

食用植物油中 DNA 提取和基因检测研究进展

吴琼¹, 宋安东²

(1. 中检集团 中原农食产品检测(河南)有限公司, 河南 郑州 450003;

2. 河南农业大学 生命科学学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 为了保障食用植物油的质量安全, 基于分子生物学理论建立的分析方法以其准确、快速、操作简单和灵敏度高的特点广泛应用于食用植物油的转基因成分和掺假检测。从 DNA 含量极少且完整度较低的食用植物油中提取到高质量 DNA 是影响基因检测成败的关键因素。通过对食用植物油中 DNA 的不同提取方法和基因检测方法进行综述, 对比了各种方法的优缺点, 展望了该领域的发展趋势。

关键词: 食用植物油; 食品安全; DNA 提取; 基因检测

中图分类号: TS 227 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-7561(2017)06-0050-06

Research progress of DNA extraction and gene detection in edible vegetable oil

WU Qiong¹, SONG An-dong²

(1. Central Plains Agricultural Products & Food Testing(Henan) Co., Ltd, China Certification & Inspection Group, Zhengzhou Henan 450003;

2. College of Life Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou Henan 450002)

Abstract: In order to ensure the quality and safety of edible vegetable oil, a kind of new analytical method based on molecular biology theory is widely used in detection of transgenic composition and adulteration in edible vegetable oil, which was accurate, rapid, simple operation and high sensitivity. How to extract high quality DNA from edible vegetable oil with a little DNA content and low integrity is a key factor affecting the success of gene detection. Different extraction methods and gene detection methods of DNA in edible vegetable oil were summarized, the advantages and disadvantages of each method were compared. Finally, the development trend of this field was prospected.

Key words: edible vegetable oil; food safety; DNA extraction; gene detection

食用植物油是甘油与高级脂肪酸形成的酯, 在常温下呈液态。食用植物油与人们的日常生活和身体健康密切相关。但是, 近年来, 市场上不断曝出转基因植物油标识混乱和食用植物油掺假等现象, 严重侵害了消费者的合法权益。食用植物油质量安全问题也成为了食品安全问题中的重要内容之一^[1]。为了保障食品安全和保护消费者的合法权益不受侵害, 必须对食用植物油的转基因成分和真实性进行分析和检测。

传统的食用植物油分析方法主要有常规理化

分析(如脂肪酸比例和过氧化值等)和仪器分析(如色谱、光谱等)。随着分子生物学科的不断发展和应用, 以分子生物学理论为基础建立的分析方法应运而生。分子生物学分析方法是以前 DNA 为基础的一类基因检测方法。传统分析方法是以前植物的某种特定代谢产物为目标进行检测, 分子生物学分析方法可以避免传统分析方法中的植物代谢产物会随环境变化而发生改变, 并具有准确、快速、操作简单和灵敏度高的特点。

DNA 具有良好的酸碱耐受性和热稳定性, 是分子生物学研究的基础和前提。因此, 利用分子生物学分析方法来检测食用植物油中的基因, 必须首先

收稿日期: 2017-03-31

作者简介: 吴琼, 1988 年出生, 男, 硕士。

通讯作者: 宋安东, 1972 年出生, 男, 博士, 教授。

提取得到高质量的生物 DNA 后,再进行后续基因检测。但食用植物油大多属于深加工类产品,特别是高等级的精炼植物油,大多要经过脱胶、脱酸、脱色和脱臭等复杂的生产加工过程。经过精炼的食用植物油中,DNA 破坏较严重,且含量极低^[2]。因此,如何从食用植物油中提取到高质量的 DNA,成为影响后续基因检测成败的关键因素。1997年,国外学者 Pauli^[3]等从粗制的大豆油中提取到了 DNA。还有一些学者从橄榄油中也提取到了 DNA,但由于粗制大豆油和橄榄油都不属于精炼食用植物油,因此这些 DNA 的提取方法大多不适用于精炼食用植物油。1998年,Maja Hellebrand^[4]等首次从精炼菜籽油中提取到了可用于后续基因检测的 DNA。食用植物油中的 DNA 提取技术从此飞速发展,长期以来,始终是国内外学者研究和关注的热点问题,很多学者都在努力探索更加高效的 DNA 提取方法。2010年,Joana Costa^[5]等利用改良试剂盒方法从精炼大豆油中提取到 DNA。我国也有许多学者建立了食用植物油中 DNA 的提取方法。蔡翠霞^[6]等也成功提取到食用植物油中的 DNA。本文从食用植物油中 DNA 提取和基因检测 2 个方面,通过对食用植物油中 DNA 的不同提取方法和基因检测方法进行综述,对比各种方法的优缺点,并展望该领域未来的发展趋势。

1 食用植物油中 DNA 提取

1.1 食用植物油中 DNA 提取步骤

食用植物油中 DNA 的提取步骤主要包括样品的裂解和 DNA 的纯化,样品的裂解是使样品中的 DNA 游离于裂解体系的过程,纯化则是使游离的 DNA 进一步与裂解体系中其他成分,如蛋白质、多糖、盐和其他杂质彻底分离、去除的过程。裂解的方法主要有化学裂解法、酶裂解法和机械裂解法。纯化方法较常用的是利用有机溶剂(如酚和氯仿)抽提后再沉淀出 DNA 以及利用 DNA 吸附材料(如吸附树脂和磁珠)吸附 DNA 后再洗脱出 DNA。不同 DNA 提取方法间的差异也主要是裂解和纯化的方式不同,通过优化裂解与纯化方式,可以改进食用植物油中 DNA 的提取方法,提高 DNA 的提取效率。

与其他物质不同,食用植物油是一类高度深加工的纯化产品,油脂类物质含量很高,DNA 破坏较严重,且含量很低。因此,在食用植物油的 DNA 提取过程中,通常需在样品的裂解步骤前对样品先进行前处理,去除其中的油类物质,尽可能从油中分离出更多的残留 DNA。目前,较常用的前处理方法是乳化法。通过乳化处理可将食用植物油中的 DNA 更加充分地保留在水相中,使 DNA 与裂解体系充分相溶,常用的乳化剂为正己烷。Clarissa Consolandi^[7]等使用正己烷处理橄榄油,充分乳化后,再通过酶法裂解 DNA,最后利用多重 PCR 对提取的 DNA 进行检测。程红梅等^[8]利用实验室自制的试剂盒法提取大豆油中的 DNA 时,也采用正己烷对样品进行前处理,提取得到高纯度的 DNA。此外,白立群^[9]等还利用冷冻干燥技术建立了一种新的精炼大豆油 DNA 提取方法。

1.2 食用植物油中 DNA 提取方法

1.2.1 十二烷基磺酸钠(SDS)法

十二烷基磺酸钠(SDS)是一种阴离子去污剂,在高温条件下可裂解细胞,使蛋白质变性,同时,还可与多种糖类和蛋白质等物质形成多重物,使 DNA 与其它物质分离,通过降低温度和提盐浓度,使 SDS 多重物溶解度降低,蛋白质和多糖等物质发生沉淀,再对 DNA 进行纯化。

SDS 法最初主要应用于植物组织 DNA 的提取^[10]。经过不断的改良和优化,目前已成为较常用的 DNA 提取方法之一。1998年,Maja Hellebrand^[4]等就利用 SDS 法从精炼菜籽油中成功提取到 DNA。SDS 法是一种较传统的 DNA 提取方法,操作相对简单,成本较低,也可提取到较完整的 DNA。但在提取过程中通常用到的一些 DNA 纯化试剂(如酚和氯仿等)有毒,对人体健康存在危害。同时,所提取的 DNA 含较多杂质。研究表明 SDS 法所提取的 DNA 质量不如 CTAB 法提取的 DNA 质量高^[11]。建议可以进一步优化和改良 DNA 的纯化方法,提高 DNA 的纯化效果。许冬倩^[11]等对 SDS 法中 DNA 的纯化过程进行了改良,减少了 DNA 的损失,提取的 DNA 质量达到了后续基因检测的要求。

1.2.2 十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法

十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)是一种阳离子去污剂,能与DNA形成多重物,这种多重物在高盐浓度的条件下可溶解并能稳定存在,但在低盐浓度的条件下,因溶解度降低形成沉淀,大部分的蛋白质和多糖类物质仍溶解在溶液中。通过离心可将DNA多重物与蛋白质和多糖类物质分离。再对DNA进行纯化,去除CTAB,即可获得DNA。

CTAB法也是一种较传统的DNA提取方法。CTAB作为裂解液的主要成分不仅可以裂解细胞,还能有效去除各种杂质成分。通过优化裂解液的成分,可以更高效提取食用植物油中的DNA。国内外学者也基于此对CTAB法进行了不断的改良。例如,研究发现在CTAB裂解液中加入巯基乙醇和聚乙烯吡咯烷酮(PVP)等物质可以提高食用植物油中DNA的提取效果。Innocenzo Muzzalupo^[12]等就在CTAB裂解液中加入了巯基乙醇,得到了高质量的DNA,更好地用于后续的基因检测。国内学者王亚^[13]等也通过向CTAB裂解液中加入巯基乙醇和聚乙烯吡咯烷酮,在食用植物油中取得了较好的DNA提取效果。CTAB法提取食用植物油中的DNA,成本相对较低,操作也比较简单,是目前应用最广泛的DNA提取方法之一。但CTAB法提取所用的时间较长,易造成DNA的损失,且提取过程的杂质也相对较多,同时,提取过程中用到的部分DNA纯化试剂(如酚和氯仿等)有毒。与SDS一样,CTAB法也需要进一步优化和改良DNA的纯化过程,提高DNA的纯化效果。

1.2.3 其他方法

在食用植物油DNA的众多提取方法中,除上述两种传统方法外,还有很多DNA的提取方法,它们的基本原理都是根据不同的样品裂解方式和不同的DNA纯化方式来提取得到高质量的DNA。这些众多不同的提取方法之间有很多相通之处,且各有优势和不足,可以相互借鉴,取长补短。这些基于传统的DNA提取方法而改良的众多方法,具有准确、快速、操作简单和灵敏度高等特点,应用越来越广泛,但同时提取的成本也相对较高,通用性较低。

根据样品裂解方式的不同,除SDS法和CTAB

法外,异硫氰酸胍、聚乙烯吡咯烷酮和巯基乙醇等也是一些较常用的化学裂解物质,它们可与SDS法和CTAB法结合起来使用,这种改良可以更有效地去除各种杂质成分,提高DNA的提取质量。Simona Pafundo^[14]等就利用含有异硫氰酸胍成分的裂解液提取得到了橄榄油中的DNA。徐伟丽^[15]等在色拉油中采用含有异硫氰酸胍裂解成分的Wizard试剂盒法提取DNA,成功检测到了目的基因。覃文^[16]等也使用了Wizard试剂盒法在食用植物油中成功提取到了DNA。但是,国内也有研究者称由于异硫氰酸胍能与大豆油互溶,因此,不能应用于大豆油中DNA的提取^[17]。此外,酶裂解法中使用的蛋白酶K裂解成分,也可与SDS法或CTAB法同时使用,以提高食用植物油中的DNA提取效果。Innocenzo Muzzalupo^[10]等就使用CTAB法,在裂解液中加入蛋白酶K成分来提取DNA。

根据DNA纯化方式的不同,除传统的有机溶剂抽提外,较常用的方法还有磁珠法和离心柱法。磁珠法的原理是将裂解后游离的DNA分子吸附到磁性颗粒物质表面,形成DNA-磁珠结合物,而其他杂质类物质则留在裂解体系中,然后在磁场的作用下,磁性颗粒(DNA-磁珠结合物)与裂解溶液分开,最后用洗脱液将磁性颗粒上的DNA洗脱。磁珠法提取的DNA质量较高,提取过程耗时也较短,目前,已广泛应用于各种深加工类食品中DNA的提取。Catherine^[18]等比较了Wizard试剂盒中的磁珠、硅胶和羟基磷灰石3种不同吸附材料对橄榄油中DNA的提取效果,结果发现磁珠的提取效果更好。目前食用植物油中DNA的提取试剂盒主要原理就是磁珠法^[19-20]。离心柱法是将树脂或硅胶膜类材料固定在离心管中,在高盐低pH的条件下,DNA被选择性地吸附于离心管内的树脂或硅胶膜上,通过离心去除裂解体系中的各种杂质,最后,在低盐高pH的条件下,用洗脱液将DNA从树脂或硅胶膜上洗脱。Joana Costa^[5]等就是使用离心柱法从精炼植物油中成功提取到了DNA。

2 食用植物油中基因检测

2.1 普通PCR法

聚合酶链式反应(PCR)是一种用于体外微量

扩增特定 DNA 片段的分子生物学技术。普通 PCR 法的检测过程主要包括 PCR 扩增和电泳分析 2 个步骤。目前,普通 PCR 法已被广泛应用在食用植物油中的转基因成分检测和掺假检测中^[21]。程红梅等^[8]对市售的 10 种精炼大豆油中的 DNA 进行了 PCR 检测,检出结果与样品标识一致。此外,金红等^[22]也对 2 种大豆色拉油的 DNA 进行了 PCR 扩增,结果显示有 3 种转基因和大豆内源基因均出现了相应的扩增条带,与产品标识一致,这说明普通 PCR 法可以检测到食用植物油的外源基因。

普通 PCR 法是一种传统的基因定性检测方法。虽然,普通 PCR 法检测基因快速、简便且成本较低,对仪器条件要求较低,但普通 PCR 法在完成扩增目标基因后,通常要以琼脂糖凝胶电泳鉴定扩增片段是否为预期的片段大小。但琼脂糖凝胶电泳在 DNA 含量较低时,条带亮度不强,影响结果判断,并且片段大小是根据电泳后条带的大致位置进行估计,难免存在偏差。并且容易污染,此外,电泳时使用的部分试剂有毒,危害人体健康,这些方面都限制了其在食用植物油转基因成分检测和掺假检测方面的应用。

2.2 实时荧光定量 PCR 法

实时荧光定量 PCR (qPCR) 法,是在 PCR 反应体系中加入荧光基团,利用荧光信号的积累对整个 PCR 反应进程进行实时监控,通过与标准曲线的对比达到对未知模板的定量检测。白立群等^[9]对 5 种品牌的市售大豆油中 DNA 进行了实时荧光定量 PCR 检测,结果均为阳性,与样品标识一致。蔡翠霞等^[6]也对 11 种食用植物油中的 DNA 进行了实时荧光定量 PCR 检测,结果有 7 种植物油的扩增结果为阳性,与样品标识一致。此外,王德莲等^[23]还利用实时荧光定量 PCR 法对掺有大豆油和棕榈油的混合花生油进行了检测,结果也检测到了植物内源基因。

实时荧光定量 PCR 法具有灵敏度高、特异性强和再现性好等特点,与普通 PCR 法相比,qPCR 法省去了在琼脂糖凝胶电泳中鉴定 DNA 片段大小的步骤,不容易出现交叉污染,但对仪器条件要求较高。

2.3 环介导等温扩增法

环介导等温扩增 (LAMP) 法,是一种新型的 DNA 扩增方法,其特点是针对靶基因的 6 个区域设计 4 种特异引物,在链置换 DNA 聚合酶 (Bst DNA polymerase) 的作用下,60 ~ 65 °C 恒温扩增 DNA 片段,检测过程主要包括恒温扩增和产物检测 2 个步骤。

环介导等温扩增法是一种恒温 DNA 扩增的方法,通常在恒温水浴锅中完成扩增过程,该方法在恒温条件下,环介导等温扩增法比普通 PCR 法高 2 ~ 5 个数量级^[24],具有操作简单、特异性强、仪器条件要求较低,并且检测成本也较低,结果的判断也比较简单,但是该方法的引物设计比较复杂,处理扩增产物时容易造成 DNA 的污染。此外,也存在产生假阴性的结果^[6]。

2.4 多重巢式 PCR 法

巢式 PCR 是一种变异的聚合酶链式反应,使用 2 对 PCR 引物扩增完整的片段。第一对 PCR 引物扩增片段和普通 PCR 相似。第二对引物称为巢式引物,它结合在第一次 PCR 产物内部,使得第二次 PCR 扩增片段短于第一次扩增。如果第一次扩增产生了错误片断,则第二次能在错误片段上进行引物配对并扩增的概率会非常低,这种扩增方法提高了扩增过程的特异性和灵敏度。多重 PCR 法通过对多个不同位点基因进行同时扩增,大大提高了基因检测效率。

多重巢式 PCR 法结合了巢式 PCR 的高灵敏度、高特异性和多重 PCR 的高通量特点,目前已广泛应用于食用植物油的转基因成分检测中。王澎等^[25]对转基因大豆油的 DNA 进行检测,通过多重巢式 PCR 扩增后检测到了目的基因。

3 食用植物油中 DNA 不同提取方法比较

针对目前食用植物油中 DNA 的众多提取方法,需要对不同的 DNA 提取方法进行整体对比和评价,栾凤侠^[26]比较了离心柱法和 CTAB 法对精炼食用植物油中 DNA 的提取效果,结果表明离心柱法的提取效果要优于 CTAB 法。Andreas Zimmermann^[27]等也比较了 SDS 法、CTAB 法和离心柱法等多种 DNA

提取方法在大豆深加工类产品中的提取效果,结果表明,离心柱法提取的 DNA 浓度较低,但纯度却较高,而 SDS 法和 CTAB 法虽然提取的 DNA 浓度较高,但纯度却较低。Angela Di Pinto^[28] 等也同样发现,磁珠法和离心柱法与 SDS 法和 CTAB 法相比,提取的 DNA 纯度较高。传统的 DNA 提取方法虽然可以满足后续实验要求,且成本也较低,但提取过程耗时、费力,提取的 DNA 质量不高,且后续实验用到的一些纯化试剂有毒。磁珠法和离心柱法则更加安全、可靠, DNA 的提取质量也相对较高。

近年来,国内外关于食用植物油 DNA 提取的研究报道中,使用了许多商品化的 DNA 提取试剂盒来提取 DNA。磁珠法和离心柱法多为这些商品化的 DNA 提取试剂盒所采用,它们均采用独特的缓冲液体系,省去了试剂的配制和酚、氯仿的抽提,减少了 DNA 的损失,操作安全、简单而且高效,但提取的成本却较高。目前,国外常用的试剂盒主要有 The Wizard Magnetic DNA Purification System (Promega) for Food、The Qiagen QIAamp DNA Stool Extraction Kit 和 The NucleoSpin Food Kit。其中,The Wizard Magnetic DNA Purification System (Promega) for Food 试剂盒是应用较广的一种。Wu^[29] 等比较了 Wizard 磁珠纯化试剂盒与传统 CTAB 法对大豆油中 DNA 的提取效率差异,结果显示利用试剂盒法提取 DNA 的效果更好。Michelangelo 等^[30] 还比较了试剂盒法和改良 CTAB 法提取 8 种食用植物油中 DNA 的效果,结果发现试剂盒法可成功提取并检测到 DNA,而 CTAB 法则不能检测到 DNA。Joana Costa^[5] 等比较了 The Wizard Magnetic DNA Purification System (Promega) for Food 和 The Nucleospin Food Kit 两种试剂盒对完全精炼后的食用植物油中 DNA 的提取效果差异,结果发现 The Nucleospin Food Kit 试剂盒能从所有精炼的食用植物油中提取到可用于基因检测的 DNA,而 The Wizard Magnetic DNA Purification System (Promega) for Food 试剂盒则不能,Zhang^[31] 等研究也发现利用 The Wizard Magnetic DNA Purification System (Promega) for Food 不能从精炼大豆油中提取得到 DNA。Rayda Ben Ayed^[32]

等还对 The Qiagen QIAamp DNA Stool Extraction Kit 试剂盒、Wizard 基因组纯化试剂盒和 CTAB 法在橄榄油中 DNA 的提取效果进行比较,结果发现 The Qiagen QIAamp DNA Stool Extraction Kit 试剂盒提取效果最好。Spaniolas^[33] 等通过比较 3 种不同 DNA 提取试剂盒对葵花籽油和橄榄油的提取效果,结果发现,The Qiagen QIAamp DNA Stool Extraction Kit 试剂盒的 DNA 提取效果最好。此外,Simona^[34] 等还使用了 Nucleo Spin Plant 试剂盒成功提取到橄榄油中的 DNA。目前,这些众多的商品化 DNA 提取试剂盒通过对 DNA 提取过程中裂解和纯化步骤的改良与优化,综合了各种提取方法的优势,使得食用植物油中的 DNA 提取过程变得更加高效。

4 结语

食用植物油中 DNA 的提取质量是影响后续基因检测效率的关键因素,也是长期以来国内外研究的热点。在食用植物油中 DNA 的提取方面,目前应用较多的是试剂盒法,虽然提取的 DNA 质量较高,但试剂盒的价格非常昂贵,且通用性较差,一些传统的食用植物油中 DNA 的提取方法,包括基于此改良的一些新方法成本相对较低,操作过程也比较简单,但提取的 DNA 纯度较低,还需在 DNA 的纯化方面有更进一步的研究。在食用植物油的基因检测方面,普通 PCR 法的检测结果容易受到精炼食用植物油中 DNA 的低含量和低完整度影响,容易出现假阴性,同时凝胶电泳过程中使用的一些试剂有毒;实时荧光定量 PCR 法虽然灵敏度高,但对人员和仪器条件的要求也较高;LAMP 法对仪器条件的要求较低,但 LAMP 法的引物设计较复杂,也容易出现假阴性;多重巢氏 PCR 法的特异性好,但操作过程中容易出现交叉污染现象。因此,灵敏度高、特异性好、操作简单和成本低廉的检测方法仍需进一步的研究。相信随着科学技术水平的不断发展,未来的分子生物学分析方法将朝着低成本、高通用性和高灵敏度的趋势发展。

参考文献:

- [1] 张海亮,吴亚君,陈银基,等. 食用植物油 DNA 提取方法的研究进展[J]. 食品与发酵工业,2010,36(11):128-132.

- [2]张娟,姚丽峰,谭嘉丽,等. 精炼食用植物油中 DNA 高效提取方法[J]. 中国油脂,2010,40(s1):126-129.
- [3]Pauli U, Liniger U, Zimmermann A. Detection of DNA in soybean oil [J]. Z Lebensm Unters Forsch A, 1998, 207: 264-267.
- [4]Maja H, Marion N, Jorg-Thomas M. Determination of DNA traces in rapeseed oil[J]. Z Lebensm Unters Forsch A, 1998, 206: 237-242.
- [5]Costa J, Mafra I, Amaral J S, et al. Detection of genetically modified soybean DNA in refined vegetable oils[J]. European Food Research and Technology, 2010, 230(6): 915-923.
- [6]蔡翠霞,肖维威,吴慧慧,等. 植物油 DNA 的高效提取方法研究[J]. 中国油脂,2014,36(1):69-72.
- [7]Clarissa C, Luisa P, Marco S, et al. A procedure for olive oil trace ability and authenticity: DNA extraction, multiplex PCR and LDR-universal array analysis[J]. Eur Food Res Technol, 2008, 227: 1429-1438.
- [8]程红梅,彭宇发,金芄军,等. 一种快速、简便提取大豆油 DNA 的方法及转基因大豆油的检测[J]. 中国农业科学, 2007, 40(5): 1069-1072.
- [9]白立群,吴亚君,韩建勋,等. 一种有效的大豆精炼油 DNA 提取新方法—冷冻干燥法[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(12): 155-159.
- [10]Thomas H T, Steven D T. A Rapid and inexpensive method for isolation of total DNA from dehydrated plant tissue[J]. Plant Molecular Biology Report, 1990, 8(4): 297-303.
- [11]许冬倩,郝义波. 一种有效的油脂 DNA 的提取方法[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(10): 42-45.
- [12]Innocenzo M, Massimiliano P, Enzo P. Detection of DNA in virgin olive oils extracted from destoned fruits[J]. Eur Food Res Technol, 2007, 224: 469-475.
- [13]王亚. 食用植物油 DNA 提取方法及转基因成分检测技术的研究[D]. 合肥:安徽大学, 2007.
- [14]Simona P, Matteo B, Caterina A, et al. Storage-time effects on olive oil DNA assessed by Amplified Fragments Length Polymorphisms [J]. Food Chemistry, 2010, 123: 787-793.
- [15]徐伟丽,杜明,徐德昌. 色拉油中转基因成分的 PCR 检测[J]. 生物信息学, 2009, 7(3): 238-242.
- [16]覃文,董洁,邓鸿玲. 实时荧光 PCR 定性定量检测混合食用植物油中的花生油成分[J]. 中国油脂, 2006, 31(10): 73-76.
- [17]闻伟刚,崔俊霞,赵秀玲. 大豆油中转基因成分的 Nested PCR 和 Semi-nested PCR 检测方法研究[J]. 生物技术通报, 2005(6): 84-87.
- [18]Catherine B, Delphine C, Isabelle M, et al. Comparative study of methods for DNA preparation from olive oil samples: possible forensic applications [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2004, 52: 531-537.
- [19]何景,许文涛,黄昆仑. 食用植物油 DNA 提取及检测技术的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(12): 382-386, 391.
- [20]Joana C, Isabel M, M Beatriz P P Oliveira. Advances in vegetable oil authentication by DNA-based markers[J]. Trends in Food Science and Technology, 2012, 26(1): 43-55.
- [21]罗阿东,焦彦朝,曹云恒,等. 食用植物油转基因成分检测技术的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(9): 470-472.
- [22]金红,程奕,赵昕,等. 大豆色拉油中转基因成分检测技术研究[J]. 华北农学报, 2004, 19(1): 24-27.
- [23]王德莲,覃芳芳,曾国权,等. PCR 方法检测花生油掺假研究[J]. 粮食与油脂, 2014, 27(6): 56-59.
- [24]何景,许文涛,黄昆仑. 食用植物油 DNA 提取及检测技术的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(12): 382-386, 391.
- [25]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.
- [26]栾凤侠,张洪洋,白月. 食用植物油中 DNA 高效快速提取方法及实时荧光 PCR 检测技术的研究[J]. 中国油脂, 2005, 30(7): 41-43.
- [27]Andreas Z, Jurg L, Urs P. Quantitative and qualitative evaluation of nine different extraction methods for nucleic acids on soya bean food samples [J]. Z Lebensm Unters Forsch A, 1998, 207: 81-90.
- [28]Angela D P, Vito T F, Maria Corsignano Guastadisegni, et al. A comparison of DNA extraction methods for food analysis[J]. Food Control, 2007, 18: 76-80.
- [29]Wu Yajun, Chen Ying, Ge Yiqiang, et al. Detection of olive oil using the Evagreen real-time PCR method [J]. Eur Food Res Technol, 2008, 227: 1117-1124.
- [30]Michelangelo V, Caterina A, Nelson M. Detection of plant oil DNA using high resolution melting (HRM) post PCR analysis: A tool for disclosure of olive oil adulteration [J]. Food Chem, 2013, 141: 3820-3826.
- [31]Zhang M H, Gao X J, Yu Y B, et al. Detection of Roundup Ready soy in highly processed products by triplex nested PCR [J]. Food Control, 2007, 18(10): 1277-1281.
- [32]Rayda B A, Naziha G K, Fabienne Moreau, et al. Comparative study of microsatellite profiles of DNA from oil and leaves of two Tunisian olive cultivars [J]. Eur Food Res Technol, 2009, 229: 757-762.
- [33]Spaniolas S, Bazakos C, Spano T, et al. The potential of plastid trn L (UAA) intron polymorphisms for the identification of the botanical origin of plant oils [J]. Food Chem, 2010, 122: 850-856.
- [34]Simona P, Matteo B, Caterina A, et al. Storage-time effect on olive oil DNA assessed by Amplified Fragments Length Polymorphisms [J]. Food Chem, 2010, 123: 787-793. 