

# 食品中转基因成分检测

## 第 3 章

### 检测过程中使用的样品

**M. Querci, N. Foti**



## 目 录

### 第 3 章

#### 检测过程中使用的样品

检测过程中使用的样品	3
有证参考物质	3
分发给参加者的未加工材料和加工材料组成成分	4
检测过程中分发的样品列表	6
PCR 预期结果	6
参考文献	7

## 检测过程中使用的样品

检测过程中，我们通过检测不同材料中的 MON810 玉米和 Roundup Ready®大豆成分，来测试不同的检测方法。基于此目的，我们将非转基因成分分别与转基因玉米 (MON810) 和转基因大豆 (Roundup Ready®大豆) 以不同的浓度比例混合，这需要两种不同类型的材料：

- 有证参考物质 (Certified Reference Materials, CRMs)
- 分发给参与者的不同的未经加工或加工过的材料

## 有证参考物质

检测过程中使用的未加工植物材料，为有证参考物质 IRMM-410S (Roundup Ready®大豆) 和 IRMM-413 (MON810 玉米)。IRMM-410S 和 IRMM-413 由两组含有大豆干粉和玉米干粉的 CRMs 组成，分别含有不同质量比例 (0, 0.1, 0.5, 1, 2 和 5%) 的转基因 Roundup Ready®大豆和 MON810 玉米的干粉。CRMs 是由参考物质和测量研究所 (Institute for Reference Materials and Measurements, [IRMM-http://irmm.jrc.ec.eu.int/](http://irmm.jrc.ec.eu.int/)) 同欧盟联合研究中心 (Joint Research Centre, JRC) (Ispra, 意大利) 健康与消费者保护协会 (Institute for Health and Consumer Protection, [IHCP-http://ihcp.jrc.ec.eu.int/](http://ihcp.jrc.ec.eu.int/)) 在协同合作的框架下，代表 Fluka Chemie AG (Buchs, 瑞士) 公司制备的，它们都有意向参加转基因食品检测方法的验证。由于 DNA 和/或蛋白质的含量依种类有所不同，所以对未知样品的测量下定结论时要慎重。

含有转基因 Roundup Ready®大豆的大豆干粉是由非转基因大豆品系 (Asgrow A1900) 和转基因 Roundup Ready®大豆品系 40-3-2 (Asgrow line AG5602 RR) 的完整种粒制备的。而含转基因 MON810 玉米的玉米干粉则是由非转基因栽培种 DK512 和转基因玉米 MON810 栽培种 DK513 的完整种粒制备的。

## 分发给参与者的未加工或加工材料的组成成分

我们将检测不同的样品：饼干、烤制蛋糕、小食品碎屑和面粉。

### 未加工材料

**混合面粉.** 为了获得两种转基因成分含量都为 0.5% (总干重) 的样品, 可以将 1% 的 RR 大豆 (IRMM-410S) 与 1% 的 MON810 玉米 (IRMM-413) 等量混合。称取 50 mg 两种面粉直接加入反应管中准备提取 DNA。1% 的 MON810 玉米粉是有证参考物质 IRMM-413 (1% MON810 玉米)。

### 小食品碎屑

样品源自转基因能力测试材料 (GeMMA 方案, Round 06, 测试材料 GMO-06B)。材料是由商业化的非转基因大豆和含有转基因大豆的点心食品混合制备的。

---

小食品碎屑	1372 g 非转基因大豆点心, 28 g 含转基因成分的大豆点心
-------	-----------------------------------

---

混合前, 先分别将两种材料磨碎, 滤网筛选获得颗粒大小均一的碎屑, 然后颠倒混合过夜。最后, 用旋转混合器将材料混合约 1 h, -20°C 保存。

### 饼干

材料由联合研究中心健康和消费者保护协会制备, 并用于验证一种检测加工食品中 Roundup Ready®大豆和 Maximizer 玉米 (Bt-176) 成分的 PCR 方法 (Lipp *et al.*, 2001)。

以下列比例称取大豆及玉米干粉, 然后与其它成分混合。

---

饼干#1	250 g 玉米 (0% GMO), 250 g 大豆 (0% GMO), 300 g 小麦, 200 g 糖, 100 g 黄油, 10 g 盐, 16 g 香草拨粉, 2 g 鸡蛋
------	--

---

以上成分用 600 ml 水小心地混合均匀, 然后均匀地铺在烘盘上, 放入 180°C 预热的空气再循环烤箱中烘烤 10 min。从烤箱中取出材料, 覆盖以防止污染, 并冷却至室温, 最后于-20°C 保存。

## 豆奶粉

样品源于Round 05 GeMMA能力测试计划的样品。1700 g美国豆奶粉与300 g Roundup Ready®大豆蛋白抽提物颠倒混合过夜。样品分发前，称取每10 g，分装入螺帽塑料容器中，室温下保存。

## MON810 饼干

材料由联合研究中心生物技术和转基因部门制备。

按下列比例称取玉米干粉与其它配料相混合。

---

MON810 饼干 200 g 小麦粉, 100 g 玉米粉\* (2%\* GMO), 150 g 糖, 100 g 黄油, 1 g 鸡蛋

---

\*2% MON810 玉米粉是将野生型玉米粉加入 100% MON810 玉米粉中混合 30 min 获得的。

将以上成分小心地混合，均匀铺在烘盘上，放入 180℃ 预热的空气再循环烤箱中烘烤 10 min。从烤箱中取出材料，覆盖以防止污染，并冷却至室温，最后于 4℃ 保存。

## 检测过程中分发的样品列表

样品	转基因成分含量	
	RR 大豆	MON810 玉米
饼干#1	0%	0%
混合面粉	1%	1%
MON810 玉米粉	-	1%
小食品碎屑	2.2%	-
豆奶粉	8.9%	-
MON810 饼干	-	2%

## PCR 预期结果

样品	<i>zein</i>	<i>lectin</i>	<i>35s</i>	<i>nos</i>	<i>E35S/HSP70(b)</i>	CTP/EPSPS
IRMM-410S-0 (0%)	-	+	-	-	-	-
IRMM-410S-1 (0.1%)	-	+	+	+	-	+
IRMM-410S-2 (0.5%)	-	+	+	+	-	+
IRMM-410S-3 (1%)	-	+	+	+	-	+
IRMM-410S-4 (2%)	-	+	+	+	-	+
IRMM-413-0 (0%)	+	-	-	-	-	-
IRMM-413-1 (0.1%)	+	-	+	-	+	-
IRMM-413-2 (0.5%)	+	-	+	-	+	-
IRMM-413-3 (1%)	+	-	+	-	+	-
IRMM-413-4 (2%)	+	-	+	-	+	-
饼干#1	+	+	-	-	-	-
混合面粉	+	+	+	+	+	+
面粉 MON810	+	-	+	-	+	-
小食品碎屑	-	+	+	+	-	+
豆奶粉	-	+	+	+	-	+
MON810 饼干	+	-	+	-	+	-

## 参考文献

- Lipp, M., Bluth, A., Eyquem, F., Kruse, L., Schimmel, H., Van den Eede, G. and Anklam, E.(2001). Validation of method based on polymerase chain reaction for the detection of genetically modified organisms in various processed foodstuffs. *European Food Research Technology* **212**, 497-504.
- Lipp, M., Brodmann, P., Pietsch, K., Pauwels, J, and Anklam, E. (1999). IUPAC collaborative trial study of a method to detect genetically modified soy beans and maize in dried powder. *Journal of AOAC international* **82**, 923-928.
- Trapmann. S., Catalani, P., Corbisier, P., Gancberg, D., Hannes, E., Le Guern, L., Kramer, G. N., Prokisch, J., Robouch, P., Schimmel, H., Zeleny, R., Pauwels, J., Van den Eede, G., Weighardt, F., Mazzara, M. And Anklam, E. (2002). The certification of reference materials of dry-mixed soya powder with different mass fractions of Roundup Ready™ soya. Certified Reference Materials IRMM-410S.(<http://www.irmm.jrc.be/rm/irmm-410S.pdf>).
- Trapmann, S., Le Guern, L., Prokisch, J., Robouch, P., Kramer, G. N., Schimmel, H., Pauwels, J., Querci, M., Van den Eede, G. And Anklam, E(2001). The certification of reference materials of dry-mixed maize powder with different mass fractions of MON810 maize. Certified Reference Materials IRMM-413. (<http://www.irmm.jrc.be/rm/irmm-413.pdf>).
- GeMMA Scheme-GMO analysis Round 06. GMO Proficiency Testing, (October 2001). *Report N. GMO 06*.
- GeMMA Scheme-GMO analysis Round 05. GMO Proficiency Testing, (October 2001). *Report N. GMO 05*.