

深加工食品中苦瓜成分实时荧光PCR定性检测方法 的建立与应用

梁颖婕*, 高东微, 刘津, 黄雄俊, 董洁#

广州海关技术中心, 广东 广州

收稿日期: 2026年2月12日; 录用日期: 2026年3月6日; 发布日期: 2026年3月13日

摘要

为实现对深加工食品中苦瓜成分的真伪和品质鉴别, 文章建立了深加工食品中苦瓜成分实时荧光聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)定性检测方法。根据苦瓜基因组DNA中的保守基因, 分别设计3组实时荧光PCR定性检测的特异性引物探针, 筛选最优的引物探针, 优化PCR反应体系, 并对方法的检测低限、稳定性和市售深加工食品的适用性进行了验证。该方法特异性和稳定性良好, 对苦瓜基因组DNA检测低限为0.05%, 利用该方法对29批次市售深加工食品进行苦瓜成分鉴别, 发现其中有1批次未检出苦瓜成分。该方法可有效鉴别各种市售深加工食品中的苦瓜成分。

关键词

苦瓜, 深加工食品, 实时荧光PCR, 定性

Establishment and Application of Qualitative Real-Time PCR Detection of Bitter Melon Ingredients in Highly Processed Foods

Yingjie Liang*, Dongwei Gao, Jin Liu, Xiongjun Huang, Jie Dong#

Guangzhou Customs Technology Center, Guangzhou Guangdong

Received: February 12, 2026; accepted: March 6, 2026; published: March 13, 2026

Abstract

In order to achieve the authenticity and quality identification of bitter melon ingredients in highly

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 梁颖婕, 高东微, 刘津, 黄雄俊, 董洁. 深加工食品中苦瓜成分实时荧光 PCR 定性检测方法的建立与应用 [J]. 食品与营养科学, 2026, 15(2): 185-194. DOI: 10.12677/hjfn.2026.152021

processed food, a qualitative real-time fluorescent polymerase chain reaction (PCR) method was established. 3 sets of specific primers and probes were designed and selected according to the conserved sequences in genomic DNA, and the reaction system was optimized for the best performance. Afterwards, the limit of detection and the stability of this method, as well as its applicability in market-sale highly processed food, were verified. The specificity and stability were good and the method LOD was indicated as 0.05%. The method was used to identify the ingredients of bitter melon in 29 batches of market-sale highly processed food and 1 batch was not detected to contain bitter melon components. The method is effective for the identification of bitter melon ingredients in market-sale highly processed food.

Keywords

Bitter Melon, Highly Processed Food, Real-Time Polymerase Chain Reaction, Qualification

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

苦瓜(*Momordica charantia* L.)为葫芦科苦瓜属草本植物,是药食同源的植物,最早入药的记录见于《滇南本草》第二卷的《苦瓜》篇[1]。苦瓜性味苦寒,具有清热解毒、养肝明目、补肾润脾、降低血糖、调节血脂、瘦身纤体、抗氧化、抗菌以及提高人体免疫力等药用和保健功能[2],在我国传统医学上有很多苦瓜治病食疗的记载,国外也有很多相关的报道[3][4]。

苦瓜在我国千年的食用历史中一直以初级农产品的形式存在。随着现代食品科技的发展,近年来国内外食品工业领域开发出各式各样以苦瓜作为基本原料的深加工食品,迎合国人日益增长的食疗保健、绿色健康等饮食追求,主要以苦瓜(籽)粉[5][6]、苦瓜饮料[7][8]、添加苦瓜成分的米面制品[9]、膳食补充剂[10]等形式供应市场,为相关企业带来丰厚的经济效益、展现出广阔的市场前景。

这些含有苦瓜成分的深加工食品在生产过程中经过粉碎、高压、搅拌等加工工艺,苦瓜原料原有的形态特征被完全破坏,难以通过简单的感官鉴别判断成品中是否真正添加了苦瓜原料,无形中为经济利益驱动的掺假行为(Economically Motivated Adulteration, EMA)提供了极大的可操作空间[11]。一些不法生产者用香精代替植物原材料进行各种以次充好、以假充真的掺假操作,严重妨碍公平贸易、损害消费者的利益,对食品安全监管提出了挑战[12]。为此,本文通过建立一项针对深加工食品中苦瓜成分的定性荧光 PCR 鉴别检测方法,作为现行食品检测标准体系中食品成分检测方法的补充,以此满足相关食品真实性检验监管的技术需求。

2. 材料与方 法

2.1. 材料与试剂

苦瓜、水瓜、丝瓜、冬瓜、南瓜、青瓜、西瓜、香瓜、蒲瓜、燕麦、大米、小麦、罗汉果、花生、玉米、大豆、菜豆共 17 种农产品, 18 个苦瓜粉, 苦瓜汁、苦瓜片、苦瓜茶、苦瓜籽粉、苦瓜荞麦挂面、苦瓜红豆薏米饼、苦瓜葛根燕麦片共 11 个苦瓜加工食品, 购自本地超市或电商。

QuickGene DNA tissue kit S (日本 KURABO 公司), TaqMan™ Fast Advanced Master Mix(美国 Thermo Fisher Scientific 公司), 引物、探针(上海闪晶分子生物科技有限公司)。

2.2. 仪器与设备

ABI 7900 HT 实时荧光 PCR 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司), Nanospec 微量核酸蛋白测定仪(日本岛津公司), Centrifuge 5424 小型高速离心机(德国 Eppendorf 公司), IKA® Tube-Mill Control 试管研磨机(德国 IKA 公司), MS2 旋涡混合器(德国 IKA 公司), AB204-S METTLER TOLEDO 电子天平(瑞士特勒公司)。

2.3. 实验方法

2.3.1. 植物基因组 DNA 提取和浓度测定

用试管研磨机对实验样品进行均质, 用基因组 DNA 提取试剂盒 QuickGene DNA tissue kit S 进行样品 DNA 提取, 用 Nanospec 微量核酸蛋白测定仪测定样品 DNA 浓度后稀释至 20 ng/μL, 置于 4℃ 备用。

2.3.2. 引物探针设计和特异性评估

用 Primer Express5.0 软件, 在 NCBI GeneBank 中选取 3 条苦瓜的基因组 DNA 序列, 分别设计苦瓜特异性引物探针(见表 1 中的 1~3)。

利用苦瓜 DNA 进行引物探针的筛选, 设置 2 个 PCR 平行。实时荧光 PCR 反应体系(25 μL): 2×实时荧光 PCR 预混液 12.5 μL, 上、下游引物(10 pmol/μL)和探针(10 pmol/μL)各 1 μL, DNA 模板 5 μL (50 ng ~500 ng), ddH₂O 补足体积。反应条件为: 50℃ 2 min; 95℃ 10 min; 95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 45 个循环。

提取 1.1 中 17 种农产品的植物基因组 DNA, 每个样品设置 2 个 PCR 平行, 验证引物探针的特异性。

Table 1. Primers and probes

表 1. 引物和探针

序号	基因名称	引物/探针序列(5'→3')	扩增片段大小/bp	来源
1	几丁质酶基因 ChiA	ChiA-F:GGTTGCCAGAGCCAGTGTG	113	DQ407723.1
		ChiA-R:TTTCGATACTTGAGCATTTGGTC		
		ChiA-P:FAM-CACAAACCCGGGATCGGGAGAC-BHQ1		
2	肌醇半乳糖苷合成酶基因 GAS1	GAS1-F:TTTGTGTAGCGGCTAAGTCTCTC	138	AY379780.1
		GAS1-R:TGAAGTTGATAGTTAGATGTTGGAG		
		GAS1-P:FAM-TGGTGTGACTTTGTGATTGCACAGC-BHQ1		
3	核糖体失活蛋白基因 RIP	RIP-F:TGGAAAATCAATGGTCTGCTCTC	122	AY817142.1
		RIP-R:AACATTGGTTACTTGAAACCGTTC		
		RIP-P:FAM-CAAGGAGGAAAATTTAGAAATCCTGTGCGAC-BHQ1		
4	高等植物内源基因 tRNA ^{Leu}	tRNA ^{Leu} -F:CGAAATCGGTAGACGCTACG	/	SN/T 1202-2010
		tRNA ^{Leu} -R:TTCCATTGAGTCTCTGCACCT		
		tRNA ^{Leu} -P:FAM-GCAATCCTGAGCCAAATCC-BHQ1		

2.3.3. PCR 反应体系的优化

采用引物探针终浓度分别为 F/R/P (nmol/L): 100/100/100、100/100/50、200/200/200、200/200/100、300/300/300、300/300/150、400/400/400、400/400/200、500/500/500、500/500/250、600/600/600、600/600/300 的 12 种组合, 对苦瓜 DNA 进行 PCR, 每个组合设置 2 个 PCR 平行。

2.3.4. 检测低限评估

用大豆 DNA 对 100% 苦瓜 DNA 进行浓度梯度稀释, 分别得到浓度为 100%、10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0.05% 和 0.01% 的苦瓜 DNA 溶液。用优化后确定的反应体系进行 PCR, 每个浓度设置 2 个 PCR 平行, 评估 PCR 检测低限。

2.3.5. 稳定性评估

采用浓度为 0.5%、0.1% 和 0.05% 的苦瓜 DNA 进行 PCR, 每个浓度设置 10 个 PCR 平行。

2.3.6. 市售食品检测

对 1.1 的市售食品样品进行植物基因组 DNA 提取, 用本文建立的实时荧光 PCR 定性检测方法进行苦瓜成分检测, 并采用 SN/T 1202-2010 进行高等植物内源基因 tRNA^{Leu} 检测[13] (见表 1 中的 4), 对检测结果进行分析判断, 评价本方法的适用性。

3. 结果与分析

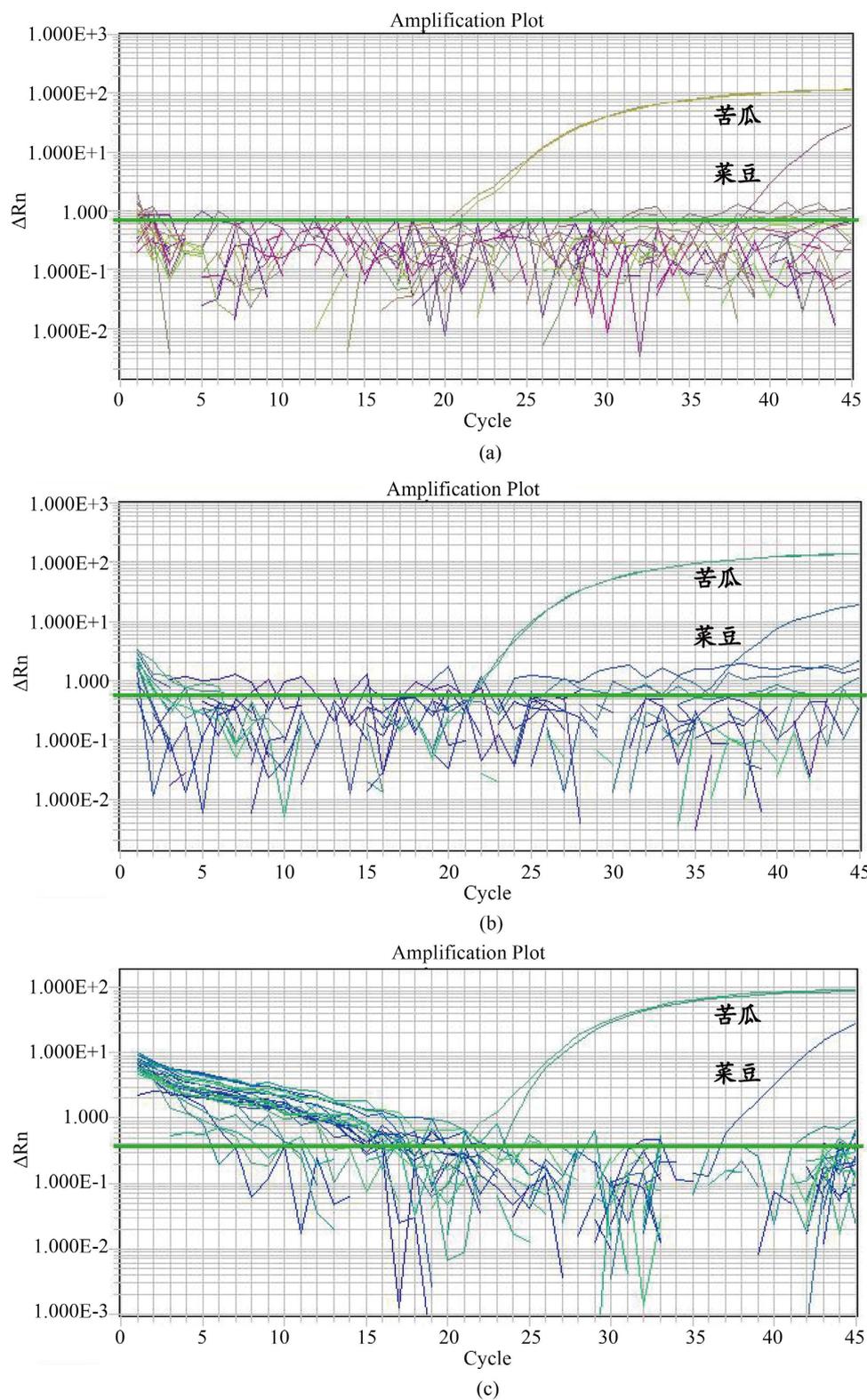
3.1. 引物探针特异性

特异性评估结果见图 1 和表 2。由图表可知, 采用 ChiA、GAS1 和 RIP 引物探针均能对苦瓜 DNA 有效扩增, Ct 值平均值分别为 21、21 和 22; 对菜豆 DNA 有微弱扩增, Ct 值平均值分别为 38、36 和 37; 对其他 15 种农产品均无交叉反应。ChiA 对苦瓜 DNA 扩增的 Ct 值最小且对菜豆 DNA 扩增的 Ct 值最大, 因此选取 ChiA 引物探针进行后续研究。

Table 2. Experimental results of specificity evaluation

表 2. 特异性评估实验结果

样品编号	样品名称	ChiA	GAS1	RIP
1	水瓜	未检出	未检出	未检出
2	丝瓜	未检出	未检出	未检出
3	冬瓜	未检出	未检出	未检出
4	南瓜	未检出	未检出	未检出
5	青瓜	未检出	未检出	未检出
6	西瓜	未检出	未检出	未检出
7	香瓜	未检出	未检出	未检出
8	蒲瓜	未检出	未检出	未检出
9	燕麦	未检出	未检出	未检出
10	大米	未检出	未检出	未检出
11	小麦	未检出	未检出	未检出
12	罗汉果	未检出	未检出	未检出
13	花生	未检出	未检出	未检出
14	玉米	未检出	未检出	未检出
15	大豆	未检出	未检出	未检出
16	菜豆	检出, Ct38	检出, Ct36	检出, Ct37
17	苦瓜	检出, Ct21	检出, Ct21	检出, Ct22



注：(a) ChiA 扩增曲线；(b) GAS1 扩增曲线；(c) RIP 扩增曲线。

Figure 1. Experimental results of specificity evaluation

图 1. 特异性评估实验结果图

3.2. PCR 反应体系优化

结果见图 2。当引物探针终浓度均为 500 nmol/L 时, Ct 值平均值为 21, Ct 值最小且荧光信号最强。因此确定引物和探针终浓度为 500 nmol/L。

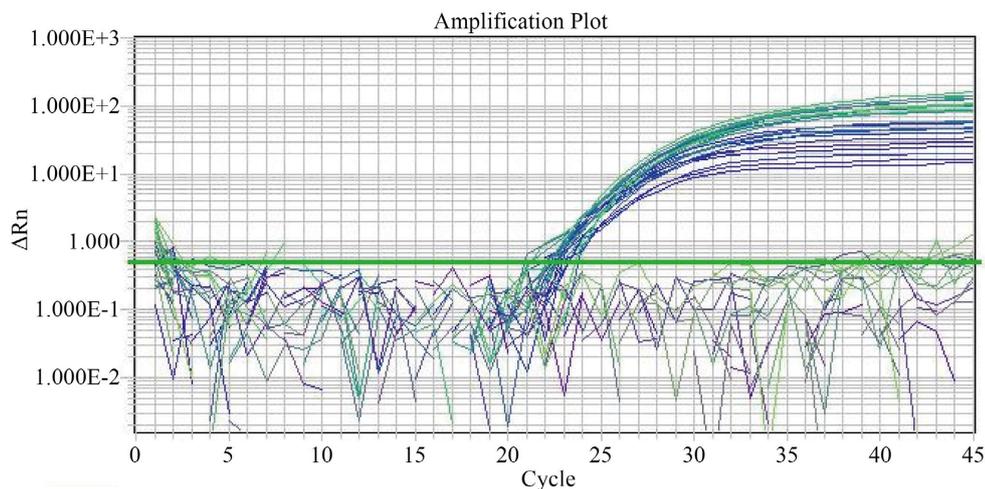
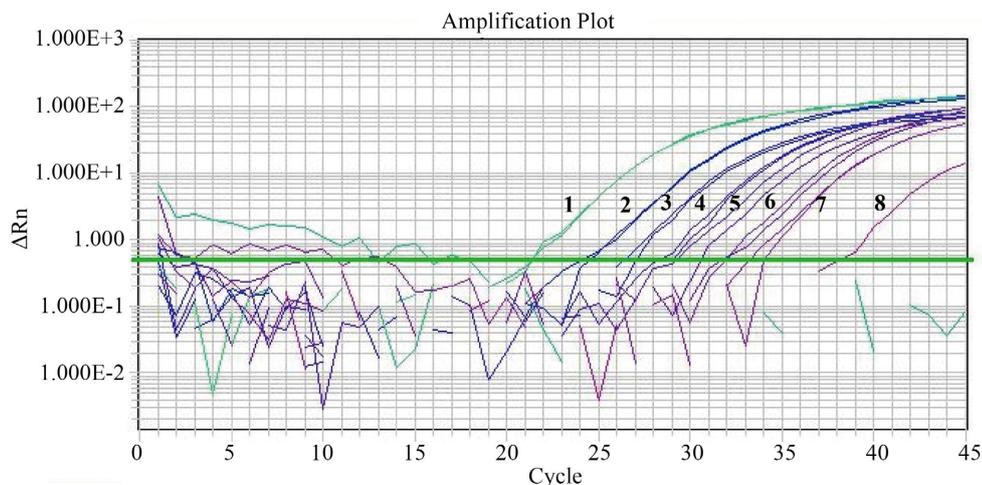


Figure 2. Experimental results of reaction system optimization
图 2. PCR 反应体系优化实验结果图

3.3. 检测低限

结果见图 3。以 Ct 值平均值 < 38 为“检出”的判断条件, 本方法可检出浓度为 100%、10%、5%、1%、0.5%、0.1%和 0.05%的苦瓜 DNA, 不能检出浓度为 0.01%的苦瓜 DNA。因此确定检测低限为 0.05%。



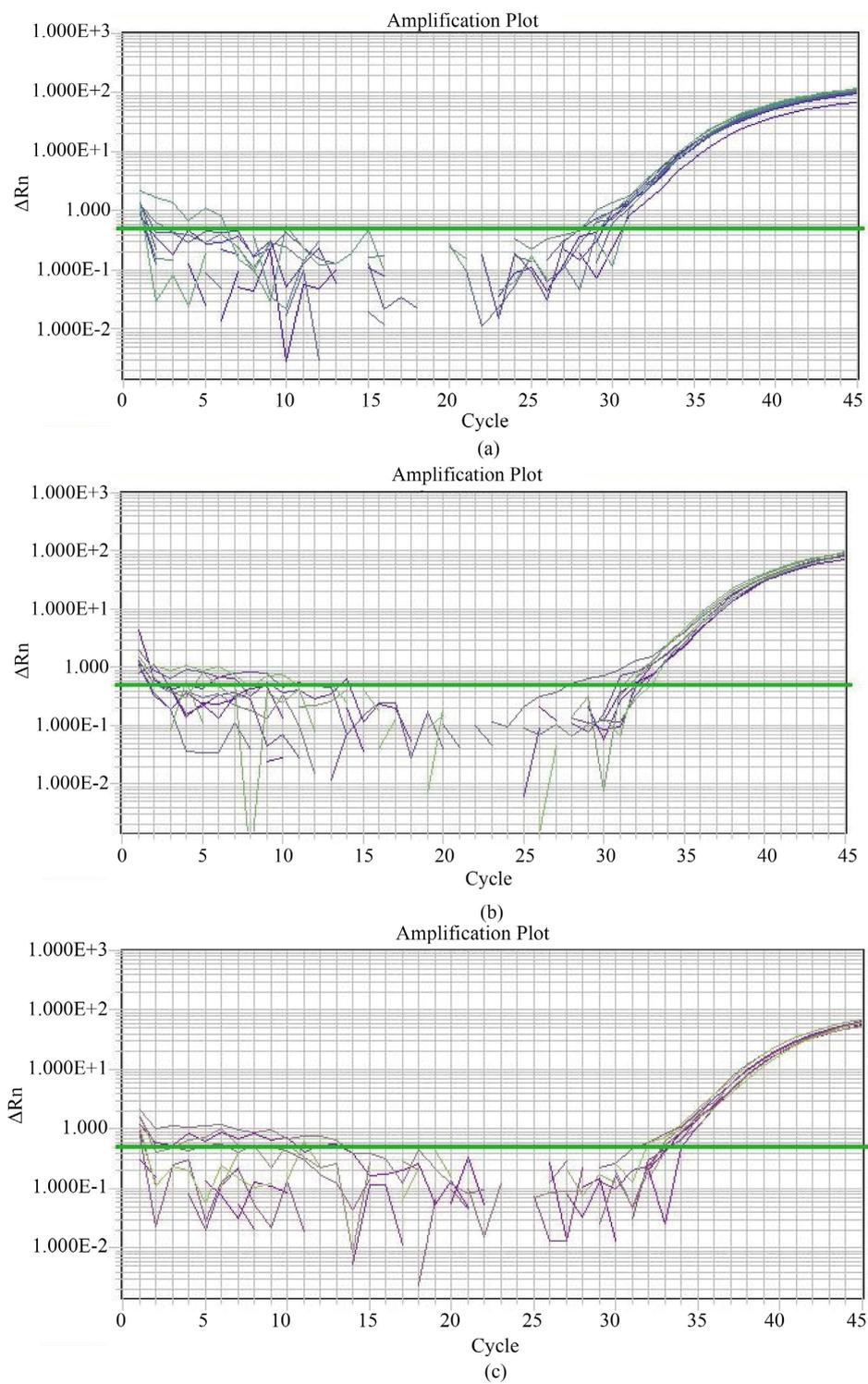
注: 1~8 分别为 100%、10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0.05%和 0.01%的苦瓜 DNA 扩增曲线。

Figure 3. Experimental results of limit of detection evaluation
图 3. 检测低限评估实验结果图

3.4. 稳定性评估

结果见图 4。本方法对浓度为 0.5%、0.1%和 0.05%的苦瓜 DNA 能稳定检出, 因此在 DNA 浓度低至

0.05%时仍保持检测稳定性。



注：(a) 0.5% 苦瓜 DNA；(b) 0.1% 苦瓜 DNA；(c) 0.05% 苦瓜 DNA

Figure 4. Experimental results of stability evaluation

图 4. 稳定性评估实验结果图

3.5. 市售食品检测

市售食品样品检测结果见表 3。实验结果显示, 在检出高等植物内源基因的 18 个苦瓜粉和 10 个苦瓜加工食品样品中均检出苦瓜成分。序号 28 的苦瓜汁不能检出高等植物内源基因, 表明该样品未能有效提取植物基因组 DNA, 不能进行苦瓜成分 PCR 检测。实验结果表明, 本方法可用于市售深加工食品中苦瓜成分的检测。

Table 3. Experimental results of detection of market foods

表 3. 市售食品检测实验结果

序号	样品名称	产地	PCR 检测结果 Ct 值	
			ChiA	tRNA ^{Leu}
1	苦瓜粉	安徽亳州	22	17
2	苦瓜粉	福建泉州	23	17
3	苦瓜粉	安徽亳州	22	17
4	苦瓜粉	安徽亳州	23	17
5	苦瓜粉	河南郑州	23	17
6	天然纯苦瓜粉	河南南太行深山区	23	17
7	苦瓜粉	江苏徐州	23	17
8	苦瓜粉	福建泉州	22	15
9	苦瓜粉	安徽亳州	20	14
10	苦瓜粉	湖南长沙	22	15
11	苦瓜粉	安徽亳州	21	14
12	苦瓜粉	河北保定	22	16
13	苦瓜粉	安徽亳州	22	17
14	苦瓜粉	云南昆明	21	14
15	苦瓜粉	安徽亳州	22	15
16	苦瓜粉	江苏兴化	23	17
17	苦瓜粉	广西	22	15
18	苦瓜粉	广东广州	28	21
19	苦瓜片	长沙	21	16
20	苦瓜籽粉	吉林	30	25
21	苦瓜葛根燕麦片	徐州	35	17
22	苦瓜红豆薏米饼	东莞	28	20
23	苦瓜荞麦挂面	广汉	26	16
24	苦瓜茶	杭州	20	16
25	苦荞牛蒡茶	亳州	23	16
26	苦瓜柠檬茶	亳州	21	15
27	苦瓜汁	天津	36	34
28	韩国工艺苦瓜汁	青岛	—	—
29	苦瓜汁	广州	检出	检出

4. 结论与讨论

本文针对苦瓜特异性基因 ChiA 建立了一项定性荧光 PCR 检测方法, 检测低限为 0.05%, 适用于各种市售深加工食品中苦瓜成分鉴别检测, 为相关食品真实性检验监管提供一种技术手段, 对现行食品安全检测技术体系进行有益补充, 也为相关行业的产品研发、生产质控等环节提供帮助。

本方法规定, 当 Ct 值平均值 < 38.0 判定为检出苦瓜成分, 当 Ct 值平均值 ≥ 38.0 判定为未检出苦瓜成分, 这是基于特异性评估实验结果的考虑。本方法对菜豆 DNA 有微弱扩增, Ct 值平均值为 38.0。本方法在应用中可能遇到含有菜豆成分的食品, 为排除菜豆成分的非特异性扩增干扰, 因而设置判断阈值为 38.0。

在应用性研究中, 本文发现 1 种名为“韩国工艺苦瓜汁”的市售食品未能检出高等植物内源基因 tRNA^{Leu}, 也未能检出苦瓜特异性基因 ChiA。实验结果表明, 该样品采用本文的 DNA 提取方法, 不能有效提取植物基因组 DNA, 从而导致无法使用荧光 PCR 方法进行进一步基因检测。这说明, 对于部分深加工食品, 由于加工工艺和食品配方等原因造成的干扰, 样品中含有的 DNA 含量很低或存在严重的背景干扰, 采用现有常规 DNA 提取技术, 无法从样品中有效回收 DNA 进行基因检测, 需要进一步开展 DNA 提取技术的研发。另外一种可能性是深加工食品的自我声明与实际情况不符, 声称采用植物原材料实际却不含有, 因此不能从样品中检测出高等植物内源基因。

现代食品工业的发展和都市化进程对饮食习惯的改变, 导致越来越多的以果蔬为原材料的深加工食品, 以绿色健康、简单方便为特色出现在消费者的选择清单。为规范此类新食品的质量安全, 近年来管理部门陆续出台相关产品标准, 如《GH/T 1456-2024 果蔬粉》[14]和《NY/T 434-2025 绿色食品果蔬汁类及其饮料》[15]分别于 2024 年 9 月和 2025 年 5 月实施, 反映出此类新食品在消费市场的日益流行。这些产品标准的颁布实施, 必然对相应的质量安全检测技术提出迫切的需求, 本文正是对这一需求的及时回应。本文作者前期已经发表的科研成果包括蓉沙馅料、谷物粉等深加工食品中绿豆和板栗[16]、莲子和芸豆[17]、红豆和赤小豆[18]、榛子[19]、芝麻和花生[20]等植物源性成分的定性或定量鉴别检测技术, 为本文的研究奠定了比较扎实的技术基础。鉴于上述这类产品标准不断出台, 有必要在这一细分领域开展更多的技术研究, 为这类食品的质量安全管理提供更多的技术手段。

致 谢

感谢海关总署科研项目“进口农食产品真伪鉴别和品名鉴别检测关键技术研究”(2020HK190)课题组专家对本研究的指导和支持。

基金项目

海关总署科研项目(2020HK190)。

参考文献

- [1] 丁雷, 胡玉立, 李梅, 等. 苦瓜的药食价值研究概括[J]. 中国医药导报, 2021, 18(13): 117-120.
- [2] Gayathry, K.S. and John, J.A. (2022) A Comprehensive Review on Bitter Gourd (*Momordica charantia* L.) as a Gold Mine of Functional Bioactive Components for Therapeutic Foods. *Food Production, Processing and Nutrition*, 4, Article No. 10. <https://doi.org/10.1186/s43014-022-00089-x>
- [3] Joseph, B. and Jini, D. (2013) Antidiabetic Effects of *Momordica charantia* (Bitter Melon) and Its Medicinal Potency. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3, 93-102. [https://doi.org/10.1016/s2222-1808\(13\)60052-3](https://doi.org/10.1016/s2222-1808(13)60052-3)
- [4] Shivanagoudra, S.R., Perera, W.H., Perez, J.L., Athrey, G., Sun, Y., Wu, C.S., et al. (2019) *In Vitro* and *in Silico* Elucidation of Antidiabetic and Anti-Inflammatory Activities of Bioactive Compounds from *Momordica charantia* L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 27, 3097-3109. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.05.035>

- [5] 蒋鹏飞, 王赵改, 史冠莹, 等. 不同干燥方式的苦瓜粉品质特性及香气成分比较[J]. 现代食品科技, 2020, 36(3): 234-244.
- [6] Zhu, Y., Bai, J., Qian, X., Yang, X., Zhou, X., Zhao, Y., *et al.* (2022) Effect of Superfine Grinding on Physical Properties, Bioaccessibility, and Anti-Obesity Activities of Bitter Melon Powders. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **102**, 4473-4483. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11802>
- [7] 陈小敏, 谭书明, 黄颖, 等. 刺梨、桑叶、苦瓜饮料对糖尿病小鼠的降糖作用[J]. 中国酿造, 2019, 38(6): 123-127.
- [8] Jain, A. and De, S. (2016) Aqueous Extraction of Bitter Gourd (*Momordica charantia* L.) Juice and Optimization of Operating Conditions. *Fruits*, **71**, 379-387. <https://doi.org/10.1051/fruits/2016033>
- [9] 江明, 杨龙瑞, 何娅, 等. 天麻苦瓜面条加工工艺研究[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(2): 38-42.
- [10] Chung, H., Shin, J., Kim, M., Ahn, S., Koh, Y.H., Eom, S.H., *et al.* (2025) Enhancement of Health Beneficial Bioactivities of Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) by Puffing. *Food Chemistry*, **471**, Article ID: 142780. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.142780>
- [11] Everstine, K., Spink, J. and Kennedy, S. (2013) Economically Motivated Adulteration (EMA) of Food: Common Characteristics of EMA Incidents. *Journal of Food Protection*, **76**, 723-735. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-12-399>
- [12] Karabagias, I.K. (2024) Food Authentication and Adulteration Control Based on Metrics Data of Foods and Chemometrics. *European Food Research and Technology*, **250**, 1269-1283. <https://doi.org/10.1007/s00217-024-04477-0>
- [13] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T1202-2010 食品中转基因植物成分定性 PCR 检测方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [14] 中华全国供销合作总社. GH/T1456-2024 果蔬粉[S]. 北京: 中国标准出版社, 2024.
- [15] 中华人民共和国农业农村部. NY/T434-2025 绿色食品果蔬汁类及其饮料[S]. 北京: 中国标准出版社, 2025.
- [16] Liang, Y., Gao, D., Dong, J., Guan, L., Li, Z. and Liu, J. (2022) A Quantitative Detection of Mung Bean in Chestnut Paste Using Duplex Digital PCR. *Current Research in Food Science*, **5**, 34-40. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.12.003>
- [17] Dong, X., Gao, D., Dong, J., Chen, W., Li, Z., Wang, J., *et al.* (2020) Mass Ratio Quantitative Detection for Kidney Bean in Lotus Seed Paste Using Duplex Droplet Digital PCR and Chip Digital PCR. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **412**, 1701-1707. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02410-4>
- [18] 梁颖婕, 高东微, 董洁, 等. 赤小豆加工食品中红豆成分定性和定量 PCR 检测[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(2): 225-230.
- [19] 高东微, 刘津, 董洁, 等. 利用双重数字 PCR 定量检测榛蓉中花生成分的方法[P]. 中国专利, CN201910375185.7. 2022-09-23.
- [20] 刘津, 高东微, 董旭婉, 等. 利用双重数字 PCR 定量检测芝麻酱和芝麻蓉中花生成分的方法[P]. 中国专利, CN201910375468.1. 2022-09-23.