

实验技术与方法

泔水油聚合酶链式反应鉴定技术研究

杨冬燕,杨小柯,杨永存,吴丽明,张慧敏,张倩,张艳炜,耿艺介,黄达娜,吴双,邓平建
(深圳市疾病预防控制中心,广东 深圳 518020)

摘要:目的 建立特异的泔水油聚合酶链式反应(PCR)鉴定方法。方法 以猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉、哺乳动物等动物源性基因及大米物种特异性基因作为靶基因,采用PCR及荧光PCR方法鉴定泔水油。结果 6个自制的粗制泔水油样品全部被鉴定为泔水油,7个疑似泔水油样品中的5个被鉴定为泔水油,而4个正常食用植物油全部被鉴定为非泔水油。结论 以泔水油中可能混杂的动物源性基因和大米基因作为靶标,采用普通PCR或荧光PCR方法可有效鉴定泔水油。

关键词:泔水油;动物源性基因;大米物种特异性基因;聚合酶链式反应

中图分类号:O65 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2011)03-0255-06

Identification of hogwash oil with polymerase chain reaction

Yang Dongyan, Yang Xiaoke, Yang Yongcun, Wu Liming, Zhang Huimin, Zhang Qian,
Zhang Yanwei, Geng Yijie, Huang Dana, Wu Shuang, Deng Pingjian
(Shenzhen Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Shenzhen 518020, China)

Abstract: Objective To develop a specific polymerase chain reaction (PCR) method for identification of hogwash oil.

Methods Gene sequences specific for pork, beef, mutton, chicken, mammal and rice-specific gene were used as targets for identification of hogwash oil by PCR and fluorescent PCR methods. **Results** Six home-made crude swill oil samples were all identified as hogwash oil, 5 in 7 suspected swill oil samples were identified as hogwash oil, and no hogwash oil was detected in 4 normal edible vegetable oil samples. **Conclusion** Gene sequences specific for animal and rice-specific gene mixed in hogwash oil were used as targets; and hogwash oil could be effectively identified by the established PCR and fluorescent PCR methods.

Key words: Hogwash oil; animal-specific gene; rice-specific gene; polymerase chain reaction

泔水油也称泔水油或地沟油,是餐饮业泔水中经过隔油器收集,然后加入硫酸,加热脱水、脱渣、脱色产生的油脂。由于泔水油在加工过程中油脂发生了水解、氧化、缩合等一系列复杂的化学反应,产生了大量的苯、芘、萘、蒽、硝酸盐和亚硝酸盐等有毒有害物质^[1],甚至某些强致癌物质^[2],食用泔水油对人体健康危害极大。由于泔水油从外观上很难与合格食用油区别,使众多不知情的消费者深受其害。

近年来,为了给食用植物油的市场监管提供技术支持,泔水油鉴定方法的研究备受关注。这些研究以脂肪酸组成成分^[3],钠离子含量^[3],电导率^[4],

十二烷基苯磺酸钠含量^[5],胆固醇含量^[6],油脂的酸价、过氧化值^[7]及介电常数^[8]等多种参数作为泔水油鉴定的指标。然而,这些指标中,一部分是食用油脂卫生标准中规定的鉴别食用油脂优劣的、与安全卫生有关的指标,另一部分则是所谓的泔水油特征成分含量,但这些特征成分在正常植物油中也存在。因此,到目前为止尚待确立泔水油特异性指标及可靠的鉴定方法。

本研究以猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉、哺乳动物及大米物种特异性基因作为泔水油鉴定特征性指标,在本课题组之前建立的植物油核酸提取方法^[9]的基础上,采用聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)及荧光PCR方法,检测泔水油中动物源性DNA成分及大米DNA。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

十六烷基三甲基溴化胺(CTAB); TAKARA PCR扩增试剂盒(货号D332A); TAKARA 荧光

收稿日期:2010-08-23

基金项目:深圳市科技计划项目(200902081);广东省医学科研课题(A2009605)

作者简介:杨冬燕 女 副主任技师 研究方向为食品卫生检验

E-mail:szyang6699@126.com

通信作者:邓平建 男 主任技师

PCR 扩增试剂盒(货号 DRR039A); 50bp DNA Marker 均购自大连宝生物技术公司; 引物、探针由大连宝生物技术公司合成。

iCycler 荧光 PCR 仪, 购自美国 Bio-rad 公司; MJR PTC-220 PCR 仪, 购自美国 M. J. Research Inc; Gene Genius 凝胶成像系统, 购自英国 Syngene 公司。

1.2 样品

1.2.1 泔水油样品

本研究所用的泔水油分为两类: 一类是取自深圳市疾病预防控制中心职工食堂的泔水浮油, 过滤除渣后得到的粗制泔水油, 下文简称为“粗制泔水油”, 样品编号 1~6。其中, 1~2 号样品源自含有鸡肉、猪肉和大米的泔水; 3~4 号样品源自含有牛肉、猪肉和大米的泔水; 5~6 号样品源自含有羊肉、鸡肉、猪肉和大米的泔水。另一类是深圳市疾病预防控制中心接受的社会委托检验的疑似泔水油, 下文简称为“疑似泔水油”, 样品编号 7~13。

1.2.2 食用植物油样品

样品编号 14~17, 分别为市售纯正花生油、茶油、一级大豆油及花生食用调和油, 均购自深圳市某超市。

1.2.3 质控样品

购自深圳市某超市的牛肉、羊肉、猪肉、鸡肉及大米, 进行全基因组 DNA 提取, 其 DNA 提取液作为相应物种特异性基因扩增的阳性对照样品。以去离子灭菌水作为 PCR 空白对照。

1.3 核酸提取

1.3.1 泔水油核酸提取

泔水油核酸提取采用课题组之前建立的精炼食用植物油 DNA 提取方法^[9]。

1.3.2 食用植物油核酸提取

方法同 1.3.1 泔水油核酸提取。

1.3.3 质控样品核酸提取

1.3.3.1 动物组织提取基因组 DNA 提取

采用网络检索到的方法^[10], 略加改动, 将样品量及所有试剂用量减少到 1/10。

1.3.3.2 大米基因组 DNA 提取

大米经磨机磨成粉末后取 100 mg, 利用 Qiagen Mini Plant DNA extraction kit 试剂盒, 按照试剂盒操作说明提取基因组 DNA。

1.4 PCR 检测

PCR 扩增采用 TAKARA PCR 扩增试剂盒。扩增反应体系参照试剂盒说明, 在 25 μ l 扩增体系中, 引物浓度 0.5 μ mol/L, 模板含量为 50 pg。扩增引物序列信息见表 1。PCR 扩增条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min、95 $^{\circ}$ C 变性 45 s、57 $^{\circ}$ C 退火 30 s、72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 40 个循环后, 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。取 8 μ l PCR 扩增产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳。

1.5 荧光 PCR 检测

荧光 PCR 扩增采用 TAKARA 荧光 PCR 扩增试剂盒, 扩增反应体系参照试剂盒说明, 在 20 μ l 荧光 PCR 扩增体系中, 引物浓度 0.4 μ mol/L, 模板含量为 40 pg 扩增。引物及探针序列信息见表 2。荧光 PCR 扩增条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s、95 $^{\circ}$ C 变性 5 s、60 $^{\circ}$ C 退火与延伸 30 s, 40 个循环。

表 1 PCR 扩增引物序列

Table 1 The prime sequences used for PCR

| 扩增片段名称 | 引物序列(5'—3') | 片段长度(bp) | 参考文献 |
|---------------|---|----------|------|
| 牛特异性 cytb 基因 | 正向: cggagtaacctctctcagcagc 反向: ggattgctgataagaggttggtg | 116 | 12 |
| 羊特异性 cytb 基因 | 正向: gagtaacctcctctattgacaca 反向: aggtttgtgccaatatatggaatt | 133 | 12 |
| 鸡特异性 cytb 基因 | 正向: agcaatccctacattggacaca 反向: gatgatagtaataacctgcatgca | 133 | 12 |
| 猪特异性线粒体基因 | 正向: gcctaaatcctccctcaatgta 反向: atgaaagaggcaaatagatttctg | 212 | 14 |
| 大米特异性 GOS9 基因 | 正向引物: ttagecctcccgctcaga 反向引物: agagtccacaagtctcccg | 68 | 11 |
| 植物叶绿体 RBCL 基因 | 正向引物: aatcttctactggtacatggac 反向引物: agtaacagaacctctcaaat | 150 | 9 |

2 结果

2.1 粗制泔水油 PCR 扩增结果

为了验证在粗制泔水油中提取到核酸, 所有粗制泔水油样品都进行了植物叶绿体 RBCL 基因扩

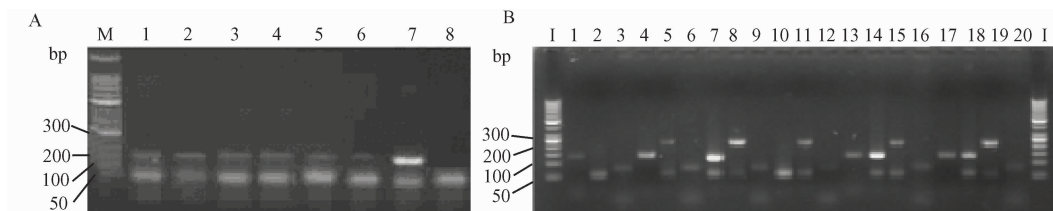
增, 电泳结果显示 6 个粗制泔水油样品都扩增出植物叶绿体 RBCL 基因片段阳性条带(图 1)。在此基础上, 根据粗制泔水油可能含有的目标成分的不同, 1、2 号样品扩增鸡特异性 cytb 基因、猪特异性线粒体基因及大米特异性 GOS9 基因; 3、4 号样品

表 2 荧光 PCR 扩增引物及探针序列
Table 2 The prime and probe sequences used for real-time PCR

| 扩增片段名称 | 序列(5'—3') | 片段长度(bp) | 参考文献 |
|------------------|---------------------------------------|----------|------|
| 牛特异性 12S rRNA 基因 | 正向引物: aaaggacttggcggtgctt | 252 | 13 |
| | 反向引物: tggttcataataacttcgcgct | | |
| | 探针: tagaggagcctgttctataatcgataaaccccg | | |
| 猪特异性 12S rRNA 基因 | 正向引物: aaaggacttggcggtgctt | 411 | 13 |
| | 反向引物: gttacgactgtctcttcgtgca | | |
| | 探针: tagaggagcctgttctataatcgataaaccccg | | |
| 鸡特异性 cytb 基因 | 正向引物: agcaattccctacattggacaca | 133 | 12 |
| | 反向引物: gatgataagtaatacctgcgattgca | | |
| | 探针: acaacecaaccctaacccgattcttc | | |
| 哺乳动物 12S rRNA 基因 | 正向引物: aaaggacttggcggtgctt | 428 | 13 |
| | 反向引物: tccagatgcttacctgttacgactt | | |
| | 探针: tagaggagcctgttctataatcgataaaccccg | | |
| 大米特异性 GOS9 基因 | 正向引物: ttgcctcccgcgtcaga | 68 | 11 |
| | 反向引物: agagtccaagtgctcccg | | |
| | 探针: cggcagtggttgggttcttcgg | | |
| 大米特异性 SPS 基因 | 正向: ttgcctgaacggat | 81 | 11 |
| | 反向: cggttgatctttcgggatg | | |
| | 探针: gacgcacggacggctcgga | | |

扩增牛特异性 cytb 基因、猪特异性线粒体基因及大米特异性 GOS9 基因; 5、6 号样品扩增羊特异性 cytb 基因、鸡特异性 cytb 基因、猪特异性线粒体基因及大米特异性 GOS9 基因。PCR 扩增结果见图 1:除 1 号样品未检出猪特异性线粒体基因扩增条

带、4 号样品未检出牛特异性 cytb 基因及大米特异性 GOS9 基因扩增条带外,其余样品均扩增出目标阳性条带,其中 1、2、3、5 及 6 号样品的大米特异性 GOS9 基因扩增结果为弱阳性,目标条带不十分清晰。



A: 植物叶绿体 RBCL 基因扩增结果; M: 50bp DNA marker; 1~6: 分别为 1~6 号样品; 7、8: 为阳性和阴性对照; B: 动物源性基因及大米特异性基因扩增结果; M: 50bp DNA marker; 1~3 和 4~6: 分别为 1 号和 2 号样品的鸡特异性 cytb 基因、猪特异性线粒体基因及大米特异性 GOS9 基因扩增条带; 7~9 和 10~12: 分别为 3 号和 4 号样品的牛特异性 cytb 基因、猪特异性线粒体基因及大米特异性 GOS9 基因扩增条带; 13~16 和 17~20: 分别为 5 号和 6 号样品羊特异性 cytb 基因、鸡特异性 cytb 基因、猪特异性线粒体基因及大米特异性 GOS9 基因扩增条带

图 1 粗制滴油 PCR 检测结果

Figure 1 The results detected by PCR for crude hogwash oil

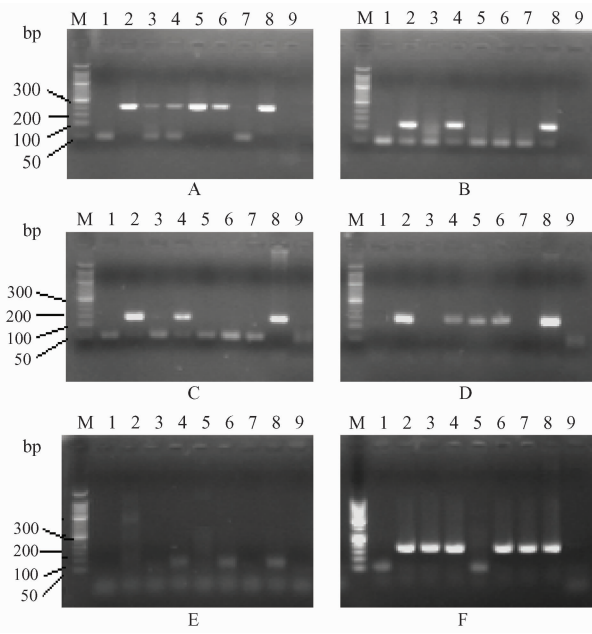
2.2 疑似滴油 PCR 扩增结果

对 7~13 号 7 个疑似滴油样品分别扩增猪特异性线粒体基因、牛特异性 cytb 基因、羊特异性 cytb 基因、鸡特异性 cytb 基因、大米特异性 GOS9 基因及植物叶绿体 RBCL 基因共 6 个基因片段。PCR 扩增结果见图 2。在对 7 个样品的猪特异性线粒体基因扩增结果显示,除 7 号和 13 号未见阳性条带外,其余样品均为阳性;在 7 个样品中,8 号和 10 号样品扩增出牛特异性 cytb 基因阳性和羊特异性 cytb 基因条带,其余样品均未见这 2 个目标扩增片段的阳性条带;而鸡特异性 cytb 基因扩增结果显示,除 7 号和 9 号样品外,其余样品均为阳性;10 和 12 号样

品的大米特异性 GOS9 基因扩增结果为弱阳性,其余样品均未见大米特异性 GOS9 基因阳性条带;而植物叶绿体 RBCL 基因扩增结果显示,除 7 号及 11 号样品未扩增出目标条带外,其余样品均为阳性。

2.3 食用植物油 PCR 扩增结果

分别对 14~17 号食用植物油样品扩增猪特异性线粒体基因、牛特异性 cytb 基因、羊特异性 cytb 基因、鸡特异性 cytb 基因、大米特异性 GOS9 基因及植物叶绿体 RBCL 基因共 6 个基因片段。PCR 扩增结果显示:4 个样品的植物叶绿体 RBCL 基因扩增阳性,而在阳性对照和阴性对照正常的情况下,4 个样品均未见其余 5 个基因片段的阳性扩增条带,见

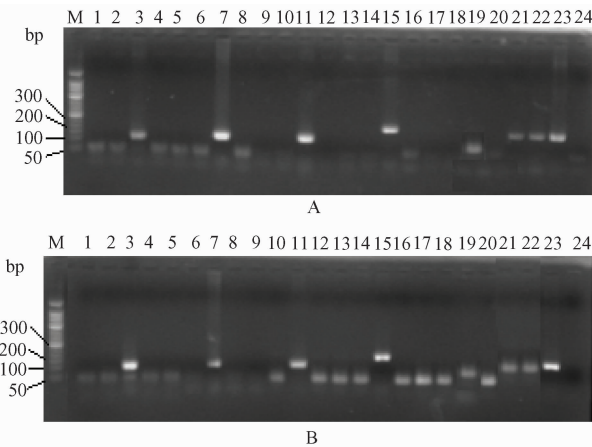


A:猪特异性线粒体基因;B:牛特异性 cytb 基因;C:羊特异性 cytb 基因;D:鸡特异性 cytb 基因;E:大米特异性 GOS9 基因;F:植物叶绿体 RBCL 基因扩增结果; M:50bp DNA 标记;1~7:分别为7~13号样品;8,9:各目标片段的阳性对照和阴性对照

图2 疑似潲水油 PCR 检测结果

Figure 2 The results detected by PCR for suspected hogwash oil

图3。



A:14和15号样品 PCR 扩增结果;B:16和17号样品 PCR 扩增结果; M: 50bp DNA 标记;1~4:为牛特异性 cytb 基因扩增结果;5~8:为羊特异性 cytb 基因扩增结果;9~12:为鸡特异性 cytb 基因扩增结果;13~16:为猪特异性线粒体基因扩增结果;17~20:为大米特异性 GOS9 基因扩增结果;21~24:为植物叶绿体 RBCL 基因扩增结果。在每个目标片段扩增结果的4个泳道中,前2个泳道为食用植物油样品,后2个泳道分别为各目标片段的阳性对照和阴性对照。

图3 食用植物油 PCR 扩增结果

Figure 3 The results detected by PCR for vegetable oil

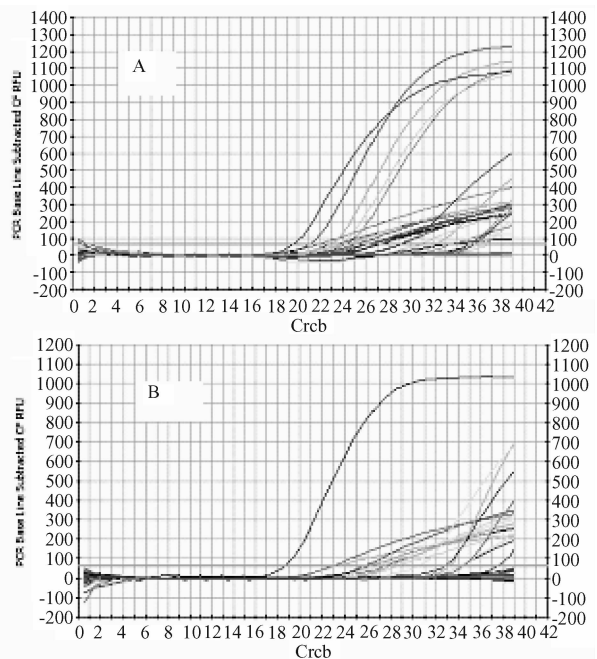
2.4 潲水油荧光 PCR 检测结果

分别对1~6号粗制潲水油样品及7~13号疑似潲水油样品荧光 PCR 扩增猪特异性 12S rRNA 基

因、牛特异性 12S rRNA 基因、哺乳动物 12S rRNA 基因、鸡特异性 cytb 基因及大米特异性 SPS 基因。荧光 PCR 实时扩增曲线见图4,各样品荧光 PCR 扩增结果 Ct 值见表3。6个粗制潲水油样品通过上述5个特异性基因片段的荧光 PCR 扩增,检出结果显示全部为潲水油。而7个疑似潲水油样品中,8~12号样品被鉴定为潲水油,而7和13号样品未检出目标扩增片段,应该是正常食用植物油。

3 讨论

本研究基于国人饮食结构特点,以潲水油中可能含有餐饮业泔水中混杂的猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉及大米核酸片段为出发点,以猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉、哺乳动物及大米物种特异性基因片段作为潲水油鉴定的特征性指标,以在食用植物油中检出1个或多个上述动物源性或大米核酸片段为潲水油鉴定依据。为验证潲水油中是否含有动物源性或大米的核酸成分,本研究首先以未经精炼程序处理的粗制潲水油为材料,检测上述非油料植物来源的核酸成分的存在情况。在6个已知来源的粗制潲水油样品中,尽管存在个别目标基因片段 PCR 扩增结果阴性的情况,但6个粗制潲水油样品分别检出5个特异性目标片段中的1个或多个,从而将已知的粗制潲水油鉴定为潲水油,鉴定结果与实际情况相等。



A:粗制潲水油样品荧光 PCR 实时扩增曲线; B:疑似潲水油样品荧光 PCR 实时扩增曲线

图4 荧光 PCR 实时扩增曲线

Figure 4 The amplification curve of real-time fluorescence PCR

表3 泔水油荧光 PCR 检测结果汇总
Table 3 The summary of fluorescence PCR test results for swill oil

| 样品 | 靶基因扩增 Ct 值 | | | | |
|------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------|---------------------|
| | 猪特异性 12S rRNA 基因 | 牛特异性 12S rRNA 基因 | 哺乳动物 12S rRNA 基因 | 鸡特异性 cytb 基因 | 大米特异 性 SPS 基因 |
| | 1 | 35.9 | / | 24.1 | 19.3 |
| 2 | 24.8 | / | 31.1 | 20.9 | 34.0 |
| 3 | 25.3 | 31.4 | 24.8 | / | 33.5 |
| 4 | 25.1 | N/A | 29.1 | / | N/A |
| 5 | 28.4 | / | 23.0 | 22.1 | 33.0 |
| 6 | 26.2 | / | 22.6 | 23.7 | 35.7 |
| 7 | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A |
| 8 | 25.3 | 32.1 | 24.7 | 31.1 | N/A |
| 9 | 37.2 | N/A | 37.9 | N/A | N/A |
| 10 | 35.3 | 32.6 | 25.9 | 34.6 | 34.4 |
| 11 | 23.6 | N/A | 24.0 | 30.5 | N/A |
| 12 | 25.8 | N/A | 27.5 | 37.5 | 33.7 |
| 13 | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A |
| 阳性对照 | 21.2 | 26.4 | 20.8 | 17.7 | 28.4 |
| 空白对照 | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A |

注: N/A 阴性; / 未进行该项检测。

基于粗制泔水油的鉴定,本研究采用普通 PCR 检测 7 个疑似泔水油(编号 7~13)和 4 个正常食用植物油(编号 14~17)中猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉、大米特异性基因片段外,还通过扩增植物叶绿体 RBCL 基因片段评估植物油核酸提取效率。结果表明 7 号样品包括植物叶绿体 RBCL 基因在内的 6 个目标片段的扩增结果均为阴性,植物叶绿体 RBCL 基因扩增阴性提示该样品中核酸含量太低或 DNA 片段太小,该原因可能是导致在该样品中未检测到动物源性和大米特异性核酸片段的原因;8、9、10 及 12 号样品除检测到植物叶绿体 RBCL 基因外,还分别检出 4 个动物源性和大米特异性目标片段中的 1 个或多个,提示这 4 个样品应该被鉴定为泔水油;11 号样品检出猪特异性线粒体基因及鸡特异性 cytb 基因片段,但植物叶绿体 RBCL 基因检测结果为阴性,提示该样品中油料植物来源的 DNA 片段含量极低或该 DNA 片段破坏严重无法检出,但猪特异性线粒体基因及鸡特异性 cytb 基因片段扩增阳性,可以作为判断该样品为泔水油的依据;13 号样品除扩增出植物叶绿体 RBCL 基因阳性条带外,其余 5 个目标片段的扩增均为阴性,表明在该样品中未检出动物源性和大米特异性核酸片段,该样品应该是正常使用植物油,而非泔水油。而在 4 个正常食用植物油中均检测到植物叶绿体 RBCL 基因,而未扩增出动物源性和大米特异性核酸片段。以上结果表明猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉、大米特异性基因片段扩增作为泔水油鉴定指标,其敏感性、特异性及可行性良好。

考虑到普通 PCR 仪较荧光 PCR 仪在国内检测机构更普及,本文对泔水油的 PCR 检测以普通 PCR 检测为主。但与普通 PCR 方法相比,荧光 PCR 方法具有灵敏度更高、特异性更强、污染几率更小等优势,所以本研究采用荧光 PCR 方法对两种泔水油样品进行重复鉴定。荧光 PCR 鉴定方法选用的目标扩增片段包括猪特异性 12S rRNA 基因、牛特异性 12S rRNA 基因、哺乳动物 12S rRNA 基因、鸡特异性 cytb 基因及大米特异性 SPS 基因。结果表明 2~6 号粗制泔水油样品荧光 PCR 检测结果与普通 PCR 完全一致,只有 1 号样品的猪特异性 12S rRNA 基因的荧光 PCR 检测结果为阳性,Ct 值为 35.9,而普通 PCR 未检出相应阳性条带,该差异可能是普通 PCR 检测灵敏度低于荧光 PCR 造成的。而 7~13 号疑似泔水油样品荧光 PCR 检测结果与普通 PCR 完全一致。比较粗制泔水油和荧光 PCR 检测结果的 Ct 值发现,对于同一目标片段的阳性结果,疑似泔水油样品的 Ct 值绝大部分都高于粗制泔水油样品,该检测结果与理论预期相符,因为相对于粗制泔水油,疑似泔水油经过提炼过程,其内的核酸含量相对更低且破坏更严重。

为了提供更多扩增片段选择,普通 PCR 和荧光 PCR 实验采用的扩增目标片段大部分都不同,但除了大米特异性基因为单拷贝外,其余片段均为多拷贝基因,且扩增目标片段大小不超过 300 bp。对于 DNA 含量甚微且被严重破坏的深加工品而言,选择多拷贝短片段的扩增目标可有效降低 PCR 扩增的假阴性率^[9]。在本研究中,大米特异性 SPS 基因和 GOS9 基因的扩增阳性结果均为弱阳性,这可能与这两个基因片段在大米基因组中为单拷贝有关。

以上实验结果和分析表明,以泔水油中可能混杂的动物源性和大米基因作为靶标,采用普通 PCR 或荧光 PCR 方法可有效鉴定泔水油。

参考文献

[1] 尹平河. 薄层色谱法快速鉴别泔水油和煎炸老油的研究[J]. 中国油脂, 2004, 29: 47-49.
[2] 马遇涵. 科技为先法制为道化害为利变废为宝[J]. 中国资源综合利用, 2000 (12): 20-23.
[3] 黄道平, 彭进, 谢燕湘, 等. 泔水油鉴别检测方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16 (2): 151-153.
[4] 陈守江, 张庆勇. 泔水油的电导率与其品质关系探讨[J]. 安徽技术师范学院学报, 2004, 18 (2): 31-33.
[5] 刘薇, 尹平河, 赵玲. 荧光法测定十二烷基苯磺酸钠鉴别泔水油的研究[J]. 中国油脂, 2005, 30 (5): 24-26.
[6] 张蕊, 祖丽亚, 樊铁, 等. 测定胆固醇含量鉴别地沟油的研究[J]. 中国油脂, 2006, 31 (5): 65-67.
[7] 潘剑宇, 尹平河. 泔水油、煎炸老油与合格食用植物油的鉴

别研究[J]. 食品科学, 2003, 24(8): 27-29.

[8] 陈慰宗, 宋应谦, 忽满利. 食用油介电常数随加热时间和温度变化的实验[J]. 西北大学学报: 自然科学版, 2000, 4: 26-28.

[9] 杨冬燕, 邓汉超, 杨永存, 等. 精炼食用植物油 PCR 检测技术研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(4): 700-702.

[10] 从动物组织提取基因组 DNA [EB/OL]. [2010-09-04]. <http://www.51protocol.com/AandP/dongwushiyanjishu/20071219/50794.html>.

[11] MÄDE D, DEGNER C E, GROHMANN L. Detection of genetically modified rice: a construct-specific real-time PCR method based on DNA sequences from transgenic Bt rice[J]. Eur Food Res Technol, 2006, 224:271-278.

[12] ZHANG chunlal, FOWLER M R, SCOTT N W, et al. A TaqMan real-time PCR system for the identification and quantification of bovine DNA in meats, milks and chesses[J]. Food Control, 2007, 18(9):1149-1158.

[13] LÓPEZ-CALLEJA, GONZÁLEZ I, FAJARDO V, et al. Real-time TaqMan PCR for quantitative detection of cows' milk in ewes' milk mixtures[J]. Int Dairy J, 2007, 17(7): 729-736.

[14] LAHIFF S, GLENNON M, O'BRIEN L, et al. Species-specific PCR for the identification of ovine, porcine and chicken species in meat and bone meal (MBM) [J]. Molecul Cellul Probes, 2001, 15(1): 27-35.

法规文件

卫生部、质检总局关于规范食品添加剂标准管理的公告

2011年第6号

根据《食品安全法》规定,为规范食品添加剂标准管理,现公告如下:

一、根据《食品安全法》第二十条第二项和第六项规定,食品添加剂国家标准包括使用安全标准和产品标准,统一纳入食品安全国家标准管理。

二、生产食品添加剂新品种的,应当依照《食品安全法》第四十四条的规定进行安全性评估,并符合《食品添加剂新品种管理办法》的规定。拟生产尚未被食品添加剂国家标准覆盖的食品添加剂产品的,生产企业可依据卫生部等9部门《关于加强食品添加剂监督管理工作的通知》(卫监督发[2009]89号)的规定,提出参照国际组织和相关国家标准指定产品标准(含质量要求、检验方法)的建议,并提供建议指定标准的文本和国内外相关标准资料。

三、生产企业应当按照国家标准或者指定的食品添加剂标准组织生产,生产企业不需要制定食品添加剂产品企业标准,省级卫生行政部门和地方标准化行政主管部门不再对食品添加剂产品企业标准进行备案。

四、卫生部委托中国疾病预防控制中心负责收集、汇总有关企业或协会指定适用于食品添加剂标准的建议,组织专家进行研究并上报。卫生部负责指定适用于食品添加剂的标准(含质量要求、检验方法)。各级质检部门按照食品安全国家标准或指定标准依法做好食品添加剂生产企业生产许可和日常监管。

五、鼓励并欢迎企业和行业组织参与食品添加剂国家标准制修订工作。

联系单位:中国疾病预防控制中心营养与食品安全所

地址:北京市朝阳区潘家园南里7号,邮编:100021。

电子邮件:GB2760@gmail.com。

电话:010-87776914,传真:010-67711813。

二〇一一年二月二十八日