DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250830001
引用格式: 汤一超, 段吴燕, 孙思扬, 等. 膜法改进十六烷基三甲基溴化铵法结合实时荧光聚合酶链式反应检测高色素食品 DNA[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(1): 206–217.
TANG YC, DUAN WY, SUN SY, *et al*. Detection of DNA in highly pigmented foods by membrane-based improved cetyltrimethylammonium bromide combined with real-time fluorescence polymerase chain reaction [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(1): 206–217. (in Chinese with English abstract).

膜法改进十六烷基三甲基溴化铵法结合实时荧光聚合酶链式反应检测高色素食品 DNA

汤一超[1], 段吴燕[2], 孙思扬[2], 马驰远[2*], 夏　彪[2], 董永全[1]

(1. 南昌航空大学环境与化学工程学院, 南昌　330063;
2. 南昌海关技术中心/国家茶油检测重点实验室, 南昌　330038)

摘　要: 目的　建立膜法改进十六烷基三甲基溴化铵(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)法结合实时荧光聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测高色素食品 DNA 的方法。**方法**　以黑芝麻、茶籽粕和菜籽粕为样本, 采用 0.7 μm 玻璃纤维膜结合 70%乙醇淋洗液及三羟甲基氨基甲烷-乙二胺四乙酸[tris(hydroxymethyl)aminomethane ethylenediaminetetraacetic acid, TE]缓冲液洗脱 3 次的优化方案。通过滤膜特异性吸附和选择透过性去除色素, 对比传统 CTAB 法与膜法改进 CTAB 法的提取效果。利用实时荧光 PCR 技术检测内源基因, 评估 DNA 纯度和扩增效率。**结果**　改进方法获得的 DNA 脱色效果显著优于传统 CTAB 法, 3 种样本均成功检测到内源基因, DNA 质量浓度均在 100 ng/μL 以上, 循环阈值(cycle threshold, Ct)在 20~25 之间, 而传统 CTAB 法因色素残留导致实时荧光 PCR 扩增失败。**结论**　膜法改进 CTAB 法通过简化纯化步骤、提升脱色效率, 显著提高了高色素食品的 DNA 提取及检测成功率, 为食品安全检测提供了高效可靠的技术支持。

关键词: 玻璃纤维膜; 核酸纯化; 脱色; 实时荧光聚合酶链式反应; 高色素食品

Detection of DNA in highly pigmented foods by membrane-based improved cetyltrimethylammonium bromide combined with real-time fluorescence polymerase chain reaction

TANG Yi-Chao[1], DUAN Wu-Yan[2], SUN Si-Yang[2], MA Chi-Yuan[2*],
XIA Biao[2], DONG Yong-Quan[1]

(1. *School of Environmental and Chemistry Engineering*, *Nanchang Hangkong University*, *Nanchang* 330063, *China*;
2. *Nanchang Customs Technical Center*/*National Key Laboratory of Tea Oil Testing*, *Nanchang* 330038, *China*)

ABSTRACT: Objective　To establish a method for detecting DNA in highly pigmented food samples by

收稿日期: 2025-08-30
基金项目: 海关总署科研项目(2024HK015)
第一作者: 汤一超(2002—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为膜材料制备及应用。E-mail: 2046761086@qq.com
***通信作者:** 马驰远(1989—), 男, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测研究和膜材料制备及应用。E-mail: qfzrdr@163.com

membrane-based improved cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) combined with real-time fluorescence polymerase chain reaction (PCR). **Methods** Black sesame, tea seed meal and rapeseed meal were selected as samples. The optimized protocol employed 0.7 μm glass fiber membrane with 70% ethanol as the rinsing solution and 3 rounds of tris(hydroxymethyl)aminomethane ethylenediaminetetraacetic acid (TE) buffer elution. Pigment removal was achieved through membrane-specific adsorption and selective permeability. The extraction efficiency of the modified CTAB method was compared with that of the traditional CTAB method, and DNA purity and amplification efficiency were evaluated via real-time fluorescence PCR targeting endogenous genes. **Results** The modified method demonstrated significantly superior DNA decolorization effects compared to the traditional CTAB method. Endogenous genes were successfully detected in all 3 kinds of samples, with DNA mass concentrations exceeding 100 ng/μL and cycle threshold (Ct) values ranging between 20 and 25. In contrast, the traditional CTAB method failed to achieve real-time fluorescence PCR amplification due to pigment residue. **Conclusion** The membrane-optimized CTAB method simplifies purification steps, enhances decolorization efficiency, and significantly improves the extraction and detection success rate of DNA from highly pigmented foods. This approach provides a reliable and efficient technical solution for food safety testing.

KEY WORDS: glass fiber membrane; nucleic acid purification; decolorization; real-time fluorescence polymerase chain reaction; highly pigmented foods

0　引　言

黑芝麻[1]、茶籽和菜籽[2]是我国常见食品的加工原料, 它们不仅富含油脂和蛋白质, 还含有大量花青素、类胡萝卜素和叶绿素等天然色素。作为重要的食品加工原料, 其成分检测不仅是保障食品安全的基础环节, 还可以整治以次充好的不良行为并规范市场。然而, 这类高色素食品中含有的色素易对其检测造成干扰, 因此针对高色素食品的掺假风险亟待能去除色素干扰的更精准的检测技术支撑。

基于 DNA 分子的实时荧光聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测技术[3]因其高灵敏度和可靠性[4], 已成为植物检疫[5–6]和食品安全检测[7–8]的核心手段, 该技术是通过提取目标样品中的核酸并对核酸片段进行扩增来达到检测目的[9–10], 因此核酸的质量是后续扩增实验的关键因素[11]。传统十六烷基三甲基溴化铵(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)法[12–13]作为植物核酸提取的通用方法虽然技术成熟、样本适用性广[14–15], 但流程烦琐耗时, 难以满足高通量检测需求, 在处理高色素植物食品时也面临色素去除不彻底、醇沉淀步骤难以有效分离色素-DNA 复合物的问题[16]。黑芝麻、茶籽和菜籽中的花青素等含酚羟基结构[17], 易与水生栖热菌(thermus aquaticus, Taq) DNA 聚合酶结合; 叶绿素等的自身荧光与常用荧光染料的光谱重叠易产生荧光干扰[18], 导致实时荧光 PCR 扩增失败或信号淬灭。因此能否去除色素分子在实时荧光 PCR 检测过程中造成的干扰是检测高色素食品安全的重要因素。

根据高色素食品的特点, 本研究提出基于玻璃纤维膜的 CTAB 改进法, 其创新性体现在用膜吸附技术替代醇沉淀, 实现 DNA 富集以及色素杂质的高效分离。玻璃纤维膜是一种以玻璃为原料, 通过高温熔融、拉丝工艺形成薄膜结构产品[19], 表面富含羟基(-OH)等亲水基团[20]。玻璃纤维膜在水溶液中能将带负电的 DNA 分子以静电吸引吸附在滤膜表面[21], 而溶液中的其他杂质则被滤膜过滤掉, 最终实现 DNA 高效提取、分离、纯化[22]。除此之外, 利用膜的选择透过性和静电吸附性能[23], 玻璃纤维膜能截留溶液中分子量较大或带负电的色素分子[24], 还可以起到脱色的效果, 为后续实时荧光 PCR 检测去除干扰。

因此, 本研究基于核酸水平的分子生物学检测技术, 选用黑芝麻糖、茶籽粕和菜籽粕 3 种高色素食品进行研究, 其中茶籽粕与菜籽粕分别为茶籽与菜籽炒制榨油后的产品, 具有一定的可食用性。使用玻璃纤维膜对 3 种食品进行 DNA 提取、纯化, 然后用实时荧光 PCR 技术测定其内源基因, 并与 CTAB 法进行对比, 以评估玻璃纤维膜提取、纯化 DNA 的可行性, 同时该方法可以解决高色素食品 DNA 提取中色素干扰的难题, 为食品安全性鉴定提供方法学参考。

1　材料与方法

1.1　试剂与材料

CTAB 裂解缓冲液(中科瑞泰生物科技有限公司); 焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)水、三羟甲基氨基甲烷-乙二胺四乙酸[tris(hydroxymethyl)aminomethane ethylenediaminetetraacetic acid, TE]缓冲液、蛋白酶 K 溶液[生工生物工程(上海)股份有限公司]; 酚:氯仿:异戊醇

(25:24:1, *V*:*V*:*V*, 上海吉至生化科技有限公司); 氯化钠(NaCl, 58.44 g/mol, 西陇科学股份有限公司); 异丙醇(分析纯, 大茂化学试剂有限公司); 无水乙醇(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 核糖核酸酶 A (ribonuclease A, RNase A)溶液、引物、探针、Premix Ex Taq (Probe qPCR) (2×) (TaKaRa 公司); 玻璃纤维膜(0.7 μm、1.2 μm, 迈博瑞生物膜技术有限公司); 聚四氟乙烯膜、聚醚砜膜(0.22 μm, 上海安谱实验科技股份有限公司)。

黑芝麻糖、茶籽粕和菜籽粕 3 种高色素食品均来源于市场抽检样品。

1.2 仪器与设备

Ecotron 台式振荡培养箱(瑞士 INFORS 公司); UNIVERSAL 320R 台式冷冻离心机(德国 Hettich 公司); 5417R 冷冻离心机、ThermoStat plus 金属浴锅(德国 Eppendorf 公司); NANODROP 1000 核酸蛋白测定仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); CFX96 实时荧光 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 膜法改进 CTAB 法提取 DNA 的处理步骤

(1)称取 1.0 g 高色素食品样品加入 10 mL 裂解液, 振荡混匀后放入振荡培养箱中 65 ℃加热 2 h; 加热后的溶液以 9000 r/min 离心 5 min, 取上层清液 1 mL 转移至新的 2 mL 离心管中。

(2)加入蛋白酶 K 溶液 7 μL、RNase A 溶液 3 μL、2 mol/L NaCl 溶液 1 mL, 振荡混匀后放入金属浴中 56 ℃加热 1.5 h, 再以 12000 r/min 离心 5 min。

(3)取适量上层清液分装至两个 2 mL 离心管中, 分别加入等体积的酚:氯仿:异戊醇, 振荡混匀后以 12000 r/min 离心 5 min; 再取适量上层清液于新的 2 mL 离心管中并加入等体积的酚:氯仿:异戊醇重复上述操作。

(4)取上层清液用提前被 DEPC 水活化过的玻璃纤维膜滤器分离、富集上述清液; 使用淋洗液 2 mL 洗涤玻璃纤维膜。

(5)使用 56 ℃预热的 TE 缓冲液冲洗玻璃纤维膜, 收集冲洗溶液。样品 DNA 提取液放 4 ℃保存。

1.3.2 膜法改进 CTAB 法的步骤优化

(1)滤膜材料的选择

本研究根据不同滤膜的特点选择了玻璃纤维膜、聚四氟乙烯膜、聚醚砜膜按照同样的实验步骤提取黑芝麻糖、菜籽粕和菜籽粕 DNA, 确认提取 DNA 的最佳滤膜类型。

(2)玻璃纤维膜规格的选择

本研究选择纤维直径 1.2 μm、0.7 μm 的玻璃纤维膜按照同样的实验步骤进行对比实验, 按照同样的实验步骤提取黑芝麻糖、菜籽粕和菜籽粕 DNA, 确认提取 DNA 的最佳玻璃纤维膜的规格。

(3)滤膜淋洗液的选择

常用的淋洗液如乙醇或高浓度 NaCl 溶液, 能够有效洗去大部分杂质, 但对 DNA 的洗脱能力较弱, 适合用于纯化 DNA。本研究选择 70%乙醇与 2 mol/L NaCl 为淋洗液探讨淋洗效果最好、不易破坏膜材料的淋洗液选择。

(4) TE 缓冲液洗脱次数的优化

TE 缓冲液由三羟甲基氨基甲烷[tris(hydroxymethyl)aminomethane, Tris]和乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)配制而成, 它可以为核酸分子提供适宜的离子环境与 pH 条件, 促进 DNA 分子溶解于溶液中, 同时 TE 缓冲液是弱碱性, 对 DNA 的碱基有保护性。因此本研究选择 TE 缓冲液作为对滤膜的洗脱液, 能实现对 DNA 的高效提取、分离、纯化同时又能保持 DNA 分子结构的稳定性。在相同的其他实验条件下, 设置 TE 缓冲液对滤膜洗脱 2、3、4 次, 确认提取 DNA 的 TE 缓冲液最优洗脱次数。

1.3.3 膜法改进 CTAB 法与 CTAB 法实验步骤的对比

膜法改进 CTAB 法是在 CTAB 法的基础上对其进行实验步骤的改良, 使其在处理高色素食品时能更有效地去除色素对下游实验的干扰。膜法改进 CTAB 法与 CTAB 法的差异点见表 1。

表 1 膜法改进 CTAB 法与 CTAB 法实验步骤的对比

Table 1 Comparison of experimental procedures between membrane-based improved CTAB method and CTAB method

步骤	膜法改进 CTAB 法	CTAB 法
样品裂解	加入蛋白酶 K 溶液、RNase A 溶液、2 mol/L NaCl 溶液 56 ℃加热 1.5 h	加入蛋白酶 K 溶液、RNase A 溶液 37 ℃加热 1.5 h
DNA 富集	滤膜吸附富集	异丙醇低温沉淀 2 h
DNA 纯化	淋洗液洗涤滤膜	70%乙醇洗涤沉淀
DNA 溶解	使用 TE 缓冲液冲洗膜收集洗脱液	干燥乙醇后使用 100 μL TE 缓冲液溶解 DNA 沉淀
差异点	(1)使用 NaCl 促进 DNA 与滤膜结合; (2)膜过滤替代醇沉淀; (3)避免低温处理, 操作更温和	(1)传统醇沉淀法; (2)需要冷冻和干燥步骤; (3)实验所需时间更长

1.3.4　提取 DNA 的浓度及纯度检测

使用核酸蛋白测定仪检测样品 DNA 的质量, 通过测定 230、260 和 280 nm 波长处的吸收值计算 DNA 浓度与纯度。

1.3.5　实时荧光 PCR 体系建立

使用实时荧光 PCR 技术对样品 DNA 提取液进行检测。将提取得到的 DNA 作为模板, 使用芝麻 *2S albumin mRNA* 基因、茶籽 *1214* 基因和菜籽 *PEP* 基因设计引物与探针, 实时荧光 PCR 扩增反应程序为 95 ℃, 30 s, 循环程序为 95 ℃, 10 s; 60 ℃, 60 s, 共 40 个循环, 每个样品做 6 组平行实验。引物与探针序列见表 2。

反应体系总体积为 25 μL, 其中 Premix Ex Taq (Probe qPCR) (2×) 12.5 μL, 芝麻源性成分上下游引物(10 μmol/L) 1.0 μL, 芝麻源性成分探针(10 μmol/L) 1.0 μL; 茶籽源性成分上下游引物(10 μmol/L) 0.5 μL, 茶籽源性成分探针(10 μmol/L) 1.0 μL; 菜籽源性成分上下游引物(10 μmol/L) 1.0 μL, 茶籽源性成分探针(10 μmol/L) 0.5 μL, DNA 模板 5.0 μL, 用 DEPC 水补充至总体积 25 μL。

表 2　实时荧光 PCR 内源基因引物及探针设计

Table 2　Design of primers and probes for endogenous genes for real-time fluorescence PCR

源性成分	目标基因	引物及探针序列
芝麻	*2S albumin mRNA*	正向引物: 5'-CCAGAGGGCTAGGGACCTTC-3' 反向引物: 5'-CTCGGAATTGGCATTGCTG-3' 探针: 5'-FAM-TCGCAGGTGCAACATGCGACC-TAMRA-3'
茶籽[25]	*1214*	正向引物: 5'-GAGGAAACAGCAGCGGCAAA-3' 反向引物: 5'-GGTCGCAGCATTCGTCAAGG-3' 探针: 5'-FAM-TCGCTGTGCCTGCTGCGCCATGT-TAMRA-3'
菜籽	*PEP*	正向引物: 5'-CCCTTGTGAAGCTCGACATC-3' 反向引物: 5'-CTTGTCCTCTGACCATTCTTTGT-3' 探针: 5'-FAM-CCGACCGTCACACCGATGTTTTAGA-BHQ1-3'

注: 芝麻 *2S albumin mRNA* 基因序列来源于 SN/T 1961.12—2013《出口食品过敏原成分检测 第 12 部分: 实时荧光 PCR 方法检测芝麻成分》; 菜籽 *PEP* 基因序列来源于 SN/T 1204—2003《植物及其加工产品中转基因成分实时荧光 PCR 定性检测方法》。

1.4　数据处理

采用 Origin 2024 软件对 CFX96 实时荧光 PCR 仪获得的实验数据进行数据分析并制作折线图, DNA 质量浓度与纯度数据使用 Excel Office 2019 版制表表示。

2　结果与分析

2.1　膜法改进 CTAB 法实验步骤的优化结果

2.1.1　滤膜材料的选择结果

滤膜的选择是核酸提取过程中关键的一环, 直接影响最终提取的 DNA 质量, 不同的滤膜对溶液中不同分子的吸附能力存在差异[26–27], 这与膜材料的表面特性以及孔径结构密切相关[28]。本研究根据不同滤膜的特点选择了玻璃纤维膜、聚四氟乙烯膜、聚醚砜膜提取黑芝麻糖、菜籽粕和菜籽粕 DNA, 使用核酸蛋白测定仪测定所得 DNA 提取液的浓度与纯度结果见表 3。

由表 3 可知, 在同样的实验条件下, 玻璃纤维膜提取的 3 种样品 DNA 浓度均为最高, 聚四氟乙烯膜提取的 DNA 浓度较低, 而聚醚砜膜提取的 DNA 溶液未检测出 DNA 浓度与纯度。表明聚醚砜膜对 DNA 分子没有吸附能力或吸附能力极低无法成功提取 DNA。3 种滤膜提取的 DNA A_{260}/A_{280} 与 A_{260}/A_{230} 的数值差距不大, 表明 3 种滤膜对蛋白质、盐类等杂质的吸附分离能力相差不大。使用实时荧光 PCR 仪对获得的 DNA 提取液进行实时荧光 PCR 扩增实验, 最终获得的实时荧光 PCR 扩增结果见图 1。

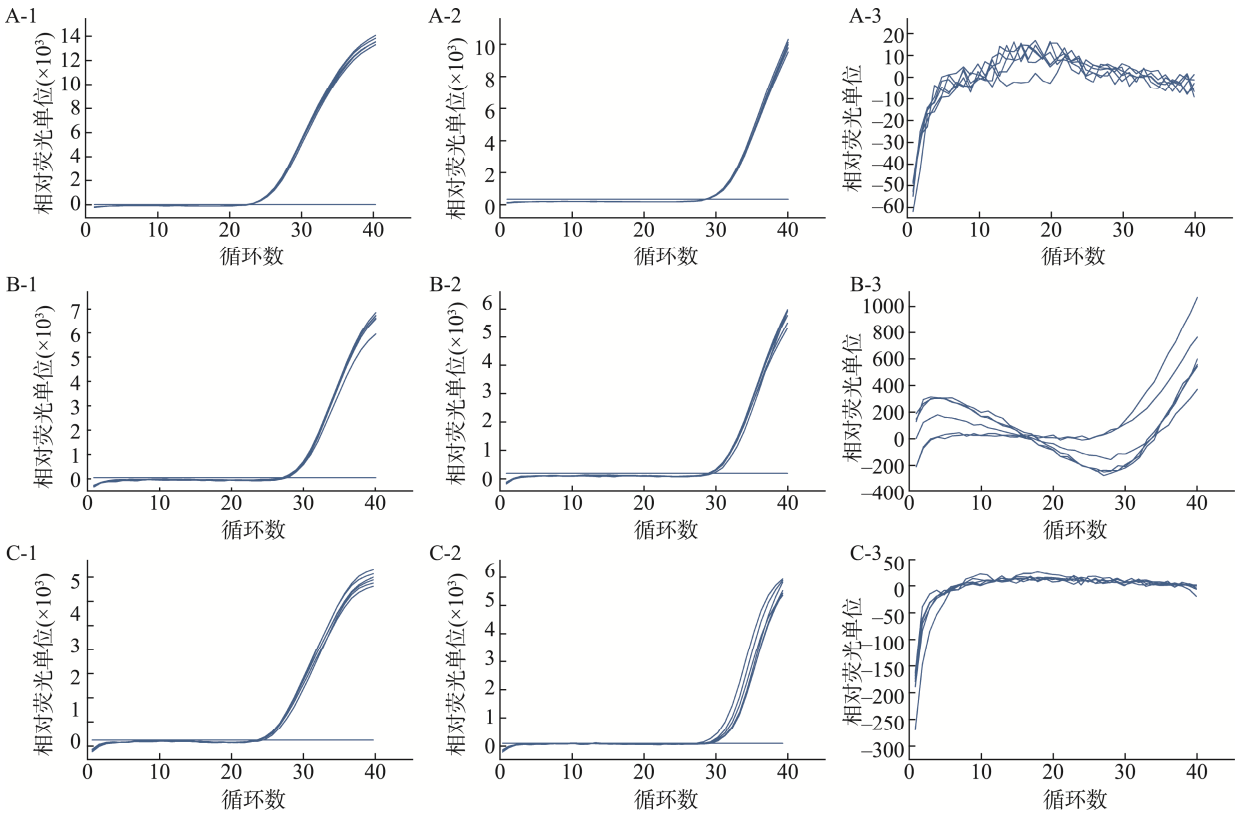
表 3　3 种滤膜提取的 DNA 浓度及纯度对比

Table 3　Comparison of DNA concentration and purity extracted using 3 kinds of filter membranes

样品	滤膜种类	DNA 质量浓度/(ng/μL)	A_{260}/A_{280}	A_{260}/A_{230}
黑芝麻糖	玻璃纤维膜	189.28	1.39	1.76
	聚四氟乙烯膜	81.14	1.34	1.78
	聚醚砜膜	N/A	N/A	N/A
茶籽粕	玻璃纤维膜	223.93	1.41	1.85
	聚四氟乙烯膜	72.36	1.26	1.77
	聚醚砜膜	N/A	N/A	N/A
菜籽粕	玻璃纤维膜	199.21	1.45	2.01
	聚四氟乙烯膜	73.05	1.39	2.10
	聚醚砜膜	N/A	N/A	N/A

注: N/A 为未检测到 DNA 浓度与纯度, 表 7 同。

由图 1 可知, 玻璃纤维膜与聚四氟乙烯膜提取的 3 种样品 DNA 的实时荧光 PCR 结果中均出现了扩增曲线, 聚醚砜膜提取的 DNA 样品则出现了杂乱的曲线, 表明聚醚砜膜无法成功提取 DNA 或去除杂质对实时荧光 PCR 的干扰。实时荧光 PCR 检测循环阈值(cycle threshold, Ct)及其平均值与标准偏差见表 4。



注: A. 黑芝麻糖; B. 茶籽粕; C. 菜籽粕, 图 2、4~7 同; 1. 玻璃纤维膜处理方法; 2. 聚四氟乙烯膜处理方法; 3. 聚醚砜膜处理方法。

图 1 3 种滤膜提取的 DNA 实时荧光 PCR 检测结果

Fig.1 Real-time fluorescent PCR detection results of DNA extracted from 3 kinds of filter membranes

表 4 3 种滤膜提取的 DNA 实时荧光 PCR 检测 Ct 值及其平均值与标准偏差

Table 4 Real-time fluorescent PCR detection Ct values and their mean values and standard deviations for DNA extracted using 3 kinds of filter membranes

样品	滤膜种类	Ct 值						
		1	2	3	4	5	6	平均值±标准偏差
黑芝麻糖	玻璃纤维膜	22.04	21.76	21.65	21.73	21.61	21.72	21.75±0.15
	聚四氟乙烯膜	26.85	26.41	26.54	25.99	26.47	26.41	26.44±0.27
	聚醚砜膜	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
茶籽粕	玻璃纤维膜	26.78	25.38	26.79	26.46	26.33	26.68	26.40±0.53
	聚四氟乙烯膜	29.79	29.84	29.70	29.68	30.26	29.61	29.81±0.83
	聚醚砜膜	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
菜籽粕	玻璃纤维膜	24.11	24.03	24.06	24.27	24.03	24.76	24.21±0.28
	聚四氟乙烯膜	29.67	27.85	28.73	29.56	28.56	28.71	28.84±0.67
	聚醚砜膜	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

注: N/A 为未成功扩增, 表 8、12 同。

虽然玻璃纤维膜与聚四氟乙烯膜均可以成功获得实时荧光 PCR 的扩增曲线, 但在提取过程中, 聚四氟乙烯膜是疏水膜, 富集 DNA 时滤膜压力过大, 出现膜破损现象, 导致膜净化效果不佳, 并对最终的结果造成影响。因此由表 3、4 以及图 1 结果最终确定提取 DNA 效果最优的滤膜为玻璃纤维膜。

2.1.2 玻璃纤维膜规格的选择结果

不同纤维直径的玻璃纤维膜在实际应用中对 DNA 的结合与洗脱会存在部分差异[29–30], 需要通过实验验证不同规格滤膜对目标 DNA 片段的截留能力和通透性。本研究对玻璃纤维膜的规格进行优化, 选择纤维直径 0.7 μm、1.2 μm 的玻璃纤维膜进行对比实验。所得 DNA 提取液的浓度与

纯度结果见表 5。

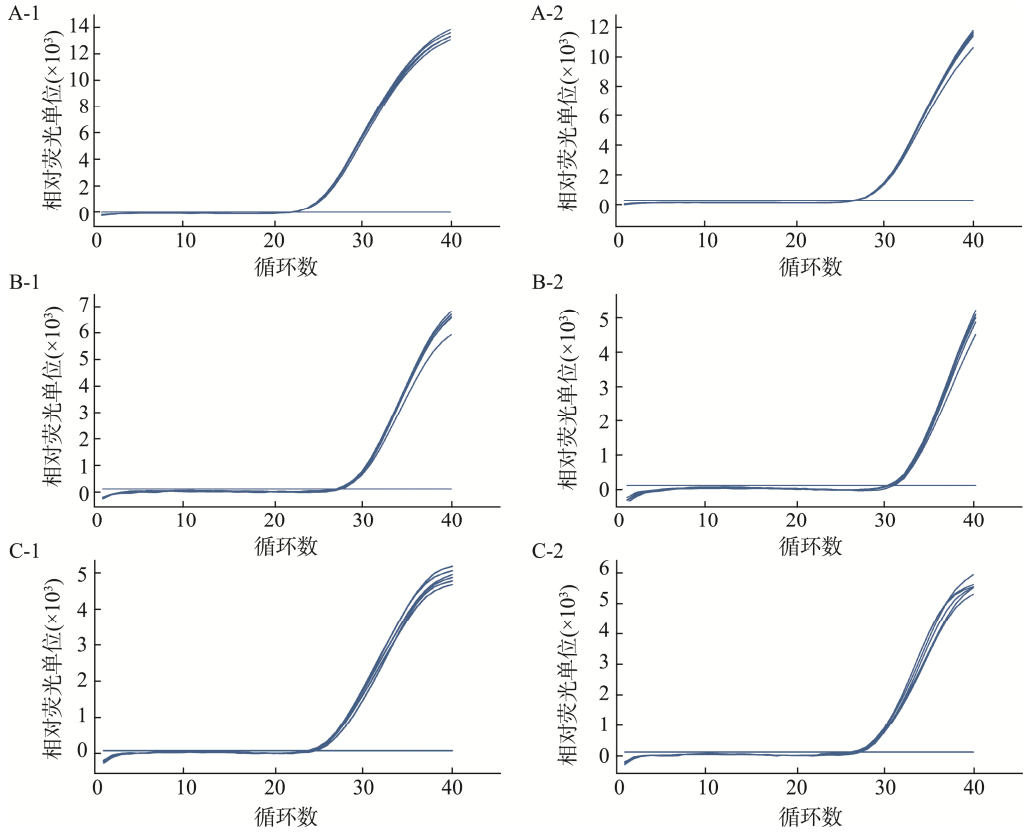
表 5　2 种规格的玻璃纤维膜提取的 DNA 浓度及纯度对比

Table 5　Comparison of DNA concentration and purity extracted from 2 kinds of glass fiber membranes

样品	实验方法	DNA 质量浓度/(ng/μL)	A_{260}/A_{280}	A_{260}/A_{230}
黑芝麻糖	0.7 μm 玻璃纤维膜	189.28	1.39	1.76
	1.2 μm 玻璃纤维膜	75.99	1.31	1.68
茶籽粕	0.7 μm 玻璃纤维膜	223.93	1.41	1.85
	1.2 μm 玻璃纤维膜	48.62	1.23	1.77
菜籽粕	0.7 μm 玻璃纤维膜	199.21	1.45	2.52
	1.2 μm 玻璃纤维膜	65.62	1.31	2.01

由表 5 可知, 在同样的实验条件下, 0.7 μm 纤维直径的玻璃纤维膜提取的 3 种样品 DNA 浓度均为最高, 而 1.2 μm 纤维直径的玻璃纤维膜提取的 DNA 浓度较低。0.7 μm 玻璃纤维膜提取的 DNA A_{260}/A_{280} 与 A_{260}/A_{230} 的数值更高, 表明其对蛋白质、盐类等杂质的吸附分离能力比 1.2 μm 玻璃纤维膜更好。使用实时荧光 PCR 仪对获得的 DNA 提取液进行实时荧光 PCR 扩增实验, 最终获得的实时荧光 PCR 扩增结果见图 2。

由图 2 可知, 两种玻璃纤维膜提取的 3 种样品 DNA 的实时荧光 PCR 结果中均出现了扩增曲线, 表明两种玻璃纤维膜均可以成功提取到进行实时荧光 PCR 扩增的 DNA 并去除杂质的干扰。实时荧光 PCR 检测 Ct 值及其平均值与标准偏差见表 6。



注: 1. 0.7 μm 玻璃纤维膜处理方法; 2. 1.2 μm 玻璃纤维膜处理方法。

图 2　2 种玻璃纤维膜提取的 DNA 实时荧光 PCR 检测结果

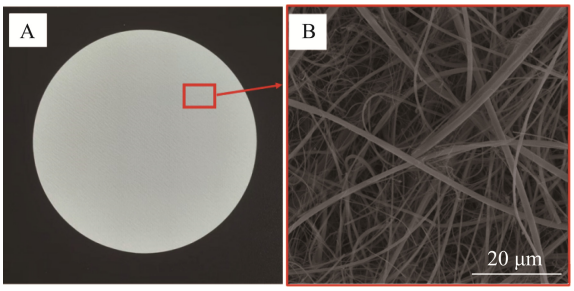
Fig.2　Real-time fluorescent PCR detection results of DNA extracted from 2 kinds of glass fiber membranes

表 6　2 种玻璃纤维膜提取的 DNA 实时荧光 PCR 检测 Ct 值及其平均值与标准偏差

Table 6　Real-time fluorescent PCR detection Ct values and their mean values and standard deviations of DNA extracted from 2 kinds of glass fiber membranes

样品	滤膜种类	Ct 值						
		1	2	3	4	5	6	平均值±标准偏差
黑芝麻糖	0.7 μm 玻璃纤维膜	22.04	21.76	21.65	21.73	21.61	21.72	21.75±0.15
	1.2 μm 玻璃纤维膜	26.36	26.24	26.32	26.17	26.23	26.17	26.24±0.08
茶籽粕	0.7 μm 玻璃纤维膜	26.78	25.38	26.79	26.46	26.33	26.68	26.40±0.53
	1.2 μm 玻璃纤维膜	30.72	30.35	30.13	30.19	30.23	30.01	30.27±0.24
菜籽粕	0.7 μm 玻璃纤维膜	24.11	24.03	24.06	24.27	24.03	24.76	24.21±0.28
	1.2 μm 玻璃纤维膜	26.79	26.32	26.83	26.80	27.35	26.68	26.79±0.33

由表 6 可知，虽然两种规格的玻璃纤维膜均成功提取到进行实时荧光 PCR 扩增的 DNA，但 1.2 μm 玻璃纤维膜提取的 DNA 样品实时荧光 PCR 扩增得到的 Ct 值均比 0.7 μm 玻璃纤维膜提取 DNA 样品 Ct 值高，表明 0.7 μm 玻璃纤维膜对 DNA 的吸附能力更强。在滤膜直径相同的条件下，0.7 μm 的玻璃纤维膜因其纤维直径更短，使其的接触面积更大，对 DNA 分子的吸附能力更强，提取的 DNA 质量更好。因此由表 5、6，图 2 结果最终确定提取 DNA 效果最好的滤膜为 0.7 μm 玻璃纤维膜。实验所用的玻璃纤维膜的成品及扫描电镜图如图 3 所示。



注：A. 玻璃纤维膜成品；B. 玻璃纤维膜扫描电镜图。

图 3 玻璃纤维膜成品及扫描电镜图

Fig.3 Finished fiberglass membrane and scanning electron microscope image

由图 3 可知，玻璃纤维膜中纤维呈无序、空间重叠排列，而色素是由共轭平面结构使 π 电子离域化，高效吸收特定波长光波，而产生颜色。深色植物中颜色越深说明共轭链越长，并且绝大部分色素呈平面结构。本研究的研究对象黑芝麻、茶籽粕和菜籽粕中含有的主要色素分别为花青素、类胡萝卜素和叶绿素等。其中花青素属平面型黄酮类化合物，叶绿素属卟啉环平面结构，而平面结构易与纤维紧密接触，增强范德华力与氢键结合，从而达到除色净化的目的。

2.1.3 滤膜淋洗液的选择结果

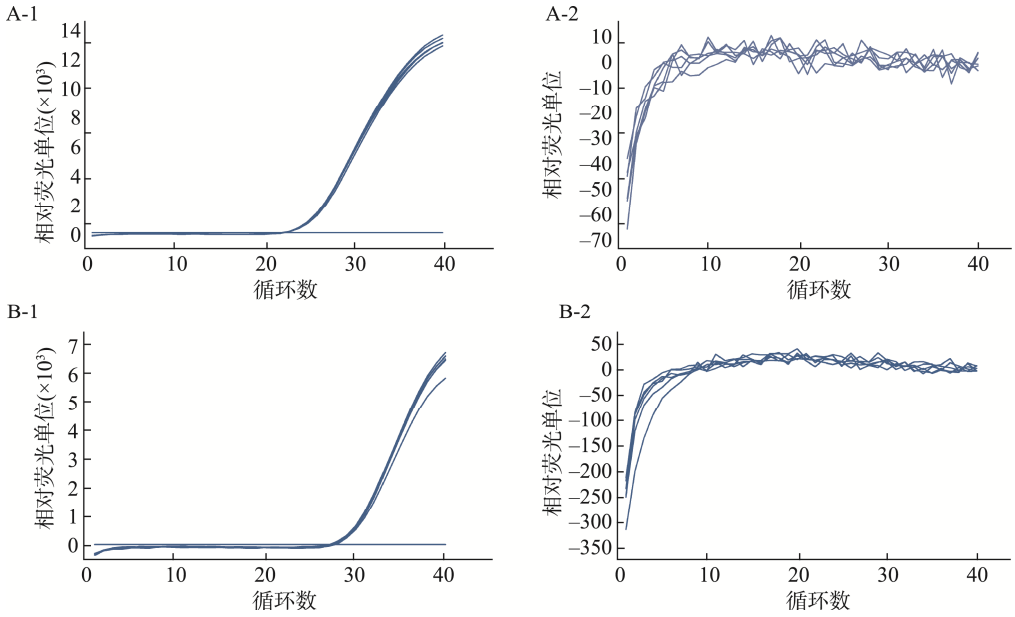
淋洗液的使用目的是有效去除结合在滤膜上的蛋白质、色素等杂质并避免将目标 DNA 洗脱下来。选择 70%乙醇与 2 mol/L NaCl 为淋洗液对玻璃纤维膜做淋洗处理，对比两种溶液对杂质的去除效果以及对膜材料的影响。使用核酸蛋白测定仪测定所得 DNA 提取液的浓度与纯度结果见表 7。

表 7 不同淋洗液处理的 DNA 浓度及纯度对比

Table 7 Comparison of DNA concentration and purity extreated with different eluents

样品	淋洗液种类	DNA 质量浓度/(ng/μL)	A_{260}/A_{280}	A_{260}/A_{230}
黑芝麻糖	70%乙醇	189.28	1.39	1.76
	2 mol/L NaCl	N/A	N/A	N/A
茶籽粕	70%乙醇	223.93	1.41	1.85
	2 mol/LNaCl	N/A	N/A	N/A
菜籽粕	70%乙醇	199.21	1.45	2.52
	2 mol/L NaCl	N/A	N/A	N/A

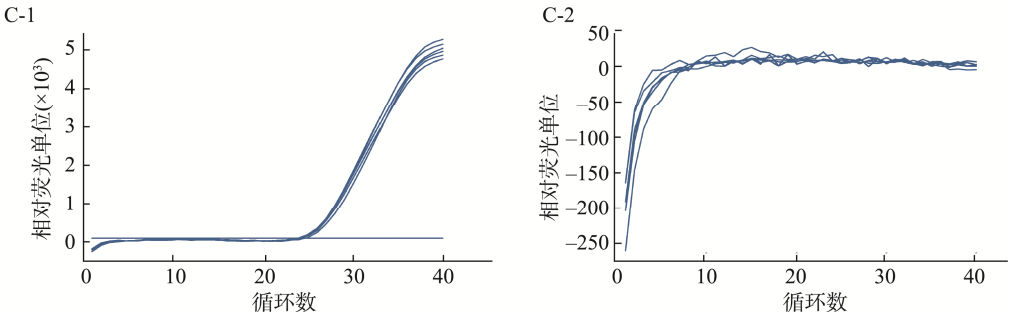
由表 7 可知，在其他实验步骤相同的条件下，在使用 70%乙醇处理滤膜后得到的 DNA 样品中成功检测出较高的样品 DNA 浓度，而使用高浓度 NaCl 处理的 DNA 溶液未检测出 DNA 浓度。使用实时荧光 PCR 仪对获得的 DNA 提取液进行实时荧光 PCR 扩增实验，最终获得的实时荧光 PCR 扩增结果见图 4。



注：1. 70%乙醇处理方法；2. 2 mol/L NaCl 处理方法。

图 4 2 种淋洗液处理提取的 DNA 实时荧光 PCR 检测结果

Fig.4 Real-time fluorescence PCR detection results of DNA extracted by treating with 2 kinds of eluents



注: 1. 70%乙醇处理方法; 2. 2 mol/L NaCl 处理方法。

图 4(续)　2 种淋洗液处理提取的 DNA 实时荧光 PCR 检测结果

Fig.4　Real-time fluorescence PCR detection results of DNA extracted by treating with 2 kinds of eluents

由图 4 可知, 70%乙醇淋洗滤膜后所得的 DNA 实时荧光 PCR 结果中均出现了扩增曲线, 使用 2 mol/L NaCl 淋洗滤膜后所得的 DNA 样品则出现了杂乱的曲线, 表明 70%乙醇可以有效去除杂质的干扰并保留滤膜上的 DNA 分子, 而 2 mol/L NaCl 虽然理论上可以溶解 DNA 但在实际实验中无法去除杂质对实时荧光 PCR 的干扰。实时荧光 PCR 检测 Ct 值及其平均值与标准偏差见表 8。

由表 7、8, 图 4 结果最终确定 70%乙醇为玻璃纤维膜的淋洗液, 能有效去除溶液中的杂质干扰且不影响实时荧光 PCR 的扩增。

表 8　2 种淋洗液处理提取的 DNA 实时荧光 PCR 检测 Ct 值及其平均值与标准偏差

Table 8　Real-time fluorescent PCR detection Ct values and their mean and standard deviation for DNA extracted using 2 kinds of eluents

样品	淋洗液选择	Ct 值						
		1	2	3	4	5	6	平均值±标准偏差
黑芝麻糖	70%乙醇	22.04	21.76	21.65	21.73	21.61	21.72	21.75±0.15
	2 mol/L NaCl	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
茶籽粕	70%乙醇	26.78	25.38	26.79	26.46	26.33	26.68	26.40±0.53
	2 mol/L NaCl	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
菜籽粕	70%乙醇	24.11	24.03	24.06	24.27	24.03	24.76	24.21±0.28
	2 mol/L NaCl	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

2.1.4　TE 缓冲液洗脱次数的优化结果

过多的洗脱次数可能导致 DNA 损失, 而次数过少则可能洗脱不完全, 影响后续实时荧光 PCR 扩增实验。因此本研究对 TE 缓冲液洗脱滤膜上 DNA 的洗脱次数进行优化, 设置洗脱次数分别为 2、3、4 次, 使用核酸蛋白测定仪测定所得 DNA 提取液的浓度与纯度结果见表 9。

表 9　不同洗脱次数处理的 DNA 浓度及纯度对比

Table 9　Comparison of DNA concentration and purity treated with different elution times

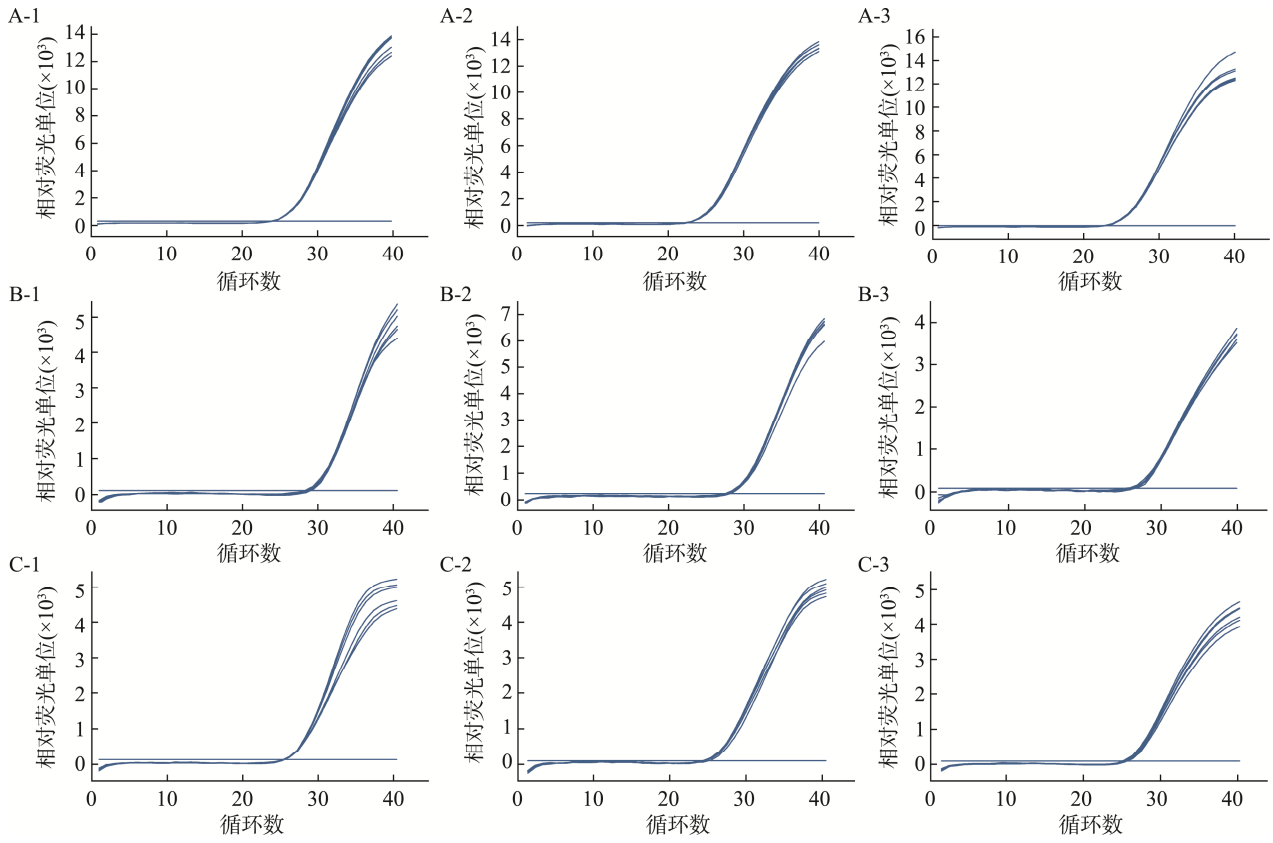
样品	洗脱次数/次	DNA 质量浓度/(ng/μL)	A_{260}/A_{280}	A_{260}/A_{230}
黑芝麻糖	2	58.35	1.35	1.92
	3	189.28	1.39	1.76
	4	210.74	1.38	1.73
茶籽粕	2	74.09	1.26	1.66
	3	223.93	1.41	1.85
	4	146.51	1.35	1.72
菜籽粕	2	90.01	1.40	2.21
	3	199.21	1.45	2.01
	4	170.55	1.46	2.44

由表 9 可知, 在其他实验步骤相同的条件下, TE 缓冲液洗脱 3、4 次的 DNA 浓度较高, 而洗脱 2 次的 DNA 浓度较低。3 种洗脱次数处理的 DNA A_{260}/A_{280} 与 A_{260}/A_{230} 数值差距不大, 表明洗脱次数对蛋白质、盐类等杂质的分离去除效果影响不大。使用实时荧光 PCR 仪对获得的 DNA 提取液进行实时荧光 PCR 扩增实验, 最终获得的实时荧光 PCR 扩增结果见图 5。

由图 5 可知, 不同缓冲液洗脱次数处理的 3 种样品 DNA 的实时荧光 PCR 结果中均出现了扩增曲线。实时荧光 PCR 检测 Ct 值及其平均值与标准偏差见表 10。

由表 10 可知, 虽然不同洗脱次数处理的 DNA 样品均成功提取到可进行实时荧光 PCR 扩增的 DNA, 但 TE 缓冲液洗脱 2 次的样品 Ct 值偏高, 而洗脱 3、4 次的样品 Ct 值相差不大。因此由表 9、10, 图 5 结果并结合实际操作最终确定缓冲液洗脱次数为 3 次, 在保证提取效率的同时又可节省实验时间。

综上所述, 最终确定膜法改进 CTAB 法中利用 0.7 μm 玻璃纤维膜、使用 70%乙醇为淋洗液并用 TE 缓冲液洗脱 3 次时的 DNA 提取效果最佳。



注: 1. 缓冲液洗脱 2 次; 2. 缓冲液洗脱 3 次; 3. 缓冲液洗脱 4 次。

图 5 不同洗脱次数处理的 DNA 实时荧光 PCR 检测结果

Fig.5 Real-time fluorescence PCR detection results of DNA treated with different elution times

表 10 不同洗脱次数处理的 DNA 实时荧光 PCR 检测 Ct 值及其平均值与标准偏差

Table 10 Real-time fluorescent PCR detection Ct values and their mean and standard deviation for DNA treated with different elution times

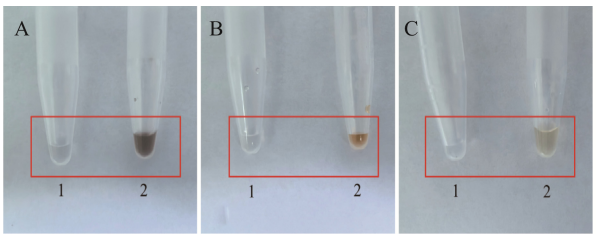
样品	洗脱次数/次	Ct 值						
		1	2	3	4	5	6	平均值±标准偏差
黑芝麻糖	2	23.67	23.50	23.60	23.67	23.70	23.59	23.62±0.07
	3	22.04	21.76	21.65	21.73	21.61	21.72	21.75±0.15
	4	22.30	22.72	22.37	22.62	22.40	22.72	22.52±0.18
茶籽粕	2	28.40	28.12	28.20	28.64	27.80	28.15	28.21±0.28
	3	26.78	25.38	26.79	26.46	26.33	26.68	26.40±0.53
	4	27.02	26.64	25.90	26.35	26.53	26.62	26.51±0.37
菜籽粕	2	25.42	25.24	25.21	25.29	25.39	25.35	25.31±0.08
	3	24.11	24.03	24.06	24.27	24.03	24.76	24.21±0.28
	4	24.84	25.27	25.05	25.07	24.56	25.03	24.97±0.24

2.2 膜法改进 CTAB 法与 CTAB 法的对比结果

2.2.1 DNA 提取液颜色的对比

将 2.1 确认的玻璃纤维膜改进 CTAB 法提取样品 DNA 并与传统 CTAB 法对比, 两种方法获得的核酸提取液如图 6 所示。

从图 6 中可以看出, 使用膜法改进 CTAB 法获得的 DNA 提取液基本无色; 而使用 CTAB 法获得的 3 种样品 DNA 提取液颜色都比膜法改进 CTAB 法获得的样品颜色深, 说明用 CTAB 法获得的样品 DNA 提取液仍有色素残留, 其中黑芝麻糖的颜色最深, 其次是茶籽粕, 菜籽粕的颜色最浅。



注: 1. 膜法改进 CTAB 法; 2. CTAB 法, 图 7 同。

图 6 2 种方法获得的样品 DNA 提取液颜色对比

Fig.6 Comparison of the color of sample DNA extracts obtained by the 2 kinds of methods

2.2.2　两种核酸提取方法获得的 DNA 纯度及浓度对比

使用核酸蛋白测定仪比较两种核酸提取方法的提取效果, 两种方法均成功提取到一定浓度和纯度的 DNA, 但提取效果略有差异。当 A_{260}/A_{280} 比值在 1.7~2.0 之间时, 表明 DNA 纯度良好且无显著蛋白质污染; 若超出该范围, 则表明 DNA 存在蛋白质污染; 当 A_{260}/A_{230} 比值大于等于 2.0 时, 表明 DNA 无盐类、多酚或有机溶剂残留。比值偏离程度与污染程度正相关。两种方法的 DNA 浓度及纯度对比见表 11。

表 11　2 种方法的 DNA 浓度及纯度对比

Table 11　Comparison of the color of DNA extracts of samples obtained by the 2 kinds of methods

样品	实验方法	DNA 质量浓度/(ng/μL)	A_{260}/A_{280}	A_{260}/A_{230}
黑芝麻糖	膜法改进 CTAB 法	146.51	1.35	1.72
	传统的 CTAB 法	261.87	1.35	1.46
茶籽粕	膜法改进 CTAB 法	129.66	1.33	1.59
	传统的 CTAB 法	131.43	1.42	1.02
菜籽粕	膜法改进 CTAB 法	178.63	1.43	2.11
	传统的 CTAB 法	158.28	1.63	1.44

由表 11 可知, 两种核酸提取方法获得的 DNA 质量浓度均在 DNA 扩增的黄金区间 50~300 ng/μL 之间。传统的 CTAB 法测得黑芝麻糖 DNA 的质量浓度为 261.87 ng/μL 是膜法改进 CTAB 法中 DNA 浓度的 2 倍, 而部分色素如花青素等酚类色素在 A_{260} 存在吸收峰, 会导致紫外分光光度计测得 A_{260} 值偏高, 进而使得出的 DNA 质量浓度较高; 其中 A_{260}/A_{280} 数值偏低, 说明两法前处理过程存在蛋白质去除不彻底的问题; A_{260}/A_{230} 数值也偏低是因样品富含多酚类物质, 而膜法改进 CTAB 法前处理方法中 A_{260}/A_{230} 数值均高于传统的 CTAB 法, 说明膜法改进 CTAB 法能较好地纯化样品中多酚类物质。

2.2.3　实时荧光 PCR 扩增结果

使用实时荧光 PCR 仪以两种核酸提取方法获得的 DNA 为模板做扩增实验, 得到的扩增结果如图 7 所示。

实时荧光 PCR 结果出现“S”型扩增曲线表明通过膜法改进 CTAB 法获得的 DNA 可以成功扩增并从中检测出了样品内源基因。从图 7 中可以看出, 使用膜法改进 CTAB 法获得的 3 种高色素食品 DNA 样本的实时荧光 PCR 结果中均出现了扩增曲线; 而 CTAB 法获得的 3 种高色素食品 DNA 样本均出现了杂乱的曲线, 表明通过 CTAB 法获得的 DNA 无法成功扩增, 实时荧光 PCR 未检测出样本中的芝麻、茶籽与菜籽的内源基因。实时荧光 PCR 检测的 Ct 值及其平均值与标准偏差见表 12。

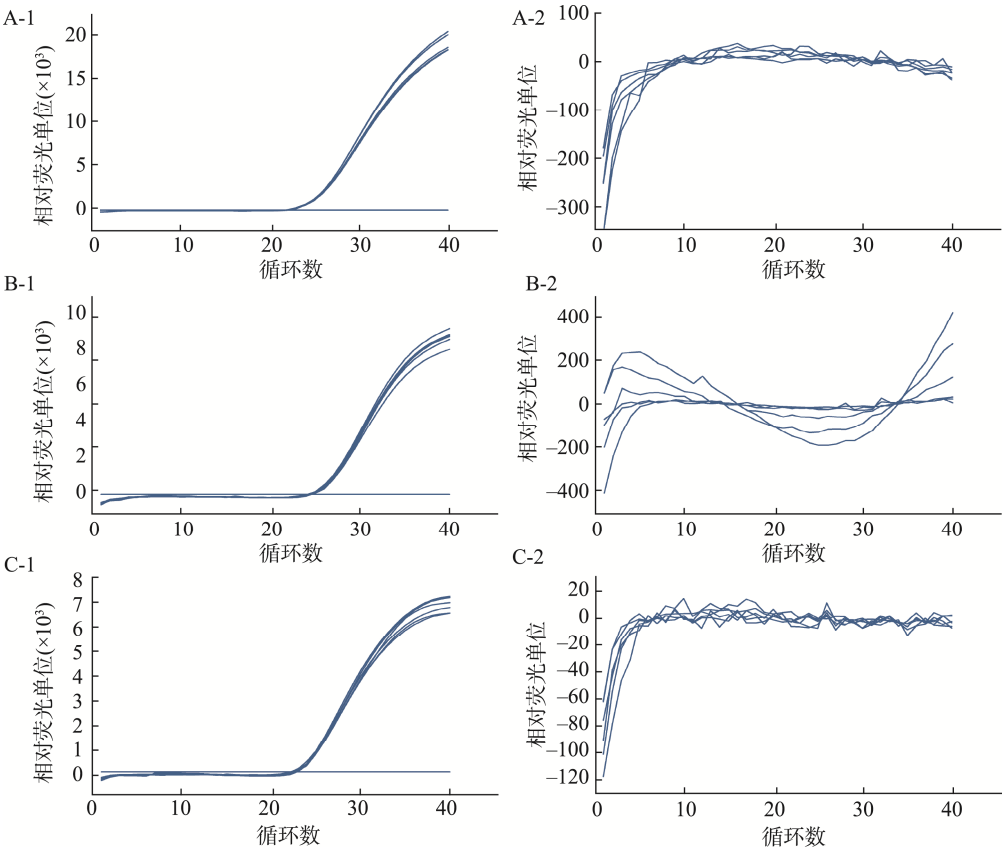


图 7　2 种方法的实时荧光 PCR 检测结果

Fig.7　Real-time fluorescent PCR results of the 2 kinds of methods

表 12 实时荧光 PCR 检测 Ct 值及其平均值与标准偏差

Table 12 Real-time fluorescent PCR detection Ct values and their mean values and standard deviations

样品	实验方法	Ct 值						
		1	2	3	4	5	6	平均值±标准偏差
黑芝麻糖	膜法改进 CTAB 法	21.18	20.91	20.79	20.80	20.92	20.82	20.90±0.13
	CTAB 法	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
茶籽粕	膜法改进 CTAB 法	23.80	24.21	23.78	24.04	23.38	23.77	23.83±0.26
	CTAB 法	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
菜籽粕	膜法改进 CTAB 法	21.67	21.67	21.60	21.61	21.42	21.51	21.58±0.09
	CTAB 法	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

结合表 11、表 12 数据, 传统 CTAB 法提取的 DNA 提取液浓度不低但无法成功检测出样品内源基因, 表明溶液中的色素会对实时荧光 PCR 的结果造成影响。而膜法改进 CTAB 法提取的 DNA 质量浓度均在 100 ng/μL 以上, 实时荧光 PCR 扩增的 Ct 值在 20~25 之间, 表明该方法能够有效分离、富集、纯化高色素食品中的 DNA, 从而提升了实时荧光 PCR 的检测成功率。

3 结 论

本研究使用滤膜改进 CTAB 法提取高色素食品中的 DNA, 实验结果表明 0.7 μm 玻璃纤维膜使用 70%乙醇为淋洗液并用 TE 缓冲液洗脱 3 次时的 DNA 提取效果最佳。将膜法改进 CTAB 法与 CTAB 法进行对比: 使用核酸蛋白测定仪分析两种提取方法获得的 3 种高色素食品的 DNA, DNA 质量浓度均在 100 ng/μL 以上, A_{260}/A_{280} 与 A_{260}/A_{230} 比值对比正常范围偏低; 两种提取方法的实时荧光 PCR 结果差异明显, CTAB 法获得的 3 种高色素食品 DNA 提取液色素残留较多, 实时荧光 PCR 均未检测出样品内源基因, 没有扩增值; 膜法改进 CTAB 法获得的 3 种样品 DNA 提取液中基本无色素残留, 实时荧光 PCR 成功检测出样品内源基因, Ct 值均在 20~25 之间。

综上所述, 0.7 μm 玻璃纤维膜使用 70%乙醇为淋洗液并用 TE 缓冲液洗脱 3 次时的膜法改进 CTAB 法能从高色素食品中提取高质量 DNA 并有效去除溶液中色素对实时荧光 PCR 的影响。市场上现有的专用核酸试剂盒对高色素食品脱色能力有限, 且检测成本高; 而 CTAB 法难以有效净化高色素食品。因此本研究方法的优点在于相对 CTAB 法操作简单、步骤少、耗时短、检测效率高, 而相对试剂盒法成本低廉并能有效去除植物色素对实时荧光 PCR 的影响。实验所用的玻璃纤维膜已商业化生产, 可以作为一种高色素食品 DNA 提取方法应用于实验研究及检测中。同时我国没有出台针对芝麻、茶籽和菜籽检测的国家标准方法, 本方法可以为这 3 种高色素食品的核酸提取方法标准提供一定的数据参考。

参考文献

[1] 马秀丽, 黄文胜, 张九凯, 等. 芝麻过敏原分子特征与检测方法研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(7): 342–351.
MA XL, HUANG WS, ZHANG JK, *et al*. Recent progress in molecular characterization and detection of sesame allergens [J]. Food Science, 2019, 40(7): 342–351.

[2] WANG J, QIAN J, XU M, *et al*. Adulteration detection of multi-species vegetable oils in camellia oil using Raman spectroscopy: Comparison of chemometrics and deep learning methods [J]. Food Chemistry, 2025, 463: 141314.

[3] 范维, 高晓月, 董雨馨, 等. 4 种植物源性成分多重 real-time PCR 检测方法的建立及其在食用淀粉中的应用[J]. 食品科学, 2024, 45(1): 210–216.
FAN W, GAO XY, DONG YX, *et al*. Establishment of a multiplex real-time PCR method for detection of four plant-derived components and its application to edible starches [J]. Food Science, 2024, 45(1): 210–216.

[4] KANG TS. Basic principles for developing real-time PCR methods used in food analysis: A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 91: 574–585.

[5] 张明娟, 余秋地, 王娟, 等. 五重实时荧光聚合酶链式法快速筛查食用淀粉及其制品中植物源性成分[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(13): 207–214.
ZHANG MJ, YU QD, WANG J, *et al*. Rapid screening of plant-based components in edible starch and its products by five fold real-time fluorescence polymerase chain reaction [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(13): 207–214.

[6] 陈茵茵, 梁颖思, 陈宝欣, 等. 多重实时荧光定量聚合酶链式反应在芝麻酱掺假鉴别中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(12): 199–209.
CHEN YY, LIANG YS, CHEN BX, *et al*. Application of multiplex real-time polymerase chain reactionfor adulteration identification in sesame sauce [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(12): 199–209.

[7] 李威, 孙国栋, 鹿嘉榕, 等. 基于实时荧光定量 PCR 检测特种乳中牛乳的掺伪[J/OL]. 食品科学, 1–20. [2025-06-26]. https://link.cnki.net/urlid/11.2206.TS.20241210.1326.031
LI W, SUN GD, LU JR, *et al*. Detection of adulteration of milk in special milk based on quantitative real-time PCR [J]. Food Science, 1–20. [2025-06-26]. https://link.cnki.net/urlid/11.2206.TS.20241210.1326.031

[8] MIYAZAKI H, TANIGUCHI M. Development of a genus identification method for poisonous plants using real-time PCR [J]. Shokuhin eiseigaku zasshi. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2024, 65(3): 53–60.

[9] LI Y, LIU S, WANG Y, *et al*. Research on a magnetic separation-based rapid nucleic acid extraction system and its detection applications [J]. Biosensors, 2023, 13(10): 903.

[10] 陈佳琛, 陈晨, 张瑞, 等. 实时荧光 PCR 法鉴别莜面中掺杂淀粉的植物源性[J]. 食品安全导刊, 2023(11): 122–128.
CHEN JC, CHEN C, ZHANG R, *et al*. Identification plant-derived of naked oats adulterated starch by real-time PCR method [J]. China Food Safety Magazine, 2023(11): 122–128.

[11] 胡笛, 赵密, 李春宇, 等. 适用于现场即时检测的核酸快速提取新方法研究进展[J]. 中国食品学报, 2025, 25(8): 471–485.
HU D, ZHAO M, LI CY, *et al*. Research Progress on new methods for rapid extraction of nucleic acids suitable for point-of-care testing [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2025, 25(8): 471–485.

[12] 李岩, 于海琳, 马晓彤, 等. 对 CTAB 法提取菠菜基因组 DNA 实验的优化设计[J]. 化工管理, 2023(14): 15–17.
LI Y, YU HL, MA XT, *et al*. Conditions research on CTAB extraction of spinach genome DNA [J]. Chemical Engineering Management, 2023(14): 15–17.

[13] 游尚奇, 杨晓东, 李宏铎, 等. 食用植物油 DNA 提取方法的优化[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(4): 1320–1326.
YOU SQ, YANG XD, LI HD, *et al*. Optimization of DNA extraction from edible vegetable oil [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(4): 1320–1326.

[14] HOSSEN R, COURTNEY M, SIM A, *et al*. An optimized CTAB method for genomic DNA extraction from green seaweeds (Ulvophyceae) [J]. Applications in Plant Sciences, 2025, 13(1): e11625.

[15] 申恒, 刘思慧, 李跃, 等. 一种用于 PCR 的番茄 DNA 快速粗提方法[J]. 生物技术通报, 2022, 38(6): 74–80.
SHEN H, LIU SH, LI Y, *et al*. Rapid crude extraction of genomic DNA from solanum lycopersicum for PCR [J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(6): 74–80.

[16] SUTHER C, MOORE MD. Quantification and discovery of PCR inhibitors found in food matrices commonly associated with foodborne viruses [J]. Food Science and Human Wellness, 2019, 8(4): 351–355.

[17] RYU D, KOH E. Stability assessment of anthocyanins from black soybean, grape, and purple sweet potato under *in vitro* gastrointestinal digestion [J]. Food Science and Biotechnology, 2022, 31(8): 1053–1062.

[18] ZHAO F, MA W, ZHAO J, *et al*. Global retrieval of the spectrum of terrestrial chlorophyll fluorescence: First results with TROPOMI [J]. Remote Sensing of Environment, 2024, 300: 113903.

[19] PYO M, JEONG S, KIM JH, *et al*. Hydrophobicity and membrane distillation performance of glass fiber membranes modified by dip coating of pure PDMS [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2024, 12(3): 112534.

[20] ZHU G, ZHANG X, HE Y. A versatile superhydrophilic/air-superoleophobic glass fiber membrane: Fabrication and application in oil/water separation [J]. Journal of Water Process Engineering, 2024, 67: 106251.

[21] TEZCAN T, CALIMCI M, BOYACI IH, *et al*. UV-ozone treated glass fiber based lateral flow DNA extraction platform integrated with LAMP for rapid detection of pathogen bacteria in whole blood [J]. Microchemical Journal, 2024, 206: 111487.

[22] ZAMANI M, FURET AL, KLAPPERICH CM. Strategies for engineering affordable technologies for point-of-care diagnostics of infectious diseases [J]. Accounts of Chemical Research, 2021, 54(20): 3772–3779.

[23] 韦艳红, 王佳欣, 焦丽, 等. 糖用松香基脱色树脂吸附焦糖色素相互作用微观机制[J]. 食品科学, 2024, 45(24): 17–25.
WEI YH, WANG JX, JIAO L, *et al*. Microscopic mechanism of the interaction in the adsorption of caramelpigments onto rosin-based decolorizing resin for sugar [J]. Food Science, 2024, 45(24): 17–25.

[24] CAO Y, CHEN X, FENG S, *et al*. Nanofiltration for decolorization: membrane fabrication, applications and challenges [J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2020, 59(45): 19858–19875.

[25] 程雪翔. 基于特征 DNA 的茶油掺假鉴定技术研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2019.
CHENG XX. Study on identification technology of camellia oil adulteration basedon characteristic DNA [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2019.

[26] ZHAO Q, LIANG X, HE C. Efficient DNA separation and purification via VIPS-constructed membrane adsorbers [J]. Chemical Engineering Journal, 2024, 496: 153609.

[27] KATAGIRI N, SHIMOKAWA D, SUZUKI T, *et al*. Separation properties of plasmid DNA using a two-stage particle adsorption-microfiltration process [J]. Membranes, 2023, 13(2): 168.

[28] 王沙沙, 王芳, 张涵, 等. 滤纸法快速提取中药材 DNA 方法的研究[J]. 中国现代中药, 2020, 22(2): 213–218.
WANG SS, WANG F, ZHANG H, *et al*. Rapid extraction of DNA from Chinese herbal medicines by filter paper method [J]. Modern Chinese Medicine, 2020, 22(2): 213–218.

[29] 薛强, 王燕飞, 盛万里, 等. 基于纤维素膜吸附的黄瓜基因组 DNA 快速提取方法[J]. 中国瓜菜, 2021, 34(10): 39–43.
XUE Q, WANG YF, SHENG WL, *et al*. Arapid extraction method of cucumber genomic DNA based on cellulose membrane adsorption [J]. China Cucurbits and Vegetables, 2021, 34(10): 39–43.

[30] ZOU Y, MASON M G, WANG Y, *et al*. Nucleic acid purification from plants, animals and microbes in under 30 seconds [J]. PLoS Biology, 2017, 15(11): e2003916.

(责任编辑: 安香玉　蔡世佳)