

大豆及其加工食品转基因成分检测技术研究进展

石盼盼*, 王璐, 郝丽花, 谢文佳, 陈蕾, 李拴拴, 李宜哲, 路书彦

(河南省产品质量监督检验院, 郑州 450000)

摘要: 随着基因工程技术在食用农产品领域的应用发展, 形形色色的转基因食品应运而生。目前包括我国在内的许多国家为保护消费者的知情权和选择权, 都建立了转基因食品标识管理制度。科学有效的转基因食品检测技术是实现我国转基因产品标识管理的前提。我国食品成分多样且基质复杂, 针对初级农产品的转基因成分检测技术并不完全适用于工业加工食品尤其是深加工食品。这对食品监管及技术检测部门提出了新的要求。本文根据技术原理的不同分类介绍了目前几种主要的食品中转基因成分检测技术, 除介绍现在已经成熟应用的技术方法外, 本文还重点介绍了国内学者新近研发出的几种新技术, 为研究人员进一步研发新技术提供重要参考。

关键词: 转基因食品; 检测技术; 成分

Research progress on detection technology of genetically modified ingredients in soybean and processed foods

SHI Pan-Pan*, WANG Lu, HAO Li-Hua, XIE Wen-Jia, CHEN Lei, LI Shuan-Shuan,
LI Yi-Zhe, LU Shu-Yan

(Product Quality Supervision and Inspection Institute of Henan Provincial, Zhengzhou 450000, China)

ABSTRACT: With the genetic engineering technology maturing into the field of edible agricultural products, a variety of genetically modified foods have emerged. At present, many countries, including China, have established a genetically modified food labeling management system to protect consumers' right to know and to choose. Scientific and effective genetically modified food testing technology is the premise for realizing the management of genetically modified products in China. Due to the diverse composition and complex matrix of genetically modified foods, the detection technology of genetically modified ingredients for primary agricultural products is not fully applicable to industrial processed foods, especially deep processed foods. This puts new requirements on food regulatory and technical testing departments. This paper introduced the current detection technologies of genetically modified components in several major foods according to the different classifications of technical principles. In addition to introducing the technical methods that had been matured and applied, this paper also introduced several new technologies newly developed by domestic scholars, in order to provide important reference for researchers to further develop new technologies.

KEY WORDS: genetically modified food; detection technology; ingredient

基金项目: 河南省科技攻关计划项目(172102310724)

Fund: Supported by Henan Science and Technology Research Project (172102310724)

*通讯作者: 石盼盼, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 523150920@qq.com

*Corresponding author: SHI Pan-Pan, Engineer, Product Quality Supervision and Inspection Institute of Henan Provincial, 200 Meters East of Baifo South Road, Boxue Road, Huicheng District, Zhengzhou 450000, China. E-mail: 523150920@qq.com

1 引言

转基因食品是指以转基因生物为直接食品或为原料加工生产的食品, 可分为转基因动物食品、转基因植物食品和转基因微生物食品。转基因食品因其新奇特异的外观或是口感吸引着大众的眼球, 同时人们对自身健康的重视, 致使转基因食品的安全性备受争议。挪威是世界上首个要求对转基因产品及其含量进行明确标识的国家, 其要求对转基因含量大于等于 2% 的转基因食品进行标识; 欧盟国家转基因食品的要求标识含量为 0.9%, 我国农业部 2002 年发布《农业转基因生物标识管理办法》, 要求对转基因大豆在内的 5 种转基因生物及所涉及的 17 个品系进行标识。食品中转基因成分的科学高效检测是严格执行转基因食品标识管理制度的前提^[1-6]。

本文根据技术原理的不同分别介绍了四大类检测方法, 并对近些年的研究成果加以综述, 为新方法的开发及监督部门监管执法提供参考。

2 以核酸扩增技术为核心的转基因成分检测方法

以核酸扩增技术为核心的检测方法是指通过对样品基因组外源基因核酸的扩增来进行食品中相关转基因成分的检测的技术方法。主要有 PCR 电泳法、多重 PCR 法、实时荧光 PCR 法、数字 PCR、恒温 PCR 法、RPA(聚合酶重组酶技术)法等常见核酸扩增技术方法, 是目前食品中转基因成分检测的主要技术。如行业标准 SN/T 3767.3-2014《出口食品中转基因成分环介导等温扩增检测方法 第 3 部分: 玉米 Bt-11 品》^[7]。

但在实际工作中遇到工业加工食品检验时, 由于工业加工食品在加工过程中 DNA 受到部分破坏, 检测人员操作时完全依赖标准方法检测效果时有不佳, 可能导致错检漏检。陈笑芸等^[8]用农业部 1485 号公告中的 DNA 提取方法提取油豆腐、酱油、蛋白粉等食品的全基因组 DNA, DNA 电泳显示豆浆、酱油、豆瓣酱没有任何 DNA 条带, 其他也只有少量弥散条带。陈颖等^[9]研究表明, 转基因食品的内外源 DNA 在加工过程发生了不同程度的降解。中国农业大学王媛^[10]分析了豆腐、豆奶、豆粉、酱油等 4 种大豆加工食品的磨浆、点浆、调配等关键加工工艺对基因组 DNA 及外源基因的片段大小和含量的影响, 结果表明针对外源目的基因, 磨浆、挤压成型、调配、均质、喷雾干燥、制曲及发酵等加工过程对其产生了较大的影响, 高温煮浆过程对内、外源基因降解产生的影响较小。以上结果为相关样品的检验检测提供了科学指导。许多研究^[11-16]都表明在食品加工过程中 DNA 发生了降解, 使得 DNA 提取困难, 无法通过对转基因成分进行核酸检测来确定是否

为转基因食品。

近年来此类检测方法的研究主要集中在 2 方面: (1) 对食品 DNA 提取技术的研究; (2) 在开发更高灵敏度高通量的核酸扩增检测技术, 实现对样品低浓度 DNA 的检测。

提取高质量的 DNA 是核酸检测方法得以良好应用的基础, 近年来我国许多学者进行了相关研究, 成果显著。南方医科大学蔡翠霞等^[17-20]建立了针对不加工程度的转基因食品的 DNA 提取方案: 对于转基因农产品, 采用 Chelex-100 法快速提取 DNA; 针对油脂等经过深加工 DNA 含量低的食品, 该研究利用硅膜吸附柱为介质, 结合 DNA 担体鲑鱼精子 DNA, 建立了一种稳定有效的提取 DNA 方法, 并将其应用于 5 个品牌 11 种食用油的 DNA 提取, 核酸可用于 PCR、LAMP、荧光定量 PCR 检测, 效果理想。陈笑芸等^[8]通过不同的前处理如离心去除水分、异丙醇沉淀浓缩 DNA、加入乙醇 TRIS-HCl 等试剂除去加工过程中的焦糖色和小分子物质等方法, 对深加工食品如豆腐、豆瓣酱、蛋白粉等分别进行不同的前处理, 可以提取到高质量高浓度的 DNA 用于下一步核酸检测。王爱迪等^[21]用磁性微球法提取深加工食品基因组核酸, 通过 PCR 和 RT-PCR 对提取的 DNA 样品进行分析, 并进一步与市售的试剂盒提取方法比较, 结果表明该法提取的 DNA 完整、纯度高且可扩增性及 RT-PCR 反应的适用性良好, 适用于大豆油及马铃薯淀粉等深加工食品中转基因片段的提取。以磁性四氧化三铁微球为固相吸附剂, 吸附提取深加工食品如大豆油的基因组 DNA, 只需要 200 mL 的大豆油, 即可得到高质量的 DNA。

近年来高灵敏度高通量的核酸扩增技术方法也不断涌现, 主要有多重 PCR 技术、微流控相结合的技术和第三代数字 PCR 技术等^[22-27]。敖金霞等^[28]针对 3 种物种的 4 种外源基因和一种内源基因片段设计 10 对 PCR 引物, 经过两轮五重 PCR 扩增可检测到经试剂盒提取的低含量 DNA, 适用于检测转基因大豆、玉米、水稻和深加工产品如卵磷脂、大豆蛋白粉、大豆精炼油等。此方法结合了多重 PCR 的高效性和巢式 PCR 的高灵敏性, 实现了不同物种和不同品系深加工食品转基因成分的高通量检测。邓婷婷等^[29]研究建立了基于微滴式和芯片式数字 PCR 技术检测克螟稻转基因成分的双重数字 PCR 定量分析方法, 该方法可以在同一个反应体系中同时测定样品中两种靶序列, 其定量的绝对灵敏度达 1 copies/ μ L。数字 PCR 技术在食品中转基因成分检测方面的报道还很少, Morisset 等^[30]利用微滴数字 PCR 对食品和饲料样品实现了定量检测, 开创了数字 PCR 技术在加工产品转基因检测方面应用的先河。数字 PCR 综合了荧光 PCR 的准确性和基因芯片的高通量, 是复杂食品体系中低含量模板分子的核酸扩增检测的新发展方向。李彧媛等^[31]以加热铜块组成 3 个恒温带, 以透明的薄壁聚四氟乙烯(PTFE)毛细管微通道为 PCR 反应体系构建

成连续流动微流控 PCR 检测平台, 此微流控体系可以在 9 min 内成功扩增转基因植物的 P35S 和 tNOS 基因序列, DNA 样品浓度的检测极限可达 0.005 ng/ μ L, 该方法也适合食品样品可高效检测到低浓度 DNA。

在样品基因组 DNA 高质量提取和高灵敏度高通量的扩增技术的双重保障下, 核酸检测技术的优势可以得到更好的发挥, 使该技术在食品转基因检测领域的应用保持优势。但也因为其灵敏度高, 在样品检测时容易出现假阳性, 需要其他技术来实现优势互补。

3 基于外源核酸分子特异性杂交技术为核心的检测方法

根据碱基互补配对原则, 每一段特异的 DNA 都有一段固定的与之匹配的基因序列, 基于核酸杂交原理的转基因食品检测技术就是根据是否与互补序列发生特异性杂交来检测外源转基因片段的有无。此类检测技术在转基因检测领域的应用也十分广泛, 根据杂交反应介质的不同可以分为固相杂交检测系统和液相杂交检测系统。

3.1 基于固相杂交系统的检测方法

基于固相杂交系统的检测方法多为基因芯片法, 即将大量探针分子固定于支持物上后与标记的样品分子进行杂交, 通过检测每个探针分子的杂交信号强度进而获取样品分子的序列及数量信息。支持物可以是硅片、玻片、或者是新兴的尼龙膜即膜芯片。

我国国家标准 GB/T 33807-2017《玉米中转基因成分的测定 基因芯片法》^[32]规定提取待测样品的 DNA 经多重 PCR 扩增后, 扩增产物与固定有目标转基因序列特异性探针的膜基因芯片进行杂交, 检测结果可以用肉眼直接判断, 或用芯片识读仪对杂交芯片进行扫描自动判读结果。该法适用玉米加工产品中转基因成分的定性检测, 规定的外源基因成分检出限量为 0.1%。除国家和行业标准中提到的基因芯片核酸杂交检测外, 近些年也有一些基于此原理的更加科学高效的检测技术出现。蔡翠霞针对常见转基因食品 5 大物种 13 个品系作物设计 26 条寡核苷酸探针, 制备转基因食品检测基因芯片, 对各个品系标准品进行检测, 结果与标准品符合率达 100%, 表明该芯片能初步应用于转基因样品的筛查与检测, 但其在转基因食品检测中的应用还尚未发现^[33]。

多重 PCR 与基因芯片整合可以实现两种技术的优势互补, 使基因芯片检测体系达到较高的灵敏度和特异度, 利用该方法可以对不同的转基因食品进行同步、快速、准确地检测, 可实现对大批量转基因食品的筛查、检测、监管。并且目前有些公司已经开发出全自动的膜芯片基因检测工作站, 设备操作比较简单, 大约 2 h 就可以出自动判读检测结果, 稳定性好, 方便快速。但由于此类仪器设备

及芯片耗材价格昂贵, 影响普及。

3.2 基于液相杂交系统的检测方法

随着技术的发展, 出现了液相芯片等基于液体介质的高效核酸杂交检测技术, 使得此类检测方法具备了更高的通量^[34,35]。天津大学的冉晓华^[36]制备了一种包埋式磁性聚合物微球提取马铃薯类深加工食品的 DNA, 并在此微球表面偶联特异性寡核苷酸探针捕获实现目标片段检测。该研究不需要核酸扩增, 提取的 DNA 可以直接杂交检测, 实现了转基因成分的快速高通量检测。我国国家标准 GB19495.9-2017《转基因产品检测 植物产品液相芯片检测方法》^[34]采用液相芯片技术对植物及其加工品的 CaMV35S 和 NOS 基因定性检测。该技术是用荧光探针标记的抗体微球, 在一个灵活的液相芯片系统内, 通过流式细胞术原理实现信号识别和检测。该技术可以在一个微量液态反应体系中利用少量样本同时进行上百种不同基因的分析。

与固相杂交芯片相比, 液相芯片系统灵活性好, 液相环境也更利于保持分子本身的天然构象和活性, 有利于探针和被测物的反应, 且拥有操作更加方便更加经济等优势。该技术的劣势是匹配和交联条件的优化及数据的处理比较繁琐, 但这些将随着技术的进步逐渐得到改善。

4 以蛋白检测为技术核心的方法

以蛋白检测为技术核心的方法主要是通过检测外源蛋白的有无以确定是否含有转基因成分, 此方法在近年来的研究中也越来越多。基于食品安全角度考虑, 检测其外源基因表达的蛋白较检测其外源基因更具直接意义。

基于外源蛋白的大豆及其加工成分转基因成分检测技术主要有 SDS 聚丙烯凝胶电泳分析技术、酶联免疫吸附分析技术、蛋白质氨基酸序列飞行时间质谱分析方法、蛋白芯片技术等。

SDS 聚丙烯凝胶电泳分析技术是分子生物学领域检测目的蛋白的一项常用技术, 它的技术原理是针对目的抗原设计特异性的抗体, 样品全蛋白经提取, 电泳分散成不同大小的蛋白, 然后将分开的蛋白转移到固相膜上, 用特异性抗体去识别, 在显影设备上观察到目的蛋白条带。该技术特异性好, 可用于大豆中转基因蛋白的检测, 但由于豆制品在加工过程中使外源蛋白发生不同程度的降解, 无法检测到目的蛋白, 且该技术较为复杂对人员技术要求高, 不利于检验检测行业的推广应用。针对加工工艺比较固定的产品如阿胶、燕窝等研究加工食品蛋白降解变化规律, 检测高价值产品上的应用空间还是比较广的。曾有某著名阿胶生产商表示, 阿胶是经过深度热加工后的产品, DNA 已被深度破坏, 并在权威机构经过试验后发现 DNA 的检测方式并不适用于阿胶, 建议使用行业内所采用的检测特

征蛋白或特征肽链的方法进行进一步鉴别^[37]。

酶联免疫吸附法检测外源蛋白也是基于抗原抗体特异型结合的原理。国内外许多公司已基于此检测技术开发出商品化的大豆转基因成分检测试剂盒, 其中抗体包被的微孔板形式产品操作简便且通量大, 适合于检测行业。此方法的优势是操作方便, 但对于复杂基质和外源基因表达水平较低或者是加工工艺使得蛋白变性的样品, 检测能力显著下降。有人用 ELISA 方法检测含 EP4-EPSP 的转基因大豆种子检出限可达 0.15%, 但同样的方法检测烘烤食品检出限只有 1.4%^[38]。同样针对 ELISA 技术原理的试纸条方法操作时间短仅需 15~30 min, 结果清晰可见, 可实现快捷的定性检测, 在转基因产品的采用金标免疫检测试纸条系统对含有 Cry1Ab/Ac 蛋白的大豆等转基因植物及其初加工品进行检测^[39]。

由于大豆食品在深加工过程中外源蛋白多半发生变性降解, 基因提取过程比较费时费力, 可能因为没有提取到目标 DNA 而造成漏检, 蛋白检测技术的优势不容忽视。基于免疫反应的灵敏性, 外源抗原蛋白的提取一般只需要粗提物即可达到检测需求, 而且测定分析迅速, 不需要复杂的扩增设备, 适合于现场测试, 更加契合目前检测市场的需求。所以认为未来基于蛋白免疫原理的深加工食品转基因检测技术的研发方向可以是: 借助工程菌株, 表达纯化出针对不同工艺加工后变性的降解蛋白的特异性抗体, 充分发挥蛋白免疫技术在此领域的检测优势。

蛋白质氨基酸序列飞行时间质谱分析方法的检测原理是分析转基因生物表达的蛋白质与目的蛋白质(确认阳性转基因表达蛋白)氨基酸序列的异同来判定转基因成分的有无。样品蛋白经过提取, 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离、裂解、干燥后上基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱分析, 得出样品的相关蛋白肽质量指纹图谱与目的蛋白氨基酸序列的匹配数及覆盖率, 即可反应样品中转基因表达蛋白的存在与否, 或者说存在可能性的大小。我国农业部 1782 号公告-12-2010《转基因生物及其产品食用安全性检测》就采用此方法, 可以实现对转基因大豆及其初加工品的转基因成分进行检测^[40]。但对于大豆深加工食品在加工过程中物理化学作用下原蛋白成分发生降解变化, 进一步经该技术酶解后得到的蛋白肽质量指纹图谱会更加复杂, 也失去了与目的蛋白氨基酸序列比对的意义。所以该技术的研究重点应该是开发针对深加工食品降解后蛋白的蛋白肽质量指纹图谱库, 进一步比对才有很强的实际指导意义。

蛋白芯片法是基于抗原抗体特异性反应原理, 制备针对外源基因的特异性单克隆抗体偶联到芯片上进行检测的方法。汪琳等^[41]研制了一种可同时检测 3 种转基因成分 BTcry1Ac 蛋白、植酸酶蛋白、BTcry1Ah 蛋白的蛋白芯片。他们将包含 3 种转基因成分蛋白质的单克隆抗体点于化学

修饰的芯片上, 然后对芯片的修饰材料、缓冲液成分、封闭液种类、二抗使用浓度、反应时间等进行优化后信号稳定。检测灵敏度可达到: BTcry1Ac 蛋白 35 ng/mL、植酸酶蛋白 20 ng/mL、BTcry1Ah 蛋白 30 ng/mL。但同样该技术仅适用于大豆及其初加工产品转基因成分的检测。

5 以测序技术为核心的检测方法

从一代测序 sanger 法发展到现今的 454 焦磷酸测序、Illumina (Solexa) sequencing Illumina 公司的 Solexa 测序和 ABI 公司的 SOLiD, 离子半导体测序, DNA 纳米球测序等新一代高通量测序, 测序技术在分子生物学领域发挥着重要的作用。测序技术是通过样品的全基因组进行全面分析以直接明了地判断样品是否含有转基因成分, 实现了真正意义的高通量大规模检测, 结果可信度高^[42]。尤其是对于未经允许种植的转基因大豆品种的筛查检测具备现行其他检测手段无法替代的优势。通过对未知大豆核酸样品进行一次性的高通量测序, 获得准确全面的序列信息, 进行序列比对便可清洗明了地知道未知大豆样品是否含有转基因序列及何种转基因序列。以往测序技术的缺点在于数据量庞大, 工作繁琐。然而, 高通量测序将弥补这一劣势。Akritidis 等^[43]在非转基因棉花中检测到 CaMV35S 利用基因组步移策略扩增出侧翼序列, 经测序和序列比对得出未知棉花样品中含有 Monsanto1445 转基因棉花中的转基因成分, 建立了基于测序技术的未知转基因检测方法。

测序技术的缺点在于数据量庞大, 工作繁琐。然而, 正是这些数据才能获得目的基因的所有信息, 为转基因食品的检测提供了潜在的可能性和新的发展方向。Geoffrey 等^[44]利用第二代测序技术分析了欧盟批准上市的转基因水稻的外源基因插入位点, 并且通过重测序拼接的新基因组分析外源基因的全部信息。Yang 等^[45]同样利用第二代测序技术, 直接将小片段双端测序结果与含有通用元件等常规信息的基因文库比对, 从而得到可疑的插入位点及插入序列, 最后通过传统 PCR 验证。

6 结 论

目前我国和国际上均没有针对转基因植物深加工食品的检测标准, 对已经批准商业化种植的转基因大豆等深加工食品的生物检测技术也没有官方的标准和规范, 尤其是精炼植物油类产品, 在市场上屡见不鲜, 但检测技术的落后使此类食品的转基因成分的检测监管无法落实, 消费者的权益得不到良好的保障^[46-48]。

对大豆类食品或者深加工食品转基因的检测研究重点在于对不同加工工艺对转基因外源基因产生的影响规律进行深入研究, 筛选出大豆加工食品转基因检测的特征 DNA 或者特征蛋白质, 基于此采用现代分子生物学的技

术手段对其检测显然是轻而易举的。

另外, 由于我国转基因食品的管理有着相当严格和谨慎的政策及审批制度, 转基因食品安全性评价和风险评估体系也在逐步完善中, 并且我国对转基因产品及其加工品, 不管加工后终产品是否存在转基因成分, 都要求强制标识。消费者完全可以对相关消费品放心食用, 做到不信谣、不传谣、不对转基因食品过度恐慌, 为我国转基因食品相关科学技术的研究发展提供良好的社会环境。

参考文献

- [1] 邵彪, 周小兰, 王琳琳, 等. 浅析肉制品中植物源性转基因成分风险[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(20): 5275-5280.
Shao B, Zhou XL, Wang LL, *et al.* Analysis of the risk of plant-derived transgenic components in meat products [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(20): 5275-5280.
- [2] 崔宁波, 张正岩. 转基因大豆研究及应用进展[J]. 西北农业学报, 2016, 25(8): 1111-1124.
Cui NB, Zhang ZY. Research and application progress of transgenic soybeans [J]. *Northwest Agric J*, 2016, 25(8): 1111-1124.
- [3] 王颢潜, 陈锐, 李夏莹, 等. 转基因产品成分检测技术研究进展[J]. 生物技术通报, 2018, 34(3): 31-38.
Wang YQ, Chen R, Li XY, *et al.* Research progress in detection technology of genetically modified products [J]. *Biotechnol Bull*, 2018, 34(3): 31-38.
- [4] 杜智欣, 焦悦, 张亮亮, 等. 转基因成分定量检测技术研究进展[J]. 食品工业科技, 2017, 38(10): 379-384.
Du ZX, Jiao Y, Zhang LL, *et al.* Research progress in quantitative detection technology of genetically modified components [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2017, 38(10): 379-384.
- [5] 韦红, 朱暹明. 转基因食品检测技术的应用与发展[J]. 食品安全导刊, 2018, (26): 72.
Wei H, Zhu SM. Application and development of genetically modified food detection technology [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2018, (26): 72.
- [6] 高新梅, 逯敏慧. 研究植物转基因技术的必要性探讨[J]. 现代农业科技, 2019, (4): 35-37
Gao XM, Min MH. Discussion on the necessity of studying plant transgenic technology [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2019, (4): 35-37.
- [7] SN/T 3767. 3-2014 出口食品中转基因成分环介导等温扩增(LAMP)检测方法 第 3 部分: 玉米 Bt-11 品系[S].
SN/T 3767. 3-2014 Method for the detection of transgenic components in the export foods by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) Part 3: Maize Bt-11 strain [S].
- [8] 陈笑芸, 汪小福, 周育, 等. 转基因大豆深加工食品 DNA 鉴定技术研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(4): 156-162.
Chen XY, Wang XF, Zhou Y, *et al.* Study on DNA identification technology of transgenic soybean deep processing food [J]. *J Chin Instit Food Sci Technol*, 2013, 13(4): 156-162.
- [9] 陈颖, 王媛, 葛毅强. GM 食品内外源基因在加工过程中的降解变化[J]. 食品与发酵工业, 2005, (8): 66-69.
Chen Y, Wang Y, Ge YQ. Degradation of exogenous genes in gm food during processing [J]. *Food Ferment Ind*, 2005, (8): 66-69.
- [10] 王媛. 转基因大豆内、外源基因在食品加工过程中变化规律的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
Wang Y. Study on the changes of internal and exogenous genes in transgenic soybeans during food processing [D]. Beijing: China Agricultural University, 2005.
- [11] 姚芹, 徐泽鹏, 曹灿灿, 等. 食用大豆油加工过程 DNA 降解及检测研究[J]. 食品科技, 2018, 43(4): 184-188.
Yao Q, Xu ZP, Cao CC, *et al.* DNA degradation and detection of edible soybean oil during processing [J]. *Food Sci Technol*, 2018, 43(4): 184-188.
- [12] 刘艳艳, 董书光, 耿加亮, 等. 阿胶加工工艺过程中 DNA 降解规律研究[J]. 药学研究, 2016, 35(9): 501-507.
Liu YY, Dong SG, Geng JL, *et al.* Study on DNA degradation in the process of Ejiao processing [J]. *Pharm Res*, 2016, 35(9): 501-507.
- [13] 叶可萍, 周光宏, 徐幸莲, 等. 转基因大豆不同加工过程 DNA 降解研究[J]. 食品科学, 2010, 31(13): 312-315.
Ye KP, Zhou GH, Xu XL, *et al.* DNA degradation of different processing processes of transgenic soybeans [J]. *Food Sci*, 2010, 31(13): 312-315.
- [14] 柴成梁, 唐柏飞, 常晓娇, 等. 利用微滴式数字 PCR 技术检测大豆毛油中的转基因成分[J/OL]. 中国粮油学报: 1-5[2019-02-28]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2864.TS.20181228.1659.002.html>.
- [15] Chai CL, Tang BF, Chang XJ, *et al.* Detection of transgenic components in soybean oil by microdroplet digital PCR [J/OL]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*: 1-5 [2019-02-28]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2864.TS.20181228.1659.002.html>.
- [15] Genetically Modified Foods. Findings on genetically modified foods reported by investigators at Zhejiang academy of agricultural sciences (event-specific qualitative and quantitative detection of genetically modified rice G6H1) [Z]. *Food Weekly News*, 2019.
- [16] Jun S, Bei N, Dong W, *et al.* Comparison of the Monte Carlo and guide to uncertainty in measurement methods in estimating measurement uncertainty: Indirect measurement of the CaMV35S promoter in mixed samples of genetically modified soybean [J]. *Food Control*, 2018, (2018): 90.
- [17] 蔡翠霞, 肖维威, 康文杰, 等. 转基因食品 DNA 提取研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2011, 31(5): 121-125.
Cai CX, Xiao WW, Kang WJ, *et al.* Research progress in DNA extraction of genetically modified foods [J]. *Chin J Biotechnol*, 2011, 31(5): 121-125.
- [18] 蔡翠霞, 肖维威, 吴慧慧, 等. 植物油 DNA 的高效提取方法研究[J]. 中国油脂, 2014, 39(1): 69-72
Cai CX, Xiao WW, Wu HH, *et al.* Study on high efficient extraction method of vegetable oil DNA [J]. *China Oils Fats*, 2014, 39(1): 69-72.
- [19] 蔡翠霞, 肖维威, 康文杰, 等. 改良 Chelex-100 法快速提取转基因农产品 DNA[J]. 生物技术通报, 2011, (10): 210-214.
Cai CX, Xiao WW, Kang WJ, *et al.* Rapid extraction of DNA from transgenic agricultural products by modified Chelex-100 method [J]. *Biotechnol Bull*, 2011, (10): 210-214.
- [20] 刘欣, 祝长青, 王毅谦, 等. 大豆转基因检测中 DNA 提取方法的比较研究[J]. 食品科学, 2013, 34(4): 199-203.
Liu X, Zhu CQ, Wang YQ, *et al.* Methodology comparison of DNA extraction from soybean for detection of genetically modified organism [J]. *Food Sci*, 2013, 34(4): 199-203.
- [21] 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.
- Wang AD, Yan XH, Chen L, *et al.* Extraction of deep processing genetically modified food dna by super magnetic microspheres [J]. Food Sci, 2013, 34(10): 122-125.
- [22] 付海滨, 闫超杰, 李妹, 等. 数字 PCR 技术在转基因成分检测中的应用[J]. 辽宁农业科学, 2017, (1): 50-53.
- Fu HB, Yan CJ, Li W, *et al.* Application of digital per technology in detection of genetically modified components [J]. Liaoning Agric Sci, 2017, (1): 50-53.
- [23] 周杰, 黄文胜, 邓婷婷, 等. 转基因检测微流控恒温扩增芯片的研制[J]. 现代食品科技, 2017, 33(6): 293-302, 270.
- Zhou J, Huang WS, Deng TT, *et al.* Development of microfluidic constant temperature amplification chip for transgenic detection [J]. Mod Food Technol, 2017, 33(6): 293-302, 270.
- [24] 魏霜, 周广彪, 刘津, 等. 多重串联式 PCR 基因碟片技术检测转基因大豆 GTS 40-3-2[J]. 中国食品学报, 2018, 18(2): 244-249
- Wei S, Zhou GB, Liu J, *et al.* Detection of transgenic soybean GTS 40-3-2 by multiple tandem PCR gene disc technology [J]. Chin J Food Sci, 2018, 18(2): 244-249
- [25] Genetics-DNA Research. New DNA Research Findings from S. Okumura and Co-Authors Described (Development of an Ultra-sensitive Detection Method for Genetically Modified Soybeans in Natto, a Traditional Japanese Fermented Food) [Z]. 2019.
- [26] Zhou C, Sun CJ, Luo ZW, *et al.* Fiber optic biosensor for detection of genetically modified food based on catalytic hairpin assembly reaction and nanocomposites assisted signal amplification [J]. Sen Actuat B: Chem, 2017, 7: 174.
- [27] Cottenet G, Blancpain C, Sonnard, *et al.* Two FAST multiplex real-time PCR reactions to assess the presence of genetically modified organisms in food [J]. Food Chem, 2019, 274: 760-765.
- [28] 敖金霞, 高学军, 于艳波, 等. 转基因大豆、玉米、水稻深加工产品的五重巢式 PCR 技术检测[J]. 中国农业大学学报, 2010, 15(2): 93-99.
- Ao JX, Gao XJ, Yu YB, *et al.* Detection of five-fold nested PCR technology for transgenic soybean, corn and rice deep processing products [J]. J China Agric Univ, 2010, 15(2): 93-99.
- [29] 邓婷婷, 黄文胜, 葛毅强, 等. 基于微滴式和芯片式数字 PCR 技术的转基因克螟稻成分的定量检测[J/OL]. 食品科学: 1-12 [2018-08-13]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20180713.1700.006.html>.
- Deng TT, Huang WS, Ge YQ, *et al.* Quantitative detection of transgenic glutinous rice components based on microdroplet and chip digital PCR technology [J/OL]. Food Science: 1-12 [2018-08-13]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20180713.1700.006.html>.
- [30] Morisset D, Štebih D, Milavec M, *et al.* Quantitative analysis of food and feed samples with droplet digital PCR[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e62583.
- [31] 李彧妮, 邢达, 章春笋. 连续流动微流控 PCR 快速检测转基因植物的实验研究[J]. 生物物理学报, 2009, 25(S1): 498.
- Li YY, Xing D, Zhang CS. Experimental study on rapid detection of transgenic plants by continuous flow microfluidic PCR [J]. Acta Biophys Sin, 2009, 25(S1): 498.
- [32] GB/T 33807-2017 玉米中转基因成分的测定 基因芯片法[S].
- GB/T 33807-2017 Determination of genetically modified components in maize-Gene chip method [S].
- [33] 蔡翠霞. 转基因食品 DNA 提取及寡核苷酸芯片检测技术的研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2012.
- Cai CX. DNA extraction and oligonucleotide chip detection technology of genetically modified foods [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2012.
- [34] GB 19495. 9-2017 转基因产品检测 植物产品液相芯片检测方法[S].
- GB 19495. 9-2017 Genetically modified product testing-Plant product liquid chip detection method [S].
- [35] 赵卫东, 郑文杰, 王爱迪, 等. 磁性微球在植物源性转基因食品检测中的应用[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(6): 128-130.
- Zhao WD, Zheng WJ, Wang AD, *et al.* Application of magnetic microspheres in the detection of plant-derived transgenic foods [J]. Food Res Dev, 2012, 33(6): 128-130.
- [36] 冉晓华. 功能化聚合物微球的制备及其在转基因检测中的应用[D]. 天津: 天津大学, 2012.
- Ran XH. Preparation of functionalized polymer microspheres and its application in transgenic detection [D]. Tianjin: Tianjin University, 2012.
- [37] 环球网财经. 阿胶检测不出驴的 DNA 成分是怎么回事? [EB/OL]. [2016-03-18]. <http://finance.huanqiu.com/roll/2016-03/8725111.html>
- Global Network Finance. What is the DNA component of Ejiao detection? [EB/OL]. [2016-03-18]. <http://finance.huanqiu.com/roll/2016-03/8725111.html>
- [38] 肖海龙, 赵凯, 林赛君, 等. 牛奶 β -酪蛋白和大豆 β -伴球蛋白双抗制备及夹心 ELISA 快速定性检测技术的建立[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2013, 39(2): 222-226.
- Xiao HL, Zhao K, Lin SJ, *et al.* Preparation of milk β -casein and soybean β -conglycinin double antibody and establishment of sandwich ELISA rapid qualitative detection technology [J]. J Zhejiang Univ (Agric Life Sci Ed), 2013, 39(2): 222-226.
- [39] GB/T 19495. 8-2004 转基因产品检测[S].
- GB/T 19495. 8-2004 Detection of genetically modified products [S].
- [40] 农业部 1782 号公告-12-2010 转基因生物及其产品食用安全性检测蛋白质氨基酸序列飞行时间质谱分析方法[Z].
- Agriculture department No. 1782 announcement-12-2010 genetically modified organisms and their products edible safety testing protein amino acid sequence time-of-flight mass spectrometry [Z].
- [41] 汪琳, 邢佑尚, 周琦, 等. 3 种转基因成分检测蛋白芯片的研制[J]. 植物检疫, 2011, 25(3): 1-6.
- Wang L, Xing YS, Zhou Q, *et al.* Development of three kinds of transgenic component detection protein chips [J]. Plant Quar, 2011, 25(3): 1-6.
- [42] 周晓光, 任鲁风, 李运涛, 等. 下一代测序技术: 基因回顾与展望[J]. 中国科学: 生命科学, 2010, 40(1): 23-37.
- Zhou XG, Ren LF, Li YT, *et al.* Next generation sequencing technology: gene review and prospect [J]. Chin Sci: Life Sci, 2010, 40(1): 23-37.
- [43] Akritidis P, Pasensis K, Tsafaris A, *et al.* Identification of unknow genetically identification of unknown genetically modified material admixed in conventional cotton seed and development of an event-specific detection method [J]. Electr J Biotechnol, 2008, 11: 76-83.
- [44] Geoffrey C, Carine B, Véronique S, *et al.* Development and validation of a multiplex real-time PCR method to simultaneously detect 47 targets for the identification of genetically modified organisms [J]. Anal Bioanal

- Chem, 2013, 405(21): 6831–6844.
- [45] Yang L, Shen H, Pan A, *et al.* Screening and construct specific detection methods of transgenic Huafan No 1 tomato by conventional and real time PCR [J]. *J Sci Food Agric*, 2005, 85(13): 2159-2166.
- [46] Nam HK, Ji YH, Hyang GL, *et al.* Strategic approaches to communicating with food consumers about genetically modified food [J]. *Food Control*, 2018, 92: 521–532.
- [47] 孟静, 孙潇慧, 钟立霞, 等. 豆制品中转基因成分检测的研究进展[J]. *大豆科学*, 2019, 38(1): 148–152.
- Meng J, Sun WH, Zhong LX, *et al.* Research progress in detection of genetically modified organisms in bean products [J]. *Soybean Sci*, 2019, 38(1): 148–152.
- [48] 王邵宇. 转基因大豆的发展及其风险探究[J]. *粮食科技与经济*, 2018, 43(7): 117–119.

Wang SY. The development and risk of genetically modified soybeans [J]. *Food Sci Technol*, 2018, 43(7): 117–119.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

石盼盼, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 523150920@qq.com