

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2026.07.007

基于 TaqMan 探针实时荧光定量 PCR 用于粉丝掺假成分的检测

张 茹^{1,2}, 姚帮本², 洪 婷¹, 陈赵然¹, 徐建国¹, 陈 伟¹

(1. 合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601; 2. 安徽省产品质量监督检验研究院, 安徽 合肥 230051)

摘 要:文章选取红薯、木薯、绿豆、豌豆、马铃薯、玉米 6 种常见制作粉丝原料的特异性引物和探针, 建立实时荧光定量聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 方法用于粉丝中掺假成分的鉴别。水解探针 (TaqMan 探针) 的设计方法是在 5' 端连接荧光基团羧基荧光素 (FAM), 3' 端连接猝灭基团羧基四甲基罗丹明 (TAMAR), 当探针发生水解时, 荧光基团与淬灭基团分离, 荧光基团所产生的荧光即可被仪器检测到。结果表明, 该方法的相对灵敏度为 1%, 绝对灵敏度为 10^{-2} ng/ μ L, 可应用于市售 60 种粉丝中的红薯、木薯、绿豆、豌豆、马铃薯、玉米源性成分的鉴别。基于 TaqMan 探针实时荧光定量 PCR 检测方法反应耗时短, 具有灵敏度高、特异性好、定量准确等优点, 可以作为粉丝中源性成分掺假检测的有效方法之一。

关键词:粉丝掺假; 实时荧光定量聚合酶链式反应; 探针法

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1003-5060(2026)07-0910-07

TaqMan probe-based quantitative real-time PCR for detection of adulterants in vermicelli

ZHANG Ru^{1,2}, YAO Bangben², HONG Ting¹, CHEN Zhaoran¹, XU Jianguo¹, CHEN Wei¹

(1. School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China; 2. Anhui Institute of Product Quality Supervision and Inspection, Hefei 230051, China)

Abstract: This paper selects specific primers and probes from six common raw materials for making vermicelli, including sweet potato, cassava, mung bean, pea, potato, and corn, to establish a quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR) method for identifying adulterated ingredients in vermicelli. The method of TaqMan probe is to connect the fluorescence group FAM at 5' and the quenching group TAMAR at 3'. When the probe is hydrolyzed, the fluorescence group separates from the quenching group, and the fluorescence generated by the fluorescence group can be detected by the instrument. The results showed that the relative sensitivity of the method was 1%, and the absolute sensitivity was 10^{-2} ng/ μ L. It can be applied to the identification of sweet potato, cassava, mung bean, pea, potato and corn-derived components in 60 commercially available vermicelli. The TaqMan probe-based RT-qPCR detection takes a short reaction time, and has the advantages of high sensitivity, excellent specificity, and accurate quantification, making it an effective tool for detecting adulterants in vermicelli.

Key words: vermicelli adulteration; quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR); probe method

市场上曾曝光的掺假粉丝主要采用价格低廉的木薯淀粉来制作, 并以此来充当质量更好、口感

更佳的红薯粉丝、马铃薯粉丝及豆类粉丝^[1], 这种以次充好、以经济利益为驱动的食品掺假现象严

收稿日期: 2023-04-28; 修回日期: 2023-06-14

基金项目: 安徽省科技攻关计划资助项目 (2022f04020003); 安徽省自然科学基金资助项目 (202104a07020008)

作者简介: 张 茹 (1995—), 女, 安徽合肥人, 合肥工业大学硕士生;

姚帮本 (1986—), 男, 安徽安庆人, 博士, 安徽省产品质量监督检验研究院高级工程师, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: 469036386@qq.com;

陈 伟 (1982—), 男, 江苏海安人, 博士, 合肥工业大学教授, 博士生导师。

重干扰了市场的秩序,损害了消费者的权益,是破坏食品安全秩序的重要因素之一^[2-3]。其次,由木薯淀粉所制作的粉丝口感较差,远不及红薯、马铃薯及豆类粉丝。为了提高粉丝口感,不良商家会在木薯粉丝中添加各种增筋类化学品,这会引起重金属等超标,严重影响消费者的健康安全^[4-5]。因此,粉丝掺假的安全检测是保障消费者权益的重要手段之一。

目前对于粉丝掺假检测的方法主要有显微图像模式识别^[6]、近红外光谱技术^[7]、近红外光谱与支持向量机方法^[8]以及聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术^[9]。显微图像识别主要是通过比较不同原料粉丝的微观组织结构来进行辨别,该方法简单、快速,但可靠性相对较差,且不能进行定量检测;近红外光谱法技术检测的样品不需要前处理,操作简便,但灵敏度低;普通 PCR 技术试剂成本低,但灵敏度低,不适用于定量分析。而实时荧光定量 PCR 技术具有灵敏度高、特异性好、重复性强等优点,被应用于食品安全^[10-13]、病毒细菌检测^[14-15]、植物学^[16-17]、中药学^[18-19]等领域。

实时荧光定量 PCR 主要通过收集反应过程的荧光信号来获得定量检测的结果,其中最常用的2种方法为 SYBR Green I 染料法和 TaqMan 探针法。SYBR Green I 染料法是利用染料与双链 DNA 结合后荧光信号增强来进行检测^[20-23]; TaqMan 探针法是在 5'端连接一个荧光基团、3'端连接一个淬灭基团,当荧光基团与淬灭基团距离很近时,荧光基团所产生的荧光信号会被淬灭基团淬灭,而当探针发生水解时,荧光基团就会与淬灭基团分离,那么荧光基团所产生的荧光即可被仪器所检测到^[24-27]。染料法经济实惠,但特异性较差,这是由于染料对双链 DNA 的结合为非特异性结合,实时荧光定量 PCR 中的非特异性扩增产物,尤其是引物二聚体也会产生荧光信号,会对目的基因的检测产生严重干扰。而 TaqMan 探针法的特异性有引物和探针的双重保证,使得

数据更加可靠,同时探针的引入也提高了反应体系检测的灵敏度^[27-28]。为实现对常见粉丝掺假的精准定量检测,本研究建立一种 TaqMan 探针实时荧光定量 PCR 检测方法。

1 材料与方法

1.1 材料

12种植物样品(红薯、木薯、绿豆、豌豆、马铃薯、玉米、小麦、山药、花生、薏米、大米、小米)及60种粉丝样品(28种红薯粉丝(条),11种粉丝(条),4种山芋粉丝,2种薯制粉条,2种方便粉丝,6种龙口粉丝,土豆、绿豆、玉芝、柳絮、双五、金香丝和燕九华粉丝(条)各1种)均购于市场上。红薯、木薯、绿豆、豌豆、马铃薯、玉米纯粉丝样品的处理参考文献^[29]方法,将购买的新鲜植物样品研磨成汁,沉淀1h去除上清液,用滤布过滤后沥干,再加入适量清水揉成面团,切成条状,放入烘箱烘干即可,用于后续的灵敏度检测。

深加工食品 DNA 提取试剂盒购于北京天根生化科技有限公司; Premix Ex Taq (Probe qPCR)(2×)购于日本 TaKaRa 公司; NaCl、十二烷基硫酸钠(SDS)、乙酸钾、冰醋酸均购于国药集团化学试剂有限公司; Tris-EDTA (TE)缓冲液(pH 值为 8.0)购于生工生物工程(上海)股份有限公司; 30% 聚乙二醇(PEG)(化学纯)购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器

本研究所用主要仪器有: Roche cobas z480 全自动荧光定量 PCR 分析仪(瑞士 Roche Diagnostics 公司); Sigma 4K15 离心机(德国 Sigma 公司); IKA VORTEX 1 涡旋混匀器(德国 IKA 公司); ExceMagTM 金属磁力架(苏州莫纳生物科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 引物和探针的设计

引物、探针序列见表1所列,均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表1 引物、探针序列

名称	类别	序列(5'→3')	T _m /℃
红薯	上游引物	CAAAAGCACGGCACTAGTCA	60.0
	下游引物	AGTGAGACAGGGAAGTGGA	50.0
	探针	FAM-CCCAGCAACCGCTCTTTATA-TAMAR	55.0
木薯	上游引物	TCCATGGGGTCAGACTGGTG	59.8
	下游引物	ATGGGTGCATCTTTGCTGGG	58.7
	探针	FAM-ACCGACAAGGACAAGGCTGCTGCTCA-TAMRA	67.2

续表

名称	类别	序列(5'→3')	T _m /℃
绿豆	上游引物	ATGCAGAAGTAAGGAAAAAGTAATGTGT	54.0
	下游引物	TCAATAATAGCATGAGGCAAAACAAA	52.1
	探针	FAM-ACACTATCCTTGCCTCATACTAGCTCCCC-TAMRA	65.0
豌豆	上游引物	GCAACAAGAGGTCTAGTGGATTGA	56.6
	下游引物	CGGACCGACGCCAAGA	58.8
	探针	FAM-CTACTCCGAAATGGAAACCACAGAAACCG-TAMAR	61.3
马铃薯	上游引物	GGACATGTGAAGAGACGGAGC	58.3
	下游引物	CCTACCTCTACCCCTCCGC	60.3
	探针	FAM-CTACCACCATTACCTCGCACCTCTCA-TAMAR	63.1
玉米	上游引物	CGTCGTTTCCCATCTCTTCCTCCT	60.9
	下游引物	CCACTCCGAGACCCCTCAGTC	60.3
	探针	FAM-AATCAGGGCTCATTTTCTCGCTCCTCA-TAMAR	62.0

1.3.2 DNA 的提取

DNA 提取方法根据文献[28-29]并加以修改。首先,取适量植物样品置于研钵中,加入液氮充分研磨后装入离心管中,−20℃保存,备用。准确称取 50 mg 粉末加入 1.5 mL 离心管中,然后加入 700 μL SDS 缓冲液,30 μL 蛋白酶 K,65℃水浴锅中加热 1 h,冷却至室温,12 000 r/min 离心 10 min,取 500 μL 上清液加到新的离心管中,加入 50 μL 乙酸钾溶液,冰水浴 10 min 后 12 000 r/min 离心 10 min,取 500 μL 上清加入新的离心管,加 10 μg 磁珠(磁珠使用之前需超声分散),涡旋混匀,再加入 250 μL 包被液(30% PEG),混匀;再用磁力架磁力吸附去上清,并用 1 mL 75%乙醇清洗 3 次,37℃烘箱干燥 10 min,干燥完成后加入 100 μL TE 缓冲液,65℃水浴 10 min,磁性分离取上清,−20℃保存备用。自制纯粉丝样品及市售粉丝样品 DNA 用深加工食品 DNA 提取试剂盒提取。

1.3.3 扩增程序

扩增程序按照 Premix Ex Taq (Probe qPCR) (2×)说明书及文献[30-31]所述,在冰上解冻反应试剂,解冻后涡旋混匀。反应体系总体积为 20 μL,其中 Premix Ex Taq (Probe qPCR) (2×)为 10 μL,正反向引物(10 μmol/L)各 0.4 μL,探针(10 μmol/L) 0.8 μL,DNA 模板(1~20 ng/μL)2 μL,用灭菌去离子水补足至总体积 20 μL。循环条件为:95℃、30 s,1 个循环;95℃、5 s,60℃、30 s,72℃、30 s,各 40 个循环;50℃、30 s,1 个循环。检测完成后,根据扩增曲线及 Ct 值判定结果。

1.3.4 特异性实验

分别利用红薯、木薯、绿豆、豌豆、马铃薯、玉米的引物与探针对红薯、木薯、绿豆、豌豆、马铃薯、玉米、小麦、山药、花生、大米、薏米、小米这 12 种原料样品进行实时荧光定量 PCR 检测,并

用去离子水作为空白对照,从而确定引物、探针的特异性。

1.3.5 绝对灵敏度实验

按照 50、10、1、10^{−1}、10^{−2}、10^{−3}、10^{−4} ng/μL 7 个质量浓度梯度分别对红薯、木薯、绿豆、豌豆、马铃薯、玉米粉丝的 DNA 进行实时荧光定量 PCR 扩增,以确定该方法的绝对灵敏度。

1.3.6 相对灵敏度实验

按照质量分数为 100%、50%、10%、5%、1%、0.1% 6 个梯度将红薯、木薯、绿豆、豌豆、马铃薯、玉米 6 种粉丝两两混合(红薯与木薯、绿豆与豌豆、马铃薯与玉米),按照优化好的条件进行扩增,以确定该方法的最低检出限,从而评估实时荧光定量 PCR 检测的相对灵敏度。

1.3.7 市售粉丝样品检测

为了进一步验证该方法的实用性,对市场上购买的 60 种粉丝样品进行木薯成分检测。将粉丝样品用研磨机打碎,之后利用深加工食品 DNA 提取试剂盒提取 DNA,并按优化好的条件对提取完成的粉丝 DNA 进行扩增,以验证该方法的实用性。同时利用植物通用型引物、探针对 60 种粉丝样品进行扩增,以确保 DNA 提取的有效性。

1.4 数据处理

采用软件 Microsoft PowerPoint 2020 和 Origin 2018 进行数据处理。

2 结果与讨论

2.1 特异性检测结果

本文首先利用植物通用型引物、探针扩增 12 种原料样品,所有样品均有明显的 S 型扩增曲线,空白对照(去离子水)则无扩增曲线,说明从 12 种原料样品中提取的 DNA 适用于扩增。然后分别利用红薯、木薯、绿豆、豌豆、马铃薯、玉米的

引物和探针扩增 12 种原料样品,以验证所设计的引物、探针特异性,结果如图 1 所示。从图 1 可以看出,仅有红薯、木薯、绿豆、豌豆、马铃薯、玉米等

线,而其他样品及空白对照(去离子水)均无荧光扩增信号,且两平行组之间重复性良好,之间没有显著性差异,由此说明本文所设计的引物和探针对各物种具有良好的特异性。

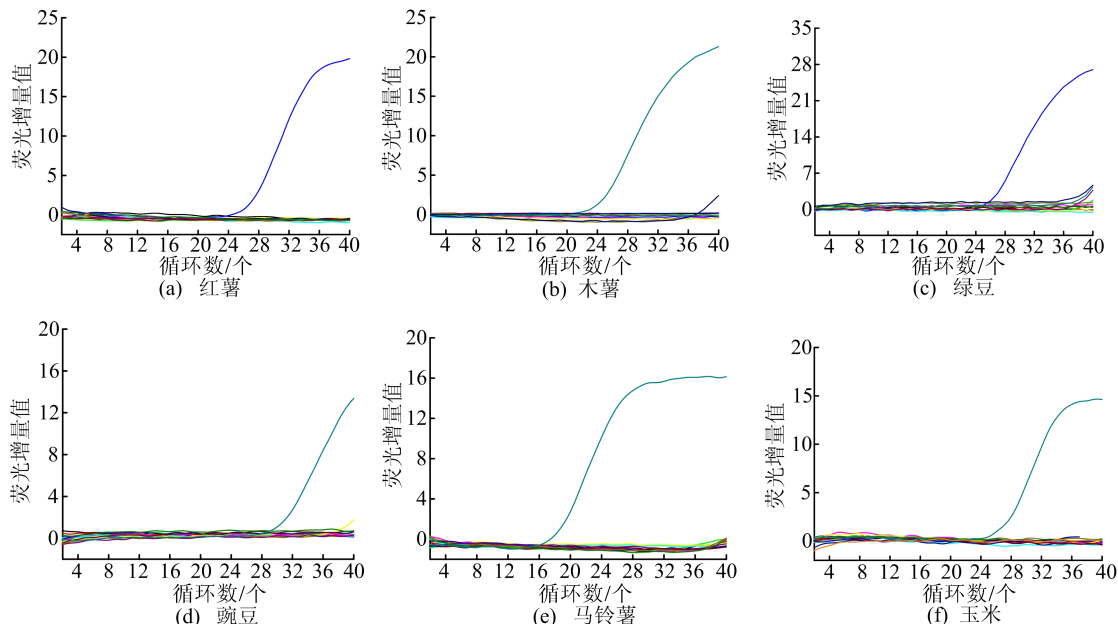


图 1 不同粉丝样品的特异性检测结果

2.2 绝对灵敏度检测结果

本文分别对不同质量浓度的红薯、木薯、绿

豆、豌豆、马铃薯、玉米粉丝 DNA 进行实时荧光定量 PCR 扩增,结果如图 2 所示。

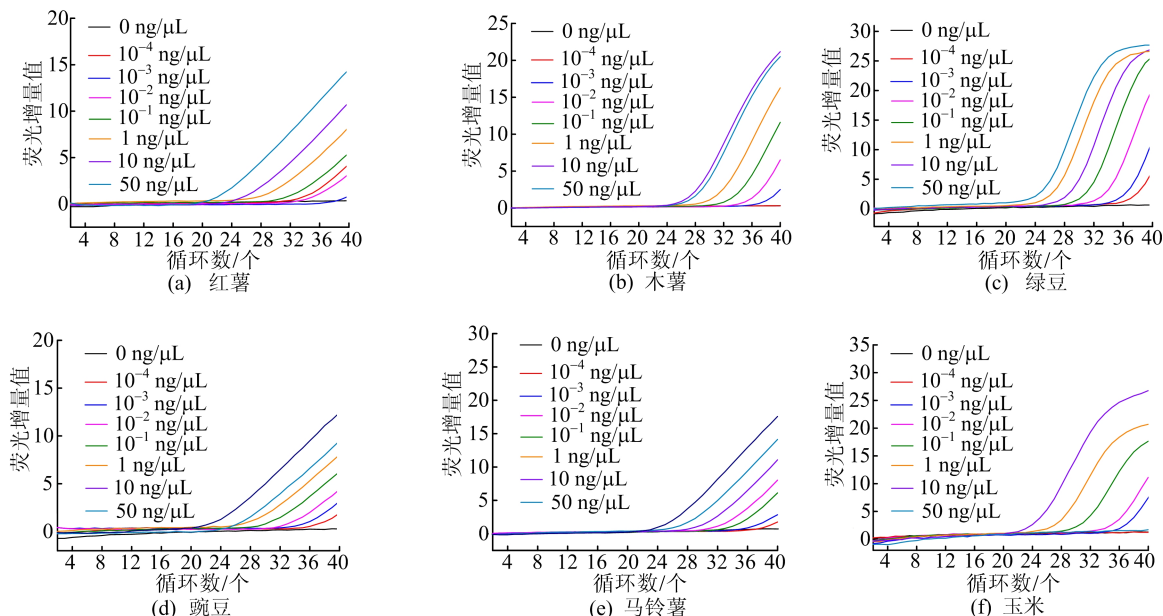


图 2 不同粉丝样品的实时荧光定量 PCR 绝对灵敏度检测结果

由图 2 可知:当红薯、木薯、绿豆、豌豆粉丝 DNA 质量浓度在 10^{-3} ng/ μ L 及以上,出现明显的扩增曲线;当质量浓度低于 10^{-3} ng/ μ L 时,扩

增曲线在基线位置,且两平行组重复性良好,表明红薯、木薯、绿豆、豌豆粉丝的绝对灵敏度最低为 10^{-3} ng/ μ L;而马铃薯、玉米粉丝 DNA 质量浓度

在 10^{-2} ng/ μ L 及以上时,基线以上出现明显的荧光扩增曲线,当其 DNA 质量浓度低于该质量浓度时,扩增曲线在基线位置,结果表明,马铃薯、玉米粉丝的绝对灵敏度最低为 10^{-2} ng/ μ L。

2.3 相对灵敏度检测结果

本研究分别对质量分数为 100%、50%、10%、5%、1%、0.1% 的粉丝样品进行实时荧光定量 PCR 检测,结果如图 3 所示。

从图 3 可以看出:当红薯、木薯、绿豆粉丝质

量分数在 0.1% 及以上时,荧光扩增曲线在基线以上且有较为显著的荧光扩增曲线;质量分数低于 0.1% 时,无明显荧光扩增曲线;豌豆、马铃薯、玉米粉丝质量分数在 1% 及以上时,Ct 值小于 35 且有较为显著的荧光扩增曲线,结果表明:红薯、木薯、绿豆的检测相对灵敏度为 0.1%,即能够检测出掺假的质量分数为 0.1%;豌豆、马铃薯、玉米的检测相对灵敏度为 1%,即能够检测出掺假的质量分数为 1%。

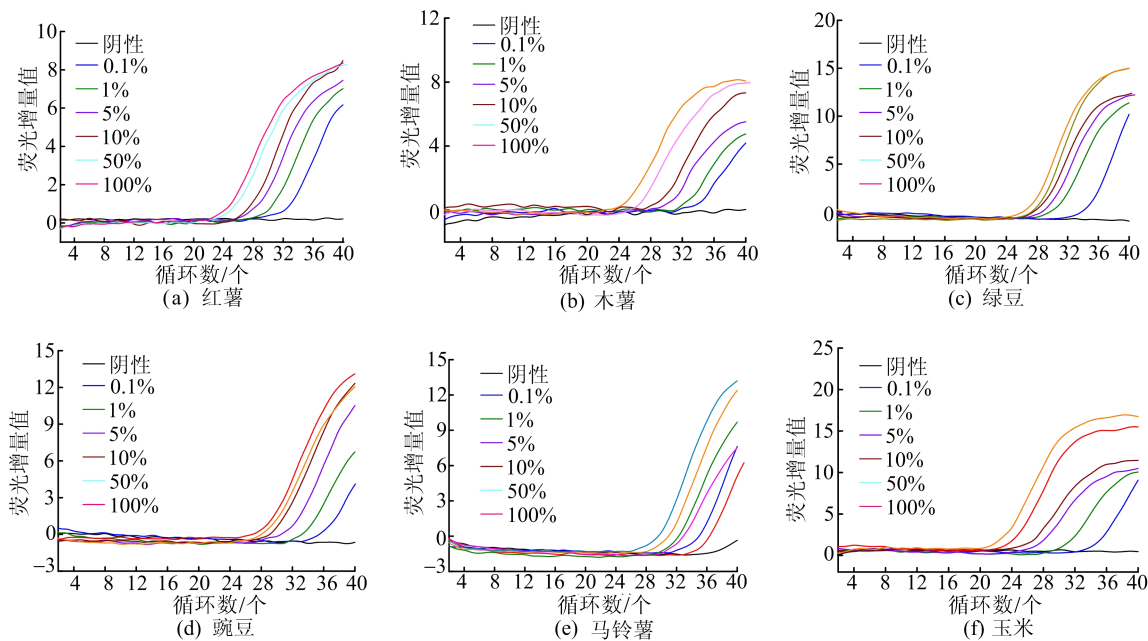


图 3 不同粉丝样品的实时荧光定量 PCR 相对灵敏度检测结果

2.4 市售样品检测结果

为了进一步验证 TaqMan 探针实时荧光定量 PCR 方法的实用性,本研究对市场上购买的 60 种粉丝样品进行木薯成分的检测,结果见表 2 所列。由表 2 所知,60 种粉丝样品的植物通用型

探针均能扩增成功,表明 DNA 提取有效,同时在其中 13 种样品中扩增出了木薯成分,但仅有 14 号样品含有木薯成分,而其他样品不含木薯成分,因而成功检测出 12 种木薯掺假样品,表明本文所设计的方法能运用于实际样品的检测。

表 2 市售粉丝样品检测结果

编号	样品	Ct 值		编号	样品	Ct 值		编号	样品	Ct 值	
		内参照	木薯			内参照	木薯			内参照	木薯
1	红薯粉条	20.22	—	21	红薯粉丝	19.94	—	41	山芋粉丝	20.58	—
2	龙口粉丝	21.24	—	22	红薯粉条	19.71	—	42	粉丝	20.22	—
3	土豆粉条	19.48	—	23	红薯粉丝	16.07	—	43	红薯粉丝	20.22	—
4	红薯粉条	18.99	27.48	24	牛肉汤方便粉丝	21.87	29.71	44	红薯粉条	17.88	—
5	红薯粉条	21.71	32.47	25	红薯圈粉	19.11	—	45	淮南牛肉汤方便粉丝	18.78	—
6	红薯粉条	20.24	32.84	26	粉丝	20.68	—	46	金香丝丝	19.13	—
7	红薯宽条	21.89	—	27	双五粉丝	18.69	—	47	粉丝	17.50	—
8	红薯粉条	20.36	—	28	山芋粉丝	20.48	—	48	粉丝	20.49	—
9	有机龙口粉丝	21.65	—	29	红薯粉丝	20.54	—	49	燕九华粉丝	19.53	—

续表

编号	样品	Ct 值		编号	样品	Ct 值		编号	样品	Ct 值	
		内参照	木薯			内参照	木薯			内参照	木薯
10	红薯粉条	19.59	24.59	30	粉丝	18.46	—	50	红薯粉丝	15.02	—
11	红薯粉条	20.44	27.44	31	粉丝	21.15	—	51	红薯粉丝	19.02	—
12	红薯粉条	20.69	28.69	32	粉丝	19.70	—	52	粉丝	22.26	—
13	纯红薯粉条	19.17	29.17	33	薯制粉条	18.92	—	53	龙口粉丝	19.57	—
14	玉芝粉条	20.37	30.37	34	红薯粉条	17.12	—	54	红薯粉条	16.29	—
15	红薯粉条	18.80	—	35	薯制粉条	19.28	—	55	粉丝	21.15	—
16	柳絮粉条	18.76	29.76	36	红薯粉条	17.96	—	56	龙口粉丝	19.61	—
17	红薯粉条	17.47	31.22	37	正宗山芋粉丝	20.18	—	57	红薯粉条	17.76	—
18	红薯粉条	20.36	32.47	38	粉丝	19.35	—	58	红薯粉条	20.47	—
19	绿豆粉丝	18.59	—	39	山芋粉丝	19.66	—	59	龙口粉丝	20.92	—
20	粉条	16.28	30.36	40	红薯粉丝	17.46	—	60	龙口粉丝	18.84	—

3 结 论

目前市场上粉丝掺假的情况仍较为普遍,最常见的是用木薯淀粉来制作粉丝,以此来充当红薯、马铃薯及豆类粉丝。掺假的主要原因在于木薯不仅价格便宜同时淀粉出粉率高,因此可以用低廉的价格即可生产出大量的淀粉,以此来制备更多的粉丝。这种使用低廉的原材料来降低生产成本的现象,虽然不会引发食品安全问题,但可能会产生食品营养缺失等问题。更有严重者会为了粉丝的品质,添加一些增筋类化学品、防腐剂,这就会引发一些食品安全问题。为了能更好地维护消费者的权益,不仅需要建立更加灵敏、实用的检测方法,也应进一步加强抽样检验工作,更全面了解粉丝制品的掺假情况。

本研究针对粉丝制作中常见的 6 种原料红薯、木薯、绿豆、豌豆、马铃薯、玉米,成功建立了从粉丝中检测这 6 种植物源性成分的实时荧光定量 PCR 检测方法,针对这 6 种成分设计特异性引物和探针,并对其灵敏度进行验证。结果显示,本文所设计的 6 对引物、探针特异性良好,无相互干扰,同时通过对 60 种市售粉丝样品的检测,也进一步验证了该方法的实用性。但是在针对多样本的检测,本文所设计的单重实时荧光定量 PCR 耗时费力,同时不同样品孔间也会存在这样的差异。为了解决这一不足之处,课题组将在以后的研究中应用多重实时荧光定量 PCR 方法,这将有助于快速测量多个目标,大大节省相关试剂与耗材的用量,节省样品处理时间。

[参 考 文 献]

[1] 杨杰,高洁,苗虹. 论食品欺诈和食品掺假[J]. 食品与发酵

工业,2015,41(12):235-240.
[2] Momtaz M, Bubli S Y, Khan M S. Mechanisms and health aspects of food adulteration: a comprehensive review[J]. Foods,2023,12(1):199.
[3] Sheikha A F. DNAFoil: novel technology for the rapid detection of food adulteration[J]. Trends in Food Science & Technology,2019,86:544-552.
[4] He Y, Bai X, Xiao Q, et al. Detection of adulteration in food based on nondestructive analysis techniques: a review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, 61(13/14/15/16):2351-2371.
[5] Bansal S, Singh A, Mangal M, et al. Food adulteration: sources, health risks, and detection methods[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017, 57 (4/5/6): 1174-1189.
[6] 郭明恩,欧宗瑛,孙祖莉,等. 基于显微图像模式识别的粉丝品质检测研究[J]. 大连理工大学学报, 2007, 47 (3): 378-382.
[7] 潘牧,吕都,刘辉,等. 基于近红外光谱技术快速检测贵州红薯粉丝中薯粉含量[J]. 食品科技,2022,47(4):316-321.
[8] 陈嘉,高丽,叶发银,等. 基于近红外光谱与支持向量机的甘薯粉丝掺假快速检测[J]. 食品与发酵工业,2019,45(11): 211-218.
[9] 栗智平,耿金培,王洪来,等. 粉丝中植物源性成分的 PCR 定性检测方法研究[J]. 检验检疫科学,2004,14(5):7-11.
[10] Li J, Li J, Liu R, et al. Identification of eleven meat species in foodstuff by a hexaplex real-time PCR with melting curve analysis[J]. Food Control,2020,121(10):107599.
[11] Oliveira A, Thomaz-Soccol V, Tadar-Sfeir M Z, et al. Preventing chagas disease: a new RT-qPCR method for rapid and specific quantification of viable trypanosoma cruzi for food safety [J]. Food Research Internation,2021,144(3):110368.
[12] Giglioti R, Polli H, Azevedo B T, et al. Detection and quantification of adulteration in milk and dairy products: a novel and sensitive qPCR-based method [J]. Food Chemistry: Molecular Sciences,2022,4:100074.
[13] Kaltenbrunner M, Hochegger R, Cichan-Markl M. Development and validation of a fallow deer (Dama dama)-specific TaqMan real-time PCR assay for the detection of food

- adulteration[J]. Food Chemistry, 2018, 243: 82-90.
- [14] Lyu C, Lu F, Shi Z, et al. Detection of group A rotavirus in oyster tissues by in situ capture RT-qPCR[J]. Food Control, 2021, 127(1): 108161.
- [15] Kong L, Lu Z, Tao Y, et al. Development of a rapid detection method for real-time fluorescent quantitative PCR of *salmonella* spp and *salmonella enteritidis* in ready-to-eat fruits and vegetables[J]. LWT-Food Science & Technology, 2021, 149: 111837.
- [16] Kim E, Kim H B, Yang S M, et al. Real-time PCR assay for detecting *lactobacillus plantarum* group using species/subspecies-specific genes identified by comparative genomics [J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 138(1): 110789.
- [17] Duret M, Zhang X, Bekval L, et al. Use of a RT-qPCR method to estimate mycorrhization intensity and symbiosis vitality in grapevine plants inoculated with *rhizophagus irregularis*[J]. Plants (Basel) 2022, 11(23): 3237.
- [18] He Y, Zhong Y, Bao Z, et al. Evaluation of angelica decursiva reference genes under various stimuli for RT-qPCR data normalization[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 18993.
- [19] Li Q, Sun Y, Guo H, et al. Quality control of the traditional chinese medicine ruyi jinhuang powder based on high-throughput sequencing and real-time PCR [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 8261.
- [20] Kim E, Kim D, Yang S M, et al. Multiplex SYBR Green real-time PCR for *lactobacillus acidophilus* group species targeting biomarker genes revealed by a pangenome approach [J]. Microbiological Research, 2022, 259: 127013.
- [21] Zhang T, Jian C, Wang C, et al. Establishment and application of real-time fluorescence-based quantitative PCR for detection of infectious laryngotracheitis virus using SYBR Green I [J]. Poultryence, 2018, 97(11): 3854-3859.
- [22] Roumani R, Velazouez J B, Maestu A G, et al. Real-time PCR, and recombinase polymerase amplification combined with SYBR Green I for naked-eye detection, along with propidium monoazide (PMA) for the detection of viable patulin-producing fungi in apples and by-products[J]. Food Control, 2023, 144: 109347.
- [23] Xiang D, Zhou G, Luo M, et al. Dual color fluorescence quantitative detection of specific single-stranded DNA with molecular beacons and nucleic acid dye SYBR Green I [J]. Analyst, 2012, 137(16): 3787-3793.
- [24] Kim S Y, Kim M J, Jung S K, et al. Development of a fast real-time PCR assay based on TaqMan probe for identification of edible rice grasshopper (*Oxya chinensis*) in processed food products [J]. Food Research International, 2019, 116: 441-446.
- [25] Liu C F, Shi X P, Chen Y, et al. Rapid diagnosis of sepsis with TaqMan-based multiplex real-time PCR[J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2017, 32: e22256.
- [26] Martínez-Rvviño D A, Moreno-Treviño M G, Salinas-Santander M, et al. Rapid detection of the GSTM3 A/B polymorphism using Real-time PCR with TaqMan® probes [J]. Archives of Medical Research, 2016, 47(2): 142-145.
- [27] Okai C, Itani Y, Furuta A, et al. Rapid identification and quantification of *lactobacillus rhamnosus*-targeting real-time PCR using a TaqMan probe[J]. Japanese Journal of Infectious Diseases, 2019, 72(5): 323-325.
- [28] 孙冰清, 姜芹, 张文刚, 等. 基于 qPCR 检测金黄色葡萄球菌 3 种肠毒素基因的方法研究[J]. 食品质量安全检测学报, 2020, 11(9): 2798-2805.
- [29] 郭献榜, 简国华. 马铃薯粉丝制作技术[J]. 农村新技术, 2008(20): 53.
- [30] 王爱迪, 冉晓华, 陈磊, 等. 超强磁性微球提取深加工转基因食品 DNA[J]. 食品科学, 2013, 34(10): 122-125.
- [31] Smith D S, Maxwell P W. Use of quantitative PCR to evaluate several methods for extracting DNA from corn flour and cornstarch[J]. Food Control, 2007, 18(3): 236-242.

(责任编辑 闫杏丽)