

国家“十一五”重点规划图书

食品和化妆品质量安全检测丛书

食品中转基因成分 检测指南

中国检验检疫科学研究院 组织编写
陈颖 主编



 中国标准出版社

国家“十一五”重点规划图书

食品和化妆品质量安全检测丛书

食品中转基因成分 检测指南

中国检验检疫科学研究院 组织编写

中国标准出版社

北 京

图书在版编目(CIP)数据

食品中转基因成分检测指南/陈颖主编;中国检验检疫科学研究院组织编写. —北京:中国标准出版社, 2010

(食品和化妆品质量安全检测丛书)

国家“十一五”重点规划图书

ISBN 978-7-5066-5928-4

I. ①食… II. ①陈…②中… III. ①食品-外源-遗传工程-安全性-检测-指南 IV. ①TS201.6-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 176308 号

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 787×1092 1/16 印张 13.5 字数 319 千字

2010 年 10 月第一版 2010 年 10 月第一次印刷

*

定价 35.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533

《食品 and 化妆品质量安全检测丛书》

编 委 会

荣誉主任 葛志荣 李元平 王大宁 李怀林

主 任 唐英章

副 主 任 田 壮 李春风 林 伟 许增德 白德美
魏丽萍

执行主任 陈 颖

编 委 (按姓氏笔画排序)

于文军	马燕合	王 东	王甲正	王金花
王洪兵	王 喆	田保国	白 露	孙传范
孙崇德	朱 坚	汤德良	牟 峻	许增泰
吴 斌	张 富	张 睿	李 莉	李凤兰
邹志飞	陈 颖	陈银基	岳 宁	岳振峰
林 峰	郑文杰	姜宗亮	赵增连	郝 楠
唐光江	徐丽艳	徐宝梁	贾敬敦	曹际娟
梁 均	麻名更	黄志强	曾 静	葛毅强
董益阳	蒋 原	戴 华	戴炳业	魏 昊

《食品中转基因成分检测指南》

编 委 会

主 编 陈 颖

副 主 编 吴亚君 高宏伟

编写人员(按姓氏笔画排序)

王 斌	邓婷婷	朱华平	刘国琴
刘 伟	刘 煊	杨海荣	张吉红
张建成	陈银基	陈双雅	陈红运
林 超	周 昱	郑文杰	郑秋月
赵 昕	赵贵明	赵卫东	赵勇胜
祝长青	闻伟刚	贺 艳	袁 飞
倪建波	徐君怡	黄文胜	黄 明
曹际娟	蒋 丹	蒋 原	韩建勋
程 欣	谢明星	戴炳业	

序 言

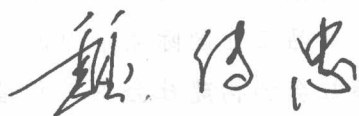
食品安全是人民群众最关心的问题,也是世界共同面临的一个难题,它关系着人民群众的身体健康和生命安全,关系着经济的健康运行,关系着政府的形象。近年来食品安全问题日益成为社会关注的焦点问题之一。与此同时,食品安全已经成为影响我国农业和食品工业国际竞争力的关键因素,深刻影响着我国全面建设小康社会和构建社会主义和谐社会宏伟目标的实现,并且越来越受到广大消费者的密切关注。

中国政府高度重视食品安全,正逐步完善相关法律法规,并采取有效监管措施,加强监管的能力建设。2009年以来,全国人大和国务院相继颁布和出台了《中华人民共和国食品安全法》、《中华人民共和国食品安全法实施条例》、《食品安全整顿工作方案》等法律法规,为加强食品安全的监管提供了法律依据。从总体上看,中国食品质量安全水平稳步提高,食品安全状况不断改善,食品生产经营秩序明显好转。但与世界发达国家相比,我国在食品生产和质量控制能力等方面,特别是在食品质量安全检测能力上还存在一定的差距。食品安全检测技术是食品安全管理的重要技术基础,因此,积极推进现代检测技术在食品安全检测中的应用,努力提升我国食品安全检测技术水平和能力,是提高食品安全监管水平的重要保障。

由中国检验检疫科学研究院组织编写的《食品和化妆品质量安全检测丛书》,为国家“十一五”重点规划图书,是编者多年来理论学习和实际操作经验的总结。丛书紧紧围绕“食品安全检测技术”这个主题,从理论和实践两方面对当前食品、化妆品质量安全检测关键技术和前沿技术进行了阐述,包括《食品中转基因成分检

测指南》、《食源性病原微生物检测指南》、《食品中农药残留检测指南》、《食品中兽药残留检测指南》、《食品添加剂检测指南》、《化妆品检测指南》、《功能性保健食品检测指南》，具有较高的学术水平和实用价值。它的出版，对于我国的食物质量安全检测具有重要指导意义。衷心希望这套丛书的出版能够为进一步提升食品安全检测技术水平，促进食品安全领域的技术研究，加快我国食品进出口贸易健康发展起到积极的作用。

国家质量监督检验检疫总局 副局长



2010年4月

前 言

转基因技术突破自然资源的限制,大幅度提高了农作物的产量、品质和效益,带来了全球农业的深刻变革,被称作是“人类历史上应用最为迅速的重大技术之一”。世界各国纷纷把发展转基因技术作为抢占未来科技制高点和增强农业国际竞争力的战略重点。随着全球转基因技术与产业化应用的快速发展,转基因生物安全问题日益受到各国政府以及公众的注意。转基因食品已直接或间接地进入人们的食物链,食品中的转基因问题在国际贸易中常常作为进口国重点关注的问题。食品中转基因成分检测监管技术水平的提升已成为科学发展转基因产业的根本保障。

本书旨在为从事食品中转基因成分检测的技术人员提供理论指导和先进实用的检测方法,主要内容和材料来源于国内外文献、国家级和省部级课题研究成果、相关标准中的检测方法等。

本书内容主要包括转基因食品概况、种类,转基因食品检测的质量控制体系,转基因食品检测的样品提取及处理技术,转基因食品的定性 PCR 检测技术、定量 PCR 检测技术、蛋白质检测技术、其他检测技术以及各国转基因产品管理的相关法规介绍等。相关技术介绍中不仅有方法的概述及介绍,而且还提供了一些实例帮助读者理解。

本书编者主要为各项课题的参加者以及相关标准方法的起草者,长期从事食品中转基因成分检测研究,书中体现了编者多年来的实际操作经验,有较强的实用性。本书可作为农业、卫生、质检以及相关企业等科技和管理人员的参考工具书,也可以作为相关专业研究生和本科生的教学参考书。

由于时间仓促和水平有限,本书中恐有不当和错误之处,恳请广大读者批评指正。

编 者
2010 年 5 月

目 录

第一章 绪论	1
第一节 转基因食品概况	1
一、转基因食品的定义	1
二、转基因食品的商业化现状	1
三、转基因食品的安全性	5
(一) 转基因作物的环境安全性	5
(二) 转基因作物的食品安全性	6
(三) 转基因食品的安全性评价	7
第二节 转基因食品的种类	9
一、转基因大豆	9
二、转基因玉米	11
三、转基因棉花	18
四、转基因油菜	21
五、转基因马铃薯	26
六、转基因番茄	27
七、转基因菊苣	29
八、转基因亚麻	29
九、转基因香瓜	30
十、转基因番木瓜	30
十一、转基因水稻	30
十二、转基因南瓜	31
十三、转基因甜菜	31
十四、转基因小麦	32
十五、转基因向日葵	32
十六、转基因扁豆	33
第三节 转基因食品检测方法概述	33
一、转基因食品的蛋白检测方法	34
二、转基因食品的核酸检测方法	34

三、转基因食品的其他检测方法	35
(一) 近红外光谱	35
(二) 微阵列技术	35
第二章 转基因食品检测的质量控制体系	36
第一节 样本的采集与处理	36
一、抽样	36
(一) 抽样的基本原则	36
(二) 抽样数量	36
(三) 抽样方法	38
二、制样方法	39
(一) 一般规定	39
(二) 样品的初步处理	39
(三) 破碎、研磨和缩分	39
(四) 实验室样品的制备	40
三、样品的盛装、标识和运送	40
(一) 样品的盛装	40
(二) 样品的标识	40
(三) 样品的运送	40
四、抽样报告	41
五、存查样品	41
六、健康和安全	41
第二节 检测实验室基本硬件要求	41
一、样品粉碎区	42
二、样品称量区	42
三、试剂贮存和准备区	42
四、核酸制备区	42
五、检测体系配置区	42
六、基因扩增区	43
七、扩增产物分析区	43
八、蛋白质检验区	43
九、其他区域	43
第三节 质量控制体系	43
一、抽样和制样	43
二、DNA 提取	43

三、PCR 扩增	44
四、仪器校正与维护	44
五、实验环境	44
六、实验室清洁	45
第三章 转基因食品检测的样品处理技术	47
第一节 DNA 的提取、纯化和定量	47
一、DNA 的提取	47
(一) CTAB 法	47
(二) SDS 法	47
(三) 改良 SDS 法	48
(四) 酚-三氯甲烷提取法	48
二、DNA 的纯化	49
(一) 溶媒萃取法	49
(二) 浓缩质体 DNA	49
(三) 胶体核酸回收法	50
三、DNA 的定量	50
(一) DNA 定量	50
(二) DNA 纯度	51
第二节 蛋白质的提取、纯化和定量	51
一、蛋白质的提取	51
(一) SDS 凝胶加样缓冲液法	51
(二) 去污剂温和裂解法	52
二、蛋白质的纯化	53
三、蛋白质的定量	55
(一) 紫外分光光度法	55
(二) 福林-酚试剂法	56
(三) 考马斯亮蓝 G-250 染色法	57
(四) 银结合法	57
第三节 其他生化成分的提取	57
一、糖的提取	57
(一) 溶剂提取法	58
(二) 酸碱提取法	58
(三) 生物酶提取法	59
(四) 澄清剂	59

二、脂肪的提取	59
(一) 索式提取法	60
(二) 巴布科克法	61
(三) 盖勃氏法	62
第四章 转基因食品的定性 PCR 检测技术	64
第一节 定性 PCR 检测方法概述	64
一、PCR 技术的基本原理	64
(一) 变性	65
(二) 退火	65
(三) 延伸	65
二、PCR 技术的特点	66
(一) 高特异性	66
(二) 高敏感性	66
(三) 简便快捷	66
(四) PCR 反应的局限性	66
三、PCR 技术的类型	67
(一) 锚定 PCR	67
(二) 不对称 PCR	67
(三) 反向 PCR	68
(四) 多重 PCR	69
(五) 逆转录 PCR	69
(六) 巢式 PCR	70
(七) 原位 PCR	71
(八) 标记引物 PCR	72
(九) 热不对称交错 PCR	72
(十) 荧光定量 PCR	74
(十一) 简并引物 PCR	74
(十二) 加端 PCR	74
(十三) 免疫 PCR	75
(十四) 差异显示 PCR	75
(十五) 差别 PCR	75
第二节 常规 PCR 检测技术	75
一、基本操作流程	75
(一) 准备实验材料	76

(二) 准备试剂和设备	76
(三) 样品的 DNA 提取	77
(四) PCR 反应溶液的配制	78
(五) 常规 PCR 反应检测过程	78
(六) 结果分析	78
二、操作关键问题	78
(一) DNA 模板的要求	78
(二) 防止污染	79
(三) 引物设计	79
(四) 反应条件优化	79
三、结果判读	80
四、质量控制	81
(一) 样品制备	81
(二) 设置对照	81
第三节 实时荧光定性 PCR 检测技术	81
一、基本操作流程	81
(一) 准备实验材料	81
(二) 准备试剂和设备	82
(三) 样品的 DNA 提取	86
(四) PCR 反应液的配制	86
(五) 实时 PCR 反应检测过程	86
(六) 数据分析	87
二、操作的关键问题	87
(一) 设置对照	87
(二) 优化 PCR 体系	87
(三) PCR 操作过程	88
三、结果判读	88
(一) 总体要求	88
(二) 应用 TaqMan 探针的实时荧光 PCR 结果分析	88
(三) SYBR Green I 染料实时荧光 PCR 的结果分析	90
四、质量保证	90
(一) 操作环境	90
(二) 样品	90
(三) 对照的设置	90
(四) 试剂	91

(五) 仪器和设备	91
第四节 检测方法实例	92
一、普通 PCR 检测抗虫转基因大米 Bt63 成分	92
(一) 材料	92
(二) 操作步骤	92
(三) 结果分析	93
二、巢式及半巢式 PCR 方法检测抗草甘膦转基因大豆油	94
(一) 材料	94
(二) 操作步骤	94
(三) 结果分析	96
三、大米制品中转基因成分的实时荧光 PCR 检测	97
(一) 材料	97
(二) 操作步骤	98
(三) 检测结果	99
四、市售饼干样品中转基因成分的实时荧光 PCR 检测方法	102
(一) 材料	102
(二) 方法	102
(三) 检测结果	103
(四) 结果判定	104
第五章 定量 PCR 检测技术	105
第一节 定量 PCR 检测技术概述	105
一、原理和方法	105
(一) 传统定量 PCR 原理和方法	105
(二) 实时荧光定量 PCR 原理与方法	107
二、实验数据处理	113
(一) 定量 PCR 实验数据处理原理	113
(二) 样品中转基因成分含量的计算方法	114
三、不确定度分析	115
(一) 数学模型	115
(二) 不确定度来源	115
(三) 标准不确定度评定	116
(四) 扩展不确定度评定	117
第二节 抗虫玉米 MON810 定量 PCR 检测实例	117
一、结构特异性基因和品系特异性基因检测方法	118

二、检测结果	120
三、检测质量控制标准	121
四、分析步骤的关键控制点及说明	121
第三节 定量 PCR 的优势及存在的问题分析	121
一、实时荧光定量 PCR 方法的优势	121
二、实时荧光定量 PCR 方法的应用范围	122
三、实时荧光定量 PCR 方法存在的问题	122
四、定量 PCR 误差来源及消除方法	122
第六章 蛋白质检测技术——免疫检测	126
第一节 免疫检测技术概述	126
一、蛋白质免疫检测技术原理	126
二、免疫检测技术方法	129
(一) ELISA	129
(二) LFD	130
(三) 其他免疫检测技术方法	132
三、免疫检测方法的发展	133
第二节 免疫检测方法的步骤	134
一、转基因免疫检测抗体的制备	134
(一) 抗原蛋白的提取和纯化	134
(二) 抗体制备	135
二、转基因免疫检测 ELISA 方法的建立	137
(一) 棉叶中 Bt 杀虫蛋白的提取	137
(二) 间接 ELISA 法	137
三、转基因免疫检测 LFD 方法	138
(一) 胶体金标记 LFD 试纸条的制备	138
(二) 检测步骤	138
四、转基因磁珠免疫颗粒检测方法	138
(一) 免疫磁珠的制备	138
(二) 检测步骤	139
五、转基因组织免疫检测方法	139
第三节 免疫检测方法在转基因检测中的应用	139
第四节 转基因免疫检测方法的误差	141
一、转基因免疫检测方法的应用对象对检测结果的影响	141

二、转基因免疫检测方法的误差来源	142
三、质控方法	147
第五节 转基因免疫检测方法实例	148
一、磁免疫颗粒法定量检测转基因抗虫玉米 MON810	148
(一) 微球的交联	148
(二) 二抗的生物素标记	149
(三) 蛋白质的提取	149
(四) Luminex 流式点阵仪分析	149
(五) 结果	149
二、金标试纸条检测Cry1A(b)/Cry1A(c)蛋白	150
(一) 样品预处理	151
(二) 胶体金标记免疫试纸测试	151
(三) 结果判读	151
(四) 注意事项	151
三、ELISA 定量检测转基因抗虫玉米 MON810	151
(一) 试剂的制备	151
(二) 样品提取	152
(三) 样品测定	152
(四) 注意事项	152
第七章 其他检测转基因食品的技术	153
第一节 基因芯片	153
一、原理和方法	153
(一) 芯片的制备	154
(二) 芯片检测的质控措施	154
(三) 结果判断方法	155
二、检测实例	155
(一) 多重 PCR 荧光标记-寡核苷酸芯片检测转基因食品	155
(二) 多重 PCR-生物素标记-金银染色法-寡核苷酸芯片检测转基因	161
第二节 等温扩增技术	165
一、原理和方法	165
二、LAMP 应用实例	167
第三节 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱法	169
一、原理和方法	170
(一) 原理	170
(二) 操作方法	173

二、实例	175
第八章 转基因产品管理相关政策法规	177
第一节 中国转基因产品的标识管理	177
一、主管部门	177
二、相关法规	177
三、适用范围	177
四、转基因产品标识要求	177
第二节 欧盟转基因产品的标识管理	178
一、主管部门	178
二、相关法规	178
三、适用范围	178
四、转基因产品标识要求	178
第三节 韩国转基因产品的标识管理	179
一、主管部门	179
二、相关法规	179
三、适用范围	179
四、转基因产品标识要求	180
第四节 日本转基因产品的标识管理	181
一、主管部门	181
二、相关法规	181
三、适用范围	181
四、转基因产品标识要求	182
第五节 澳大利亚、新西兰转基因产品的标识管理	183
一、主管部门	183
二、相关法规	183
三、适用范围	183
四、转基因产品标识要求	183
第六节 加拿大转基因产品的标识管理	183
一、管理部门	183
二、相关法规	184
三、适用范围	184
四、转基因产品标识要求	184
附录 转基因检测标准	185
一、中国国家标准	185