊肉卷、牛肉卷市售，分别标注为“房 7”“房 6”“昌 5”“丰 7”“丰 10”，其中“房 7”“丰 7”标识为纯牛肉，“房 6”“昌 5”“丰 10”标识为纯羊肉。

4×浓度即用型预混液、微滴生成专用油、微滴生成卡(苏州思纳福医疗科技有限公司)；血液、细胞、组织基因组 DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]；引物、探针[生工生物工程(上海)股份有限公司]。

1.2　仪器与设备

ABI7500 qPCR 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); DQ-24 液滴式数字 PCR 仪(苏州思纳福医疗科技有限公司); 5420 微量高速离心机(德国 Eppendorf 公司); QSJ-C04B1 绞肉机(广东小熊电器有限公司); ME204E 万分之一电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　样品前处理

将送检的样品随机取样, 用绞肉机搅碎所取的样品, 并分别从 5 类样品中称取 8 小份(每份 20 mg)的样品放入离心管中, 10000 r/min 离心 1 min, 倒尽上清, 加入 200 μL 裂解缓冲液, 振荡至彻底悬浮, 后续操作参照 DNA 提取试剂盒说明书进行 DNA 提取。

1.3.2　引物与探针的设计

从已经发表的文章和报告中查找对应的引物、探针序列, 并在美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)网站上通过 BLAST 将序列进行比对, 最终确定牛肉、羊肉和猪肉的特异性引物和探针, 如表 1 所示, 交由生工生物工程(上海)股份有限公司合成, 引物序列见表 1。

表 1　qPCR 引物和探针序列
Table 1　Primer and probe sequences for qPCR

物种	基因名称		序列	参考文献
牛	生长基数基因	F	5′-CCGATGGATGTGTTCAGAGCT-3′	GB 25165—2010《明胶中牛、羊、猪源性成分的定性检测方法 实时荧光 PCR 法》
		R	5′-GCCAAATGTCTGGGTGTAGATACC-3′	
		P	5′-(FAM)-TGGGCTTTAGGGCTTCCGAATGTGAA-(TAMRA)-3′	
羊	DNA 复制蛋白 A	F	CTGACACACGGGACACMTCTCC	[28]
		R	AAGCTAAACATGGACCCACATG	
		P	TAAGCCAGCCTTGTGCGTGTGGTCC	
猪	*RPA1*	F	ACCCAGACGAACTGCTCAA	
		R	TGGCGTCACTGATAGGTAAAT	
		P	TCACAGGCGTGGGCTTTCTGC	

1.3.3　引物和探针的特异性

在本研究中, 选取了羊肉、猪肉和牛肉的基因组 DNA 作为模板, 利用表 1 中列出的特定引物和探针进行 PCR 扩增反应。为了确保实验的准确性, 设置了无菌水作为阴性对照。实验过程中, 使用 ABI 7500 qPCR 仪进行扩增反应。通过该仪器的高灵敏度和特异性检测功能, 对所筛选的引物和探针的特异性进行了详细验证。这一过程有助于确保引物和探针在不同肉类样本中的特异性扩增能力, 为后续的实验可靠的基础。

1.3.4　qPCR 检测体系建立

qPCR 扩增反应体系见表 2。反应条件为 95 ℃预变性 10 min; 95 ℃循环反应 15 s, 60 ℃退火及延伸 1 min; 45 个循环。

表 2　qPCR 反应体系(μL)
Table 2　Reaction system of qPCR (μL)

试剂	牛	羊	猪
PCR 反应液	10	10	10
ROX 参比染料	0.4	0.4	0.4
10 μmol/L 正向引物	1.6	0.8	1.6
10 μmol/L 反向引物	1.6	0.8	1.6
10 μmol/L 探针	0.4	0.4	0.8
DNA 模板	2.0	2.0	2.0
无菌水	4	5.6	3.6

1.3.5　ddPCR 检测体系建立

ddPCR 扩增反应体系见表 3, 反应体系充分混匀后加入微滴生成卡中, 油包水微滴生成按照厂家的操作说明进行。

温控反应程序见表 4。

表 3　ddPCR 反应体系
Table 3　Reaction system of ddPCR

组分	反应体系	最终浓度
4×dPCR 探针法预混液(Cy5.5)	6 μL	1×
正向引物(10 μmol/L)	1 μL	–500 nmol/L
反向引物(10 μmol/L)	1 μL	–500 nmol/L
探针(10 μmol/L)	0.5 μL	–250 nmol/L
DNA 模板	2 μL	1~5000 拷贝/μL
无核酸酶水	9.5 uL	-
总反应体积	22 μL	-

注: -表示加入无酶无菌水至 22 μL。

表 4　ddPCR 温控反应程序
Table 4　Thermal cycling program for ddPCR

步骤	温度/℃	时间	循环数
液滴稳定	60	5 min	1
酶激活	95	5 min	1
变性	95	10 s	45
复性/延伸	60	30 s	
液滴识别通道: Cy5.5			

1.4　数据处理

肉的质量与样品 DNA 溶液中 *RPA1* 的基因拷贝数及单位质量的基因拷贝数有关, 根据公式(1)计算。

$$M=\frac{Q}{C} \tag{1}$$

式中: M 为肉的质量; Q 为基因拷贝数; C 为单位质量肉的基因拷贝数。通过数字 PCR 测得的基因拷贝数(Q)数据统计分析使用 DQ-24 液滴式数字 PCR 自带系统进行。

实验中 5 份样本分别做 3 个平行重复, 每个样品都使

用干净的仪器, 以防止交叉污染, 取平均值带入式(1)计算。

2 结果与分析

2.1 引物和探针的特异性验证

以牛、羊、猪、鸡、鸭、马、驴等 7 种畜禽肉中提取的基因组 DNA 作为模板, 设置无菌水作为空白对照, 进行 qPCR 检测, 以确保实验的准确性和可靠性。如图 1 实验结果显示, 空白对照和非靶标肉中均未出现微滴扩增, 特异性扩增仅针对靶标肉, 能够满足实验的检测需求。

2.2 qPCR 定性检测结果

通过 qPCR 对 5 种肉类样品进行 DNA 扩增分析, 如图 2 结果显示, 标识为纯牛肉的“房 7”和“丰 7”样品仅对牛的特异性引物产生扩增反应, 表明这两种样品符合其标识的纯牛肉特性。而标识为纯羊肉的“房 6”“昌 5”和“丰 10”样品均对羊的特异性引物产生扩增反应, 显示其含有羊肉成分。“昌 5”样品还对猪的特异性引物产生了扩增反应, 这一结果提示“昌 5”样品存在肉类掺假的可能性。而“房 6”“丰 10”样品虽对猪的特异性引物产生了扩增反应, 但扩增 Ct 值较靠后, 接近 35, 据此基本可判定这两个样品在生产或销售环节与猪肉存在一定程度的沾染, 而非故意掺假。

2.3 ddPCR 定量检测结果

采用本研究建立的 ddPCR 检测方法对有肉类掺假可能性的“昌 5”样品中羊肉和猪肉的相对含量进行定量分析。如图 3、图 4 结果表明, 经 DNA 提取和 ddPCR 扩增后, 单位质量的羊肉与猪肉阳性液滴比值为 850:913, 按照公式(2)进行计算[22]。

$$\frac{M_p}{M_m}=\frac{\frac{Q_p}{C_p}}{\frac{Q_m}{C_m}}=\frac{C_m}{C_p}\times\frac{Q_p}{Q_m} \tag{2}$$

式中: M_p 和 M_m 分别为猪肉和羊肉的质量; Q_p 和 Q_m 分别为混合样品中猪肉和羊肉的基因拷贝数; C_p 和 C_m 分别为单位质量猪肉和羊肉的基因拷贝数。

鉴于同一肉种的细胞密度和基因组大小保持恒定, 因此对于任意肉种, 其 C_m/C_p 比值均为固定值。任君安等[28]利用数字 PCR 技术对含有 1%、10%、50%、60%和 80%猪肉含量的羊肉样品分别进行定量分析, 检测其中的 RPA1 基因拷贝数, 并计算 C_m/C_p 比值及其相对标准偏差

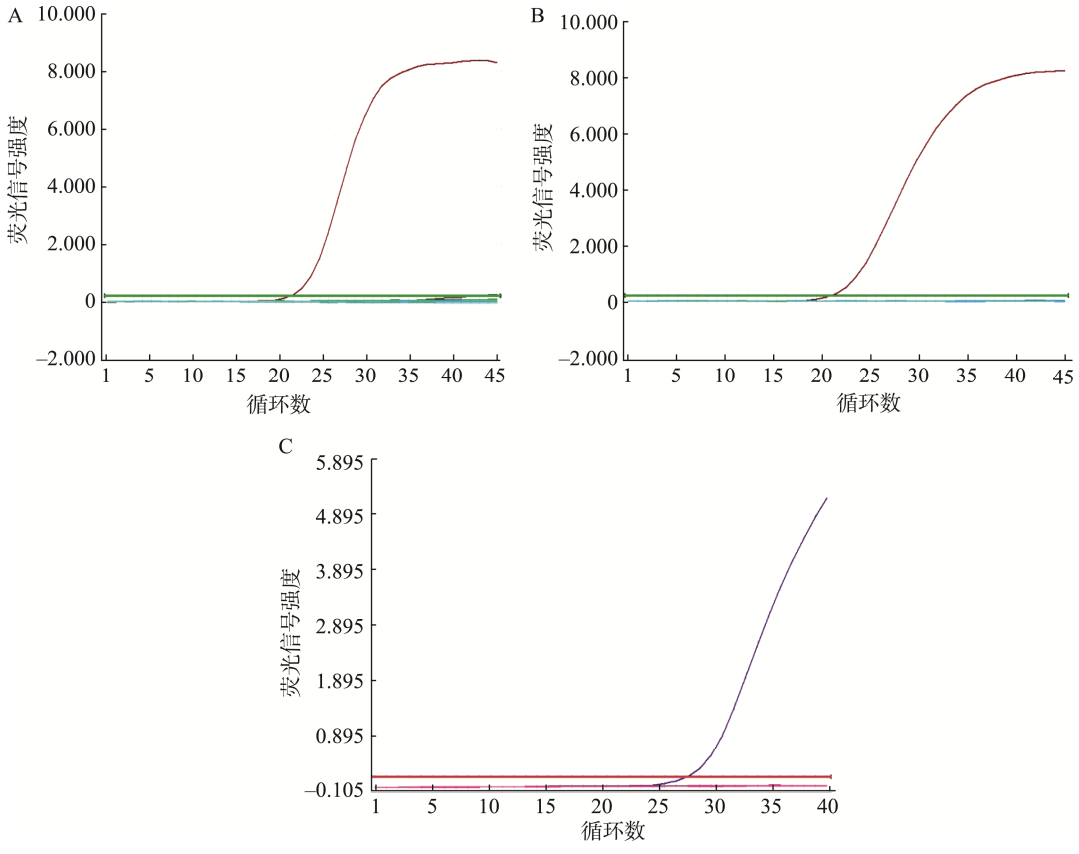
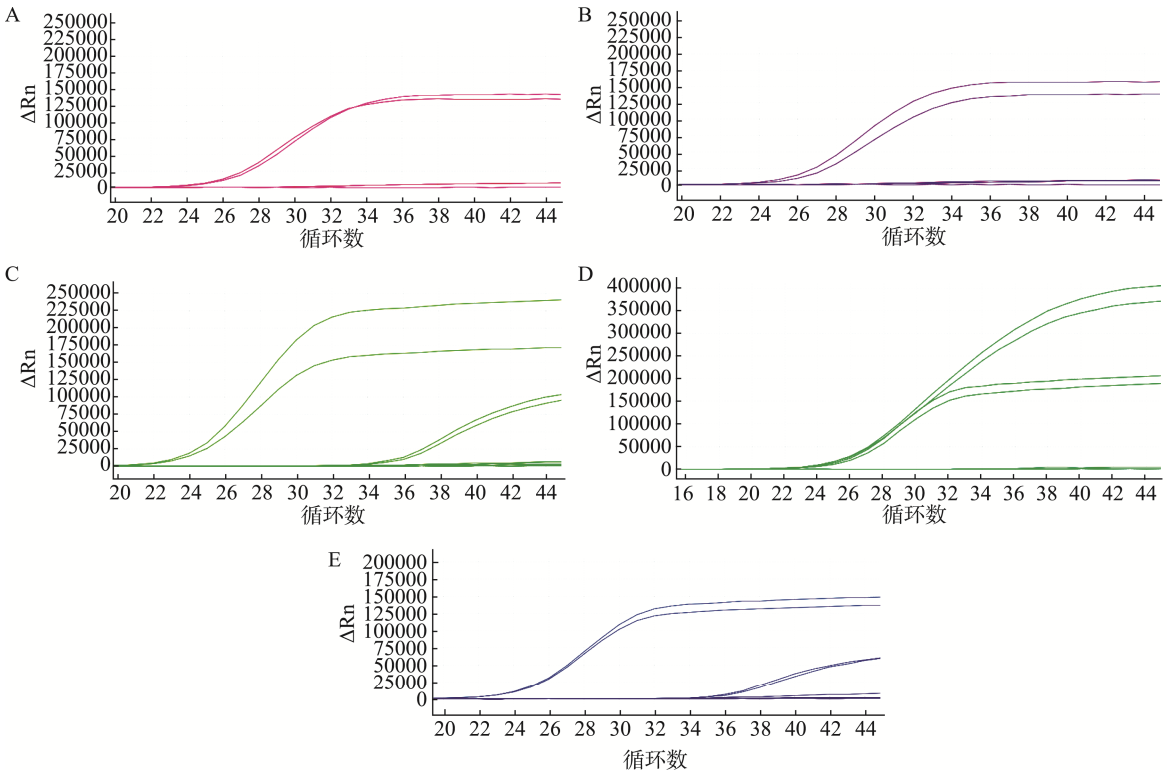


图 1 qPCR 方法验证牛肉(A)、羊肉(B)、猪肉(C)引物和探针特异性

Fig.1 Validation of the specificity of primers and probes for bovine (A), ovine (B) and porcine (C) by qPCR



注: A. “房 7”样品; B. “丰 7”样品; C. “房 6”样品; D. “昌 5”样品; E. “丰 10”样品。

图 2　qPCR 方法对 5 种肉类样品检测结果

Fig.2　Test results of 5 kinds of meat samples by qPCR method

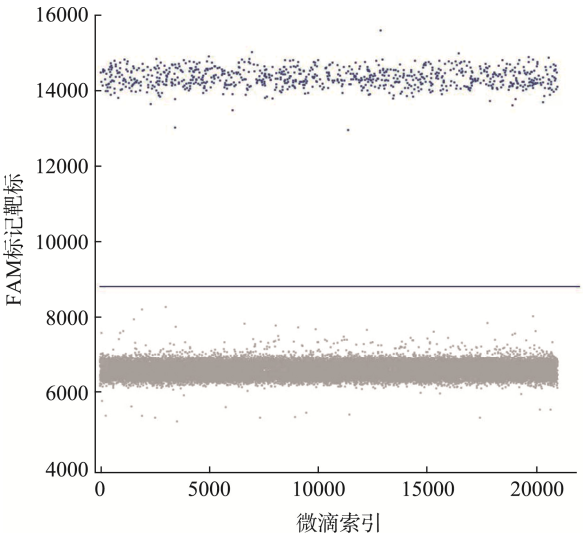


图 3　羊特异性引物对样品的扩增结果(阳性液滴数 850)

Fig.3　Amplification results of the ovine-specific primers on the samples (number of positive droplets: 850)

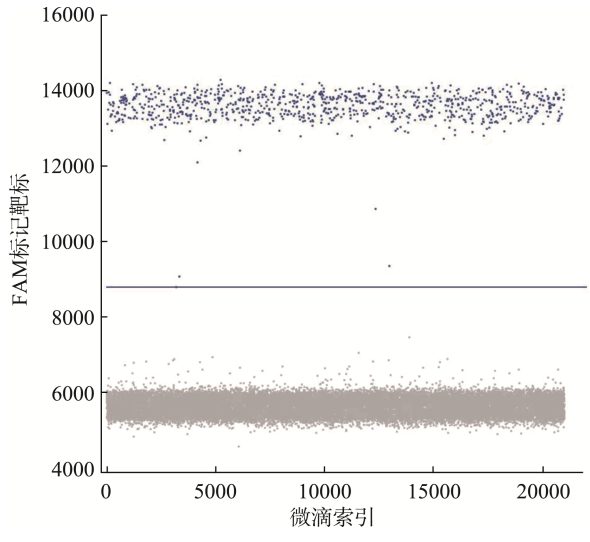


图 4　猪特异性引物对样品的扩增结果(阳性液滴数 913)

Fig.4　Amplification results of the porcine-specific primers on the samples (number of positive droplets: 913)

(relative standard deviation, RSD)。结果显示, 5 种不同猪肉含量样品的 *Cm*/*Cp* 平均值为 1.84, RSD 为 3.50%, 表明 *Cm*/*Cp* 具有较高的稳定性。此外, 反应生成的总微滴数均超过 10000 个, 满足泊松分布的统计学要求。因此, 可以计算得出“昌 5”样品中羊肉和猪肉的掺杂比例为 17:10。

3　讨论与结论

本研究采用 qPCR 和 ddPCR 相结合的方法对北京市肉类样品中的掺假情况进行检测。qPCR 方法在定性检测中显示出较高的灵敏度和特异性, 能够有效区分不同种类

的肉类成分，满足了公安机关对案件快速检测定性的需求。KÖPPEL 等[25]的研究显示实时荧光 qPCR 方法在最低含量为 1%时的相对误差最高为 65%，而 ddPCR 方法在定量检测中具有显著优势，其绝对定量能力能够直接测量目标核酸的绝对数量，不受标准曲线的影响，从而为肉类掺假的定量分析提供了更为精确的数据支持。

在对“昌 5”样品的检测中，qPCR 结果显示该样品中存在猪肉成分，而 ddPCR 定量分析经过计算得出了羊肉和猪肉的掺杂比例为 17:10。这一结果表明，该样品中羊肉和猪肉的掺假程度较为严重，可能对消费者的健康和权益造成影响。同时，这也反映出市场上部分肉类产品的质量监管存在漏洞，需要进一步加强肉类产品的质量控制和监管力度。

本研究建立的 qPCR 和 ddPCR 检测方法具有较高的灵敏度和特异性，能够有效应用于肉类掺假的检测。该方法不仅适用于实验室环境，还具有一定的现场快速检测潜力，为食品安全监管部门提供了有力的技术支持。然而，该方法在实际应用中也存在一些局限性。例如，对于复杂的肉类混合样品，可能存在多种肉类成分的相互干扰，影响检测结果的准确性[29−30]。此外，实验过程中对 DNA 提取和扩增条件的要求较高，操作不当可能导致假阳性或假阴性结果。因此，在未来的研究中，可以进一步优化实验条件和方法，提高其在复杂样品中的检测性能，同时探索与其他检测技术的联合应用，以提高检测的准确性和可靠性。

本研究的结果为食品安全监管部门提供了重要的参考依据。首先，监管部门应加强对肉类产品的质量监管，特别是对高风险的肉类掺假行为进行重点监控[31]。其次，应加大对肉类生产、加工和销售环节的监督检查力度，确保肉类产品的质量和安全。此外，还应加强与科研机构的合作，推广先进的检测技术和方法，提高食品安全检测的水平和效率。通过多方面的努力，共同维护消费者的食品安全和合法权益，促进食品市场的健康发展。

参考文献

[1] 李志强, 王济民. 我国畜产品消费及消费市场前景分析[J]. 中国农村经济, 2000(7): 46–51.
LI ZQ, WANG JM. Analysis of China’s livestock product consumption and consumption market prospects [J]. Chinese Rural Economy, 2000(7): 46–51.

[2] 金萍, 丁洪流, 李培, 等. 2013 年苏州地区肉及其制品掺假情况调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(2): 168–172.
JIN P, DING HL, LI P, *et al*. Analysis of meat products adulterated in Suzhou Area in 2013 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2014, 26(2): 168–172.

[3] 邢莉丽, 田云龙, 杨建, 等. 烟台市肉与肉制品中食源性致病菌污染现状及风险评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(9): 138–143.
XING LL, TIAN YL, YANG J, *et al*. Research on current situation and risk assessment of foodborne pathogens contamination in meat and meat products in Yantai City [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(9): 138–143.

[4] 钟石新. 海南省市场监管局公布肉类产品典型案例[J]. 中国食品工业, 2024(19): 20–22.
ZHONG SX. Hainan Provincial market supervision administration announces typical cases of meat products [J]. China Food Industry, 2024(19): 20–22.

[5] 国务院食安办公安部农业农村部市场监管总局关于开展严厉打击肉类产品违法犯罪专项整治行动的通知[J]. 中华人民共和国公安部公报, 2024(3): 17–19.
Notice of the State Council Food Safety Commission Office, Ministry of Public Security, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, and State Administration for Market Regulation on carrying out special campaigns to crack down on illegal and criminal activities related to meat products [J]. Gazette of the Ministry of Public Security of the People’s Republic of China, 2024(3): 17–19.

[6] 王超. 中国清真食品的标准与认证问题探析[J]. 中国穆斯林, 2010(5): 33–35.
WANG C. Research on the standards and identification of Chinese halal food [J]. China Muslim, 2010(5): 33–35.

[7] NAKYINSIGE K, MAN YBC, SAZILI AQ. Halal authenticity issues in meat and meat products [J]. Meat Science, 2012, 91(3): 207–214.

[8] SENTANDREU MÁ, SENTANDREU E. Authenticity of meat products: Tools against fraud [J]. Food Research International, 2014, 60: 19–29.

[9] Europe: In official journal of the European communities. Method of analysis for the determination of constituents of animal origin for the official control of feed: EC152-2009 [Z]. Europe, 2009.

[10] LEMONIA-CHRISTINA F, ALEXANDRA L, PANAGIOTIS T. Detection of meat adulteration using spectroscopy-based sensors [J/OL]. Foods, 2021. [2021-12-27]. https://doi. org/10. 3390/foods10040861

[11] 雷裕, 胡新军, 蒋茂林, 等. 高光谱成像技术应用于畜禽肉品品质研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(21): 8404–8411.
LEI Y, HU XJ, JIANG ML, *et al*. Research progress on application of hyperspectral imaging technology in meat quality of livestock and poultry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(21): 8404–8411.

[12] 骆训国, 栗绍文, 周蕾蕾, 等, 夹心 ELISA 方法检测生肉混合物中的猪肉成分的研究[J]. 动物医学进展, 2010, 31(S1): 20–22.
LUO XG, LI SW, ZHOU LL, *et al*. Research on sandwich ELISA test for detecting pork ingredients in raw meat mixture [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2010, 31(S1): 20–22.

[13] 蒲科源, 丘嘉敏, 刘柏霖, 等. 蛋白质组学非靶向性质谱分析结合化学计量学在牛肉掺假初筛中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(3): 290–295.
PU KY, QIU JM, LIU BL, *et al*. Non-targeted proteomics mass spectrometry combined with chemometrics for beef product preliminary screening [J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(3): 290–295.

[14] 陈颖, 钱增敏, 徐宝梁, 等. 保健品中牛羊源性成分的 PCR 检测[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 215–218.
CHEN Y, QIAN ZM, XU BL, *et al*. Species-specific PCR for identification of horse and donkey materials in feedstuff [J]. Food Science, 2004, 25(10): 215–218.

[15] 李婷婷. 基于 DNA 检测的羊肉掺假鉴别技术研究[D]. 北京: 中国农

业科学院, 2019.
LI TT. Research on DNA-based detection techniques for identification of mutton adulteration [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.

[16] FU M, ZHANG Q, ZHOU X, *et al*. Recombinase polymerase amplification based multiplex lateral flow dipstick for fast id entification of duck ingredient in adulterated bee [J]. Animals, 2020, 10(10): 1765.

[17] 柳梦思, 时国强, 卢鑫, 等. 基于全自动核酸提取的荧光定量 PCR 鉴别羊肉制品真伪[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(10): 3148–3155.
LIU MS, SHI GQ, LU X, *et al*. Identification of mutton products by flourescence quationtitative PCR based on automatic nucleic acid extration [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(10): 3148–3155.

[18] 陈旭, 齐凤坤, 康立功, 等. 实时荧光定量 PCR 技术研究进展及其应用[J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(8): 148–155.
CHEN X, QI FK, KANG LG, *et al*. Advance and application of real-time fluorescent quantitative PCR [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2010, 41(8): 148–155.

[19] PARK S, RANA A, SUNG W, *et al*. Competitiveness of quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) technologies, with a particular focus on detection of antibiotic resistance genes (ARGs) [J]. Applied Microbiology, 2021, 1: 426–444.

[20] GUO G, HUSS M, TONG GQ, *et al*. Resolution of cell fate decisions revealed by single-cell gene expression analysis from zygote to blastocyst [J]. Developmental Cell, 2010, 18(4): 675–685.

[21] DREO T, PIRC M, RAMŠAK Ž, *et al*. Optimising droplet digital PCR analysis approaches for detection and quantification of bacteria: A case study of fire blight and potato brown rot [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2014, 406(26): 6513–6528.

[22] MORISSET D, ŠTEBIH D, MILAVEC M, *et al*. Quantitative analysis of food and feed samples with droplet digital PCR [J]. PLoS ONE, 2013, 8(5): e62583.

[23] FLOREN C, WIEDEMANN I, BRENIG B, *et al*. Species identification and quantification in meat and meat products using droplet digital PCR (ddPCR) [J]. Food Chemistry, 2015, 173(173): 1054–1058.

[24] HINDSON BJ, NESS KD, MASQUELIE RDA, *et al*. High-throughput droplet digital PCR system for absolute quantitation of DNA copy number [J]. Analytical Chemistry. 2011, 83(22): 8604–8610.

[25] KÖPPEL R, RUF J, RENTSCH J. Multiplex real-time PCR for the detection and quantification of DNA from beef, pork, horse and sheep [J]. European Food Research and Technology, 2011, 232(1): 151155.

[26] SANDERS R, HUGGETT JF, BUSHELLC A, *et al*. Evaluation of digital PCR for absolute DNA quantification [J]. Analytical Chemistry, 2011, 83(17): 6474–6484.

[27] 国务院第七次全国人口普查领导小组办公室. 第七次全国人口普查公报(第二号)[EB/OL]. (2021-05-11) [2022-06-05]. http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/202105/t20210510_1817178. html
Office of the Leading Group for the Seventh National Population Census of the State Council. Bulletin of the Seventh National Population Census (No.2) [EB/OL]. (2021-05-11) [2022-06-05]. http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/202105/t20210510_1817178.html

[28] 任君安, 邓婷婷, 黄文胜, 等. 微滴式数字聚合酶链式反应精准定量检测羊肉中掺杂猪肉[J]. 食品科学, 2017, 38(2): 311–316.
REN JAN, DENG TT, HUANG WS, *et al*. A precise quantitative assay for measuring pork incorporated into mutton products by droplet digital PCR [J]. Food Science, 2017, 38(2): 311–316.

[29] MOTALIB-HOSSAIN MA, SITI-AIMI SZA, AISHAH B, *et al*. TaqMan multiplex qPCR for detecting animal species in meat and meat products: Development, recent advances and future prospects [J]. Food Control, 2023. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109761

[30] NURHAYATIE S, SIE CW, SUHAILI AB, *et al*. Analytical approaches of meat authentication in food [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2021: 1535–1543. https://doi.org/10.1111/ijfs.14797

[31] 黄红霞. 肉类食品安全监管存在的问题与对策研究[J]. 食品安全导刊, 2024(28): 4–6.
HUANG HX. Research on the problems and countermeasures of meat food safety supervision [J]. China Food Safety Magazine, 2024(28): 4–6.

(责任编辑: 蔡世佳　韩晓红)