

磁珠法提取植物蛋白饮料 DNA

梁美丹, 肖 剑*, 陈 楷, 黄志深, 劳嘉倩

(广州市食品检验所, 广州 511400)

摘 要: 目的 建立一种快速、高效的植物蛋白饮料基因组 DNA 提取方法并应用于植物蛋白饮料中植物源性成分的检测。**方法** 以豆浆、豆奶、芝麻糊、花生牛奶、榛子乳 5 种植物蛋白饮料为研究对象, 建立利用硅羟基磁珠提取植物蛋白饮料 DNA 的方法, 通过分析所提取 DNA 的浓度和纯度, 实时荧光 PCR 扩增效率, 并与十六烷基三甲基溴化铵法(cetyltrimethylammonium ammonium bromide, CTAB)比较, 综合评价磁珠法提取植物蛋白饮料的效果。**结果** 大部分样品磁珠法提取的 DNA 浓度比 CTAB 法高, $OD_{A260/A280}$ 均大于 1.70。**结论** 磁珠法提取的 DNA 纯度较高, 杂质少, 能满足植物蛋白饮料源性成分的分析要求, 尤其适用于大豆类蛋白饮料的 DNA 提取, 为快速、高效获取质量好的植物蛋白饮料基因组 DNA 提供参考。**关键词:** 磁珠法; 植物蛋白饮料; DNA; 检测

Extraction of plant protein beverage DNA by magnetic beads

LIANG Mei-Dan, XIAO Jian*, CHEN Kai, HUANG Zhi-Shen, LAO Jia-Qian

(Guangzhou Institute of Food Inspection, Guangzhou 511400, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid, efficient plant protein beverage genomic DNA extraction method and apply to the detection of plant-derived components in plant protein beverage. **Methods** Five kinds of plant protein drinks, including soybean milk, soy milk products, sesame paste, peanut milk and hazelnut milk, were used as research objects to establish a method to extract DNA from plant protein drinks by using silicon hydroxyl magnetic beads. Comparing with CTAB method, the effect of magnetic beads method on the extraction of plant protein beverage were comprehensively evaluated by analyzing the concentration and purity of the extracted DNA and the amplification efficiency of real-time fluorescence PCR. **Results** The concentration of DNA extracted by magnetic beads method was higher than that by CTAB method in most samples. The $OD_{A260/A280}$ ratio was more than 1.70. **Conclusion** The DNA extracted by magnetic beads method has higher purity and less impurities, which can achieve the rapid and efficient extraction of genomic DNA from various plant-derived components of plant protein drinks. It is especially suitable for the DNA extraction of soybean protein drinks, and provides a reference for the rapid and efficient acquisition of genomic DNA of good quality plant protein drinks.

KEY WORDS: method of magnetic beads; plant protein beverage; DNA; detection

基金项目: 国家市场监督管理总局科技计划项目(2019MK090)

Fund: Supported by the Science and Technology Project of State Administration for Market Regulation (2019MK090)

*通信作者: 肖剑, 高级工程师, 主要研究方向为食品微生物及分子生物学检测技术。E-mail: xjhq521@163.com

*Corresponding author: XIAO Jian, Senior Engineer, Guangzhou Institute of Food Inspection, Guangzhou 511400, China. E-mail: xjhq521@163.com

0 引言

植物蛋白饮料具有“天然、绿色、营养、健康”的特点,越来越受消费者喜爱,已经成为饮料市场上不可或缺的产品。随着市场需求激增和原料价格的上涨,不法商贩为谋取私利,在植物蛋白饮料中掺入成本低廉的非产品标识的植物原料,严重扰乱了市场秩序,侵犯了消费者的合法权益。有研究调查广东省植物源性饮料掺假情况,20 批次样品中发现有 35% 的饮料未检出标识成分,尤其是原料较昂贵的成分掺假情况更严重^[1]。针对上述情况,急需建立植物蛋白饮料源性成分真伪鉴别的快速检测手段。目前对蛋白质饮料中源性成分的鉴定技术难点之一是获取高纯度、高质量的 DNA,由于植物蛋白饮料类产品需进行高温、高压或工业化处理,对饮料的植物原料中遗传物质破坏影响较大,且植物蛋白饮料水分含量高,目标内含物占比低,难以获得浓度高、纯度好的基因组 DNA,无法满足后续的检测要求。

传统的基因组 DNA 提取方法有十六烷基三甲基溴化铵法(cetyltrimethylammonium ammonium bromide, CTAB)^[2-3]、滤膜离心法^[4]等,这些方法存在一些不足之处,如 CTAB 法操作过程较复杂,多次高速离心导致工作效率低,且不能实现仪器高通量提取基因组 DNA。滤膜离心柱法可获取纯度较高的 DNA,但对于痕量物质的提取(目标物较少),DNA 得率较低,且不能自动化操作,目前市场上也未见有与植物蛋白饮料相关的基因组提取试剂盒。磁珠法提取核酸是以纳米生物磁珠为载体的一种新型核酸提取技术,其原理是利用核酸分子可与磁珠表面的修饰基团发生结合,在外磁场的作用可将磁珠聚集或分散,经过裂解、结合、洗涤、洗脱等步骤从而实现核酸的提取^[5]。该方法提取核酸步骤简单、高效快速、可实现自动化及高通量提取。目前利用磁珠法提取基因组 DNA 或 RNA 已较广泛应用于病毒检测^[6-7]、致病菌检测^[8-10]、动物源性成分分析^[11-13]、转基因成分分析^[14-15]等。

本研究以植物蛋白饮料为研究对象,建立专门应用于植物蛋白饮料磁珠法提取 DNA,并与 CTAB 法相比较,通过紫外分光光度计测定 DNA 的浓度和纯度、实时荧光 PCR 分析,综合评价磁珠法对植物蛋白饮料 DNA 的提取效果,以实现对植物蛋白饮料植物源性成分快速准确分析提供高质量的基因组 DNA,为国家食品安全监管部门检测提供科学准确的技术。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

豆浆、芝麻糊(自制);豆奶、榛子乳、花生牛奶(购自京东超市)。

CTAB、Tris(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);HCl、EDTA、NaCl、异丙醇、异戊醇、三氯甲烷(分析纯,广州化学试剂厂);无水乙醇(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);蛋白酶 K(20 mg/mL)、RNA 酶(10 mg/μL)、去蛋白液、磁珠(北京天根生物公司);实时荧光 PCR 混合液(日本 TOYOBO 公司);引物、探针(北京六合华大基因科技有限公司)。

CTAB 缓冲液: 55 mmol/L CTAB、1400 mmol/L NaCl、20 mmol/L EDTA、100 mmol/L Tris, 用 HCl 调节 pH 至 8.0, 121 °C 高压灭菌 15 min。

TE 缓冲液: 10 mmol/L Tris-HCL (pH 8.0)、1 mmol/L EDTA (pH 8.0)。

1.2 仪器设备

NANODROP ONE 超微量紫外分光光度计、II 级 A2 型 1376 生物安全柜(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);1-14K 高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司);HDT-100 恒温金属浴(上海汉诺公司);CFX96 Touch 实时荧光 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);微量移液器(德国 Eppendorf 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 CTAB 法提取基因组 DNA

参照 BJS 201707《植物蛋白饮料中植物源性成分鉴定》^[16]并作适当修改,具体步骤如下:吸取植物蛋白饮料 0.5 mL 至灭菌 2.0 mL 的离心管中(每个样品进行 3 次重复实验),加入 5 μL RNA 酶、20 μL 蛋白酶 K、加入 700 μL CTAB 裂解液,振荡混匀,65 °C 温浴 30 min,期间混匀 4~5 次;加入 600 μL 氯仿/异戊醇(24:1, V:V),充分振荡混匀,12000 r/min 离心 10 min;取上清液于洁净的 2.0 mL 离心管中,加入等体积的异丙醇,振荡混匀,12000 r/min 离心 10 min;弃上清,用 65 °C 预热的 TE 溶液溶解沉淀;加入 200 μL 氯仿/异戊醇(24:1, V:V),振荡混匀,12000 r/min 离心 10 min;此时溶液分为两相,小心取上清,加入等体积的异丙醇,振荡混匀,12000 r/min 离心 10 min;小心弃去上清液,加入 600 μL 70%乙醇清洗 2 次,室温内干燥,尽量将乙醇溶液挥发干净,将沉淀用 50 μL TE 溶液于 65 °C 温浴 10 min,将沉淀彻底溶解,此溶液即为基因组 DNA。

1.3.2 磁珠法提取基因组 DNA

吸取植物蛋白饮料 0.5 mL 至灭菌 2.0 mL 的离心管中(每个样品进行 3 次重复实验),加入 5 μL RNA 酶、20 μL 蛋白酶 K、700 μL CTAB 裂解液,振荡混匀,65 °C 温浴 30 min,期间混匀 4~5 次,加入 600 μL 氯仿/异戊醇(24:1, V:V),充分振荡混匀,12000 r/min 离心 10 min,取上清液于洁净的 2.0 mL 离心管中,加入等体积冰上预冷的异丙醇,15 μL 磁珠悬浮液,充分混匀后,静置 15 min,将离心管置于磁力架静置 1 min,弃去废液,加入 500 μL 去蛋白液,充分混匀后,将离心管置于磁力架静置 1 min,弃去废液,加入 70%乙醇

溶液洗涤 2 次, 室温干燥 5 min, 用 50 μL TE 溶液 65 $^{\circ}\text{C}$ 温浴 3 min, 将离心管置于磁力架静置 1 min, 吸取溶液于洁净的 1.5 mL 离心管中, 此溶液即为基因组 DNA。

1.3.3 DNA 质量检测

取 1 μL 所提取到的基因组 DNA 用超微量紫外分光光度计测定其浓度、 $\text{OD}_{\text{A}260/\text{A}280}$ 、 $\text{OD}_{\text{A}260/\text{A}230}$, 测量前先用双蒸水进行调零, 每次样品重复测 3 次。

1.3.4 实时荧光 PCR 扩增

(1)实验所用的引物和探针

参照 BJS 201707^[16]中引物探针的序列, 对植物蛋白饮料源性成分进行鉴定, 具体引物探针的序列见表 1。

(2)实时荧光 PCR 反应体系和反应条件

实时荧光 PCR 反应体系(25 μL)包括: 实时荧光 PCR 混合液 12.5 μL , 正向引物(10 $\mu\text{mol/L}$) 0.75 μL , 反向引物(10 $\mu\text{mol/L}$) 0.75 μL , 探针(10 $\mu\text{mol/L}$) 0.5 μL , DNA 模板 2 μL , 最后补水至 25 μL 。每个样品进行 2 次重复。

反应条件为: 50 $^{\circ}\text{C}$ 2 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 min; (95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min) 40 个循环。

1.4 数据统计分析

测定每个样品 DNA 浓度、 $\text{OD}_{\text{A}260/\text{A}280}$ 、 $\text{OD}_{\text{A}260/\text{A}230}$, 结果以平均值 $\pm$ 标准偏差进行表示, 所得的数据应用统计学分析软件 SPSS 21.0 进行分析。

2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 质量分析

利用超微量分光光度计对磁珠法和 CTAB 法提取的

植物蛋白饮料 DNA 进行浓度和纯度分析。2 种 DNA 提取方法结果数据见表 2, 除榛子乳外, 磁珠法提取的基因组 DNA 浓度比 CTAB 法高, 豆奶、花生牛奶及芝麻糊样品 2 种方法 DNA 浓度有显著性差异(P 值均 <0.05); 榛子乳样品中, 磁珠法提取 DNA 浓度低于 CTAB 法, 但 2 种方法 DNA 浓度无显著性差异($P>0.05$)。

DNA 的纯度通过 $\text{A}260/\text{A}280$ 值及 $\text{A}260/\text{A}230$ 值分析。DNA 的纯度要求 $\text{A}260/\text{A}280$ 的比值在 1.70~2.00 范围内^[17], 低于 1.70 表明含有蛋白质等杂质污染, 高于 2.00 表明含有 RNA 等杂质污染。磁珠法提取的 DNA 其 $\text{A}260/\text{A}280$ 的比值在 $(1.83\pm0.04)\sim(2.08\pm0.04)$, 全部样品 DNA 的 $\text{A}260/\text{A}280$ 的比值均大于 1.70, 说明磁珠法提取的 DNA 能较好去除蛋白质杂质。CTAB 法提取的 DNA 其 $\text{A}260/\text{A}280$ 的比值在 $(1.64\pm0.03)\sim(2.10\pm0.01)$ 。将 2 种方法提取的 DNA 中 $\text{A}260/\text{A}280$ 比值进行统计学分析, 除豆奶和花生牛奶样品中 2 种方法提取的 DNA 其 $\text{A}260/\text{A}280$ 比值无显著性差异($P>0.05$), 其余样品具有显著性差异($P<0.05$)。

$\text{A}260/\text{A}230$ 的比值是用于评价 DNA 是否存在多糖、盐离子等杂质, 理想状态下 $\text{A}260/\text{A}230$ 的比值应 >2.00 ^[18-19]。磁珠法提取的 DNA 除豆浆样品外, 其余样品 DNA 的 $\text{A}260/\text{A}230$ 比值均小于 2.00, CTAB 法提取全部样品的 DNA 的 $\text{A}260/\text{A}230$ 比值小于 2.00。但磁珠法提取 DNA 的 $\text{A}260/\text{A}230$ 比值均比 CTAB 法高, 2 种 DNA 提取方法中, 豆浆样品具有显著性差异($P<0.05$), 其余样品无显著性差异, 说明磁珠法提取的 DNA 去除碳水化合物较 CTAB 法好。

表 1 检测植物蛋白饮料中源性成分的引物和探针
Table 1 Primers and probes for detecting source components in plant protein drinks

名称	引物序列(5'-3')	靶标基因
大豆	正向引物: GCCCTCTACTCCACCCCA	Lectin
	反向引物: GCCCATCTGCAAGCCTTTT	
	探针: FAM-AGCTTCGCCGCTTCTTCAACTTCAC-BHQ1	
花生	正向引物: GCAACAGGAGCAACAGTTCAAG	Ara b2
	反向引物: CGCTGTGGTGCCCTAAGG	
	探针: FAM-AGCTCAGGAAGTTGCCTCAACAGTGCG-BHQ1	
芝麻	正向引物: CCAGAGGGCTAGGGACCTTC	2S albumin mRNA
	反向引物: CTCGGAATTGGCATTGCTG	
	探针: FAM-TCGCAGGTGCAACATGCGACC- BHQ1	
榛子	正向引物: CCCCCTGTTTGTGATAT	oleosin
	反向引物: ATGATAATAAGCGATACTGTGAT	
	探针: FAM-TCCCCTTCTCGTCCCTGCGGT- BHQ1	

表 2 植物蛋白饮料 2 种基因组 DNA 提取方法结果分析(n=3)
Table 2 Analysis of 2 kinds of methods for extracting genomic DNA from plant protein drinks (n=3)

样品	方法	DNA 浓度/(ng/μL)	OD 值(A260/A280)	OD 值(A260/A230)
豆浆	磁珠法	733.5±3.9 ^a	2.08±0.04 ^a	2.04±0.07 ^a
	CTAB 法	706.1±18.5 ^a	1.64±0.03 ^b	0.58±0.03 ^b
豆奶	磁珠法	845.7±14.6 ^a	2.08±0.04 ^a	1.45±0.18 ^a
	CTAB 法	583.7±16.3 ^b	2.08±0.02 ^a	1.34±0.07 ^a
花生牛奶	磁珠法	530.8±20.4 ^a	1.90±0.01 ^a	1.02±0.04 ^a
	CTAB 法	323.7±21.7 ^b	1.85±0.04 ^a	0.92±0.12 ^a
芝麻糊	磁珠法	339.8±13.1 ^a	2.03±0.01 ^a	1.60±0.02 ^a
	CTAB 法	306.7±11.1 ^b	2.10±0.01 ^b	1.58±0.04 ^a
榛子乳	磁珠法	50.9±5.8 ^a	1.83±0.04 ^a	0.89±0.07 ^a
	CTAB 法	55.0±3.6 ^a	1.93±0.05 ^b	0.77±0.02 ^a

注: 不同字母 a, b 表示具有显著性差异(P<0.05)。

2.2 实时荧光 PCR 检测结果分析

在本研究中, 将上述 2 种方法提取的植物蛋白饮料 DNA 进行实时荧光 PCR 扩增, 通过比较实时荧光 PCR 扩增的 Ct 值和荧光信号强度来评价 2 种 DNA 提取方法去除 PCR 抑制物的能力。从表 3 可知, 除了榛子乳外, 其余样品磁珠法提取的基因组 DNA 实时荧光 PCR 扩增的 Ct 值均小于 CTAB 法, 2 种方法提取的基因组 DNA 实时荧光 PCR 的相对荧光信号强度一致(见图 1), 说明 2 种 DNA 提取方法基本去除 PCR 抑制物, 所提取的 DNA 适用于后续的 PCR 扩增检测。

表 3 2 种基因组 DNA 提取方法实时荧光 PCR 扩增 Ct 值结果分析(n=3)
Table 3 Analysis of Ct value of 2 kinds of genomic DNA extraction methods by real-time fluorescence PCR amplification (n=3)

样品	检测靶标	实时荧光 PCR 的 Ct 值	
		磁珠法	CTAB 法
豆浆	大豆	23.60±0.20	24.96±0.08
豆奶	大豆	22.22±0.14	23.37±0.00
花生牛奶	花生	26.22±0.02	26.49±0.03
芝麻糊	芝麻	21.68±0.03	22.13±0.07
榛子乳	榛子	23.40±0.10	22.67±0.22

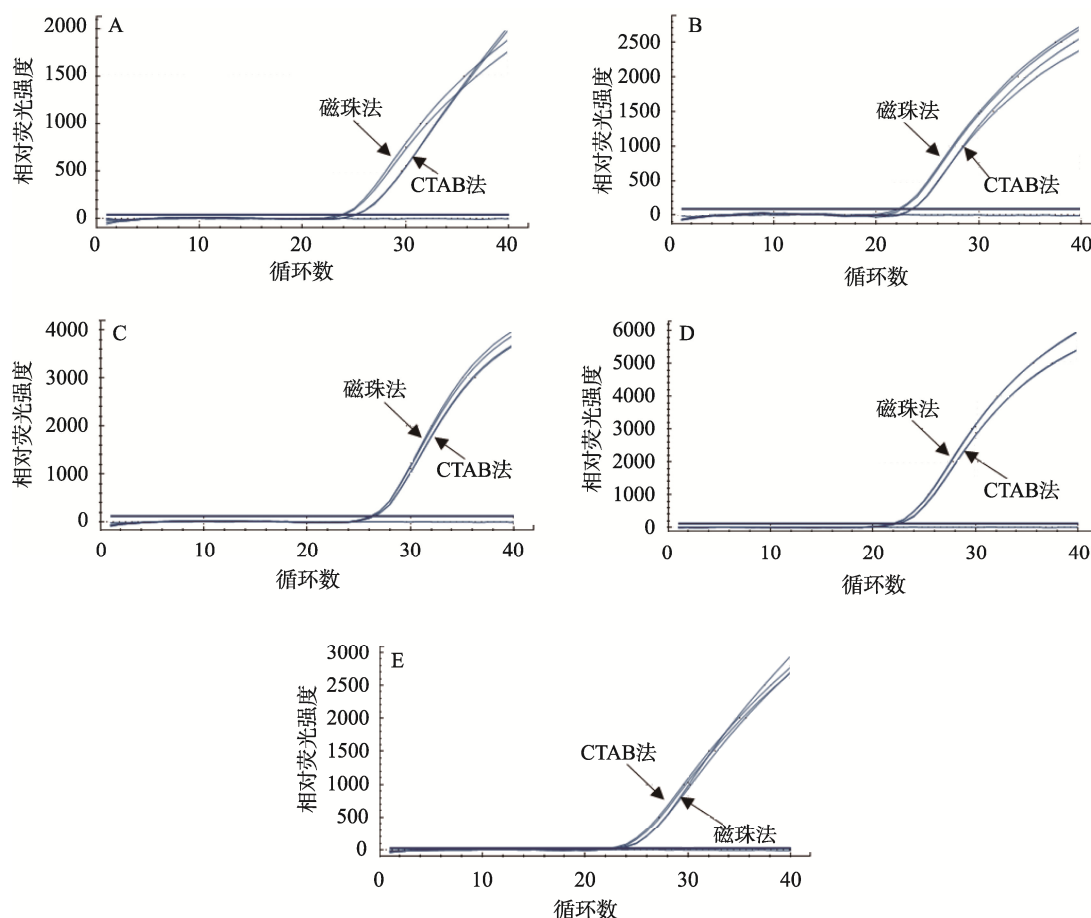
3 讨论与结论

目前, 针对植物蛋白饮料掺假掺杂严重情况, 市场上未见植物蛋白饮料 DNA 提取的商品化试剂盒, 也鲜少见

相关文献报道植物蛋白饮料的 DNA 提取方法, 给食品安全监管机构带来巨大的监管问题。磁珠法提取核酸是利用经表面修饰的磁性纳米粒子与核酸结合, 在外磁场的作用下分离纯化核酸^[5], 目前用于核酸提取主要有硅羟基化修饰^[20-21]、氨基化修饰^[22]等磁珠。在本研究中, 采用商品化硅羟基磁珠, 建立了一种用于提取植物蛋白饮料基因组 DNA 的提取方法。通过分析其 DNA 浓度、纯度及后续实时荧光 PCR 扩增效果, 综合比较, 磁珠法提取植物蛋白饮料 DNA 的效果明显优于 CTAB 法, 尤其是大豆类植物蛋白饮料, 可满足植物蛋白饮料后续定性定量检测分析的要求。在本研究中, 利用磁珠法提取榛子乳的 DNA 浓度低于 CTAB 法, 推测原因可能是榛子乳样品对磁珠溶液的分散体系有影响, 从而影响磁珠对 DNA 的吸附效率。

本研究通过实时荧光 PCR 的方法对植物蛋白饮料的源性成分进行分析, 能够较准确客观反映 DNA 的浓度和纯度。本研究采用 2 种 DNA 提取方法进行植物蛋白饮料 DNA 提取, 实时荧光 PCR 扩增结果得到的 Ct 值基本与 DNA 浓度一致, 样品 DNA 浓度高则 Ct 值小。实时荧光 PCR 扩增相对荧光强度, 2 种 DNA 提取方法基本一致, 说明 DNA 纯度较好, 存在较少或不存在抑制 PCR 反应的物质。

CTAB 法提取的 DNA 质量也满足植物蛋白饮料检测要求, 但该方法步骤比较烦琐, 需要采用 2 次有机溶剂抽提, 2 次异丙醇沉淀及多次高速长时间离心, 工作效率较低, 不利于大批量样品 DNA 的提取。磁珠法提取植物蛋白饮料 DNA, 方法步骤比较简单, 耗时短, 工作效率较高, 且有研究表明磁珠法可实现痕量物质的高效提取^[23-24], 可为今后开展植物蛋白饮料掺假掺杂的定量分析提供高质量的基因组 DNA。



注: A 为豆奶样品检测大豆源性成分; B 为豆浆样品检测大豆源性成分; C 为花生牛奶样品检测花生源性成分;
D 为芝麻糊样品检测芝麻源性成分; E 为椰子乳样品检测椰子源性成分。

图 1 植物蛋白饮料实时荧光 PCR 扩增结果

Fig.1 Real-time fluorescence PCR amplification results of plant protein drinks

综合上述结果,本研究建立的磁珠法能快速、便捷、高效地进行植物蛋白饮料 DNA 的提取,且能获得较高质量的基因组 DNA,能够适用于植物蛋白饮料 DNA 的提取及后续定性定量检测中。但是由于植物蛋白饮料种类较多,其蛋白质、脂肪、多糖等含量也不同,需要根据实际情况对 DNA 提取步骤进行优化,如色素含量较高的蛋白饮料,可通过增加洗涤磁珠次数的方法,以获取较好的 DNA 提取效果。

参考文献

- [1] 丁清龙, 曾晓琮, 周露, 等. 广东省植物源性饮料掺假情况摸底调查[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(12): 2953–2957.
DING QL, ZENG XC, ZHOU L, *et al.* Investigation of plant-derived drinks adulteration in Guangdong [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(12): 2953–2957.
- [2] DELLAPORTA SL, WOOD J, HICKS JB. A plant DNA miniprep: Version II [J]. Plant Mol Biol Rep, 1983, 1: 19–21.
- [3] 赵雅楠, 王颖, 张东杰, 等. 食品中植物基因组 DNA 提取方法的分类及其研究进展[J]. 现代农业科技, 2015, (22): 275–277.

ZHAO YN, WANG Y, ZHANG DJ, *et al.* Classification and advances on extraction methods of plant genomic DNA in food [J]. Mod Agric Sci Technol, 2015, (22): 275–277.

- [4] MUÑOZ-CADAVID C, RUDD S, ZAKI SR, *et al.* Improving molecular detection of fungal DNA in formalin-fixed paraffin-embedded tissues: Comparison of five tissue DNA extraction methods using panfungal PCR [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(6): 2147–2153.
- [5] XIAO Y, WANG CH, LI X, *et al.* Research on magnetic separation methods for the extraction of nucleic acids [J]. Adv Mater Res, 2013, 662(2): 343–347.
- [6] KLEIN S, KHALID D, SONNTAGBUCK V, *et al.* SARS-CoV-2 RNA extraction using magnetic beads for rapid large-scale testing by RT-qPCR and RT-LAMP [J]. Viruses, 2020, 12(8): 863.
- [7] SAKUDO A, IKUTAK. A technique for capturing broad subtypes and circulating recombinant forms of HIV-1 based on anionic polymer-coated magnetic beads [J]. Int J Mol Med, 2012, 30(2): 437–442.
- [8] CONSTANZE, ERNST, ALEXANDER, *et al.* Improved DNA extraction and purification with magnetic nanoparticles for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Vet Microbiol, 2019, 230: 45–48.

- [9] ZHANG HL, HUANG FC, CAI GZ, *et al.* Rapid and sensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 using coaxial channel-based DNA extraction and microfluidic PCR [J]. *J Dairy Sci*, 2018, 101(11): 9736–9746.
- [10] 张翠真, 袁小龙, 陈志和, 等. 基于磁珠的核酸快速提取和纯化[J]. *生物学杂志*, 2019, 36(4): 97–101.
- ZHANG CZ, YUAN XL, CHEN ZH, *et al.* Rapid extraction and purification of nucleic acid based on magnetic beads [J]. *J Biol*, 2019, 36(4): 97–101.
- [11] 陈传君, 金鹭, 林华, 等. 干制羊肉基因组 DNA 不同提取方法的比较[J]. *核农学报*, 2020, 34(12): 2762–2768.
- CHEN CJ, JIN L, LIN H, *et al.* Comparative study on different extraction methods of genomic DNA from dried mutton [J]. *J Nucl Agric Sci*, 2020, 34(12): 2762–2768.
- [12] 马丽侠, 蒋子敬, 屈婷, 等. 磁珠法提取肉及肉制品基因组 DNA 的效果研究[J]. *食品科技*, 2019, 44(9): 137–141.
- MA LX, JIANG ZJ, QU T, *et al.* Extraction effect of genomic DNA from meat and meat products by magnetic beads method [J]. *Food Sci Technol*, 2019, 44(9): 137–141.
- [13] 雷庆, 赵中开. 不同核酸提取方法用于多重荧光 PCR 法检测 3 种混合熟肉的比较分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(6): 2224–2228.
- LEI Q, ZHAO ZK. Comparison and analysis of different nucleic acid extraction methods for detection of 3 kinds of mixed cooked meat by multiple fluorescence PCR [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(6): 2224–2228.
- [14] 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.
- [15] 权永兵, 黄永辉, 徐森锋, 等. 改良十六烷基三甲基溴化铵-磁珠核酸提取方法及在植物转基因检测中的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(23): 8042–8047.
- QUAN YB, HUANG YH, XU MF, *et al.* Improved extraction method of cetyltrimethylammonium ammonium bromide-magnetic beads nucleic acid and its application in plant transgenic detection [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(23): 8042–8047.
- [16] 总局关于发布《植物蛋白饮料中植物源性成分鉴定》食品补充检验方法的公告[J]. *中国食品卫生杂志*, 2017, 29(4): 453.
- The announcement of the food supplement testing method that the plant-derived ingredients identification in the vegetable methods released by CFDA [J]. *Chin J Food Hyg*, 2017, 29(4): 453.
- [17] 高连明, 刘杰, 蔡杰, 等. 关于植物 DNA 条形码研究技术规范[J]. *植物分类与资源学报*, 2012, 34(6): 592–606.
- GAO LM, LIU J, CAI J, *et al.* A synopsis of technical notes on the standards for plant DNA bar coding [J]. *Plant Diversity*, 2012, 34(6): 592–606.
- [18] 周梦月, 邢冉冉, 王楠, 等. 六种食用香辛料基因组 DNA 提取方法的比较 [J/OL]. *食品科学*, 1-12 [2020-06-01]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200601.1257.020.html>
- ZHOU MY, XING RR, WANG N, *et al.* A comparison of six methods for extraction of genomic DNA from edible spices [J/OL]. *Food Sci*, 1-12 [2020-06-01]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200601.1257.020.html>
- [19] WILFINGER WW, MACKEY K, CHOMCZYNSKI P. Interpretation of nucleic acid 260/280 ratios [J]. *Protoc Prod Manual*, 2012, 123(1): 1–13.
- [20] 李海洋, 王飞, 雷红涛, 等. 硅羟基磁珠的制备及全基因组 DNA 提取优化[J]. *生物技术通报*, 2017, 33(6): 223–229.
- LI HY, WANG F, LEI HT, *et al.* Optimization of genomic DNA extraction with silica hydroxyl magnetic beads [J]. *Biotechnol Bull*, 2017, 33(6): 223–229.
- [21] 许朋, 郑春辉, 孙智勇, 等. 磁珠法快速提取基因组 DNA 的实验研究[J]. *生物信息学*, 2018, 16(3): 190–195.
- XU P, ZHENG CH, SUN ZY, *et al.* Rapid extraction of genomic DNA by magnetic beads method [J]. *Chin J Bioinform*, 2018, 16(3): 190–195.
- [22] 崔妍, 白亚龙, 施春雷, 等. 氨基化磁性纳米粒子捕获基因组 DNA 结合 PCR 快速检测牛奶中金黄色葡萄球菌[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(7): 295–298, 355.
- CUI Y, BAI YL, SHI CL, *et al.* Development of a rapid detection method for *Staphylococcus aureus* in milk based on magnetic separation using amino modified silica coated magnetic nanoparticles and polymerase chain reaction [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2017, 38(7): 295–298, 355.
- [23] 袁丽, 赵兴春, 张志强, 等. 用 CTAB+磁珠法提取火烧骨 DNA 的研究[J]. *中国人民公安大学学报(自然科学版)*, 2003, (4): 28–31.
- YUAN L, ZHAO XC, ZHANG ZQ, *et al.* Study on DNA extraction from burned bone by CTAB+ magnetic bead method [J]. *J People's Public Secur Univ China (Sci Technol)*, 2003, (4): 28–31.
- [24] 张浩, 秦海燕, 杨敏, 等. 水杯上微量 DNA 检验破案 1 例[J]. *中国法医学杂志*, 2018, 33(S1): 57–58.
- ZHANG H, QING HY, YANG M, *et al.* A case solved by trace DNA test on water cup [J]. *Chin J Forensic Med*, 2018, 33(S1): 57–58.

(责任编辑: 张晓寒 韩晓红)

作者简介



梁美丹, 工程师, 主要研究方向为食品微生物及分子生物学检测技术。
E-mail: meidanamy@126.com



肖 剑, 高级工程师, 主要研究方向为食品微生物及分子生物学检测技术。
E-mail: xjhq521@163.com