

肉及肉制品分子生物学鉴别技术研究进展

李宗梦*, 赵良娟, 王永芳, 张宏伟

(天津出入境检验检疫局动植物与食品检测中心, 天津 300461)

摘要: 2013年初随着欧洲“马肉丑闻”这一食品安全事件的发生, 食品掺假这一全球性问题引发了公众对食品安全的担忧以及各国政府的关注。用于食品真伪鉴别的分子生物学技术包括经典的普通PCR技术、实时定量PCR技术, 以及近年来逐步发展起来的分子指纹技术等。此外, 基因芯片技术、多重PCR技术等可提高检测通量的新技术近年来也得到了长足发展。随着分子生物学技术向着高灵敏度、高通量的方向发展的同时, 用于样品初筛的具有较高灵敏度和准确度的现场快速检测方法和检测设备的开发也将成为未来食品真伪鉴别的研究热点之一。本文对分子生物学技术在肉及肉制品真伪鉴别的应用和研究进展进行了综述。

关键词: 肉类掺假; 肉种鉴别; PCR; 实时定量PCR; 分子指纹技术

Progress of molecular identification techniques used in meat and meat products

LI Zong-Meng*, ZHAO Liang-Juan, WANG Yong-Fang, ZHANG Hong-Wei

(Animal, Plant and Foodstuffs Inspection Center, Tianjin Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Tianjin 300461, China)

ABSTRACT: With the food safety incident of “horse meat scandal” occurring in Europe in early 2013, the global problem of food adulteration has caused more concern about food safety from the public and the governments of many countries. Molecular techniques for food authenticity identification include the conventional PCR, real-time quantitative PCR, and fingerprinting techniques which developed in recent years. In addition, high throughput technologies such as gene chip technology and multiplex PCR technology have also developed considerably. At the same time, rapid on-site detection methods and equipment with high sensitivity and high-throughput for sample screening had become a research highlight in food authenticity identification. In this paper, molecular method research progress and the corresponding application on authenticity of meat and meat products were reviewed.

KEY WORDS: meat adulteration; meat identification; PCR; real-time quantitative PCR; fingerprinting technique

1 引言

“挂羊头卖狗肉”, 卖肉作假古已有之。近年来, 随着

食品供应链全球化、复杂化的发展, 经济利益驱动的食品掺假问题有愈演愈烈之势。其中, 肉类掺假问题层出不穷, 市场乱象令人堪忧。此外, 消费者在选购肉类食品时, 出于

基金项目: 国家质检总局科技计划项目(2014IK105)、天津检验检疫局科技计划项目(TK086-2013, TK082-2013)

Fund: Supported by the Scientific and Technological Project of the General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China (2014IK105) and the Scientific and Technological Project of TJCIQ (TK086-2013, TK082-2013)

*通讯作者: 李宗梦, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: lizm@tjciq.gov.cn

*Corresponding author: LI Zong-Meng, Engineer, Animal, Plant and Foodstuffs Inspection Center, Tianjin Exit-Entry Inspection and Quarantine Bureau, No.158 Jingmen Road, Free Trade Zone, Tianjin Port, Tianjin 300461, China. E-mail: lizm@tjciq.gov.cn

对价格、生活方式、宗教以及健康方面的考虑,对于肉类食品的成分、生产方式等信息的需求与日俱增。

值得注意的是,肉类掺假并不是我国特有,而是一个全球性问题。2013年初,影响欧洲16个国家的“马肉丑闻”事件中,造假者使用来源于退役的赛马肉冒充牛肉,多家企业召回数以百万计“牛肉”汉堡。该食品安全事件引发了公众对食品安全的担忧以及各国政府的关注。对国内加工食品而言,掺假问题一直是消费者投诉的焦点和社会关注的热点。随着肉类价格差异逐步拉大,掺假肉冒充高价肉的现象越来越常见。因此,开发和应用准确、灵敏、快速的检测方法,为食品质量把关,为打击肉类掺假的违法行为提供技术支撑具有重要的意义。为此,本文对分子生物学技术在肉及肉制品真伪鉴别中的应用和研究进展进行了综述。

2 基于DNA的分子生物学检测技术

DNA是生命体最核心的遗传信息载体和储存单元,大量存在于细胞核、线粒体和叶绿体等细胞器中。由于遗传信息直接决定生物的本质,因此通过DNA来鉴别生物物种是最具权威和科学性的方法。DNA由于具有编码区和非编码区,比蛋白质具有更多的遗传信息。由于DNA技术针对特定物种或组织基因序列中的特异性片段在碱基水平进行区分而获得比其他方法更高的分辨率。此外,DNA技术还具有较高的特异性和灵敏度,对于亲缘关系较近的物种具有较高的分辨能力。然而,基于DNA的技术也有其不足之处。尤其对于经过加工的肉制品来说,加工过程可能破坏细胞结构而释放大量的水解酶对DNA造成破坏。此外,热处理和酸性环境也会影响DNA的完整性,增加非特异性扩增的可能。DNA技术可能遇到的另一个瓶颈是基质效应。对于某些成分复杂的肉制品,DNA提取过程中可能会残留一些对PCR具有抑制效应的杂质从而影响后续的扩增。因此,应根据基质的特性对DNA提取方法进行优化,在保证得到足够量DNA的同时尽可能去除或抑制可能对PCR反应产生抑制作用的杂质。

线粒体DNA在细胞中含量丰富,进化速度快,用作遗传分析灵敏度高。此外,其具有较高的种间多样性和较低的种内变异,已被广泛应用于饲料、食物、食品和中药材的动物物种鉴定以及野生动物的司法鉴定上。常用的线粒体靶基因有细胞色素b(cyt b)基因^[1-3]、12S和16S核糖体RNA亚基^[4-6]、D-loop区^[7,8]。此外,常用的基因还有ATP酶亚基6(ATPase subunit 6)^[9]以及ATP酶亚基8(ATPase subunit 8)^[10]等。

2.1 普通PCR技术

作为近年来最具活力的食品真伪鉴别技术之一,PCR方法在肉及肉制品真伪鉴别领域已被广泛建立和使用。该方法以定性或半定量检测为主,不适用于含量的测定

^[11-13]。有报道,针对ZFX和ZFY基因设计引物,使用普通PCR方法可鉴别牛^[14-16]、绵羊^[14]、山羊^[14]、猪^[17]的性别。此外,利用Y染色体SRY基因可成功确定水牛的性别^[18]。

PCR技术除了可用于动物性别决定,在肉类成分鉴别方面也有广泛报道。肉类制品在加工过程中可能会经过高温高压处理,直接影响样本中核酸的完整性,增加了检测的难度。有文献报道,使用普通PCR方法对经过热处理的各类肉制品中动物源性成分进行检测,均能在较高的灵敏度下得到理想结果^[19-23]。

Kesmen等^[24]通过向牛、羊肉馅中添加0%、0.1%、0.5%、1.0%以及5.0%的马肉、驴肉和猪肉,用物种特异性PCR检测加工过的香肠中少量的猪、马、驴成分。该方法的灵敏度可达到0.1%。Martin等^[25]针对12S rRNA线粒体基因分别设计引物,通过PCR方法可对饲料中鸡、火鸡、鸭和鹅成分进行区分,扩增后分别得到长度为95、122、64以及98 bp的产物。通过对13种哺乳动物、12种鱼类以及4种鸟类样本进行特异性分析,并在高温处理后的样本进行测试,仍可以得到理想结果。该方法的检测限为0.1%。此外,有研究利用12S rRNA线粒体基因设计引物可对食品及饲料中的猫、狗、大鼠以及小鼠成分进行定性检测,灵敏度可达0.1%^[26]。Di Pinto等^[2]通过细胞色素b基因对马肉香肠中的猪成分进行二重PCR检测,可同时得到439 bp和398 bp的2个扩增产物。该方法成功地从30个马肉香肠样本中检测出6个样本中的猪成分。

最近有报道Karabasanavar等^[27]针对猪线粒体D-loop区设计了一种高特异性引物,经扩增可得到长712 bp的特异性扩增产物。该方法特异性良好,和24种常见动物均无交叉反应,灵敏度达到0.1%。经(60~121)℃高温高压以及微波处理测试,均能稳定检出猪成分。

2.2 实时定量PCR技术

随着1996年实时定量PCR技术的推出,PCR实现了从定性到定量的飞跃。该技术主要原理是在反应体系加入荧光基团,利用荧光信号积累监测整个PCR反应的进程,最后通过标准曲线对未知模板进行定量。根据荧光标记方式的不同,实时定量PCR可分为探针类和非探针类。探针类是利用与靶序列特异杂交的探针来指示产物的增加。探针类染料的信号产生是基于荧光共振能量迁移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)原理,即当一个荧光分子(供体分子)的荧光光谱与另一个荧光分子(受体分子)的激发光谱相重叠时,供体荧光分子自身的荧光强度衰减,受体荧光分子的荧光强度增强(如TaqMan探针法)。而非探针类则利用荧光染料或特殊设计的引物来指示产物的增加(如SYBR GREEN法)。目前,我国已颁布的基于实时定量PCR技术的动物源性成分鉴别国家标准和行业标准越来越多,同时国际上实时定量PCR方法也已经成为大部分检测实验室的常规检测方法被广泛使用^[28-31]。

Rodriguez 等^[32]通过对 12S 核糖体 RNA 基因设计引物和探针, 可对牛肉中的猪肉成分进行定量测定。该研究对猪成分特异性扩增产物、内参照基因扩增产物以及猪成分参比对照品扩增产物循环数(Ct)进行比较进而得到混合样品中猪肉成分的百分比。该方法定量范围为 0.5%~5.0%, 检测限为 0.01 ng DNA, 相当于 0.1%猪 DNA。然而该方法扩增片段较长, 不利于检测经过热处理的样本。

MGB(minor groove binding)探针是一种新型 TaqMan 探针。其淬灭基团采用的是非荧光淬灭基团, 本身不产生荧光, 有利于降低本底信号强度。MGB 修饰基团可将 Tm 值提高 10 °C 左右, 因此可比普通 TaqMan 探针设计得更短, 大大降低合成成本。López-Andreo 等^[33]将 2 条 MGB 探针和 10 条引物混合, 通过 TaqMan 实时定量 PCR 可定量检测混合样本中牛、猪、羊、鸡、火鸡以及鸵鸟 DNA 成分。该方法可有效测定 2~4 种肉类制成的混合样本中低至 1% 的猪、鸡、火鸡成分以及 5% 的牛或羊成分。López-Andreo 等^[34]随后将单重及二重实时定量 PCR 方法与 SYBR Green I 溶解曲线分析相结合, 可对食品中牛、猪、马和大袋鼠成分进行鉴别和定量。该方法通过对不同溶解温度下伴随 SYBR Green I 荧光强度的降低而出现的 DNA 溶解曲线的峰形评价其特异性。该方法可鉴别牛/大袋鼠混合样本中低于 5% 的牛或大袋鼠成分、猪/马混合样本中低于 5% 的猪成分和 1% 的马成分以及猪/大袋鼠混合样本中低于 60% 猪成分和 1% 大袋鼠成分。

目前, 肉及肉制品成分鉴定常规技术仍依赖大型实时定量 PCR 仪, 而此类进口大型设备只有在一些规模较大的高级实验室中配备, 同时需要具有相关经验的专业人员进行操作。这就意味着目前的检测方法无法做到现场快速检测, 而一些初级实验室由于设备的限制也无法开展相关的检测工作。因此, 开发低成本、易操作、具有较高的灵敏度、准确度的适用于现场快速检测的方法及检测设备, 不仅能够解决核酸提取步骤繁琐、样品易交叉污染、依赖大型设备等问题, 而且可以建立和完善从高级实验室到现场快速检测的实验体系, 具有重要的实际意义。

2.3 分子指纹技术

分子指纹技术最早应用于遗传学研究, 其利用基因组多态性特征来区分相近的品种或品系, 并进行目标性状的基因定位。该技术建立在 DNA 序列的多态性基础上, 具有多态性高、稳定性高、变异类型丰富、没有组织或器官的特异性, 不受环境条件和个体发育阶段的影响等优点。常见的分子指纹技术包括限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)、单链构象多态性(single strand conformation polymorphism, SSCP)、随机扩增多态性(random amplified polymorphic DNA, RAPD)以及扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)等。

RFLP 分析的原理是 DNA 碱基置换正好发生在某种限制性内切酶识别位点上, 使酶切位点增加或者消失。利用这一酶切性质的改变, PCR 特异扩增包含碱基置换的这段 DNA 后经酶切, 再利用琼脂糖凝胶电泳分离酶切产物, 比较确定是否变异。此方法简便、快速、灵敏, 无需设计物种特异性引物, 使用通用引物即可, 较适合于单一成分的分析。Fajardo 等^[35]建立 PCR-RFLP 方法扩增线粒体 12S rRNA 基因一段长 712 bp 的片段后经 *MseI*、*MboII*、*BsII* 和 *ApoI* 酶切可对马鹿、中东黇鹿、狍、牛、绵羊和山羊进行鉴别。Murugaiah 等^[36]将 PCR-RFLP 技术和毛细管电泳技术结合扩增线粒体细胞色素 b 基因 359 bp 片段后经 *AluI*、*BsaII*、*RsaI*、*MseI* 和 *BstUI* 酶切鉴别牛肉、猪肉、水牛肉、鹌鹑肉、鸡肉、山羊肉、兔子肉以及清真食品成分鉴别。

RAPD 技术, 是由美国科学家 Williams 等和 Welsh 等 2 个研究小组在 PCR 技术的基础上发展起来的。它是一种用于检测基因组 DNA 多态性和基因组遗传标记的方法, 目前已被广泛应用于系统发育研究、动植物种类鉴定、基因图谱构建、种群的遗传分析、人类基因组研究等领域。RAPD 技术用随机排列碱基序列的寡核苷酸单链(一般为 10 个 bp)作为引物, 对基因组 DNA 进行单引物扩增, 通过电泳分离和显色得到片段大小不等的扩增产物。扩增产物片段的多态性反映了基因组 DNA 的多态性。该技术的优点是无需专门设计引物, 也无需预知被研究的生物基因组核苷酸信息。RAPD 反应易于程序化, 可以借助计算机进行系统分析。Rastogi 等^[37]建立了 RAPD-PCR 指纹技术, 根据条带数量、强度和分布筛选出最佳引物, 可对水牛、奶牛、山羊、猪、鸡等动物组织进行鉴别。

3 我国现行标准现状

目前我国已颁布基于普通 PCR 和实时定量 PCR 的动物源性成分检测方法国家标准及检验检疫行业标准涉及 22 种动物成分。普通 PCR 方法一般在引物扩增后加以限制性内切酶酶切或测序的步骤进行确认以提高检测结果的准确度。而实时定量 PCR 方法绝大多数是采用 TaqMan 探针的形式提高检测的特异性和灵敏度。需要注意的是, 由于 PCR 方法的高灵敏度, 采样、核酸提取过程中可能出现的器具、气溶胶污染等情况容易导致假阳性结果出现。一方面应保证采样、PCR 体系配制过程操作规范, 尽量避免污染情况的发生。另一方面在对结果进行分析时也应根据扩增条带、曲线的具体情况和操作者的经验进行分析、谨慎判定。目前所有的标准方法均为定性测定, 定量检测方法有待进一步研究和建立。

4 结 语

一直以来, 食品掺假由于其“欺骗”的属性被视为经济

问题而非食品安全问题,未能引起重视,其中肉及肉制品的掺假问题尤为严重。随着近年来生活水平的提高,一方面食品掺假花样百出、屡禁不止,食品安全事件层出不穷;另一方面,消费者的食品安全意识日渐增长,更加关心食品的质量、品质、营养性等方面。传统的依靠感官与经验的形态学鉴别手段已远不能满足肉及肉制品掺假问题控制与监管的需要。

分子生物学技术特别是近年发展起来的PCR、实时定量PCR技术的高灵敏度、高特异性的特点使其成为最为可靠的方法之一,也是目前国际、国内对物种进行判定的指定官方方法之一。芯片技术、多重PCR技术等可提高检测通量的新型技术近年来也有了长足的发展,将成为未来的研究热点。此外,标准样品是控制分析测试质量的有力工具,是验证、评价、鉴定新技术和新方法的重要手段。研究动物源性成分鉴定标准样品的关键制备技术和稳定保存技术,积极开展我国动物源性成分鉴定标准样品的研制可有助于解决动物源成分定量检测的瓶颈,促进检测方法的标准化。值得注意的是,肉及肉制品成分鉴定目前仍依赖大型仪器和进口试剂,当食品安全事件发生时,往往需要将样品送到具备检测能力的实验室花费数天时间进行检测,为食品安全现场监管和迅速响应带来了困难。因此,开发低成本、易操作、具有较高的灵敏度、准确度的现场快速检测的方法及检测设备用于样品初筛,不仅能够降低成本、解决依赖大型设备等问题,而且可以满足肉及肉制品掺假问题控制与监管的需要,具有重要意义。

参考文献

- [1] Pascoal A, Prado M, Calo P, *et al.* Detection of bovine DNA in raw and heat-processed foodstuffs, commercial foods and specific risk materials by a novel specific polymerase chain reaction method [J]. *Eur Food Res Tech*, 2005, 220: 444–450.
- [2] Di Pinto A, Forte VT, Conversano MC, *et al.* Duplex polymerase chain reaction for detection of pork meat in horse meat fresh sausages from Italian retail sources [J]. *Food Contr*, 2005, 16: 391–394.
- [3] Soares S, Amaral JS, Mafra I, *et al.* Quantitative detection of poultry meat adulteration with pork by a duplex PCR assay [J]. *Meat Sci*, 2010, 85(3): 531–536.
- [4] Martín I, García T, Fajardo V, *et al.* Mitochondrial markers for the detection of four duck species and the specific identification of Muscovy duck in meat mixtures using the polymerase chain reaction [J]. *Meat Sci*, 2007, 76: 721–729.
- [5] Mininni AN, Pellizzari C, Cardazzo B, *et al.* Evaluation of real-time PCR assays for detection and quantification of fraudulent addition of bovine milk to caprine and ovine milk for cheese manufacture [J]. *Int Dairy J*, 2009, 19(10): 617–623.
- [6] Fajardo V, González I, López-Calleja I, *et al.* Identification of meats from red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*), and roe deer (*Capreolus capreolus*) using polymerase chain reaction targeting specific sequences from the mitochondrial 12S rRNA gene [J]. *Meat Sci*, 2007, 76: 234–240.
- [7] Fajardo V, González I, López-Calleja I, *et al.* PCR identification of meats from chamois (*Rupicapra rupicapra*), pyrenean ibex (*Capra pyrenaica*), and mouflon (*Ovis ammon*) targeting specific sequences from the mitochondrial D-loop region [J]. *Meat Sci*, 2007, 76: 644–652.
- [8] Mane BG, Mendiratta SK, Tiwari AK. Polymerase chain reaction assay for Identification of chicken in meat and meat products [J]. *Food Chem*, 2009, 116: 806–810.
- [9] Safdar M, Junejo Y, Arman K, *et al.* A highly sensitive and specific tetraplex PCR assay for soybean, poultry, horse and pork species identification in sausages: Development and validation [J]. *Meat Sci*, 2014, 98(2): 296–300.
- [10] 孙艳华, 张智禹, 牛晋阳, 等. PCR 法快速检测熟肉制品中肉类来源 [J]. *食品研究与开发*, 2010, 31(5): 139–142.
Sun YH, Zhang ZY, Niu JY, *et al.* Rapid detecting meat source in cooked meat by PCR method [J]. *Food Res Deve*, 2010, 31(5): 139–142.
- [11] Fei S, Okayama T, Yamanoue M, *et al.* Species identification of meats and meat products by PCR [J]. *Animal Sci Tech*, 1996, 67: 900–905.
- [12] Ballin NZ, Vogensen FK, Karlsson AH. Species determination – Can we detect and quantify meat adulteration [J]. *Meat Sci*, 2009, 83: 165–174.
- [13] Montowska M, Pospiech E. Authenticity Determination of meat and meat products on the protein and DNA basis [J]. *Food Rev Int*, 2011, 27: 84–100.
- [14] Aasen E, Medrano JF. Amplification of the Zfy and Zfx genes for sex identification in humans, cattle, sheep and goats [J]. *Nat Biotech*, 1990, 8(12): 1279–1281.
- [15] Kirkpatrick BW, Monson RL. Sensitive sex determination assay applicable to bovine embryos derived from IVM and IVF [J]. *J Repro Fert*, 1993, 98(2), 335–340.
- [16] Zinovieva N, Palma G, Müller M, *et al.* A rapid sex determination test for bovine blastomeres using allele-specific PCR primers and capillary PCR [J]. *Theriogenology*, 1995, 43(1): 365–365.
- [17] Lockley AK, Bruce JS, Franklin SJ, *et al.* Simultaneous detection of a sex-specific sequence and the Ryr1 point mutation in porcine genomic DNA [J]. *Meat Sci*, 1997, 45(4): 485–490.
- [18] Fu Q, Zhang M, Qin WS, *et al.* Cloning the swamp buffalo SRY gene for embryo sexing with multiplex-nested PCR [J]. *Theriogenology*, 2007, 68(9): 1211–1218.
- [19] Hird H, Goodier R, Hill M. Rapid detection of chicken and turkey in heated meat products using the polymerase chain reaction followed by amplicon visualisation with *vistra green* [J]. *Meat Sci*, 2003, 65: 1117–1123.
- [20] Matsunaga T, Chikuni K, Tanabe R, *et al.* A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay [J]. *Meat Sci*, 1999, 51: 143–148.
- [21] Pascoal A, Prado M, Calo P, *et al.* Detection of bovine DNA in raw and heat-processed foodstuffs, commercial foods and specific risk materials by a novel specific polymerase chain reaction method [J]. *Eur Food Res Tech*, 2005, 220: 444–450.
- [22] Ilhak I, Arslan A. Identification of Meat Species by Polymerase Chain Reaction (PCR) Technique [J]. *Tur J Vet Anim Sci*, 2007, 31: 159–163.
- [23] Mane BG, Mendiratta SK, Tiwari AK. Polymerase chain reaction assay for identification of chicken in meat and meat products [J]. *Food Chem*, 2009,

- 116: 806–810.
- [24] Kesmen Z, Sahin F, Yetim H. PCR assay for the identification of animal species in cooked sausages [J]. *Meat Sci*, 2007, 77: 649–653.
- [25] Martín I, García T, Fajardo V, *et al.* Technical note: detection of chicken, turkey, duck, and goose tissues in feedstuffs using species-specific polymerase chain reaction [J]. *J Anim Sci*, 2007, 85: 452–458.
- [26] Martín I, García T, Fajardo V, *et al.* Technical note: detection of cat, dog, and rat or mouse tissues in food and animal feed using species-specific polymerase chain reaction [J]. *J Anim Sci*, 85: 2734–2739.
- [27] Karabasanavar NS, Singh SP, Kumar D, *et al.* Detection of pork adulteration by highly-specific PCR assay of mitochondrial D-loop [J]. *Food Chem*, 2014, 145: 530–534.
- [28] Dooley JJ, Paine KE, Garrett SD, *et al.* Detection of meat species using TaqMan real-time PCR assays [J]. *Meat Sci*, 2004, 68: 431–438.
- [29] Chisholm J, Conyers C, Booth C, *et al.* The detection of horse and donkey using real-time PCR [J]. *Meat Sci*, 2005, 70: 727–732.
- [30] Sawyer J, Wood C, Shanahan D, *et al.* Real-time PCR for quantitative meat species testing [J]. *Food Cont*, 2003, 14: 579–583.
- [31] López-Andreo M, Garrodo-Pertierra A, Puyet A. Evaluation of post-polymerase chain reaction melting temperature analysis for meat species identification in mixed DNA samples [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54: 7973–7978.
- [32] Rodríguez MA, García T, González I, *et al.* TaqMan realtime PCR for the detection and quantitation of pork in meat mixtures [J]. *Meat Sci*, 2007, 70: 113–120.
- [33] López-Andreo M, Lugo L, Garrido-Pertierra A, *et al.* Identification and quantitation of species in complex DNA mixtures by real-time polymerase chain reaction [J]. *Anal Biochem*, 2005, 339: 73–82.
- [34] López-Andreo M, Garrodo-Pertierra A, Puyet A. Evaluation of post-polymerase chain reaction melting temperature analysis for meat species identification in mixed DNA samples [J]. *J Agr Food Chem*, 2006, 54: 7973–7978.
- [35] Fajardo V, González I, Martín I, *et al.* Real-time PCR for detection and quantification of red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*), and roe deer (*Capreolus capreolus*) in meat mixtures [J]. *Meat Sci*, 2008, 79: 289–298.
- [36] Murugaiah C, Noor ZM, Mastakim M, *et al.* Meat species identification and Halal authentication analysis using mitochondrial DNA [J]. *Meat Sci*, 2009, 83: 57–61.
- [37] Rastogi G, Dharne MS, Walujkar S, *et al.* Species identification and authentication of tissues of animal origin using mitochondrial and nuclear markers [J]. *Meat Sci*, 2007, 76: 666–674.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



李宗梦, 博士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: lizm@tjciq.gov.cn