国家标准

《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量 PCR 法 第 9 部分：鹅 DNA 检测方法》

（征求意见稿）

编制说明

《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量 PCR 法 第 9 部分：鹅 DNA 检测方法》标准起草组

2026 年 3 月

目录

（一）工作简况.....3
（二）国家标准编制原则、主要内容（如技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等）及其确定依据（包括试验、统计数据），修订国家标准时，还包括修订前后技术内容的对比.....6
（三）主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益.....8
（四）与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况.....21
（五）以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因.....21
（六）与有关的现行法律、行政法规及相关标准的关系.....21
（七）重大分歧意见的处理经过和依据.....21
（八）涉及专利的有关说明.....22
（九）实施国家标准的要求，以及织措施、技术措施、过渡期和实施日期建议等措施建议.....22
（十）其他应予说明的事项.....23

国家标准《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量 PCR 法
第 9 部分：鹅 DNA 检测方法》编制说明

（一）工作简况，包括任务来源、协作单位、起草过程、国家标准主要起草人及其所做的工作等

1、任务来源

本标准根据国标委公布的 2025 年第 一 批国家标准计划项目（生检标 [2025]31号），本项目计划编号为 20253192-Z-469 ，名称为 动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量PCR法 第9部分：鹅DNA检测方法 。

本标准由全国生化检测标准化技术委员会（SAC/TC 387）提出并归口。

本标准由 中国测试技术研究院、四川省食品检验研究院等单位 联合起草。

2、目的和意义

随着禽肉消费需求持续增长，近年来鹅肉及鹅副产品掺假问题日益凸显。我国是全球最大的鹅类养殖国，占全球总量的90%以上，但市场乱象频发：部分商家以鸭肉等低价禽肉冒充高价鹅肉制品，或在鹅肝酱中掺杂鸭肝、鸡肝成分，利用调味工艺掩盖品质差异，严重扰乱市场秩序。据欧盟市场监督局（RASFF）统计，2023年全球食品欺诈事件中，禽类掺假占比达32%。我国作为鹅肉生产和消费大国（2024年产量约168万吨），亟需统一、权威的检测方法以保障市场秩序和消费者权益。目前动物源成分掺假主要包括肉类食品掺假和动物饲料掺假等，动物源成分掺假已经成为产品掺假中最亟待解决的问题。肉及肉制品源性成分检测已经成为全世界范围内关注度较高的热点问题。动物源性成分检测对于防范肉类制品掺伪掺假，保障食品质量安全，保护消费者利益，维护市场贸易秩序，促进产业健康发展等具有重要意义。

依据《中华人民共和国食品安全法》、《中华人民共和国标准化法》及《“十四五”市场监管现代化规划》，需建立与国际接轨的检测标准体系，强化技术支撑能力。中国参与制定的ISO/TS 20224系列标准（如鹅DNA检测方法ISO/TS 20224-9: 2022）已在全球应用，但国内标准体系尚未完全对接。国家推荐性标准的制定可促进与国际标准的互认，避免因检测方法差异引发的贸易壁垒，助力“一带一路”战略下的出口合规性。ISO/TS 20224-9: 2022（国际标准）已通过12家实验室协同验证（假阳性率0%、假阴性率1.4%），但尚未转化为国家标准。欧盟、澳大利亚等地区已采用该标准，转化后可提升我国检测结果的国际认可度。制定国家标准将规范检测流程，可减少企业因检测误差导致的召回损失，提升出口产品合规性，保障清真食品认证、宗教饮食禁忌群体的权益，维护社会公平。通过精准检测减少无效资源消耗，助力绿色供应链建设，促进鹅肉制品国际贸易。

随着物种鉴别技术飞速发展，动物源性成分的检测方法也逐渐建立起来。国内外分子生物学技术已经多样化且成熟，实时荧光PCR与毛细管电泳法、RPA-Exo技术、MALDI-TOF MS技术等都能用于鹅源性成分的鉴别。荧光检测技术由于其快速、准确、灵敏度高，越来越多地应用于肉制品真实性日常风险监测中。针对目前我国畜禽肉类食品及饲料市场中畜禽源性成分检测的迫切需要，本标准规定了一种实时聚合酶链式反应（real-time PCR）方法，用于定性检测来自动物源性制品中的鹅特异性DNA。该方法需从相应基质中提取足量可进行PCR扩增的DNA，适用于中国家鹅（*Anser cygnoides* domesticus）与欧洲家鹅（*Anser anser* domesticus）来源的鹅源性成分检测。目前对于鹅源性成分检测多是针对线粒体基因多拷贝的目的片段进行检测，但线粒体基因表达不完整，只能在某些细胞器内部完成表达。本方法目标序列为四川白鹅（*Anser cygnoides*）的部分基因组片段（GenBank登录号NW_025927981.1），其以单拷贝的形式存在于单个基因组中。本方法检出限为5拷贝/反应，在此浓度（$LOD_{95\%}$）下的置信度≥95%，检测结果准确性高、重复性好，对市售肉制品样本的检测验证了该方法的实用价值，适用于动物源性制品中鹅源性成分的鉴定工作，为动物源性制品质量的控制提供了有效的分子生物学检测方法。

3、协作单位

本标准由中国测试技术研究院、四川省食品检验研究院、中国质量检验检测科学研究院、上海海关动植物与食品检验检疫技术中心、甘肃省商业科技研究所有限公司、苏州百源基因技术有限公司、成都纺织高等专科学校、甘肃中商食品质量检验检测有限公司、四川源坤国科质量检验有限公司共同起草。

4、标准编制过程和主要工作过程

（1）2025年4月至2025年5月，标准起草单位组织相关技术人员对《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量PCR法 第9部分：鹅DNA检测方法》标准项目进行了预研，课题组成员广泛收集了国内外鹅源性标准、文献，了解了国内外相关技术动态，并且明确了工作思路和进程安排。

（2）2025年5月标准起草单位提交了项目建议书以及国家标准草案。

（3）2025年7月收到全国生化检测标准化技术委员会31号文件《关于下达2025年第一批推荐性国家标准计划的通知》以及该标委会转发的国标委发[2025]34号《国家标准委关于下达2025年第六批国家标准制修订计划的通知》立项文件，计划编号：20253192-Z-469。

（4）2025 年 12 月，起草小组对全国生化检测标准化技术委员会汇报了《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量 PCR 法 第 9 部分：鹅 DNA 检测方法》标准的起草工作，

与会专家就《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量 PCR 法 第 9 部分：鹅 DNA 检测方法》标准（草案）进行了讨论，提出了宝贵的意见和建议。标准起草小组根据专家意见进行了修改和完善。

（5）2025 年 12 月至 2026 年 1 月，进行《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量 PCR 法 第 9 部分：鹅 DNA 检测方法》标准的起草研制工作。完成了《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量 PCR 法 第 9 部分：鹅 DNA 检测方法》标准的编制说明，并对全国生化检测标准化技术委员会汇报了《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量 PCR 法 第 9 部分：鹅 DNA 检测方法》标准（草案）进一步完善和修改情况，向全国生化检测标准化技术委员会提交了《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量 PCR 法 第 9 部分：鹅 DNA 检测方法》标准（征求意见稿）和编制说明。

（6）2026 年 3 月 13 日，起草组开会对全国生化检测标准化技术委员会汇报了《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量 PCR 法 第 9 部分：鹅 DNA 检测方法》草案进一步完善和修改情况，随后向全国生化检测标准化技术委员会提交了标准（征求意见稿）和编制说明。

5、国家标准主要起草人及其所做的工作

序号	起草人姓名	起草单位	分工
1	易艳	中国测试技术研究院	负责标准文件的翻译、编写、修改
2	张丽平	成都纺织高等专科学校	标准工作组组长，负责标准整体工作进度
3	周李华	中国测试技术研究院	各阶段性文件的完整性、统一性、齐全性校对、审核
4	吕鑫	四川省食品检验研究院	负责与国际标准差异对比
5	余琳	四川省食品检验研究院	负责编制说明编写、修改
6	余晓琴	四川省食品检验研究院	负责设计实验方案。
7	马丽侠	中国测试技术研究院	负责文件完整性审核
8	潘良文	上海海关动植物与食品检验检疫技术中心	全文关键内容核验
9	唐轶君	四川省食品检验研究院	负责实验室内关键指标测定分析。
10	李晶	四川省食品检验研究院	负责实验室内关键指标测定分析。
11	薛二奎	四川源坤国科质量检验有限公司	负责第 1-6 节的校对、审核
12	蔡一村	上海海关动植物与食品检验检疫技术中心	组织实验室间验证。
13	康超	四川源坤国科质量检验有限公司	负责第 1-6 节的校对、审核
14	陈学强	四川省食品检验研究院	负责各阶段文件的完整性、统一性及协调性审核。
15	张彪	四川省食品检验研究院	实验室间验证数据汇总
16	姜展樾	中国测试技术研究院	负责第 7-8 节的校对审核

序号	起草人姓名	起草单位	分工
17	迟惟之	四川省食品检验研究院	负责第 7-8 节的校对
18	宁鑫思	四川省食品检验研究院	负责第 9-10 节的校对审核
19	刘畅	四川省食品检验研究院	负责第 9-10 节的校对审核
20	张爱铃	中国测试技术研究院	收集各实验室间方法验证的试验数据，并汇总分析
21	车团结	苏州百源基因技术有限公司	收集各实验室间方法验证的试验数据，并汇总分析
22	何海宁	甘肃省商业科技研究有限公司	文本格式检查负责
23	蒋子敬	中国测试技术研究院	编制说明格式检查负责
24	于宁	中国质量检验检测科学研究院	附录 A 的校对审核
25	车妍	苏州百源基因技术有限公司	附录 A 的校对审核
26	杨光瑞	甘肃中商食品质量检验检测有限公司	反馈意见收集整理核验

（二）国家标准编制原则、主要内容（如技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等）及其确定依据（包括试验、统计数据），修订国家标准时，还包括修订前后技术内容的对比

1、标准编制原则

本标准的编制严格遵循GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》和GB/T 1.2-2020《标准化工作导则 第2部分：以ISO/IEC标准化文件为基础的标准化文件起草规则》的要求，确保标准结构的规范性、内容的严谨性和格式的统一性。同时，参照了GB/T 6379系列标准关于测量方法准确度评价的原则，为本标准方法的可靠性验证提供理论支撑。

本标准在技术上主要参考并全面采纳了国际标准ISO/TS 20224-9: 2022《Molecular biomarker analysis — Detection of animal-derived materials in foodstuffs and feedstuffs by real-time PCR Part 9: Goose DNA detection method》的核心技术内容。在此基础上，结合我国核酸定量检测领域的常用技术实践和实验室常规条件，进行了适应性转化和本土化编制，确保国际先进检测方法在我国的有效应用。制定本标准时遵循以下原则：

（1）科学性与先进性原则：充分吸收国际先进标准的技术精髓，明确规定了鹅特异性DNA序列的实时荧光PCR检测方法，包括引物探针序列、反应体系、循环条件及严格的质控要求。对核酸提取、方法验证、不确定度评估等关键环节提出了科学要求，确保了方法在技术上的先进性和结果的科学性。

（2）适用性与可操作性原则：紧密结合我国检测实验室的仪器设备、试剂耗材等实际情况，对方法描述进行了细化和明确。例如，在试剂部分注明可使用商品化预混液，在

仪器部分强调需进行基质特异性验证，使标准易于理解和操作，便于在行业内推广实施。

（3）协调性与规范性原则：确保本标准与我国现行的法律法规、食品安全标准及相关检测标准（如核酸提取通用要求）协调一致。标准的结构编排、术语定义、条款表述等均严格遵循国家标准编写规范，引用了ISO 21571、ISO 20813等相关国际标准，保证了标准的系统性和规范性。

（4）服务产业与促进发展原则：本标准的制定直接面向市场监管、产品认证、进出口贸易及企业质量控制的实际需求。通过提供统一、灵敏、特异的鹅源性成分检测方法，有助于提升动物源性制品真实性鉴定的技术水平，规范市场秩序，保护消费者权益，促进相关产业健康、高质量发展，并为未来技术更新预留适当空间。

2、确定国家标准主要内容（如技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等）及其确定依据（包括试验、统计数据）

2.1 标准主要内容

本标准规定了使用实时荧光定量PCR（qPCR）方法定性检测动物源性制品中鹅源性成分的技术要求，主要包括方法的适用范围、术语定义、试验方法（DNA提取、实时荧光PCR扩增）、质量控制、结果判定与表述等内容。

2.2 标准确定依据

（1）技术原理可靠性

本标准基于实时荧光定量PCR（TaqMan探针法）技术。该技术通过在PCR反应体系中加入针对鹅基因组特异性序列的引物和荧光标记探针，在扩增过程中利用TaqDNA聚合酶的5'→3'外切酶活性水解探针，释放报告荧光信号，从而实现对靶标DNA序列的实时、特异性检测。该方法具有封闭操作、灵敏度高、特异性强等优点，已被国际广泛认可并应用于食品物种鉴别、病原体检测等领域。针对鹅源性成分，选择高度特异的单拷贝核基因序列作为靶标，确保了检测结果的准确性和唯一性。

（2）实验数据支撑

本标准所采用的检测方法及其核心参数（如引物/探针序列、反应体系、循环条件）均基于严谨的实验研究和科学数据确定。选取四川白鹅品种（*Anser cygnoide*s isolate SCWG-2014）部分基因组片段（GenBank登录号NW_025927981.1）作为PCR靶标，并据此设计了高特异性的引物（鹅-121bp-F/R）和探针（鹅-121bp-P）。实验数据证实，该引物探针组合能特异性识别目标鹅源性DNA，与其他常见家禽、哺乳动物及真核生物无交叉反应。方法经优化，其检测灵敏度为5拷贝/反应，能够满足实际样品中痕量鹅源性成分的检测需

求。

（3）验证数据支撑

本标准方法的核心技术内容等同采纳了国际标准ISO/TS 20224-9: 2022，该国际标准本身经过了严格的实验室间验证和科学评估。验证数据表明，该方法对不同基质中的鹅源性成分均具有良好的特异性和稳定性，检出限（5拷贝/反应）的性能指标稳定可靠。通过引用ISO 20813、ISO 24276等标准中对PCR对照、质控和结果解释的通用要求，进一步保证了方法在实际应用中的规范性和结果的可比性。

（4）实际检测需求考量

鹅源性成分的检测是动物源性制品真实性鉴定、物种标识符合性验证、过敏原标识以及市场监管的关键环节。传统的形态学、免疫学方法难以应对深加工产品或混合基质。本标准建立的实时荧光PCR方法，针对鹅特异性DNA序列，不受产品加工工艺影响，能够有效鉴别出制品中是否含有鹅源性成分。方法操作流程清晰，对实验室设备和人员技术要求适中，检测周期短，适合在常规检测实验室推广应用，可有效支撑进出口检验检疫、市场监督抽查、企业原料控制等多场景下的检测需求，为维护市场秩序和保障消费者知情权提供可靠的技术手段。

（三）主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益

1、实验材料及仪器

1.1 试剂

引物和探针序列信息详见表 1。

表 1 实时荧光 PCR 检测所用荧光引物和探针序列

检测基因	引物和探针序列	PCR 中的终浓度
四川白鹅（*Anser cygnoides* isolate SCWG-2014 品种）未定位基因组支架（GenBank 登录号 NW_025927981.1）中的特异性序列[a]		
鹅-121bp-F	5′-ACGAGGATAGGTTGTGACAGC-3′	400 nmol/L
鹅-121bp-R	5′-GAATCTCTGTGTCGTCTTCTCTATATG-3′	400 nmol/L
鹅-121bp-P	5′-[FAM]-ACTCTGTTCAGCCTTGCGAAGACCTTATGC-[TAMRA][b]-3	200 nmol/L

[a] PCR 产物=113884-ACGAGGATAG GTTGACAG CTGACTGT TCAGCCTTGC GAGACCTTA TGCTCTAC AATTACCTAA TTGGAGGATA GAGAATTATA GAATCATA GAGAGAGACGA CACAGATTC-114004-NW_025927981.1。

[b] FAM：6-羧基荧光素，TAMRA：6-羧基四甲基罗丹明。

1.2 仪器

实时荧光 PCR 仪，核酸蛋白分析仪或紫外分光光度计，离心机，微量移液器，涡旋振荡器，天平。

2、实验方法

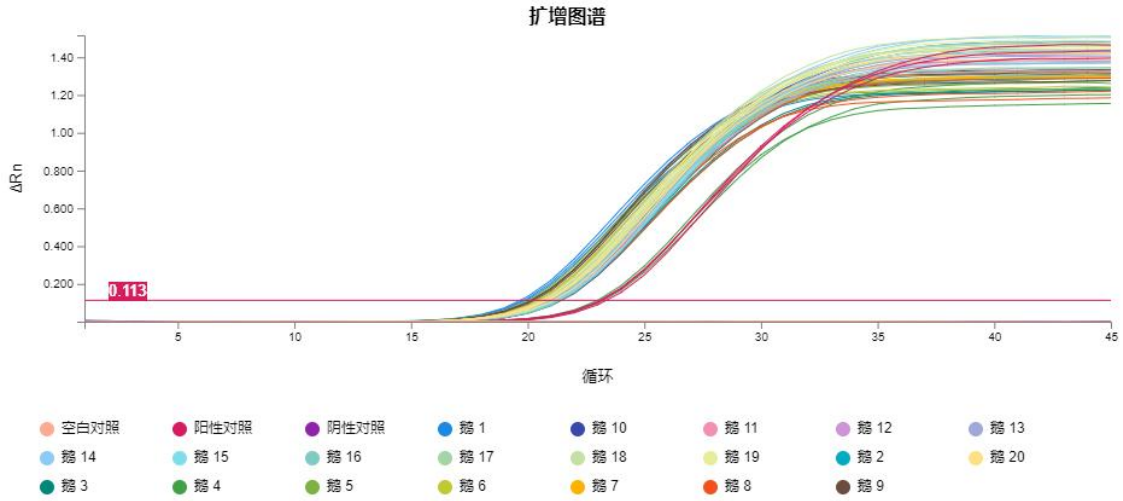
2.1 指标的建立

本验证方案依据 SNT 5326.4-2023《进出口食品化妆品专业分析方法验证指南 第 4 部分：分子生物学方法》和 ISO/TS 20224-9: 2022《Molecular biomarker analysis — Detection of animal-derived materials in foodstuffs and feedstuffs by real-time PCR Part 9: Goose DNA detection method》建立特异性（包容性、排他性）、扩增效率、不同含量掺伪样品准确性、正确度、灵敏度、稳定性关键指标的测定，每个样品进行三个平行试验。

2.2 关键指标的测定

2.2.1 引物探针特异性检测

随机选取鹅（中国家鹅（*Anser cygnoides* domesticus）与欧洲家鹅（*Anser anser* domesticus））类型样本 30 个进行荧光定量 PCR 扩增验证本方法的包容性。随机选取鸡、猪、黄牛、水牛、牦牛、山羊、绵羊、兔、狗和鸭等类型样本 20 个进行荧光定量 PCR 扩增验证本方法的排他性。结果显示（图 1）：四川白鹅（*Anser cygnoides*）的部分基因组片段（GenBank 登录号 NW_025927981.1）的引物探针仅对鹅具有扩增曲线，其他物种无交叉反应。



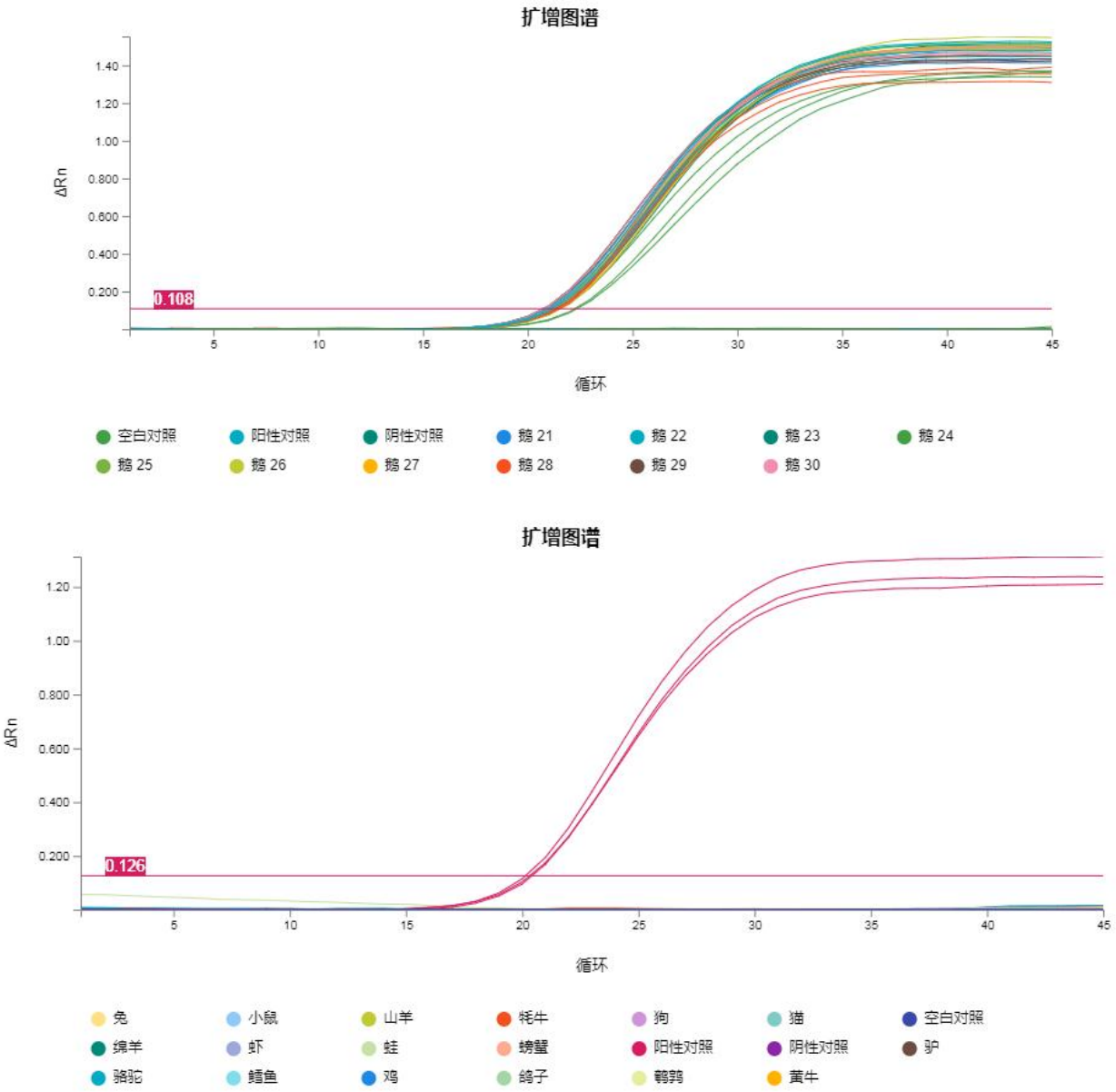


图 1 鹅源性引物探针特异性检测结果

2.2.2 引物探针扩增效率检测

对鹅模板 DNA 进行十倍梯度稀释，作为反应模板进行扩增反应，确定模板 DNA 浓度范围与 Ct 值线性关系，同时根据公式，计算检测方法的扩增效率，并建立本方法的判定原则。线性范围内 R^2＞0.99，扩增效率在 90%~110%之间时，可满足检测要求。

扩增效率计算公式为：$E = \frac{lg\,(\text{稀释倍数})}{lg2} \div \left|\text{标曲斜率}\right| \times 100\%$

结果显示（图 2）：四川白鹅（*Anser cygnoides*）的部分基因组片段（GenBank 登录号 NW_025927981.1）引物探针扩增效率为 95.574%，R^2=0.999，后续实验进一步对该引物探针进行检测性能分析。

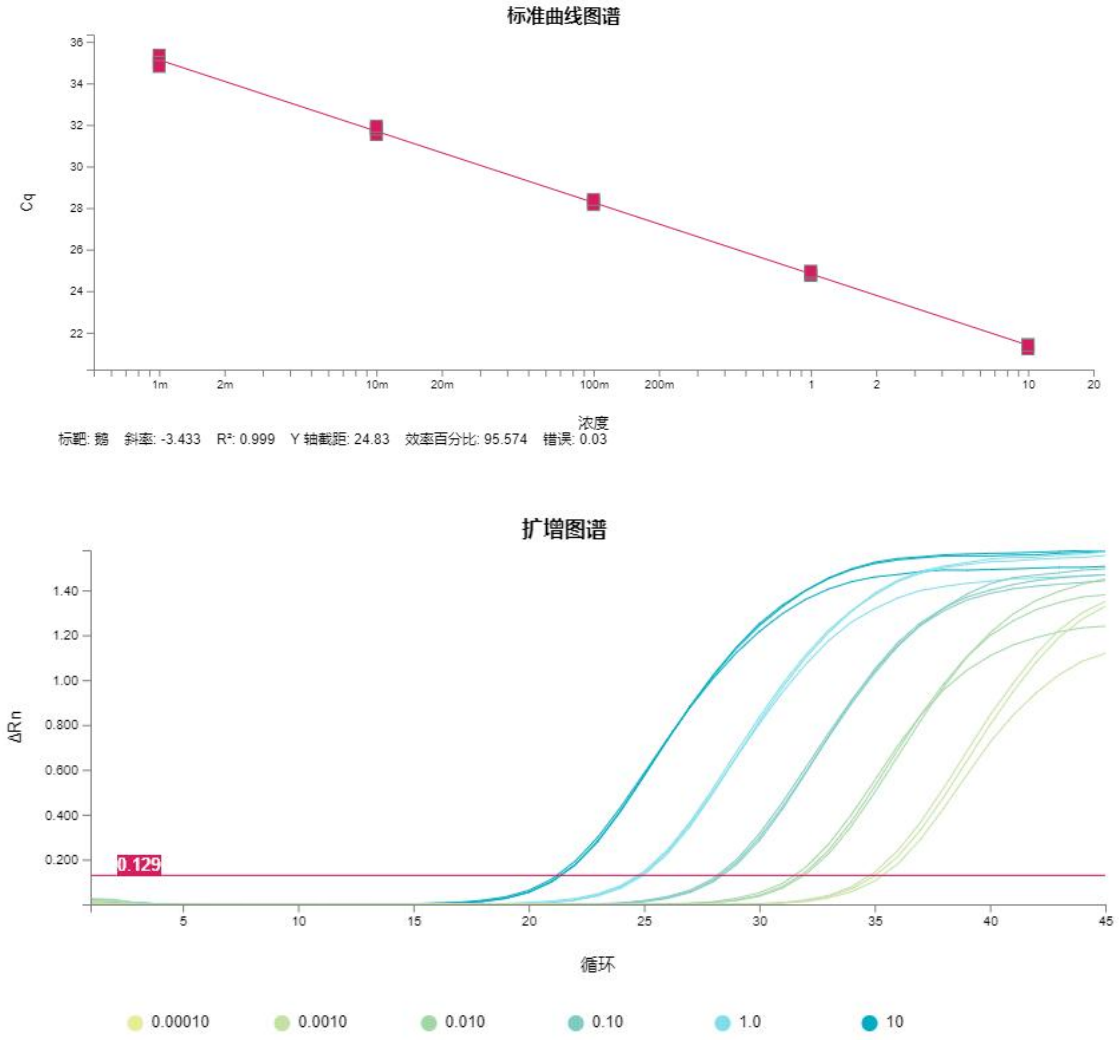


图 2 鹅源性引物探针扩增效率检测结果

2.2.3 不同含量掺伪样品准确性检测

将鹅源性样品以 100%、10%、1%、0.1%四个水平掺入牛源性样品中，充分混匀后，提取基因组 DNA，作为检测模板，使用鹅源性成分检测体系进行检测。

实时荧光 PCR 结果显示（图 3-1），在生鲜样本中，牛源性样品中掺入 100%、10%、1%、0.1%的鹅源性样品时，均能准确检测，Ct 值均小于 30 个循环。因此为提高检测效率并与国内标准保持一致，后续实验验证将 PCR 反应程序优化为 40 个循环。

实时荧光 PCR 结果显示（图 3-2），在深加工样本中，牛源性样品中掺入 100%、10%、的鹅源性样品时，均能准确检测。而在 1%的比例掺入实验时，相应 Ct 值接近 35 个循环，在 0.1%的比例掺入实验时，相应 Ct 值超过 35 个循环。

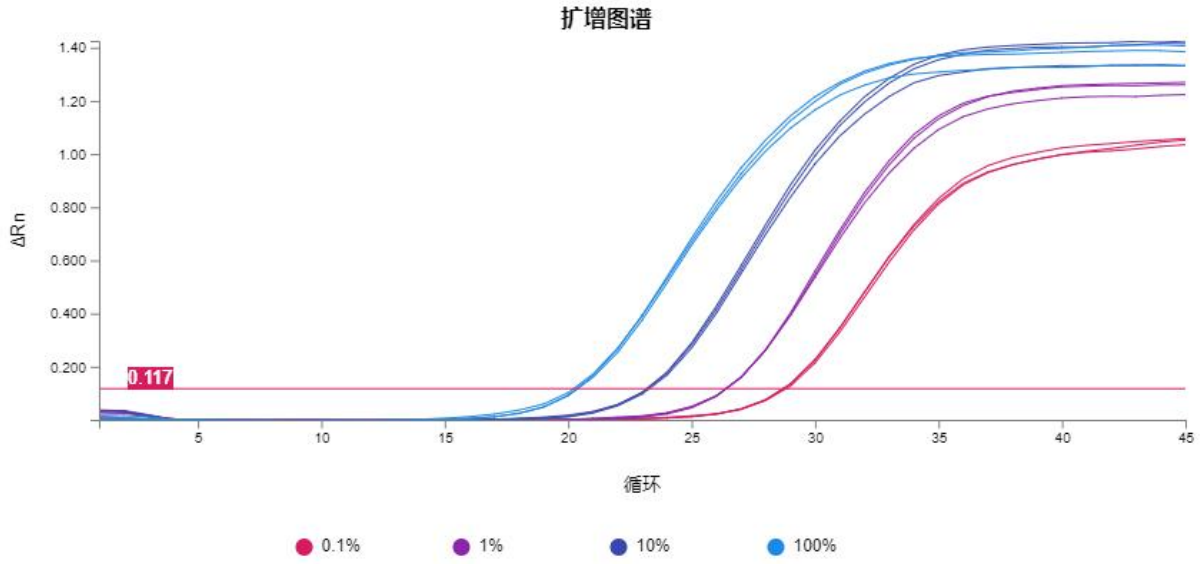


图 3-1 鹅源性（生鲜）不同含量掺伪样品准确性检测结果

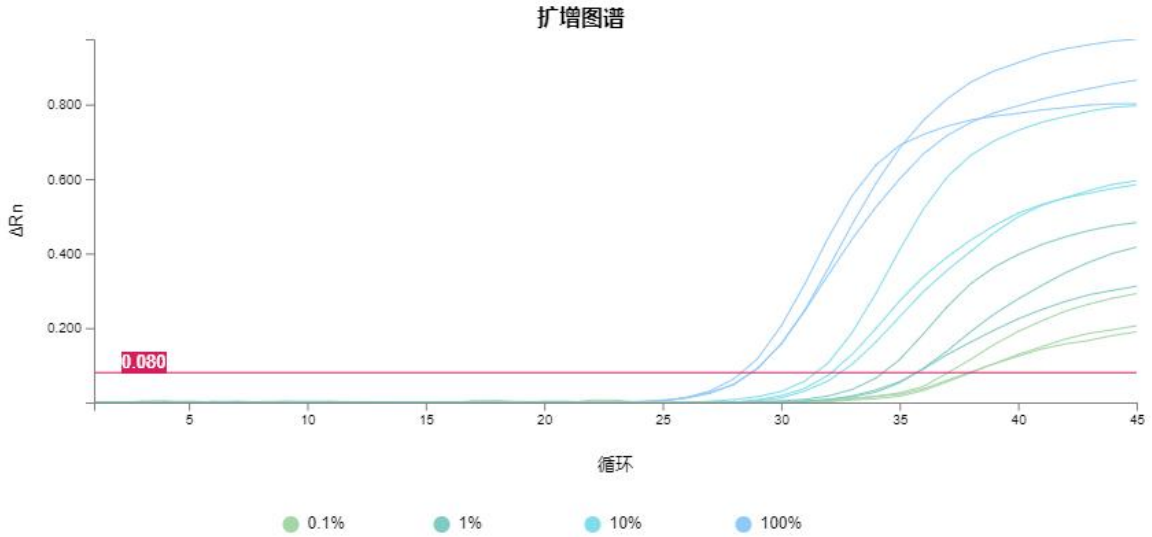


图 3-2 鹅源性（深加工食品）不同含量掺伪样品准确性检测结果

2.2.4 正确度（相对正确度 RT）检测

用建立的方法对市场采购的 60 份鹅相关产品（其中阳性样本占比 30%）进行鹅源性成分检测分析，分别进行 DNA 提取，依照荧光定量 PCR 法的反应体系进行实验，验证方法的正确度。统计结果显示（表 2）：18 份阳性参考样品中，18 份检测结果为阳性，0 份检测结果为阴性；42 份阴性参考样品中，0 份检测结果为阳性，42 份检测结果为阴性。按照下列公式计算相对正确度，RT=100%，结果可靠，公式如下：

$$RT = \frac{TP + TN}{TP + FP + TN + FN}$$

表 2 60 批样品鹅源性统计结果

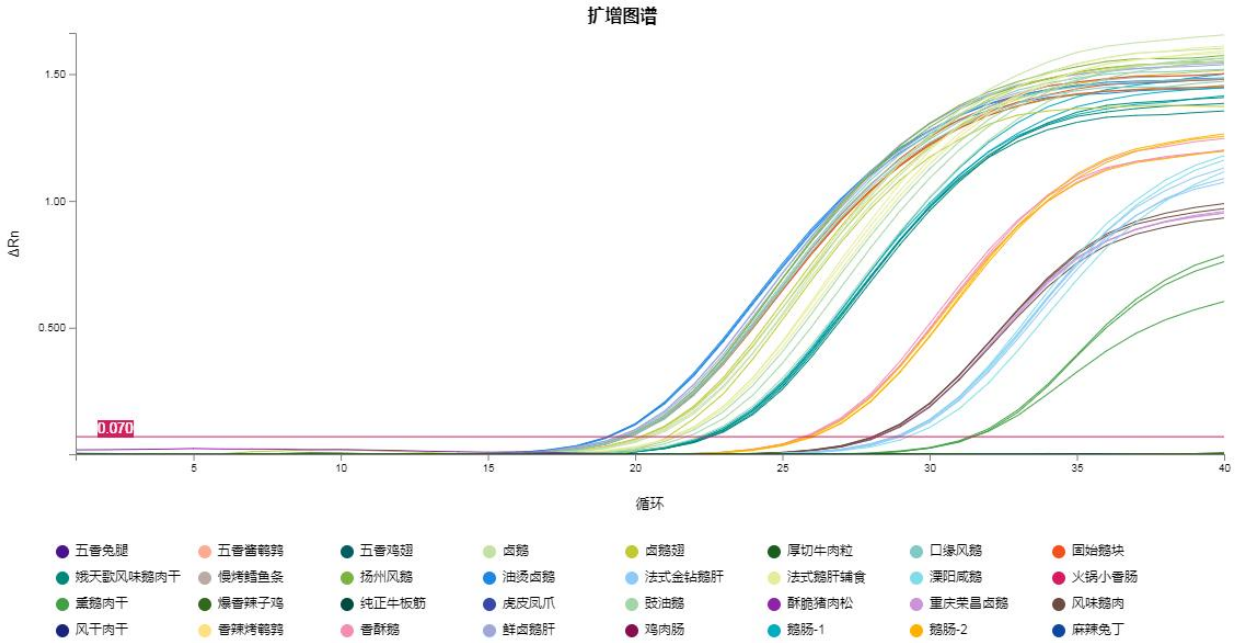
项目		样品真实状态	
		阳性参考样品 D+	阴性参考样品 D-
检测结果	阳性结果 T+	18（TP）	0（FP）
	阴性结果 T-	0（FN）	42（TN）
注：D+、D-表示样品的真实状态，其中 D+表示阳性参考样品，D-表示阴性参考样品；T+表示阳性检测结果，T- 表示阴性检测结果，TP 表示真阳性（T+/D+），FP 表示假阳性（T+/D-），FN 表示假阴性（T-/D+），TN 表示真阴性（T-/D-）。			

60 批样品具体检测结果及扩增曲线见表 3 和图 4。

表 3 60 批样品鹅源性检测结果

	样品名称	**结果**	**样品名称**	**结果**
阳性样品	油烫卤鹅	检出	卤鹅翅	检出
	鲜卤鹅肝	检出	鹅肠-2	检出
	重庆荣昌卤鹅	检出	固始鹅块	检出
	风味鹅肉	检出	口缘风鹅	检出
	香酥鹅	检出	溧阳咸鹅	检出
	鹅肠-1	检出	法式金钻鹅肝	检出
	娥天歌风味鹅肉干	检出	豉油鹅	检出
	熏鹅肉干	检出	卤鹅	检出
	扬州风鹅	检出	法式鹅肝辅食	检出
阴性样品	香辣烤鹌鹑	未检出	咖喱牛肉	未检出
	五香酱鹌鹑	未检出	红烧羊脚	未检出
	慢烤鳕鱼条	未检出	牛蹄筋	未检出
	鸡肉肠	未检出	黄金翅	未检出
	虎皮凤爪	未检出	去皮鸡腿	未检出
	酥脆猪肉松	未检出	牛肉粒	未检出
	火锅小香肠	未检出	轻卤牛腱肉	未检出
	五香兔腿	未检出	马五牛肉	未检出
	风干肉干	未检出	脆皮鸡拐	未检出
	麻辣兔丁	未检出	芝士猪肉脯	未检出
	五香鸡翅	未检出	酱猪肉	未检出
	纯正牛板筋	未检出	原味手撕风干肉	未检出
	厚切牛肉粒	未检出	香酥肉	未检出
	爆香辣子鸡	未检出	猪皮晶	未检出
	手撕牛肉干	未检出	风干鸡胸肉	未检出
	牙签牛肉	未检出	低脂鸡肉肠	未检出

	风干牛肉	未检出	麻辣兔腿	未检出
	麻辣香肠	未检出	慢烤鸡胸肉条	未检出
	猪肉脯	未检出	玉米鸡肉饼	未检出
	去骨凤爪	未检出	兔肉干	未检出
	干巴牛肉	未检出	麻辣冷吃兔	未检出



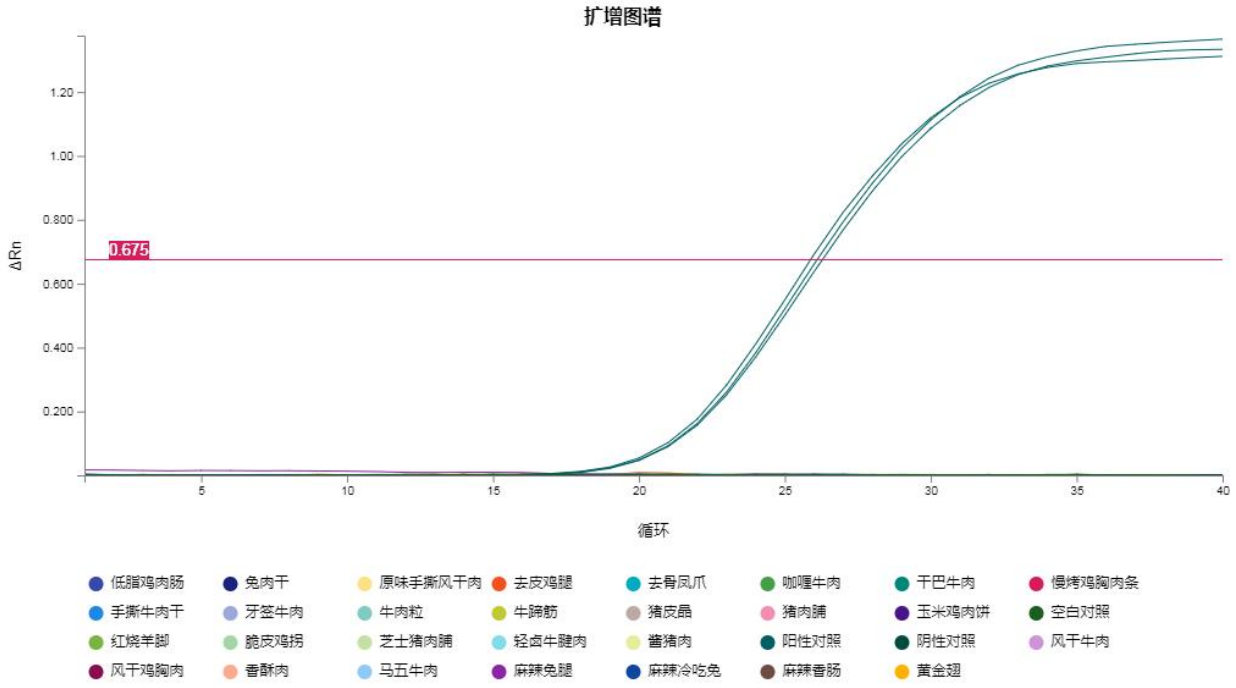


图 4 60 批样品鹅源性扩增曲线

2.2.5 引物探针灵敏度检测

该方法的检出限（$LOD_{95\%}$）为 5 个 DNA 拷贝。将鹅的 DNA 靶序列合成后克隆到 pUC57 载体中（长度 2710 bp，GenBank/EMBL 登录号 Y14837），稀释至 1 拷贝/μL，使用鹅源性成分检测体系进行灵敏度检测，进行了六次重复测定。实时荧光 PCR 结果显示（图 5），六次重复测定均有 S 型扩增曲线，且 Ct 值在 35 左右，5 拷贝的每个 PCR 反应结果均为阳性。

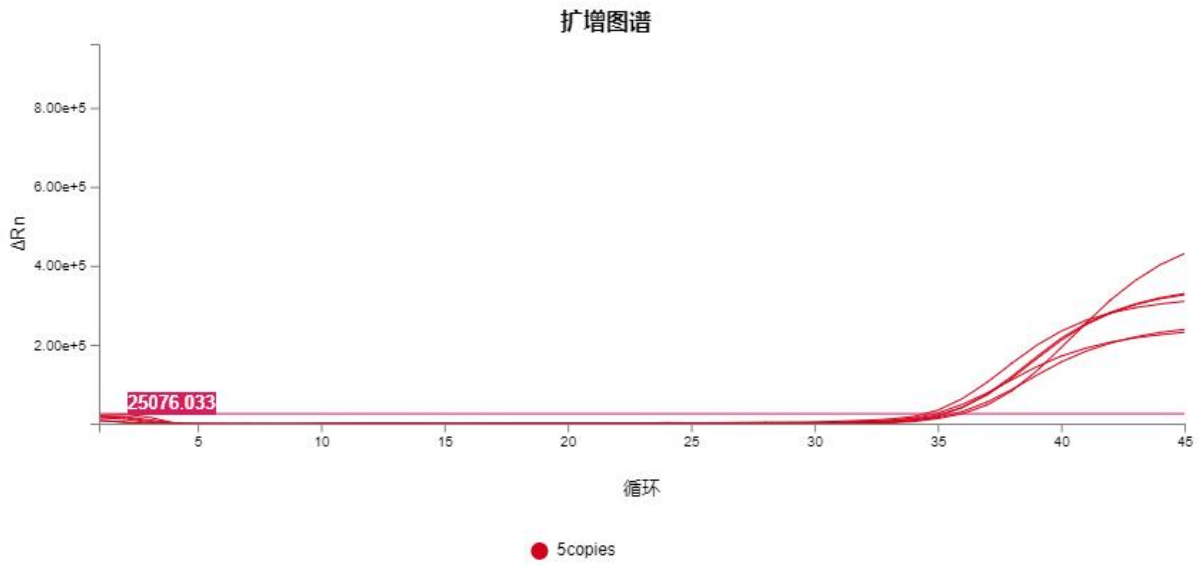


图 5 鹅源性引物探针 5 拷贝检测结果

2.2.6 引物探针稳定性检测

通过改变以下因素的反应条件，证实该方法在实验室间验证试验中的稳定性：反应体系：19 μL 或 21 μL PCR 试剂混合物加 5 μL 对照 DNA；退火温度：59℃和 61℃；引物或探针浓度：均降低 30%。针对每个反应条件，PCR 反应均设置三重复，每重复包含 20 拷贝阳性靶序列，使用鹅源性成分检测体系进行检测。实时荧光 PCR 结果显示（图 6-1、6-2、6-3），改变反应体系、引物或探针浓度、退火温度的每个反应孔均有 S 型扩增曲线，且 Ct 值比较相近。

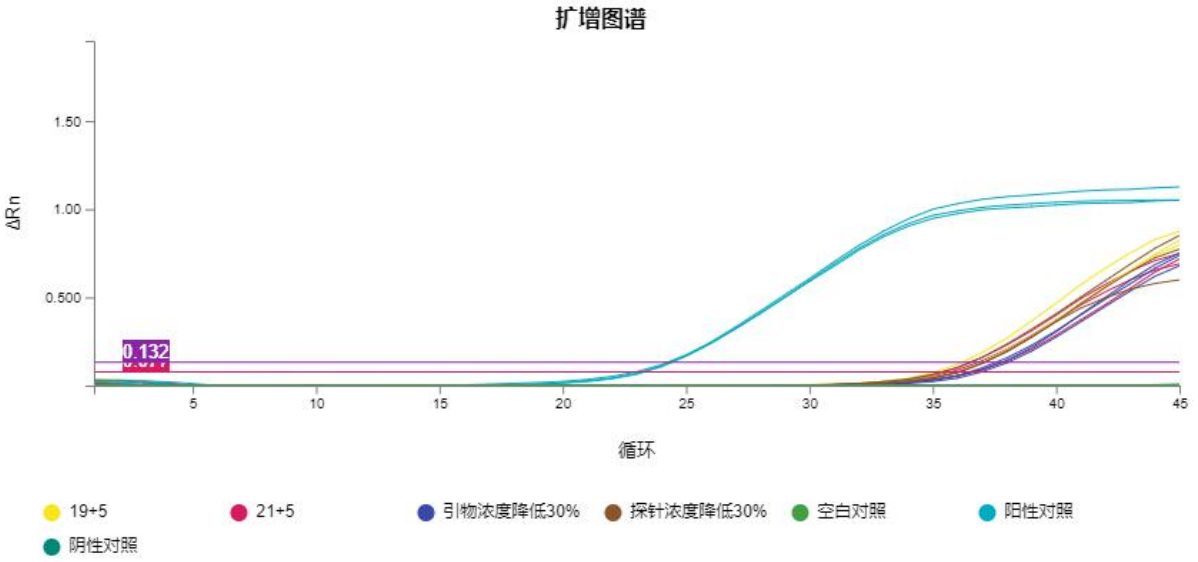


图 6-1 鹅源性引物探针稳定性（反应体系、引物或探针浓度）检测结果

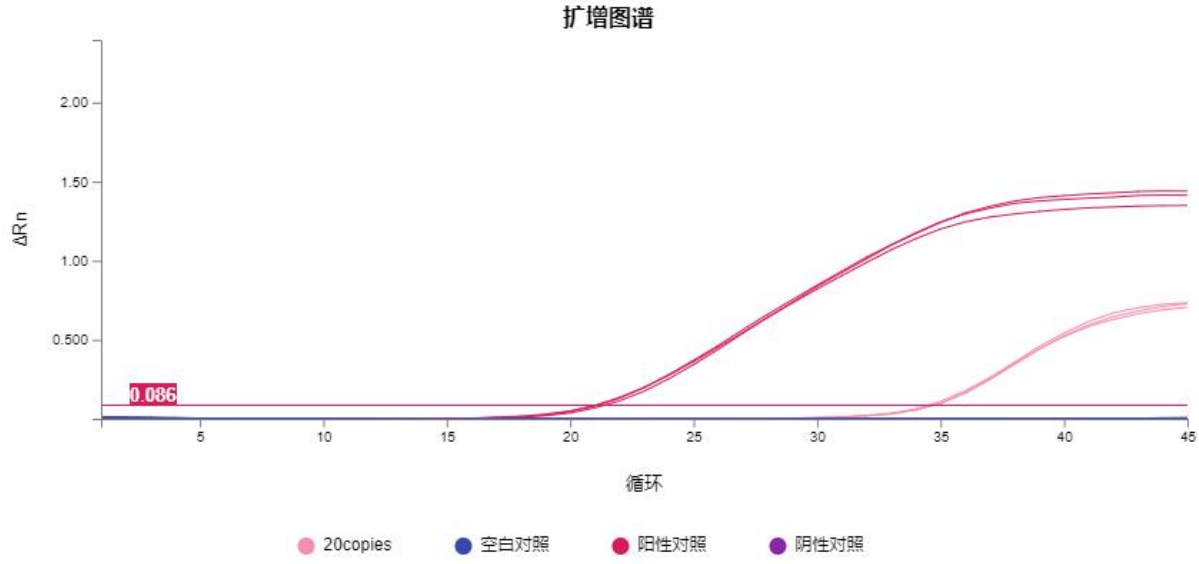


图 6-2 鹅源性引物探针稳定性（退火温度 59℃）检测结果

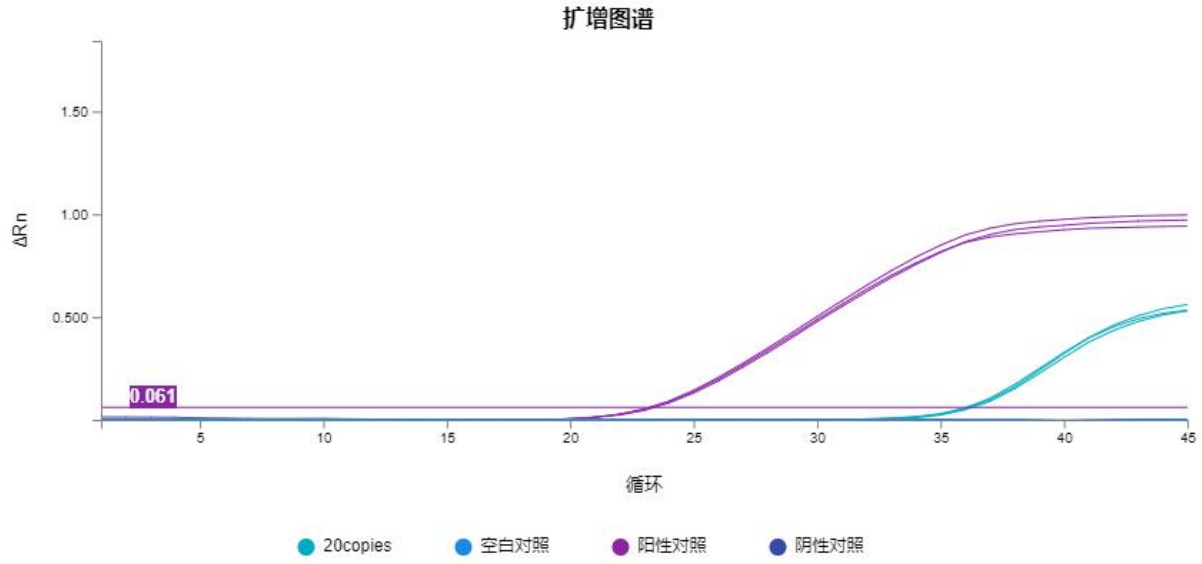


图 6-3 鹅源性引物探针稳定性（退火温度 61℃）检测结果

3、外部验证

为确保《动物源性制品中源性成分检测 实时荧光定量 PCR 法 第 9 部分：鹅 DNA 检测方法》（以下简称“本标准”）所规定方法的科学性、严谨性、准确性与适用性，标准起草工作组按照规范程序组织了实验室间方法验证。验证工作旨在评估本方法在特异性、检出限、重复性及对实际样品的适用性等关键性能参数，并验证了不同品牌实时 PCR 仪器及 PCR 试剂的适用性，为标准的技术可靠性提供数据支撑。

3.1 验证单位情况

本次验证邀请了 3 家在动物源性成分分子检测领域具有丰富经验和资质能力的实验室参与，覆盖了四川省产品质量监督检验检测院、成都市食品检验研究院、成都海关等不同系统，确保了验证结果的代表性和权威性。各验证单位及承担的主要验证内容如下表所示：

表 3 验证信息表

验证单位	验证人员	主要验证内容
四川省产品质量监督检验检测院	李敏婕	特异性、低浓度掺杂样品准确性检测、市售样本
成都市食品检验研究院	段庆梓	特异性、低浓度掺杂样品准确性检测、市售样本
成都海关	张婧	特异性、低浓度掺杂样品准

		确性检测、市售样本

3.2 验证方案

3.2.1 样品发放和检验要求

验证样品由四川省食品检验研究院制备，包括验证样品和引物探针，测试试剂和仪器由各验证单位提供。

采用快递方式统一发放验证样品，要求各验证单位在收到样品一个月内报送检验结果和原始记录，并做有关情况说明：（1）验证实验室信息——验证单位名称、地址、操作者姓名、负责人、电子邮件；（2）样品保存信息——是否收到测试样品、收到日期、收到具体时间、样品保存于-20°C 或 4°C 的时间；（3）仪器信息——试验中使用的仪器，型号，厂家、试验中使用的试剂耗材的厂家和型号、仪器如果经过校准，提供校准方法、列出仪器分析软件的名称，版本和厂家、用于分析数据的仪器软件。

3.2.2 验证材料

3.2.2.1 样品（由四川省食品检验研究院提供）

（1）特异性验证样品：黄牛、水牛、牦牛、山羊、绵羊、马、驴、猪、狗、鹌鹑，兔，鳕鱼、大鼠、豚鼠、小鼠、骆驼、驴、鸡共 18 种 DNA 样品。

（2）低含量掺伪鹅肉样品：10% 鹅肉/牛肉样品，1% 鹅肉/牛肉样品。

（3）6 份市售鹅肉制品。

3.2.2.2 试剂

引物、探针（由四川省食品检验研究院提供），实时荧光 PCR 预混液由各验证单位提供，注明试剂名称及品牌。

3.2.3 设备

实时荧光 PCR 仪由各验证单位提供，并注明仪器品牌型号。

3.2.4 方法

3.2.4.1 引物、探针稀释方法

引物、探针为工作液（10 μM），7 天内可存放于 4℃，长期贮存需-20℃存放。

3.2.4.2 DNA 提取

DNA 提取（由四川省食品检验研究院提供）。

3.2.4.3 实时荧光 PCR 扩增体系

实时荧光 PCR 总反应体系为 25 μL，实时荧光 PCR 预混液根据实际使用试剂的要求量

添加，正向引物（10 μM） 1.0 μL，反向引物（10 μM）1.0 μL，探针（10 μM）0.5 μL，DNA 模板 5.0 μL，2xPCR 预混液 12.5 μL，用灭菌 ddH2O 补至 25 μL。

3.2.4.4 实时荧光 PCR 扩增程序

将混合物反应管置于实时荧光 PCR 仪中，每个物种响应检测程序为：50℃ 2 分钟，95℃ 预变性 10 分钟，95℃ 15 秒，60℃ 1 分钟，40 个循环。生成图像时阈值设为自动。

3.2.4.5 检测内容

（1）引物探针特异性鉴定

分别对 18 种特异性验证样品进行检测，以 3.2.4.4 实时荧光 PCR 扩增程序扩增，以水为空白对照，每份 DNA 设置 3 个平行。

（2）低浓度掺杂样品准确性检测

提取混合掺杂样品的 DNA，并进行鹅源性成分检测，以水为空白对照，每个样品设置 10 个平行。以 3.2.4.4 实时荧光 PCR 扩增程序扩增。

（3）市售样品检测

提取市售样品的 DNA，并进行鹅源性成分检测，以水为空白对照，每个样品设置 3 个平行。以 3.2.4.4 实时荧光 PCR 扩增程序扩增。

3.2.4.6 质量控制

以下条件有一条不满足时，实验视为无效：

（1）空白对照：无荧光对数增长，相应的 Ct 值＞40.0；

（2）阴性对照：无荧光对数增长，相应的 Ct 值＞40.0；

（3）阳性对照：有荧光对数增长，且荧光通道出现典型的扩增曲线，相应的 Ct 值＜30.0。

3.2.4.7 结果判断

在符合质量控制的情况下，被检样品进行鹅源成分检测时：

（1）如 Ct 值≤35，则判定被检样品阳性；

（2）如 Ct 值≥40，则判定被检样品阴性；

（3）如 35＜Ct 值＜40，则重复一次。如再次扩增后 Ct 值仍为＜40，则判定被检样品阳性；如再次扩增后 Ct 值≥40，则判定被检样品阴性。

3.2.5 验证结果

详细结果见验证报告。

4、方法验证

根据标准要求，标准起草小组对特异性、准确性、稳定性、灵敏度等关键指标参数进行了验证，实验验证样品由本标准起草单位提供，将验证样品分别委托至四川省产品质量监督检验检测院、成都市食品检验研究院、成都海关，使用本文件规定的方法进行检测。结果显示本方法的特异性良好，仅目标源性成分检出，其他动物源性成分均未检出，无交叉反应。低含量样品可检出，稳定性较好，灵敏度高。市售鹅肉制品均可成功检出鹅源性成分，满足实际样品检测的需求。

5、经济与社会效益

5.1 经济效益

随着禽肉消费需求持续增长，近年来鹅肉及鹅副产品掺假问题日益凸显。我国是全球最大的鹅类养殖国，占全球总量的 90%以上，但市场乱象频发：部分商家以鸭肉等低价禽肉冒充高价鹅肉制品，或在鹅肝酱中掺杂鸭肝、鸡肝成分，利用调味工艺掩盖品质差异，严重扰乱市场秩序。本标准通过提供一种准确、快速的鹅源性成分检测方法，能有效遏制此类掺假行为。

标准的实施为“真材实料”的鹅肉制品提供了权威的“身份证明”，有助于优质产品建立市场信誉，实现优质优价，提升整个产业链的附加值。同时，标准与国际方法接轨，可为我国鹅肉及其制品的进出口贸易提供统一的技术依据，减少因检测方法不一致引发的技术性贸易壁垒，增强我国相关产品的国际竞争力，促进贸易畅通。同时为市场监管部门提供高效、准确的执法工具，能大幅提高对市场违规行为的发现率和查处效率，降低长期监管成本。对于生产企业而言，采用本标准进行原料验收和产品出厂检验，可有效控制质量风险，避免因原料掺假导致的经济损失和品牌声誉受损。

5.2 社会效益

本标准为市场监管、检验检疫等部门打击肉类产品掺假掺杂、虚假标注等违法行为提供了关键的技术支撑和执法依据。通过精准检测，能够净化市场环境，保护消费者的知情权和选择权，让消费者买得明白、吃得放心，特别是对因宗教、饮食习惯或过敏原因需要明确回避鹅源性成分的消费者群体具有重要意义。

统一的检测标准有助于建立公平竞争的市场环境，使诚信经营的企业获得市场认可，挤压不法商贩的生存空间。推动全行业建立从养殖、屠宰、加工到销售的全链条溯源与质量管控制度，引导产业向标准化、规范化、透明化方向发展，提升我国畜禽产品加工业的

整体形象和公信力。

在涉及食品安全事件调查、刑事案件鉴定（如物种鉴定）、宗教洁食认证（如清真食品认证）等领域，本标准的应用可提供科学、客观的证据，服务于更广泛的社会治理需求。

5.3 生态效益

本标准的实施通过严格区分鹅与其他物种的源性成分，间接促进了资源的合理利用和养殖业的可持续发展。明确的产品溯源和真实性要求，促使产业链上游更加注重品种纯正和养殖过程的规范管理，避免无序杂交或误导性养殖，有利于优良鹅品种资源的保护。

有效打击假冒鹅肉制品，可以减少因虚假市场需求而引发的对非鹅类动物（如其他禽类）的非必要或误导性屠宰与加工，从消费端促进动物资源更合理的利用。真实性检测是构建透明、可追溯供应链的重要一环。标准的应用鼓励企业建立闭环管理系统，这不仅关乎产品质量，也促使企业关注原料来源的环境影响，推动整个产业链向环境友好、资源节约的可持续模式转型。

（四）与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

等同采用了 ISO/TS 20224-9: 2022《Molecular biomarker analysis — Detection of animal-derived materials in foodstuffs and feedstuffs by real-time PCR Part 9: Goose DNA detection method》，本标准与 ISO/TS 20224-9: 2022 相比，差异在于：结合我国食品基质复杂性，在样品前处理中增加高盐/高脂肪样本抑制剂去除步骤（参考 GB/T 21571）。

（五）以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因

等同采用了 ISO/TS 20224-9: 2022《Molecular biomarker analysis — Detection of animal-derived materials in foodstuffs and feedstuffs by real-time PCR Part 9: Goose DNA detection method》，本标准与 ISO/TS 20224-9: 2022 相比，没有技术差异。

（六）与有关的现行法律、行政法规及相关标准的关系

本标准与现行法律、法规、规章和政策以及有关基础和强制性标准不矛盾。

（七）重大分歧意见的处理经过和依据

本标准未产生重大分歧意见。

（八）涉及专利的有关说明

本标准的方法不涉及专利。

（九）实施国家标准的要求，以及织措施、技术措施、过渡期和实施日期建议等措施建议

9.1 实施标准的要求

本标准采用实时荧光PCR检测技术建立的适用于动物源性制品中鹅源性定性检测标准方法，操作简单，不依赖昂贵仪器，检测时间在2小时左右，方法灵敏度可达到5拷贝/反应，能够应用于实际工作，尤其适用于大量样品快速初筛和各种基层实验室动物源性制品质量监控，适合作为国家推荐性标准应用推广。但对于检测机构提出以下要求：

（1）人员要求：从事该标准检测的人员应具备相应的专业知识和技能，熟悉实时荧光PCR技术的原理、操作流程以及相关仪器设备的使用方法。检测人员需经过专业培训，取得相关资质证书后方可上岗操作。同时，应定期参加技术培训和能力验证活动，不断提升自身的业务水平，确保检测工作的准确性和可靠性。

（2）仪器设备要求：实时荧光PCR仪是本标准实施的核心仪器设备，应选择性能稳定、符合相关标准要求的产品。仪器需定期进行校准和维护，确保其检测性能符合标准规定。同时，应配备必要的辅助仪器设备，如离心机、恒温金属浴、移液器等，这些设备也应定期进行校准和维护，保证其准确性和精密度。此外，实验室应建立仪器设备档案，记录仪器的采购、验收、使用、维护、校准等信息，以便对仪器设备进行有效的管理和追溯。

（3）试剂和材料要求：实验所需的试剂和材料应符合标准中的规定，包括DNA提取试剂、实时荧光PCR反应试剂、阳性对照品、阴性对照品以及其他辅助材料等。试剂和材料应从正规渠道采购，具有合格的质量证明文件，并在有效期内使用。对于一些关键试剂，如引物、探针等，应进行质量验证，确保其特异性和灵敏度符合检测要求。同时，应注意试剂和材料的储存条件，避免因储存不当导致试剂失效或材料污染。

（4）实验室环境要求：实验室应具备良好的通风、照明和温湿度控制条件，确保实验环境符合检测要求。实验室应划分不同的功能区域，如样品前处理区、试剂准备区、PCR扩增区和产物分析区等，各区之间应有效隔离，防止交叉污染。实验台面应保持清洁，定期进行消毒处理。实验室应配备必要的防护设备，如手套、口罩、护目镜等，保障实验人员的安全。

9.2 组织措施

由相关政府部门、行业协会、科研机构以及企业代表组成标准实施领导小组，负责统

筹协调标准的实施工作。通过举办培训班、研讨会、专题讲座等形式，向行业内企业、检测机构、监管部门等相关单位广泛宣传本标准的重要意义、技术内容和实施要求，提高各方对标准的认知度和认同感。同时，利用行业网站、微信公众号、报纸杂志等媒体平台，发布标准实施的相关信息，营造良好的舆论氛围，推动标准的顺利实施。同时应加强对标准实施情况的监督检查，定期对企业和检测机构的检测工作进行抽查，确保其严格按照标准要求进行操作。对于违反标准规定的行为，应依法予以查处，并及时向社会公布检查结果，起到警示作用，维护标准的权威性和严肃性。

9.3 技术措施

一方面，可组织专业技术人员编写详细的标准操作手册和培训教材，针对实时荧光PCR技术的原理、操作要点、质量控制等内容，对相关人员进行系统培训。培训应采用理论讲解与实际操作相结合的方式，确保培训人员能够熟练掌握检测技术，正确运用标准进行检测工作。

另一方面，还可由科研机构或行业协会牵头，建立技术服务平台，为企业和检测机构提供技术咨询、疑难解答、实验指导等服务。平台可定期组织技术交流活动，分享最新的检测技术和研究成果，促进全行业技术水平的提升。

同时，还需建立完善的质量控制体系，要求企业和检测机构在检测过程中严格按照标准规定进行质量控制，包括设置阳性对照品、阴性对照品和空白对照品，定期进行重复性实验和准确性实验等。同时，鼓励企业和检测机构参加国内外权威机构组织的能力验证活动，通过与其他实验室的比对，不断改进和提高自身的检测能力和质量控制水平。

（十）其他应予说明的事项

无。

标准起草组

2026 年 3 月