

潮州市市售豆制品的转基因成分检测

王茂先, 肖亮媛, 吴丹霞, 邓钰婷, 王新彦

(韩山师范学院食品工程与生物科技学院, 广东潮州 521041)

摘要: 为了解潮州市区市售豆制品的转基因成分状况, 随机购买潮州市区主要市场市售豆制品进行检测与分析。用 CTAB 法即改良十六烷基三甲基溴化铵, 对豆制品的 DNA 成分进行提取并对提取到的豆制品 DNA 用核酸蛋白分析仪测量 OD 值, 利用核酸定性聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR)、实时定量 PCR 等技术对外源基因 *CP4-EPSPS*、*NOS* 和 *CaMV35S* 进行检测。对潮州市区主要市场市售豆制品 29 份样品进行检测, 研究结果表明, 提取到的豆制品 DNA 溶液浓度和纯度都较高, $OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}}$ 介于 1.9~2.1 之间, 抽取到的 DNA 质量浓度达到 200 ng/ μL 以上, 能够满足检测要求。在检测的豆制品中, 有超过一半含有转基因成分。除了大润发超市外, 豆制品没有任何食品标签, 所有豆制品也没有是否含有转基因成分的标签。转基因食品标识制度的实施仍处于一个初始阶段, 国家应该建立起强有力的市场监管机制。因此, 我们必须高度重视转基因食品标签制度落实及其相应的市场监管工作。

关键词: 豆制品; 转基因; *CaMV35S* 基因; *NOS* 基因; *CP4-EPSPS* 基因

文章编号: 1673-9078(2020)07-298-305

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.7.1199

Transgenic Analysis of Soybean Products Sold in Chaozhou City

WANG Mao-xian, XIAO Liang-yuan, WU Dan-xia, DENG Yu-ting, WANG Xin-yan

(School of Food Engineering and Biotechnology Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China)

Abstract: In order to understand the condition of genetically modified soybean products on the market in Chaozhou City, the soybean products in the main markets were randomly purchased for testing. The DNA components of soybean products were extracted by modified CTAB method, and OD values were measured by nucleic acid protein analyzer. The exogenous genes *CP4-EPSPS*, *NOS* and *CaMV35S* were detected by qualitative and real-time quantitative PCR. A total of 29 soybean products sold in the main markets of Chaozhou City were investigated and tested. The results showed that the concentration and purity of DNA extracted from soybean products were higher, $OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}}$ ranged from 1.9 to 2.1, and the concentration of extracted DNA reached more than 200 ng/ μL , which could basically meet the test requirements. More than half of the tested soybean products contain genetically modified ingredients. Except for Darunfa Supermarket's soybean products, there are no food labels for soybean products, and whether GMF labels are required for all soybean products or not. The implementation of GMF labeling system is still in the initial stage, and a strong market supervision mechanism should be established in China. Therefore, we must attach great importance to the implementation of the GMF labeling system and the corresponding market supervision.

Key word: soybean products; transgenic; *CaMV35S* gene; *NOS* gene; *CP4-EPSPS* gene

引文格式:

王茂先,肖亮媛,吴丹霞,等.潮州市市售豆制品的转基因成分检测[J].现代食品科技,2020,36(7):298-305

WANG Mao-xian, XIAO Liang-yuan, WU Dan-xia, et al. Transgenic analysis of soybean products sold in Chaozhou city [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(7): 298-305

迄今为止, 中国批准了转基因棉花、番木瓜大规模商业化生产, 市场上流通的绝大部分转基因大豆是进口而来的^[1]。2019 年 12 月, 中华人民共和国农业部已经批准上海交通大学研发的转基因大豆的生物安全

收稿日期: 2019-12-06

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (2016A030307039; 2017A030310606); 韩山师范学院大学生创新创业训练项目 (粤韩师[2019]278 号)

作者简介: 王茂先 (1968-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 基因表达与调控研究、食品检测与分析等

证书, 但是转基因大豆大规模的商业化种植还需要一段时间。我国对于转基因食品的风险规制还没有将监管重心放在食品之上, 而是放在作为原料来源的转基因生物上^[2]。进口转基因大豆具有价格优势, 为了降低生产成本, 生产厂商会选择购买进口转基因大豆作为加工原料。由于大多数市售豆制品是散装的, 没有食品标签, 因而不易追踪到制造源头^[3], 增加了市场上的转基因食品的监管难度。我国《转基因食品卫生管理办法》等都明确规定了, 若销售的食物含有转基

因成分, 应该予以标识。2019 年新版中华人民共和国食品安全法明确规定, 生产经营转基因食品应当按照规定显著标示。转基因食品标识制度可以规范和约束转基因食品市场, 对于尊重消费者的知情权和选择权, 具有重要的现实意义。不同消费者群体对转基因食品的客观认识存在一定的局限性, 也对转基因食品的健康风险的认识是不相同的。这表明, 转基因作物在中国的商业化依赖于消费者对转基因食品信息的掌握和理解以及严格的转基因食品的安全监管措施^[4]。

法律法规是转基因食品市场监管的依据和支撑, 同时, 转基因食品的检测技术手段是行之有效的辅助措施。豆制品的转基因成分的检测依赖于检测样品 DNA 的高质量提取, 由于大豆及豆制品中含有较多的多糖、酚类物质, 提取 DNA 时需去除这些物质对聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 的干扰^[5]。国内外研究中, 主要利用试剂盒来提取豆制品中的 DNA, 研究结果表明改良的 CTAB 法相比较其他方法更为简单和高效^[6,7]。转基因产品的检测原理有二: 一是检测遗传物质中是否含有插入的外源基因; 二是通过插入外源基因表达的蛋白质产物或其功能进行检测, 或是检测插入外源基因对载体基因表达的影响, 主要检测外源基因对插入位点附近基因影响及其代谢产物的影响^[5]。对于大豆或豆制品中的转基因成分的检测方法, 国内有的采用田间表型鉴定和 PCR 检测相结合的方法, 或者用抗草甘膦基因 *CP4-EPSPS* 及其表达元件的 Real-time quantitative PCR 检测法检测豆制品中转基因大豆成份^[7,8]。目前

国际上还没有统一的针对深加工转基因产品的标准化检测方法, 综合各国的检测方法, 主要有两类技术: 基于特异性 DNA 片断的 PCR 检测技术和基于特异性蛋白质的免疫学检测技术 ELISA 法和试纸条法^[9]。其中 PCR 检测法有定性 PCR 和定量 PCR; 定性 PCR 主要有多重 PCR、巢式和半巢式 PCR; 定量 PCR 主要有竞争定量 PCR 和实时荧光 PCR 等方法^[10], 而荧光定量 PCR 在转基因产品检测上已得到广泛应用^[11], 具有特异好、灵敏度高、扩增效率高和高通量的优点。

检测与分析潮州市市售豆制品中的转基因成分, 可以对潮州市市售豆制品使用转基因大豆制作豆制品的状况有一定的了解。本次实验主要采用改良十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 法提取豆制品基因组 DNA, 采用核酸定性 PCR、实时定量 PCR 对外源基因 *CaMV35S*, *NOS* 和 *CP4-EPSPS* 进行双重检测^[3]。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 样品

我们采集的样品是来自于潮州市区南门市场、北门市场、粤潮市场、西新市场、上东平市场、卧石市场、社光市场、奎元市场、桥东市场等 8 个主要市场以及潮州大润发超市的市售豆制品。其中, 大润发超市的还有豆浆、豆干、千张这 3 种豆制品。大豆制品待检样品来源如表 1。

表 1 大豆制品待检样品来源信息一览表

Table 1 Source information list of soybean products for inspection

编号	样品名称	购买地点	购买时间
1	nanmen005	南门市场 Nanmen Market	2019.05.12
2	nanmen006	南门市场 Nanmen Market	2019.05.12
3	nanmen007	南门市场 Nanmen Market	2019.05.12
4	beimen001	北门市场 Beimen Market	2019.05.23
5	beimen002	北门市场 Beimen Market	2019.05.23
6	beimenhong001	北门市场 Beimen Market	2019.05.23
7	yuechao001	粤潮市场 Yuechao Market	2019.05.23
8	yuechao002	粤潮市场 Yuechao Market	2019.05.23
9	yuechao003	粤潮市场 Yuechao Market	2019.05.23
10	yuechao004	粤潮市场 Yuechao Market	2019.05.23
11	yuechao005	粤潮市场 Yuechao Market	2019.05.23
12	xixin001	西新市场 Xixin Market	2019.05.23
13	xixin002	西新市场 Xixin Market	2019.05.23
14	xixin003	西新市场 Xixin Market	2019.05.23

转下页

接上页

15	xixinhei001	西新市场	Xixin Market	2019.05.23
16	shangdongping001	上东平市场	Shangdongping Market	2019.05.23
17	shangdongping002	上东平市场	Shangdongping Market	2019.05.23
18	shangdongping003	上东平市场	Shangdongping Market	2019.05.23
19	woshi001	卧石市场	Woshi Market	2019.05.23
20	woshi002	卧石市场	Woshi Market	2019.05.23
21	sheguang001	社光市场	Sheguang Market	2019.05.23
22	sheguang002	社光市场	Sheguang Market	2019.05.23
23	qiaodong 001	桥东市场	Qiaodong Market	2019.05.24
24	kuiyuan001	奎元市场	Kuiyuan market	2019.05.24
25	darunfa001	大润发超市	Darunfa Supermarket	2019.05.12
26	darunfadoujiang	大润发超市	Darunfa Supermarket	2019.05.31
27	darunfadougan	大润发超市	Darunfa Supermarket	2019.05.31
28	darunfaqianzhang	大润发超市	Darunfa Supermarket	2019.05.31
29	darunfadoufu	大润发超市	Darunfa Supermarket	2019.05.31

表 2 PCR 引物及其反应条件参数

Table 2 PCR primers and parameters of reaction conditions

基因	引物序列 (5'-3')	反应条件			
		变性	扩增	循环次数	延伸
Lectin	Forward: 5'tgc cga agc aac caa aca tga tcc t-3'	94 °C 5 min	94 °C, 30 s; 54 °C, 40 s; 72 °C, 60 s	40	72 °C, 7 min
	Reverse: 5'tga tgg atc tga tag aat tga cgt t-3				
CP4-EPSPS	Forward: 5'ctt ctg tgc tgt agc cac tga tgc-3'	94 °C 5 min	94 °C, 30 s; 60 °C, 60 s; 72 °C, 60 s	40	72 °C, 7 min
	Reverse: 5'cca cta tcc ttc gca aga ccc ttc c3'				
CaMV35S	Forward: 5'gat agt ggg att gtg cgt ca-3'	94 °C 5 min	94 °C, 30 s; 54 °C, 40 s; 72 °C, 60 s	40	72 °C, 7 min
	Reverse: 5'gct cct aca aat gcc atc a-3'				
NOS	Forward: 5'gaa tcc tgt tgc cgg tct tg-3	94 °C 5 min	94 °C, 30 s; 54 °C, 40 s; 72 °C, 60 s	40	72 °C, 7 min
	Reverse: 5'tta tcc tag ttt gcg cgc ta3'				

1.1.2 试剂和试剂盒

DNA marker: Ladder H2 (50~1031 bp), 购自 Takara 公司; Biowest Agarose 琼脂糖粉, 购自北京沃比森科技有限公司; 50×TAE 缓冲液, 购自碧云天生物技术有限公司; 核酸定性 PCR 反应试剂, 购自 Takara 公司; 四对正义引物与反义引物 (CP4-EPSPS 02 r/f、Lectin 02 r/f、CaMV35S r/f、NOS r/f), 购自生工生物工程股份有限公司; 定量 PCR 反应试剂, 购自 Takara 公司; 超纯水; 柱式深加工产品基因组 DNA 抽提试剂盒, 购自生工生物工程股份有限公司。

1.1.3 仪器与设备

台式高速冷冻离心机, 购自济南福的公司; 迷你离心机, 购自其林贝尔公司; 恒温水浴锅, 购自江苏科析仪器有限公司; 荧光实时定量 PCR 仪器 Light Cycler 96, 购自罗氏公司; 常温冰箱, 青岛 Haier 公司; 超微量分光光度计, 购自上海元析仪器公司; 优普 UPH 系列标准型超纯水机, 西安优普仪器设备有

限公司。

1.2 方法

1.2.1 大豆基因组 DNA 提取

(1) 制取样品: 固态产品, 用去污染的手术刀片挑取一块豆腐/干/豆干并切碎, 称取 200 mg 于 2 mL 离心管中; 液态产品, 吸取 50 μL 的豆浆于 2 mL 离心管中;

(2) 向上述含有材料的离心管中加入 GMO Buffer 500 μL proteinase K 10 μL, 加入 10 μL 的 10 mg/mL RNAase (获得无 RNA 污染的基因组 DNA), 注意食品材料需要完全浸没在 GMO buffer 中才能保证充分裂解。充分振荡混匀后, 65 °C 水浴 30 min, 期间注意要进行颠倒振荡混匀;

(3) 水浴后用离心机 12000 r/min 转速离心 10 min, 吸取 300 μL 左右的上清液到新的 2 mL 离心管中;

(4) 往上清液中加入 200 μL 氯仿后充分混匀, 用离心机 12000 r/min 转速离心 10 min, 吸取 200 μL 上清液转移到新的离心管;

(5) 向上清液加入 400 μL 的 GMP Buffer, 充分混匀, 静置 5 min (提高基因组 DNA 的得率), 用离心机 12000 r/min 转速离心 5 min 后将上清液弃掉;

(6) 向沉淀中加入 350 μL DRL Buffer, 将沉淀物充分悬浮起来;

(7) 接着加入 30 μL 无水乙醇, 充分混匀后将液体全部转移到吸附柱中, 在室温静置 2 min, 用离心机 10000 r/min 转速离心 2 min, 将收集管中的溶液弃掉;

(8) 吸附柱中加入 500 μL Wash Solution, 用离心机 10000 r/min 转速离心 1 min, 将收集管中的溶液弃掉。重复步骤 (8) 1 次;

(9) 将吸附柱放回收集管中, 用离心机 12000 r/min 转速离心 2 min;

(10) 将吸附柱取出, 放入一个新的离心管中, 吸取 50 μL TE buffer (先在 60 $^{\circ}\text{C}$ 预热) 加入到吸附膜中央, 静置 3 min, 12000 r/min 离心 2 min, 最后将提取出的 DNA 溶液放置在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

1.2.2 大豆基因组 DNA 的 OD 值检测

用核酸蛋白分析仪测量 OD 值, 在波长为 260 nm 和 280 nm 处对 DNA 样品的吸光度进行测量。 μg 级纯度的 DNA 样品可以通过 A260 测定法进行定量, 即 50 $\mu\text{g/mL}$ 的双链 DNA 质量浓度等同于 1 个 A260 的 OD 值。A260/A280 即在波长 260 nm 和 280 nm 处的吸光度的比值能够用来指示 DNA 的纯度, 纯度高的 DNA 样品 A260/A280 在 1.8 左右, 当 A260/A280 比值大于 1.8 时, 说明样品中还有 RNA 没有除尽, 依旧有 RNA 残留; 若 A260/A280 比值小于 1.7, 表明样品中受到酚或蛋白质的污染, 倘若 $\text{OD}_{260\text{ nm}}/\text{OD}_{280\text{ nm}}$ 比值介于 1.8~2.0 之间, DNA 质量浓度达到每微升 200 纳克, 则基本能够进行 PCR 检测^[3,5]。

1.2.3 核酸定性 PCR 检测

将提取到的大豆基因组 DNA 进行核酸定性 PCR 检测, 分别对外源基因 *CP4-EPSPS*、*NOS* 和 *CaMV35S* 和内源基因 *Lectin* 进行扩增, 引物参数如表 2。核酸定性 PCR 扩增体系 (20 μL) 如下: 2 $\times$ SGExcel SYBR: 10 μL ; 正义引物: 0.5 μL ; 反义引物: 0.5 μL ; DNA 模板: 9 μL 核酸定性 PCR 引物序列, 反应循环参数如表 2 所示。PCR 扩增完成后, 用 1 $\times$ TAE 电泳缓冲液制备 2% 的琼脂糖凝胶 (等凝胶融化后冷却到 60 $^{\circ}\text{C}$ 左右时加入溴化乙锭)。将 PCR 扩增产物 (5 μL) 与上样缓冲液 6 $\times$ Loading Buffer (1 μL) 按比例均匀混合,

然后分别加入对应的凝胶孔中, 同时加入 1 μL DNA 分子量标记物 Ladder H2 (50~1031 bp) 和相应的 DNA 样品, 将电压调至 90 V 进行电泳 30 min。用凝胶成像分析系统进行观察分析并记录结果^[11]。*CaMV35S* 目的基因片段为 195 bp, *NOS* 目的基因片段为 180 bp, *CP4-EPSPS* 目的基因片段为 320 bp, *Lectin* 目的基因片段为 438 bp。

1.2.4 实时定量 PCR 检测

提取到的大豆基因 DNA 进行实时定量 PCR 反应, 分别对外源基因 *CP4-EPSPS*、*NOS* 和 *CaMV35S* 进行扩增。实时定量 PCR 引物序列, 反应体系如下: PCR 反应体系为 20 μL , 其中 Mix 10 μL , 上下游引物各 0.5 μL , 探针 0.5 μL , 模板 DNA 2 μL , 用灭菌超纯水补齐至 20 μL 。空白对照以超纯水代替模板 DNA。PCR 扩增反应条件以及引物序列、探针等参照中华人民共和国出入境检验检疫行业标准 SN/T 1195-2003 《大豆中转基因成分的定性 PCR 检测方法》^[12]。

1.2.5 数据处理

实验数据以实测有效数值来表示, 对不同样本的实测有效数值进行归一化处理后进行分析。

2 结果与讨论

2.1 大豆基因组 DNA 的 OD 值

本次实验的检测样品均为常见的豆制品, 其加工过程简单、含油量低, 因此基因的破坏程度很低, 而且提取效果好。利用食品级改良 CTAB 法提取所有豆制品样品基因组的 DNA, 这是转基因国际标准草案推荐的方法^[13]。在提取前, 对样品做预处理, 在不破坏基因组、不受污染的情况下, 充分研磨样品, 有助于样品与抽提试剂更充分接触, 可获得浓度、纯度更高的 DNA 抽提溶液。由表 3 可知所有抽检样品的大豆基因组的 DNA 都成功提取, 所得 DNA 溶液浓度和纯度都较高, 抽提效果比较理想, DNA 质量浓度达到 200 ng/ μL 以上, $\text{OD}_{260\text{ nm}}/\text{OD}_{280\text{ nm}}$ 介于 1.9~2.1 之间, 说明有少量的 RNA 尚未除尽。虽含有少量 RNA, 但 RNA 为检测结果影响很小, 可忽略不计。抽取到的 DNA 质量浓度基本能满足转基因成分的检测需要。

核酸定性检测, 是常见的检测方法, 其结果客观可靠。只要在凝胶成像分析系统中观察, 观察是否存在特异性条带, 即可判断是否含有转基因成分。根据扩增基因在凝胶上出现的条带, 由表 4 和 PCR 扩增凝胶电泳图可知, 在保证含有 *Lectin* 基因的基础下, 以三种引物 *CaMV35S*、*NOS*、*CP4-EPSPS* 扩增所有样品。其中含有 *CaMV35S* 外源基因的样品数量有 11 份, 含

有 NOS 外源基因的样品数量有 3 份,含有 CP4-EPSPS 外源基因的样品数量有 3 份。含有 CaMV35S 外源基因的样品数量较另外两种外源基因成分多,综合可得所检测的所有市售豆制品转基因比率为 37.93%,与后续的定量 PCR 法检测相比,阳性结果少。黄靖等人所

采用实时荧光 PCR 法得到的腐竹和腐乳的阳性比率均高于核酸定性 PCR 法^[3]。通过分析可能存在的原因后,我们认为,可能是由于提取出来的外源基因含量过低、零碎,导致特异性亮带不明显;也可能是由于操作、环境问题等原因所造成假阴性。

表 3 大豆基因组 DNA 的 OD_{260 nm}/OD_{280 nm} 及核酸浓度

Table 3 OD_{260 nm}/OD_{280 nm} and nucleic acid concentration of soybean genomic DNA

样品名称	核酸浓度/(ng/μL)	A260/A280	核酸类型
nanmen005	581.718	2.03	DNA
nanmen006	795.275	2.04	DNA
nanmen007	360.274	2.08	DNA
beimen001	904.874	2.07	DNA
beimen002	940.763	2.07	DNA
beimenhong001	674.552	2.04	DNA
yuechao001	813.495	2.04	DNA
yuechao002	1174.548	2.07	DNA
yuechao003	739.348	2.06	DNA
yuechao004	245.595	1.98	DNA
yuechao005	403.771	2.02	DNA
xixin001	729.015	2.06	DNA
xixin002	1011.719	2.08	DNA
xixin003	982.502	2.05	DNA
xixinhei001	342.212	1.96	DNA
shangdongping001	1040.748	2.05	DNA
shangdongping002	1067.606	2.05	DNA
shangdongping003	1157.653	2.07	DNA
woshi001	288.520	1.92	DNA
woshi002	779.263	2.05	DNA
sheguang001	688.174	2.02	DNA
sheguang002	621.587	1.99	DNA
qiaodong 001	832.773	2.05	DNA
kuiyuan001	632.342	2.05	DNA
darunfa001	480.702	2.04	DNA
darunfadoujiang	292.696	2.03	DNA
darunfadougan	908.534	2.03	DNA
darunfaqianzhang	825.603	2.02	DNA
darunfadoufu	800.274	2.03	DNA

表 4 市售豆制品核酸定性 PCR 转基因检测结果

Table 4 Qualitative PCR detection of genetically modified nucleic acids in commercial soybean products

样品数量	外源基因阳性数量			阳性数量	阳性比率/%
	CaMV35S	NOS	CP4-EPSPS		
29	11	3	3	11	37.93

2.2 核酸定性 PCR 检测结果分析

共检测市售豆制品 29 份,通过核酸定性 PCR 进

行转基因检测的结果如表 4 所示。散装市售豆制品外源基因的核酸定性 PCR 扩增结果图 1 所示。

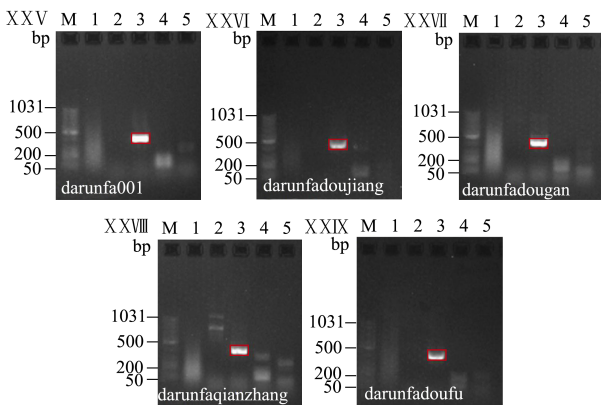
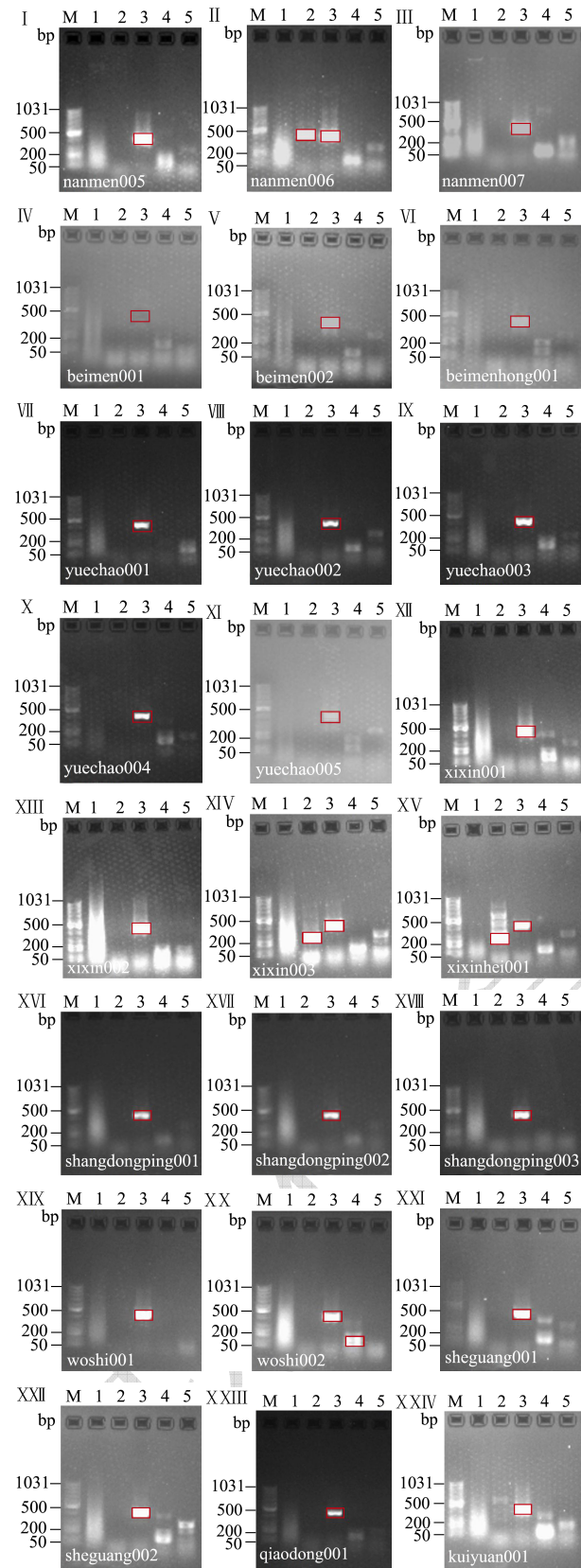


图1 豆制品外源基因核酸定性扩增结果

Fig.1 Qualitative amplification of exogenous gene nucleic acid in soybean products

注: 从左到右, 依次为 M: Marker; 1: 样品 DNA; 2: 以 *CP4-EPSPS* 引物扩增的样品; 3: 以 *Lectin* 引物扩增的样品; 4: 以 *CaMV35S* 引物扩增的样品; 5: 以 *NOS* 引物扩增的样品。(i: nanmen005; ii: nanmen006; iii: nanmen007; iv: beimen001; v: beimen002; vi: beimenhong001; vii: yuechao001; viii: yuechao002; ix: yuechao003; x: yuechao004; xi: yuechao005; xii: xixin001; xiii: xixin002; xiv: xixin003; xv: xixinhei001; xvi: shangdongping001; xvii: shangdongping002; xviii: shangdongping003; xix: woshi001; xx: woshi002; xxi: sheguang001; xxii: sheguang002; xxiii: qiaodong001; xxiv: kuiyuan001; xxv: darunfa001; xxvi: darunfadoujiang; xxvii: darunfadougan; xxviii: darunfaqianzhang; xxix: darunfadoufu)。

根据核酸定性扩增结果可知, 如表 4 所示, 市售豆制品转基因比率为 37.93%, *CaMV35S* 检出数量比例为 11/29, 而 *NOS* 和 *CP4-EPSPS* 的检出数量均为 3/29。实验结果说明外源转基因成分 *CaMV35S* 的 DNA 结构完整性, 在大豆基因组 DNA 制取过程中保存较好, 这对于检测豆制品中转基因成分是有利的。同时说明豆制品转基因成分检测, 核酸定性分析法还是存在方法学上的缺陷, 必须借助其他手段如实时定量 PCR 法, 才能准确地检测豆制品中转基因成分存在与否以及样品中非豆制品成分的干扰等。

2.3 实时定量 PCR 检测结果分析

共检测市售豆制品 29 份, 通过实时定量 PCR 进行转基因检测^[14]的结果如表 5 所示。散装市售豆制品外源基因的实时定量 PCR 扩增结果图 2 所示。

表 5 市售豆制品定量 PCR 转基因检测结果

样品数量	外源基因阳性数量			阳性数量	阳性比率/%
	<i>CaMV35S</i>	<i>NOS</i>	<i>CP4-EPSPS</i>		
29	29	27	20	19	65.52

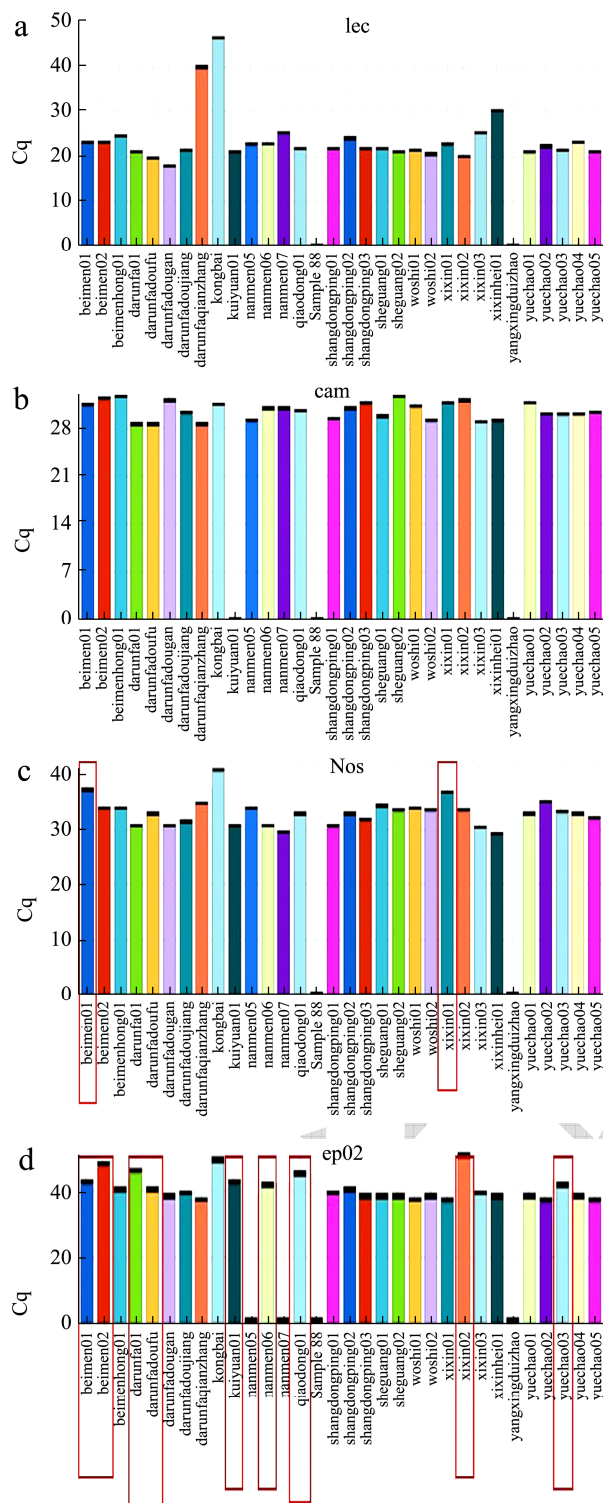


图2 豆制品实时定量PCR外源基因扩增结果

Fig.2 Real-time quantitative PCR amplification of exogenous genes in soybean products

注: a: LEC 基因实时定量PCR图谱; b: *CaMV35S* 基因实时定量PCR图谱; c: *NOS* 基因实时定量PCR图谱; d: *CP4-EPSPS* 基因实时定量PCR图谱。红色方框所示为扩增后没有该基因的产品。

为了更为准确地检测样品中含有转基因成分的比例,

我们采用了灵敏度较高的实时定量PCR^[13], 该法很好地克服由于外源转基因成分含量低、结构破碎造成的假阴性结果。实验体系严格按照中华人民共和国出入境检验检疫行业标准 SN/T 1202-2010《食品中转基因植物成分定性PCR检测方法》^[15], 并设置好空白对照、阳性对照。在确保空白对照Cq值大于40、阳性对照Cq值小于或等于34的前提下, 以三种引物 *CaMV35S*、*NOS*、*CP4-EPSPS* 扩增所有样品。由图2可知, 29份样品中, 有2份未检测到有 *NOS* 基因, 有9份未检测到 *CP4-EPSPS* 基因, 可知其中10份样品中没有转基因成分, 综合分析可知, 我们所检测的潮州市市售豆制品转基因比率为65.52%。与此同时, 含有 *CaMV35S* 外源基因的样品数量较另外两种外源基因成分多, 与核酸定性检测结果存在一致的关联性。不同的是, 实时定量PCR法得到的市售豆制品转基因比率为65.52%, 较核酸定性结果(37.93%)较高, 必须考虑是由于人为操作等问题所造成的假阳性结果。谢响明等人^[13] (2004), 根据送检的4种大豆制品的 *CP4-EPSPS* 扩增结果为阳性, 含有转基因大豆成分。黄靖等人^[3] (2014) 研究发现, 广州市售豆制品207份, 其中散装豆制品的转基因比率为54.7%, 抽取预包装豆制品的转基因比率为37.5%, 表明转基因豆制品已有相当高的市场占有率。这与我们所检测转基因豆制品情况很相似, 说明转基因大豆违规流入豆制品加工与销售等环节的事实是不可回避的, 应该引起监管部门的重视。

3 结论

本次实验对潮州市市售豆制品抽取的29份进行了检测, 实验结果表明, 豆制品转基因成分阳性率大于50%。本次随机抽取的样品来源于潮州市具有代表性的市场, 除了少数购买的样品是采用正规包装并有食品标签, 大多数样品是散装且没有任何食品标签, 但是, 所有样品豆制品都没有是否含有转基因成分的食品标识。由于进口的转基因大豆明显的价格优势, 也存在市场对作为加工原料的转基因大豆销售环节缺乏有效的监管, 导致一些制造商违规采用转基因大豆作为豆制品生产原料。导致进入市场流通领域的转基因大豆及其制品影响范围甚广。最为迫切的问题在于转基因大豆作为原料进口后并违规加工制成的散装食品应该如何监管, 如何尊重消费者对转基因食品的知情权与选择权, 这是转基因食品监管工作所要面对的现实问题。转基因食品标识制度的实施仍处于一个初始阶段, 国家应该建立起强有力的市场监管机制。因此, 我们必须高度重视转基因食品标识制度落实及其

相应的市场监管工作。

参考文献

- [1] 王军,吴聚兰,马艳琴,等.转基因大豆的食品安全性及发展对策[J].农产品加工(学刊),2013,20:52-54
WANG Jun, WU Ju-lan, MA Yan-qin, et al. Food safety and development strategies of genetically modified soybeans [J]. Processing of Agricultural Products (Journal), 2013, 20: 52-54
- [2] 孙娟娟.转基因食品规制争议: 放松规制与审慎规制[J].科技与法律,2017,5:67-76
SUN Juan-juan. The dispute on genetically modified food: deregulation or regulation with precaution [J]. Journal of Science, Technology and Law, 2017, 5: 67-76
- [3] 黄靖,何敏恒,许喜林.广州市售豆制品转基因成分的检测与分析[J].中国酿造,2014,33(9):138-142
HUANG Jing, HE Min-heng, XU Xi-lin. Detection and analysis of genetically modified ingredients in soybean products in Guangzhou [J]. China Brewing, 2014, 33(9): 138-142
- [4] XU Ruo-mei, Wu Yan-rui, Luan Jing-dong.. Consumer-perceived risks of genetically modified food in China [J]. Appetite, 2020, 147: 104520
- [5] 孙梦梦,黄欢欢,沈晓芳,等.豆制品转基因检测中不同DNA提取方法的比较[J].江苏农业科学,2019,47(4):47-50
SUN Meng-meng, HUANG Huan-huan, SHEN Xiao-fang, et al. Comparison of different DNA extraction methods in genetically modified soybean products [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2019, 47(4): 47-50
- [6] 王澎,金丽晨,耿志明,等.食用大豆油中DNA的快速提取和转基因成分定性检测[J].江苏农业学报,2008,24(6):940-943
WANG Peng, JIN Li-chen, GENG Zhi-ming, et al. A method for DNA isolation from soy bean oil and qualitative detection of genetically modified organisms [J]. Jiangsu Agricultural Journal, 2008, 24(6): 940-943
- [7] ZHAO, Ya-wei, Deng Hai-yan, Yu Chang-xin, et al. The Chinese public's awareness and attitudes toward genetically modified foods with different labeling [J]. npj Science of Food, 2019, 3(1): 17
- [8] 宋扬,吴存祥,侯文胜,等.对引进的美国大豆品种进行转基因成分的检测[J].大豆科学,2005,2:116-120
SONG Yang, WU Cun-xiang, HOU Wen-sheng, et al. Identification of the transgenic elements in the introduced America soy bean lines [J]. Soybean Science, 2005, 2: 116-120
- [9] Chang Bugil, Kim Jeong-Nam. Silent minority? Willingness to express opinions of motivated public depending on the perceived group size in the context of GM food controversy [J]. Public Relations Review, 2019, 45(5): 101786
- [10] 蒋亦武,黄明,王保战,等.转基因大豆及制品中转基因成分检测技术研究进展[J].江苏农业科学,2011,1:345-348
JIANG Yi-wu, HUANG Ming, WANG Bao-zhan, et al. Advances in the detection of GM components in GM soybeans and products [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2011, 1: 345-348
- [11] 许银叶,许佩勤,庄俊钰,等.实时荧光定量PCR技术检测腐乳中大豆转基因成分[J].江苏调味副食品,2019,2:33-35, 44
XU Yin-ye, XU Pei-qin, ZHUANG Jun-yu, et al. Detection of soybean genetically modified components in fermented bean curd by real-time fluorescence quantitative PCR [J]. Jiangsu Seasoned Non-staple Food, 2019, 2: 33-35, 44
- [12] SN/T 1195-2003,大豆中转基因成分的定性PCR检测方法[S]
SN/T 1195-2003, Qualitative PCR Detection of Transgenic Components in Soybean [S]
- [13] 董流昕,谢响明,毛建军,等.大豆制品转基因成分检测和定量标识分析[J].植物检疫,2005,3:132-134
DONG Liu-xin, XIANG Xiang-ming, MAO Jian-jun, et al. Detection of soybean products of genetically modified components and quantitatively labeling analysis [J]. Plant Quarantine, 2005, 3: 132-134
- [14] 陈彦,潘见,王亚,等.大豆DNA提取方法及降落PCR检测转基因成分的研究[J].食品科学,2009,30(24):355-358
CHEN Yan, PAN Jian, WANG Ya, et al. DNA extraction from soybeans and detection of genetically-modified components by touchdown PCR [J]. Food Science, 2009, 30 (24): 355-358
- [15] SN/T 1202-2010,食品中转基因植物成分定性PCR检测方法[S]
SN/T 1202-2010, Qualitative PCR Detection of Genetically Modified Plant Components in Food [S]