

荧光 PCR 法检测畜禽肉中的鸡源性成分

唐修君, 樊艳凤, 贾晓旭, 葛庆联, 唐梦君, 张小燕, 陈大伟, 高玉时

(中国农业科学院家禽研究所, 江苏扬州 225125)

摘要: 为了建立畜禽肉中鸡源性成分荧光定量 PCR 检测方法, 以鸡、鸭、鹅、猪、牛、羊、兔、鸽和鹌鹑等 9 种动物线粒体 DNA 16S rRNA 基因序列为靶位点, 通过比对分析设计筛选出鸡特异性引物, 以 9 种动物肌肉 DNA 为模板进行特异性扩增, 确立荧光定量 PCR 扩增条件; 同时将鸡 DNA 模板浓度进行 10 倍梯度稀释, 一直稀释至 10^8 倍, 检测所建立的荧光 PCR 方法的灵敏度; 并用此方法对市场样品进行随机抽检。结果显示: 所设计的鸡引物仅对鸡肉 DNA 模板有典型扩增曲线, Ct 值为 22.11, 对其它动物 DNA 模板无扩增, 特异性较强; 当鸡 DNA 模板稀释倍数达到 10^4 倍, 即 DNA 浓度为 17.5 pg/ μ L 时, 仍有典型扩增曲线, Ct 值为 30.37, 方法灵敏度较高; 市场流通环节样品抽检结果显示所抽测样品均合格。可见, 建立的基于荧光定量 PCR 和线粒体 DNA 16S rRNA 基因的畜禽肉中鸡源性成分检测方法, 快速而准确, 实用性强。

关键词: 鸡源性成分; 荧光 PCR; 线粒体 DNA; 16S rRNA 基因; 检测

文章编号: 1673-9078(2018)07-230-234

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.7.034

Detection of Chicken-Derived Components in Livestock and Poultry Meat by Fluorescent PCR Assay

TANG Xiu-jun, FAN Yan-feng, JIA Xiao-xu, GE Qing-lian, TANG Meng-jun, ZHANG Xiao-yan, CHEN Da-wei, GAO Yu-shi

(Institute of Poultry, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Yangzhou 225125, China)

Abstract: In order to establish a fluorescent quantitative PCR method for detecting the components of chicken origin in livestock and poultry meat, the mitochondrial DNA 16S rRNA gene sequences of 9 animals including chicken, duck, goose, pig, cattle, sheep, rabbit, pigeon and quail were used as target sites. The chicken-specific primers were screened through comparative analysis design, and specificity amplification was performed using 9 kinds of animal muscle DNA as templates to establish the conditions for fluorescent quantitative PCR amplification. In the meantime, the chicken DNA template concentration was serially diluted 10-fold to 10^8 times. The sensitivity of the established fluorescent PCR method was tested. Then the samples randomly collected from the market were analysed using this established method. The results showed that, the designed chicken primer had a typical amplification curve only for the chicken DNA template (Ct value as 22.11), but no amplification for other animal DNA templates, thus the method exhibited high specificity. When the chicken DNA template dilution reached 10^4 times, that is, the DNA concentration was 17.5 pg/ μ L, there was still a typical amplification curve with Ct value as 30.37, thus the method had relatively high sensitivity. Analyses of the samples randomly collected from the market circulation revealed that all the collected samples were qualified. It is clear that the method for detecting the components of chicken origin in livestock and poultry meat is fast and accurate with strong practicality.

Key words: chicken-derived ingredients; fluorogenic PCR; mitochondrial DNA; 16S rRNA gene; identification

随着人民生活水平的不断提高, 食品质量安全检

收稿日期: 2018-03-24

基金项目: 江苏省农业三新工程项目 (SXGC[2017]256); 国家自然科学基金青年基金项目 (31702079); 国家食用农产品质量分析与品质评价专项 (GJFP201801503)

作者简介: 唐修君 (1981-), 女, 副研究员, 主要从事家禽品种鉴定与品质评价研究工作

通讯作者: 高玉时 (1967-), 男, 博士, 研究员, 主要从事家禽质量安全与品种鉴定研究工作

测技术进一步得到完善和更新, 然而食品掺假掺杂手段也在不断提高^[1]。近年来, 在利益驱动下肉制品掺假事件时有发生, “挂鹅头卖鸭肉”、非法添加“牛肉膏”等食品安全事件不断出现, 严重侵害了消费者权益。2017年3月22日, 南方网报道黄记煌使用过期变质掺假肉事件。2016年12月12日, 广州市消委会发布消息称海欣牌香港撒尿肉丸 (牛肉风味) 和大鱼市撒尿肉丸 (牛肉味) 中均没有牛肉。2015年11月4日, 法制晚报报道华润万家社区超市出售掺假肉包子事

件。2014年1月26日,羊城晚报报道市场出售掺假羊肉卷有70%是猪肉。可见,肉与肉制品掺杂掺假已成为我国食品质量控制面临的重要挑战之一,而对原料肉进行动物源性成分鉴定显得十分必要。

传统的方法是依靠感官评价和形态学进行肉类来源鉴别,但这些手段已远不能满足监管部门对肉制品掺假现象的监控。目前,动物源性食品鉴定的检测方法主要有酶联免疫吸附法^[2]、电子鼻技术^[3]、色谱法^[4]以及分子生物学法^[5-7]等。其中,实时荧光定量PCR技术凭借其特异性好、自动化程度高,检测周期短以及扩增目的片段较小等优势,提高了食品中动物源性成分定性鉴别的有效性,已逐步成为肉类种属检测和鉴定的核心方法^[8,9]。孙晶莹等^[1]根据牛线粒体DNA片段,设计合成两对特异性引物,分别以生牛肉、熟牛肉及超市牛肉加工品为实验材料,建立了肉制品中牛源性成分多重实时荧光PCR检测方法。林彦星等^[10]根据鸭mtDNA COX基因保守序列设计了鸭特异性引物和TaqMan探针,建立了畜禽肉制品中鸭源性成分实时荧光定量PCR检测方法。

动物线粒体基因组DNA序列由于拷贝数多、在食品加工过程未完全降解以及高度物种特异性等特点,已成为肉与肉制品动物源性成分鉴别的良好靶基因^[11-13]。但以往所报道的研究中,所用动物品种较少,而且针对线粒体DNA 16S rRNA基因的研究甚少。本项目拟选择16S rRNA基因为靶基因,根据鸡、鸭、鹅、鸽、鹌鹑、猪、牛、羊和兔等9种动物16S rRNA基因的差异位点,设计筛选鸡特异性引物,并进行系统性研究,拟建立基于线粒体DNA 16S rRNA基因的荧光PCR技术的畜禽肉中鸡源性成分快速鉴别方法,

表1 鸡16S rRNA基因引物序列、T_m值及PCR产物大小

Table 1 Primer sequence, T_m value and the size of PCR product

引物序列/5'-3'	T _m 值/°C	产物大/bp	产物序列
F: 5'CGACAAACTCGTACCCT 3' (17)	60	127	CGACAAACTCGTACCCTTAACATAAAAAACTTA
R: 5'CCCTTGCGGTACAGTTAG 3' (18)			CCTCCCCCTCTTAACCAAAACATTATAAATTGTC
			CCAGTATAGGCGATAGAAAAGACTACCCCGGCG
			CAATAGAGGCTAACTGTACCGCAAGGG

1.2.3 普通PCR扩增和测序

PCR反应体系为20 μL: 其中2×PCR Mix 10 μL, 10 μmol/L正向和反向引物各0.2 μL, DNA模板1 μL, 灭菌双蒸水8.6 μL。扩增条件为: 95 °C预变性5 min; 之后95 °C变性30 s, 60 °C退火30 s, 72 °C延伸60 s, 共进行30个循环; 最后72 °C延伸10 min。PCR产物经1.5 g/L琼脂糖凝胶电泳检测后割胶回收、纯化, 并交由上海华大基因科技有限公司测序, 采用双向测序, 测序结果与GenBank上已知序列进行比对。

为肉品真假识别提供有力依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

新鲜鸡肉、鸭肉、鹅肉、猪肉、牛肉、羊肉、兔肉、鸽肉和鹌鹑肉购自扬州市农贸市场, 火腿肠和腊鸡腿购自扬州市大润发超市。

离心柱式组织基因组DNA小量抽提试剂盒, 北京天根生化科技有限公司; 2×PCR Mix, 南京博尔迪公司; 琼脂糖, Promega公司; 荧光染料预混液SYBR Green mix: AceQ qPCR SYBR Green Master Mix 2500rxn, 南京诺唯赞生物科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA提取

将鸡、鸭、鹅、猪、牛、羊、兔、鸽和鹌鹑等9种动物肉样搅碎至肉糜状, 以试剂盒法提取DNA, 并溶于100 μL洗脱液中, -20 °C保存备用。经测定9种动物DNA模板浓度均在110~210 ng/μL之间, 其中鸡为174.57 ng/μL。火腿肠、腊肉均通过优化后的十六烷基三甲基溴化铵法(CTAB)方法^[14]进行DNA提取。

1.2.2 引物设计与合成

以Genbank上公布的鸡、鸭、鹅、猪、牛、羊、兔、鸽、鹌鹑等动物线粒体DNA 16S rRNA基因序列为靶基因, 通过Arraydesigner2.0、Oligo6.0、Bioedit等软件比对分析, Primer Premier 5.0软件设计合成鸡特异性引物, 由上海生物工程公司合成, 引物明细具体见表1。

1.2.4 荧光PCR扩增

荧光PCR反应体系为15 μL: 其中Mix 7.5 μL, Dye 0.3 μL, 1 μmol/L正向和反向引物各0.5 μL, DNA模板1 μL, 灭菌双蒸水5.2 μL。扩增条件为: 先是50 °C酶激活2 min; 之后95 °C预变性10 min, 然后95 °C变性15 s, 60 °C延伸1 min, 共进行40个循环。反应结束后, 观察9种动物DNA模板的扩增曲线图, 并读取循环阈值(cycle threshold, Ct值), 判定引物的特异性。若无典型扩增曲线且Ct值大于35, 判定检

测体系无特异性扩增。

1.2.5 灵敏度实验

将鸡肉 DNA 模板浓度按 10^n 倍梯度进行稀释, 稀释倍数分别为 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 和 10^8 倍, 观察方法灵敏度, 反应条件同 1.2.3 和 1.2.4。

1.2.6 样品检测

利用建立的方法对市场随机抽取的样品进行检测。

2 结果与讨论

2.1 9 种畜禽肉中鸡源性成分常规 PCR 检测

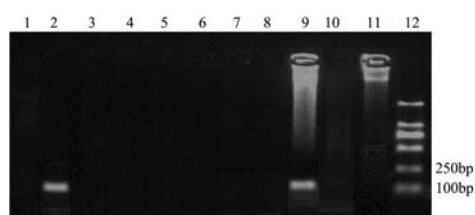


图 1 鸡引物 PCR 扩增结果

Fig.1 PCR product of chicken primer

注: 图 1 中 1 孔表示空白; 2 孔表示阳性对照; 12 孔表示 DL 2000 DNA marker; 3~11 孔分别表示羊肉、牛肉、猪肉、兔肉、鸽肉、鸡肉、鸭肉和鹌鹑肉。

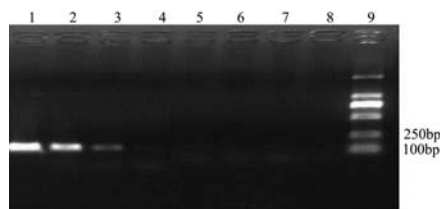


图 2 鸡肉 DNA 不同稀释倍数扩增结果

Fig.2 PCR product of different dilution ratio of chicken DNA

注: 图 2 中 1~8 孔分别表示稀释 10 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 和 10^8 倍; 9 孔表示 DL 2000 DNA marker。

肉类作为人类重要的营养来源, 与人们生活和健康息息相关, 研究肉类掺杂掺假以及畜禽肉动物源性显得尤为重要。PCR 技术凭借其简单、快速等特点, 在肉品来源等分析中已得到广泛应用, 并取得良好效果^[15]。本研究采用 PCR 技术, 以设计筛选的基于鸡线粒体 DNA 16S rRNA 基因的特异性引物, 对鸡、鸭、鹅、猪、牛、羊、兔、鸽和鹌鹑等 9 种动物 DNA 模板进行 PCR 扩增, 经过多次重复试验证明, 该引物仅对鸡肉 DNA 模板扩增出特异性条带, 其它物种无扩增(见图 1)。之后将鸡肉 DNA 模板按 10 倍梯度稀释, 发现当稀释倍数达到 10^3 倍即模板浓度为 174.57

pg/ μ L 时, 仍可见到特异性条带(见图 2)。同时对 PCR 产物进行测序, 并将测序结果与已发表的序列(GenBank 登录号分别为 AB086102.1、GU261713.1、GU261678.1)进行比对, 发现同源性均在 99% 以上, 与预期结果一致, 确定该条带为鸡肉成分。

2.2 9 种畜禽肉中鸡源性成分荧光 PCR 检测

近年来, 随着对食品安全的日益重视以及分子生物学等技术的飞速发展, 动物源性成分各种检测技术相继涌现^[16,17], 其中以核酸检测为基础的技术在食品肉类成分鉴别与分析等方面日益成熟, 尤其是荧光定量 PCR 技术, 使得定量检测成为可能, 由于其具有简单快速以及灵敏度和准确性高等优点, 已成为肉与肉制品中动物源性成分鉴别普遍采用的方法之一^[18,19]。齐春萌等^[20]根据鸵鸟线粒体 CO I 基因序列, 设计特异性引物和 TaqMan 探针, 建立了肉制品中鸵鸟源性成分的实时荧光 PCR 鉴定方法。许如苏等^[21]基于马的种属保守序列, 设计特异性引物和 TaqMan-LNA 探针, 建立了可快速检测肉制品中马源性成分的 TaqMan-LNA 荧光 PCR 检测方法。

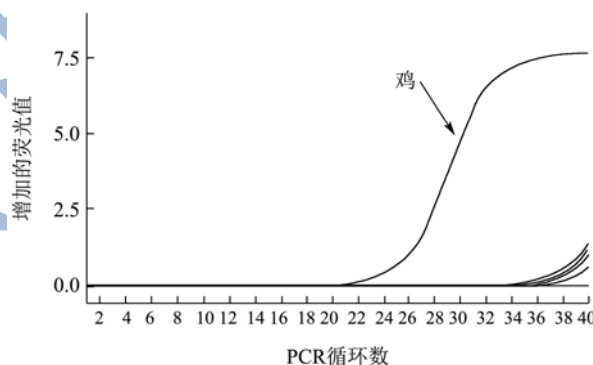


图 3 不同动物荧光扩增曲线图

Fig.3 Fluorescent Amplification curves of different animals

本研究以鸡、鸭、鹅、猪、牛、羊、兔、鸽和鹌鹑等 9 种不同动物 DNA 为模板, 以线粒体 DNA 16S rRNA 为靶基因, 设计鸡特异性引物, 进行荧光定量 PCR 扩增。结果显示, 所设计筛选的鸡引物仅鸡肉 DNA 模板反应后有典型扩增曲线, Ct 值为 22.11, 而其它动物 DNA 模板反应后无典型扩增曲线且 Ct 值均大于 35, 具体见表 2 和图 3。目前, 有关畜禽肉中鸡源性成分检测的研究报道甚少, 而且已有的报道中涉及到的动物种类偏少^[22,23]。该方法的建立可以补充和完善我国畜禽肉与肉制品中掺杂、掺假检测方法, 保护肉类产业健康发展。

表 2 不同动物 DNA 模板荧光 PCR 扩增 Ct 值

Table 2 The Ct value of fluorescent PCR amplification of different animal DNA template

模板	牛	羊	猪	兔	鸽	鹌鹑	鸡	鸭	鹅	空白
Ct 值	36.88	39.25	38.00	-	-	-	22.11	36.20	-	-

表 3 鸡 DNA 模板不同稀释倍数获得的 Ct 值

Table 3 The Ct value of different dilution ratio of chicken DNA template

稀释倍数	10	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	空白
Ct 值	20.56	22.52	26.77	30.37	35.47	37.09	-	-	-

2.3 灵敏度检测

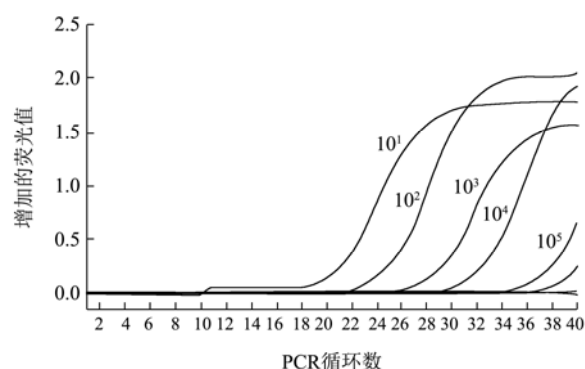


图 4 DNA 模板不同稀释倍数扩增曲线

Fig.4 Amplification curve of different dilution ratio

注：图中扩增曲线从左到右为稀释倍数依次增加。

将鸡肉 DNA 模板按 10 倍梯度稀释，从 DNA 水平进行灵敏度检测，确定方法检测下限。

结果显示，当 DNA 模板稀释倍数达到 10⁴ 倍，即 DNA 浓度为 17.5 pg/μL 时，Ct 值为 30.37，仍有典型扩增曲线，可见该方法的灵敏度较高。具体结果见表 3 和图 4。

2.4 市场样品随机检测结果

近年来，肉类掺假等食品安全事件屡屡发生，不法商家为了谋取利益，以次充好，以假乱真等现象时有发生，本研究以建立的方法对从市场上随机抽取的样品进行鸡源性成分检测，以供监管部门参考。结果显示所抽检的鸡肉火腿肠和腊鸡腿均检测出了鸡肉成分，而成分表明含有猪肉和牛肉的火腿肠未检测出鸡肉成分，具体见表 4。

表 4 随机抽检样品鸡源性成分检测结果

Table 4 The detection results of chicken origin ingredients in randomly sampling

样品种类	主要肉成分	数量	检测结果
火腿肠	鸡肉	10	鸡肉
腊鸡腿	鸡肉	8	鸡肉
火腿肠	猪肉	5	未检出
火腿肠	牛肉	5	未检出

3 结论

3.1 本研究根据鸡、鸭、鹅、猪、牛、羊、兔、鸽和鹌鹑等 9 种动物线粒体 DNA16S rRNA 基因序列的位点差异，设计并筛选出了鸡特异性引物，建立了基于荧光定量 PCR 检测畜禽肉中鸡源性成分的方法。

3.2 经过多次试验和重复验证表明，所设计筛选的引物对只有在鸡 DNA 模板存在的情况下才会发生特异性反应，生成典型扩增曲线，而对其它 8 种动物肌肉 DNA 模板无典型扩增曲线，可见该引物对特异性较好，该方法灵敏度较高，达到 pg 级，可以用于畜禽肉及肉制品中鸡源性成分快速准确地检测，为肉品市场监管提供依据。

参考文献

- [1] 孙晶莹,孙丽君,王晓红,等.肉制品中牛源性成分多重实时荧光 PCR 检测方法的建立及初步应用[J].食品安全质量检测学报,2016,7(9):3756-3760
SUN Jing-ying, SUN Li-jun, WANG Xiao-hong, et al. Establishment and application of multiple real-time fluorescent PCR to detect the beef ingredient in meat products [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2016, 7(9): 3756-3760
- [2] Kreuz G, Zagon J, Broil H, et al. Immunological detection of osteocalcin in meat and bone meal: a novel heat stable marker for the investigation of illegal feed adulteration [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2012, 29(5): 716-726
- [3] Nurjuliana M, Che Man Y B, Mat Hashim D. Rapid identification of pork for halal authentication using the electronicnose and gas chromatography mass spectrometer with headspace analyzer [J]. Meat Science, 2011, 88(4): 638-644
- [4] Chou C C, Lin S P, Lee K M, et al. Fast differentiation of meats from fifteen animal species by liquid chromatography with electrochemical detection using copper nanoparticle plated electrodes [J]. Journal of Chromatography B, 2007, 846(1/2): 230-239
- [5] 朱业培,王玮,吕青驳,等.基于基因芯片技术检测 6 种动物源

- 性成分[J].南京农业大学学报,2015,38(6):1003-1008
- ZHU Ye-pei, WANG Wei, LV Qing-bo, et al. Detection of six kinds of animal-derived ingredients using gene chips [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2015, 38(6): 1003-1008
- [6] Murugaiah C, Noor Z M, Mastakim M, et al. Meat species identification and halal authentication analysis using mitochondrial DNA [J]. Meat Science, 2009, 83(1): 57-61
- [7] Mane B G, Mendiratta S K, Tiwari A K. Polymerase chain reaction assay for identification of chicken in meat and meat products [J]. Food Chemistry, 2009, 116(3): 806-810
- [8] Kesmen Z, Gulluce A, Sahin F, et al. Identification of meat species by Taq Man-based real-time PCR assay [J]. Meat Science, 2009, 82(4): 444-449
- [9] 张驰,邱皓璞,张筠. 荧光定量 PCR 检测肉制品中鸭源性成分[J].食品科学,2013,34(18):154-157
- ZHANG Chi, QIU Hao-pu, ZHANG Yun. A quantitative fluorescent PCR method for detection of duck-derived ingredients in meat products [J]. Food Science, 2013, 34(18): 154-157
- [10] 林彦星,张彩虹,阮周曦,等.实时荧光定量 PCR 检测畜禽肉制品中鸭源性成分[J].动物医学进展,2016,37(11):48-53
- LIN Yan-xing, ZHANG Cai-hong, RUAN Zhou-xi, et al. A real-time fluorescent PCR for detection of duck-derived ingredients in meat products of livestock and poultry [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2016, 37(11): 48-53
- [11] Ballin N Z, Vogensen F K, Karlsson A H. Species determination-can we detect and quantify meat adulteration [J]. Meat Science, 2009, 83(2): 165-174
- [12] 范丽丽,李培,傅春玲,等.食品中鸡源性成分实时荧光 PCR 检测方法的建立[J].食品科学,2014,5(2):248-251
- FAN Li-li, LI Pei, FU Chun-ling, et al. Detection of chicken-derived ingredients in foods by fluorescence based quantitative real time PCR [J]. Food Science, 2014, 5(2): 248-251
- [13] 钱云开,王海洋,崔宗岩,等.实时荧光 PCR 法快速检测肉类中貉源性成分[J].中国食品卫生杂志,2016,28(5):602-605
- QIAN Yun-kai, WANG Hai-yang, CUI Zong-yan, et al. Development of a real-time PCR method for the raccoon dog meat [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2016, 28(5): 602-605
- [14] 何海宁,洪霞,冯玉升,等.加工食品中动物源DNA的提取和多重PCR检测方法的建立[J].食品与机械,2015,31(6):79-83
- HE Hai-ning, HONG Xia, FENG Yu-sheng, et al. Extraction of animal-derived DNA in processed food and establishment of multiplex PCR method [J]. Food & Machinery, 2015, 31(6): 79-83
- [15] 田晨曦,周巍,王爽,等.基于 DNA 条形码技术常见肉类掺假鉴别技术的研究[J].现代食品科技,2016,32(8):58-63
- TIAN Chen-xi, ZHOU Wei, WANG Shuang, et al. Techniques for identifying common meat adulterations based on DNA barcodin [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(8): 58-63
- [16] Ghovvati S, Nassiri M R, Mirhoseini S Z, et al. Fraud identification in industrial meat products by multiplex PCR assay [J]. Food Control, 2009, 20(8): 696-699
- [17] 马灵飞,周围,张雅珩,等.基于脂肪酸差异的肉制品中猪源性成分鉴别方法的研究[J].分析测试学报,2016,35(10): 1295-1300
- MA Ling-fei, ZHOU Wei, ZHANG Ya-heng, et al. Research on identification method of pig-derived components in meat products based on difference in fatty acid [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2016, 35(10): 1295-1300
- [18] 徐琼,张奕南,顾文佳,等.TaqMan 实时荧光 PCR 法定量检测生肉中猪源性成分的建立[J].食品科技,2016,41(2):309-313
- XU Qiong, ZHANG Yi-nan, GU Wen-jia, et al. Establishment of quantitative TaqMan real-time PCR targeting the swine-derived in raw meat [J]. Food Science and Technology, 2016, 41(2): 309-313
- [19] Ali M E, Razzak M A, Hamid S B, et al. Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic foods [J]. Food Chemistry, 2015, 177: 214-224
- [20] 齐春萌,杨昕霆,薛晨玉,等.肉制品中鸵鸟源性成分的实时荧光 PCR 检测[J].中国食品学报,2016,16(7):246-251
- QI Chun-meng, YANG Xin-ting, XUE Chen-yu, et al. Fluorescent real-time PCR detection method for ostrich ingredient in meat products [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(7): 246-251
- [21] 许如苏,周广彪,段建发,等.Taqman-LNA 荧光 PCR 快速检测肉制品中马源性成分的研究[J].中国动物检疫,2015,32(7): 62-66
- XU Ru-su, ZHOU Guang-biao, DUAN Jian-fa, et al. Development of a Taqman-LNA PCR assay for rapid detection of horse-derived ingredients in meat products [J]. China Animal Health Inspection, 2015, 32(7): 62-66
- [22] 汪永信,安虹,程坚,等.双重实时荧光 PCR 法检测食品和饲料中的鸡源性成分[J].生物技术通报,2012,1:134-138
- WANG Yong-xin, AN Hong, CHENG Jian, et al. Duplex fluorescent real-time PCR detection of chicken derived materials in food and feed [J]. Blotechnology Bulletin, 2012, 1:

134-138

- [23] 金萍, 结莉, 陆俊, 等. Taqman 探针荧光聚合酶链式反应实时同步鉴定动物源性食品中猪肉、鸡肉源性成分[J]. 肉类研究, 2016, 30(9): 17-22

JIN Ping, JIE Li, LU Jun, et al. A dual fluorescent real-time polymerase chain reaction method for concurrently detecting pork-derived and chicken-derived ingredients in animal-origin foods [J]. Meat Research, 2016, 30(9): 17-22

现代食品科技