

3.9~17.9 mm之间,有5份样品的差值在10 mm以上。在试验系统成立及满足结果判定的条件下A、B产生的抑菌卷直径差值是判定样品是否含有 $\beta$ -内酰胺酶的重要依据,因此阳性样品间A、B抑菌卷直径差值的差异意义值得进一步探讨。

### 3 讨论

牛乳中抗生素残留问题受到社会的广泛关注,农业部颁布的NY 5045—2008《无公害食品 生鲜牛乳》<sup>[6]</sup>行业标准规定生鲜牛乳中不得检出抗生素。就我国目前的养殖状况而言,生鲜牛乳中抗生素残留问题依然存在。一些不法奶商在经济利益的驱使下,人为地使用生物制剂如 $\beta$ -内酰胺酶去降解牛乳中残留的抗生素,生产人造“无抗奶”,给牛乳产品又带来质量安全隐患。如何提高奶牛的养殖管理水平,从源头解决牛乳中抗生素残留及非法添加生物制剂等问题,应引起有关部门的高度重视。

$\beta$ -内酰胺酶是我国禁止使用的食品添加剂之一,该酶的使用掩盖了牛奶中实际含有的抗生素。 $\beta$ -内酰胺酶能够使青霉素内酰胺结构破坏而失去活性,导致青霉素、头孢菌素等抗生素药物耐药性增高<sup>[7]</sup>,进而带来一系列的公共卫生问题。

由检测的试验原理可知,A与B产生的抑菌圈

直径差值(B-A)与牛乳样品中的 $\beta$ -内酰胺酶的浓度呈正相关,B-A的值越大,则样品中的 $\beta$ -内酰胺酶的浓度越高,其可在一定程度上反映样品中 $\beta$ -内酰胺酶的含量。本次检测结果显示,15份阳性标本B-A的直径差值在3.9~17.9 mm之间,有5份样品在10 mm以上。提示不同牛乳样品中的含量不一致,有些样品的含量较大,由此带来的食品安全隐患不容忽视。

### 参考文献

- [1] 邓冬云,余淑冰,梁景涛,等. 佛山市区牛奶及奶粉中抗生素残留状况调查[J]. 中国热带医学,2004,4(3):470-471.
- [2] 李延华,王伟君,张兰威. 牛乳中 $\beta$ -内酰胺酶类抗生素残留及检测方法的比较[J]. 食品研究与开发,2007,28(4):169-172.
- [3] Ponvert C, Le Clainche L, de Blic J, et al. Allergy to  $\beta$ -lactam antibiotics in children[J]. Pediatrics, 1999, 104(4):45.
- [4] Yamaki M, Berruga L, Althaus R L, et al. Occurrence of antibiotic residues in milk from Manchega Ewe Dairy Farms[J]. J Dairy Sci, 2004, 87(10):3132-3137.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 乳及乳制品中舒巴坦敏感 $\beta$ -内酰胺酶类药物检验方法——杯碟法(卫监督发[2009]44号)[S]. 2009-5-8.
- [6] 中华人民共和国农业部. NY 5045—2008 无公害食品 生鲜牛乳[S]. 北京:农业出版社,2008.
- [7] 魏国美. 杯碟法测定乳与乳制品中 $\beta$ -内酰胺酶[J]. 福建分析测试, 2010, 19(3):57-59.

## 研究报告

# 2012年深圳市市售转基因番木瓜检测

杨永存,李浩,杨冬燕,邓平建

(深圳市疾病预防控制中心,广东 深圳 518020)

**摘要:**目的 对深圳市场转基因番木瓜进行筛查和品系鉴定,为评估市售转基因番木瓜的食用安全风险奠定基础,为政府监管提供依据。方法 在深圳市场随机抽取转基因番木瓜57份,采用实时荧光PCR法,运用大部分转基因植物共有的CaMV35S启动子和NOS终止子进行转基因成分筛查,对筛查出的阳性样品运用各品系特异性的引物探针进行品系鉴定。结果 57份番木瓜样品中,转基因阳性率为91.2%,其中,GMYK16-0-1品系占96.1%,华农1号品系占3.9%,未检出其他品系转基因番木瓜;超市和农产品批发市场的转基因番木瓜阳性率存在明显差异;所有转基因番木瓜均无转基因相关标识。结论 九成以上市售转基因番木瓜为未经我国农业部批准种植的转基因品系,建议政府相关部门加强对转基因番木瓜的监管。

**关键词:**转基因番木瓜;品系鉴定;转基因标示;监督管理;食品安全

中图分类号:R155.54; Q78 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2013)05-0419-05

收稿日期:2013-06-13

作者简介:杨永存 女 主管医师 研究方向为转基因食品检测及安全性评价 E-mail:lilac\_zdx@126.com

通讯作者:邓平建 男 主任技师 研究方向为食品安全检测与评价。 E-mail:szdpj2002@163.com

**Detection of genetically modified papaya in Shenzhen market in 2012**

YANG Yong-cun, LI hao, YANG Dong-yan, DENG Pin-jian

(Shenzhen Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Shenzhen 518020, China)

**Abstract: Objective** To screen and identify the genetic strains of genetically modified (GM) papayas in Shenzhen market for the sake of food safety risk assessment, and in order to provide scientific base for government regulation.

**Methods** 57 Papayas were randomly collected from Shenzhen markets, detected by Real-time polymerase chain reaction (PCR) with *CaMV35S* promoter and *NOS* terminator for screening. The GM positive samples were identified with strain-specific primers and probes. **Results** In 57 papaya samples, the GM positive rate was 91.2% including 96.1% GMYK16-0-1 strain and 3.9% Huanong-1 strain respectively. Other strains were not detected. There was significant difference in the positive rates of transgenic papaya between supermarket and terminal market origin. No sample was labeled GM relevant. **Conclusion** Nearly 90% GM papayas were the line that had not been approved by Chinese Ministry of Agriculture. Therefore the administrative departments should reinforce the supervision of GM papaya.

**Key words:** Genetically modified papayas; detection; strain identification; supervision; food safety

番木瓜 (*Carica papaya* L1) 在我国至少有 300 年的种植历史,为了抵御番木瓜环斑病毒病 (PRSV) 的侵害,1990 年首例转 PRSV 衣壳蛋白 (coat protein, CP) 基因番木瓜问世<sup>[1]</sup>。自 1998 年转基因番木瓜 55-1 在夏威夷正式投入商业化生产后<sup>[2-3]</sup>,大量转基因番木瓜开始流入市场。到目前为止,全世界已获准商业化种植的抗病毒转基因番木瓜有 Event 55-1、X17-2 和华农 1 号三个品系,而正在进行田间试验的转基因番木瓜的种类则难以统计<sup>[4]</sup>。调查资料显示,我国目前市售番木瓜有七成以上是转基因番木瓜<sup>[5-9]</sup>,但由于番木瓜不在《农业转基因生物标识管理办法》<sup>[10]</sup>中公布的第一批实施标识管理的农业转基因生物目录中,因此市售的转基因番木瓜基本没有转基因标识。

本研究旨在对深圳市场番木瓜进行转基因成分筛查,并通过筛查出的转基因番木瓜进行品系鉴定,从中发现未经商业化许可的转基因番木瓜品系,为评估市售转基因番木瓜的食用安全风险奠定基础,为政府加强转基因番木瓜的监管、保障市民对转基因食品的知情权和选择权提供科学、可靠的数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品

深圳市市售的番木瓜,采样地点包括农产品批发市场(以下简称农批)及各大超市,共采集了 57 份样品,其中超市采集样品 11 份,农批采集样品 46 份,产地不明。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

电热恒温水浴槽、台式小型高速离心机、实时荧光定量 PCR 仪、植物基因组 DNA 提取试剂盒 (Dneasy Plant Mini Kit, QIAGEN)、荧光 PCR 扩增试

剂盒 (TAKARA, 货号 DRR039A)、PCR 扩增引物探针 (上海生物工程有限公司合成)。

转基因番木瓜 55-1 由中国香港政府化验所友情提供,转基因番木瓜华农 1 号由华南农业大学友情提供,转基因番木瓜 GMYK16-0-1 和 GMYK18-2-4 由厦门出入境检验检疫局友情提供。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 木瓜基因组 DNA 提取

选取番木瓜的种子或果肉约 25 mg,按照植物基因组 DNA 提取试剂盒的说明书提取基因组 DNA;采用实时荧光 PCR 扩增番木瓜内源基因 (*Papain*) 的方法评估 DNA 的提取质量,扩增的内源基因 Ct 值在 20~30 为合格。

#### 1.2.2 实时荧光 PCR 检测

针对大部分转基因植物共有的 *CaMV35S* 启动子和 *NOS* 终止子进行转基因成分筛查,引物探针序列引自 SN/T 1204—2003《中华人民共和国出入境检验检疫行业标准 植物及其加工产品中转基因成分实时荧光 PCR 定性检验方法》<sup>[11]</sup>;对筛查出的阳性样品采用各品系特异性的引物探针进行品系鉴定,扩增的基因片段为 *NOS* 启动子与植物基因组之间的侧翼序列,引物探针由韩建勋等人<sup>[4]</sup>设计并进行了灵敏度和精密度的验证,引物探针序列见表 1。

实时荧光 PCR 扩增采用荧光 PCR 扩增试剂盒按说明书操作,扩增的反应体系总体积为 20  $\mu$ l,其中引物浓度为 0.4  $\mu$ mol/L,模板量为 5  $\mu$ l。扩增条件:95  $^{\circ}$ C 预变性 30 s,95  $^{\circ}$ C 变性 5 s,60  $^{\circ}$ C 退火和延伸 30 s,40 个循环。

### 1.3 统计学分析

运用 SPSS 16.0 软件,采用精确概率检验进行统计学分析。

表 1 实时荧光 PCR 扩增引物探针序列

Table 1 The prime and probe sequences used for real-time PCR

基因名称	片段名称	引物探针序列(5'-3')	扩增长度/bp	用途
<i>Papain</i> <sup>[4]</sup>	<i>Papain-F</i>	GAAGTCTGACTGCGACAGAC	144	木瓜内源基因
	<i>Papain-R</i>	GACCTTTCTCCCTTGAGCGAC		
	<i>Papain-P</i>	FAM-AGCTACGGGTGCAATGAGGTTACC-TAMRA		
<i>NOS</i> <sup>[11]</sup>	<i>Nos-F</i>	ATCGTTCAAACATTTGGCA	165	筛选检测
	<i>Nos-R</i>	ATTGCGGGACTCTAATCATA		
	<i>Nos-P</i>	FAM-CATCGCAAGACCGGCAACAGG-TAMRA		
<i>CaMV35S</i> <sup>[11]</sup>	<i>35S-F</i>	CGACAGTGGTCCCAAAGA	165	筛选检测
	<i>35S-R</i>	AAGAGGTGGTTGGAACGTCTTC		
	<i>35S-P</i>	FAM-TGACCCCCACCCACGAGGAGCATC-TAMRA		
55-1 品系特异基因 <sup>[4]</sup>	<i>Rainbow-F</i>	GGCCCTCACTGACAGATGAG	95	Event 55-1 品系鉴定
	<i>Rainbow-R</i>	GTCTATFGGTATTTCCGGAGGACTTCTG		
	<i>Rainbow-P</i>	FAM-ACGTTGACACTTGAGGTGCCGACTCACC-TAMRA		
Huanong-1 品系特异基因 <sup>[4]</sup>	<i>PNOS-F</i>	GTGACTCCCTTAATTTCTCCGC	86	华农 1 号品系鉴定
	<i>Huanon-R</i>	CAGCCACGATAGCCTCAAAC		
	<i>GMRB-P</i>	FAM-TGATCAGATTGTCGTTTCCCGCCTTC-TAMRA		
GMYK18-2-4 品系特异基因 <sup>[4]</sup>	<i>PNOS-F</i>	GTGACTCCCTTAATTTCTCCGC	165	GMYK18-2-4 品系鉴定
	<i>1601-R</i>	GGATATCTGCCTATTTGAAATTTGGATAC		
	<i>GMRB-P</i>	FAM-TGATCAGATTGTCGTTTCCCGCCTTC-TAMRA		
GMYK16-0-1 品系特异基因 <sup>[4]</sup>	<i>PNOS-F</i>	GTGACTCCCTTAATTTCTCCGC	109	GMYK16-0-1 品系鉴定
	<i>1824-P</i>	GGAGACGACGACAAAATAGTAGTAGTG		
	<i>GMRB-P</i>	FAM-TGATCAGATTGTCGTTTCCCGCCTTC-TAMRA		

## 2 结果

所有样品的 DNA 提取液进行实时荧光 PCR 扩增番木瓜内源基因 *Papain*, Ct 值均在 20 ~ 30 之间, 说明样品 DNA 提取液的质量和数量均能满足后续检测要求。57 份样品中, 通过 *CaMV35S* 启动子和 *NOS* 终止子的筛查, 共检出 52 份转基因阳性样品, 阳性率为 91.2%。在 52 份转基因阳性的样品中, 华农 1 号占 3.9% (2/52), GMYA16-0-1 占 96.1% (50/52), 超市和农批的转基因番木瓜阳性率分别为 63.6% (7/11) 和 97.8% (45/46), 经统计学检验,  $P = 0.004$  (双侧), 可认为二者的差异有统计学意义。实时荧光 PCR 检测的原始结果见表 2。57 份样品中, 有 1 份有“非转基因”标识, 该样品采自超市, 且检测结果也为转基因阴性。其余的 56 份样品均无转基因相关标识。

## 3 讨论

2001 年国务院颁布的《农业转基因生物安全管理条例》<sup>[12]</sup> 规定, 国家对农业转基因生物安全管理实行分级管理评价制度和标识制度, 凡是生产、加工和进口转基因生物, 都必须取得农业部颁发的农业转基因生物安全证书或相关批准文件。但事实上, 自上世纪 90 年代我国已经开始引种国外抗病品种的番木

瓜, 由于当时对转基因产品的了解有限, 且无番木瓜相关的转基因检测和管理标准规范, 因此, 部分转基因番木瓜产品在未获得转基因安全生产许可的情况下被意外地引入中国种植。1996 年叶东锡等人研发了转基因番木瓜 GMYK16-0-1, 于 2001 年获中国台湾“台湾农委会”准许开始田间试验和安全评估<sup>[4]</sup>。转基因番木瓜华农 1 号由华南农业大学研发, 于 2006 年获得我国农业部颁发的在广东省应用的安全证书, 是我国第一例获准进行商品化种植的转基因果树作物, 也是目前唯一经农业部批准可在我国境内生产和销售的转基因番木瓜<sup>[4]</sup>。

从品系鉴定的结果可以看到, 深圳市售的番木瓜九成为 GMYK16-0-1 品系, 而华农 1 号品系仅占 3.9%。由于样品多采自农批, 多为个体销售, 因此产地信息不明确, 但如果这些番木瓜不是进口的, 则意味着深圳市售的转基因番木瓜九成以上属于非法种植的产品, 并且销售时没有任何转基因标识。唯一发现的 1 份有“非转基因”标识的样品来源于超市, 有详细的品牌来源信息, 且检测结果确为转基因阴性, 这说明超市与农批的番木瓜来源确有不同, 这也是造成二者转基因番木瓜阳性率存在明显差异的原因之一。建议政府有关部门加大对转基因农作物安全性评价技术研发的投入, 加强转

表2 实时荧光PCR检测原始结果  
Table 2 Initial results of real-time PCR

样品编号	实时荧光PCR检测Ct值均值						
	<i>Papain</i>	<i>CaMV35S</i>	<i>NOS</i>	55-1	华农1号	GMYK16-0-1	GMYK18-2-4
GM2012001	25.93	26.16	27.14	>40	>40	26.61	>40
GM2012002	25.27	28.93	27.31	>40	>40	27.11	>40
GM2012003	23.00	22.12	21.07	>40	>40	22.28	>40
GM2012004	24.51	24.14	23.29	>40	>40	23.91	>40
GM2012005	24.77	23.49	24.04	>40	>40	23.36	>40
GM2012006	23.52	26.99	25.53	>40	>40	25.19	>40
GM2012007	24.19	25.31	26.16	>40	>40	25.62	>40
GM2012008	25.06	27.46	26.99	>40	>40	25.80	>40
GM2012009	24.40	25.82	25.45	>40	>40	25.02	>40
GM2012010	22.20	28.39	24.01	>40	>40	23.61	>40
GM2012011	23.03	25.10	24.90	>40	>40	24.71	>40
GM2012012	23.73	22.39	22.95	>40	>40	23.08	>40
GM2012013	24.77	24.97	25.70	>40	>40	25.66	>40
GM2012014	23.99	24.70	24.12	>40	>40	24.29	>40
GM2012015	22.94	>40	>40	>40	>40	>40	>40
GM2012016	24.55	>40	>40	>40	>40	>40	>40
GM2012017	23.42	>40	>40	>40	>40	>40	>40
GM2012018	25.28	>40	>40	>40	>40	>40	>40
GM2012019	25.15	26.60	26.74	>40	>40	25.80	>40
GM2012020	24.33	23.58	27.10	>40	>40	24.09	>40
GM2012021	24.59	24.01	20.05	>40	>40	23.92	>40
GM2012022	23.88	30.58	26.80	>40	>40	26.05	>40
GM2012023	25.09	25.49	26.14	>40	>40	23.55	>40
GM2012024	29.00	25.28	27.86	>40	24.94	>40	>40
GM2012025	24.01	23.14	23.23	>40	>40	22.69	>40
GM2012026	24.30	23.68	23.66	>40	>40	24.01	>40
GM2012027	22.43	22.76	22.61	>40	>40	21.96	>40
GM2012028	21.86	22.92	22.96	>40	>40	22.25	>40
GM2012029	22.09	23.33	23.22	>40	>40	23.06	>40
GM2012030	25.36	24.38	25.43	>40	>40	25.37	>40
GM2012031	24.31	25.46	25.17	>40	>40	25.31	>40
GM2012032	23.90	25.13	24.55	>40	>40	25.05	>40
GM2012033	23.90	27.25	26.29	>40	>40	27.19	>40
GM2012034	23.81	26.54	26.24	>40	>40	26.33	>40
GM2012035	24.88	26.47	26.90	>40	>40	26.03	>40
GM2012036	26.76	26.64	29.25	>40	>40	25.89	>40
GM2012037	25.45	26.06	25.20	>40	>40	25.57	>40
GM2012038	24.68	25.97	25.13	>40	>40	26.00	>40
GM2012039	30.02	24.14	23.13	>40	>40	24.08	>40
GM2012040	24.66	24.87	24.94	>40	25.08	>40	>40
GM2012041	27.19	24.33	25.26	>40	>40	25.05	>40
GM2012042	28.15	24.92	24.32	>40	>40	25.06	>40
GM2012043	16.63	27.09	26.45	>40	>40	26.69	>40
GM2012044	25.99	26.03	25.21	>40	>40	26.21	>40
GM2012045	26.76	27.18	25.32	>40	>40	26.08	>40
GM2012046	27.13	26.59	24.52	>40	>40	25.32	>40
GM2012047	25.78	23.99	23.34	>40	>40	24.58	>40
GM2012048	27.92	29.73	25.23	>40	>40	24.15	>40
GM2012049	26.53	24.91	24.61	>40	>40	25.56	>40
GM2012050	26.52	25.10	24.57	>40	>40	25.09	>40
GM2012051	28.73	24.88	23.37	>40	>40	24.00	>40
GM2012052	26.04	24.10	23.94	>40	>40	24.84	>40
GM2012053	28.62	25.21	24.76	>40	>40	23.15	>40
GM2012054	27.67	29.56	24.98	>40	>40	25.25	>40
GM2012055	29.30	26.41	24.33	>40	>40	23.20	>40
GM2012056	24.32	>40	>40	>40	>40	>40	>40
GM2012057	28.15	25.59	24.32	>40	>40	27.50	>40

基因番木瓜的监管,在正确引导和扶持转基因农作物产业健康发展的基础上,充分保障广大市民的知情权、选择权和健康权。

## 参考文献

- [1] 高艳梅,翟金玲,徐远峰,等.抗PRSV转基因番木瓜研究进展[J].安徽农学通报,2009,15(3):36-38,45.
- [2] Erika M, Wall T S, Lawrence M J, et al. Detection and identification of transgenic virus resistant papaya and squash by multiplex PCR[J]. Eur Food Res Technol,2004,219:90-96.
- [3] Maureen M M F, Richard M M, Dennis G, et al. Virus resistant papaya plants derived from tissues bombarded with the coat protein gene of papaya ringspot virus [J]. Biotechnology, 1992, 10:1466-1472.
- [4] 韩建勋,陈红运,邓婷婷,等.抗病毒转基因番木瓜的实时PCR检测[J].检验检疫学刊,2010,20(1):15-20.
- [5] 李晓伟,薛春玲.农民选择转基因番木瓜技术的影响因素分析[J].广东农业科学,2010(5):220-222.
- [6] 2009年绿色和平转基因木瓜检测报告[EB/OL].(2010-02-

- 01)[2013-03-04]. <http://wenku.baidu.com/view/f8a46323968011ca30091be.html>.
- [7] 2009年绿色和平转基因木瓜非法种植报告[EB/OL].(2009-05-14)[2013-03-04]. <http://www.greenpeace.org/china/zh/publications/reports/food-agriculture/2009/GE-papaya/>.
- [8] 南方都市报.华农实验:超市番木瓜七成含转基因?[EB/OL].(2010-06-07)[2013-03-04]. [http://www.citygf.com/news/News\\_001003/201006/t20100607\\_435473.html](http://www.citygf.com/news/News_001003/201006/t20100607_435473.html).
- [9] 深圳新闻网-晶报.转基因食品普遍入侵国人餐桌 转基因食用油成主流.[EB/OL].(2011-2-27)[2013-03-04]. <http://news.sohu.com/20110227/n279550539.shtml>.
- [10] 中华人民共和国农业部.农业转基因生物标识管理办法(农业部.第10号令)[S].2002-1-5.
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.SN/T 1204 共和国国家中华人民共和国出入境检验检疫行业标准——植物及其加工产品中转基因成分实时荧光PCR定性检验方法[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [12] 国务院.农业转基因生物安全管理条例(国务院第503号令)[S].2001-5-23.

## · 公告 ·

# 国家食品药品监督管理总局办公厅关于指定并公布 食品添加剂氮气产品生产许可检验机构的通知

食药监办食监一函[2013]280号

各省、自治区、直辖市质量技术监督局、食品药品监督管理局,各有关检验机构:

为了进一步加强食品添加剂生产许可工作,根据《中华人民共和国工业产品生产许可证管理条例实施办法》(国家质检总局令第130号),现通知如下:

指定国家化学工业气体产品质量监督检验中心(福建)承担食品添加剂氮气产品生产许可检验工作(检验机构联系方式见附件)。

检验机构在承担生产许可检验工作中,应当严格遵守以下规定:

一、在指定的承检范围内开展检验工作,不得超范围检验。

二、在总局指导下,严格按照规定的要求,准确、高效地完成检验工作。

三、未经总局批准,不得擅自将有关检验工作委托给其他检验机构。

四、对在检验工作中发现涉及人身健康的危害性质量问题,要进行深入研究,并及时报告省质量技术监督局和食品药品监督管理局。

五、在检验工作中,要注重经验和技术的积累,注重对检验人员的培训,特别是要有针对性地开展检测方法和技术的研究,不断提高检验能力和检验水平。

附件:新增食品添加剂生产许可检验机构联系方式(略)

国家食品药品监督管理总局办公厅

二〇一三年七月二十九日