

食用植物油和地沟油中动物源性成分 LAMP 检测方法的建立

谭贵良^{1,2}, 刘焱², 李向丽³, 赖心田⁴, 张世伟⁴

(1. 中山市食品药品检验所, 广东中山 528437) (2. 广东省中山市质量计量监督检测所, 广东中山 528403)

(3. 中山火炬职业技术学院, 广东中山 528436) (4. 深圳市计量质量检测研究院, 广东深圳 518109)

摘要: 建立了食用植物油和地沟油中动物源性成分的环介导等温扩增 (LAMP) 检测方法。针对猪、牛、鸡、鸭的线粒体 *Cytb* 基因分别设计 2 条外引物 (F3、B3)、2 条内引物 (FIP、BIP) 和 2 条环引物 (FLP、BLP), 着重对内引物 FIP/BIP、甜菜碱和 Mg^{2+} 浓度等反应参数进行了优化, 扩增产物采用恒温实时荧光法检测。对方法的特异性和灵敏度进行了评价。实验结果表明, 在 0.2 $\mu\text{mol/L}$ 外引物 (F3 和 B3)、1.6 $\mu\text{mol/L}$ 内引物 (FIP 和 BIP)、0.8 $\mu\text{mol/L}$ 环引物 (FLP 和 BLP)、1 mol/L 甜菜碱、6 mmol/L $MgSO_4$ 、1.6 mmol/L dNTP、反应温度 63 $^{\circ}\text{C}$ 等参数的优化条件下, 上述四种动物源性成分的扩增效果最佳, 该方法可以检测出动物油脂质量比例为 1% 及地沟油质量比例为 5% 的混合油脂中的动物源性成分。本方法对猪、牛、鸡、鸭源性成份的检测具有很高的特异性和灵敏度, 可以用于油脂中动物源性成分的检测, 为油脂的鉴别和地沟油的鉴别提供技术支持。

关键词: 食用植物油; 地沟油; 环介导等温扩增; 动物源性成分; *Cytb* 基因; 鉴别

文章编号: 1673-9078(2015)12-331-337

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.12.050

Loop-Mediated Isothermal Amplification Method to Detect Animal-Derived Ingredients in Edible Vegetable Oil and Hogwash Oil

TAN Gui-liang^{1,2}, LIU Yao², LI Xiang-li³, LAI Xin-tian⁴, ZHANG Shi-wei⁴

(1. Zhongshan Institute for Food and Drug Control, Zhongshan 528437, China) (2. Zhongshan Supervision Testing Institute of Quality & Metrology, Zhongshan 528403, China) (3. Zhongshan Torch Polytechnic, Zhongshan 528436, China)

(4. Shenzhen Academy of Metrology & Quality Inspection, Shenzhen 518109, China)

Abstract: A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method was established to detect the presences of animal-derived ingredients in edible vegetable oils and hogwash oils. Two outer primers (F3 and B3) and two inner primers (FIP and BIP) were designed based on the mitochondrial *Cytb* genes of pig, cattle, chicken, and duck. The inner primers FIP/BIP, betaine, Mg^{2+} , and other reaction parameters were optimized, and the amplified products were detected with real-time fluorescence LAMP. The specificity and sensitivity of the method were evaluated. The results showed that the optimal conditions were 0.2 $\mu\text{mol/L}$ outer primers (F3 and B3), 1.6 $\mu\text{mol/L}$ inner primers (FIP and BIP), 0.8 $\mu\text{mol/L}$ loop primers (FLP and BLP), 1 mol/L betaine, 6 mmol/L Mg^{2+} , 1.6 mmol/L dNTPs, and a reaction temperature of 63 $^{\circ}\text{C}$. Under the optimal conditions, the best amplification was achieved for the abovementioned four animal-derived ingredients. With this improved LAMP approach, the animal-derived ingredients in mixed oils containing 1% of animal oils and 5% of hogwash oils could be detected. This method exhibits a very high specificity and sensitivity for pig-, cattle-, chicken-, and duck-derived ingredients, can be applied in the detection of animal-derived ingredients in oils, and provides a technical support for identification of oils and hogwash oils.

Key words: edible vegetable oil; hogwash oil; loop-mediated isothermal amplification; animal-derived ingredients; *Cytb* gene; identification

随着人们生活水平的提高及健康意识的增强, 人

收稿日期: 2015-03-05

基金项目: 国家质检总局科技计划项目 (2013QK274); 广东省高等学校优秀青年教师培养计划资助项目 (Yq2013196)

作者简介: 谭贵良 (1977-), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向: 食品检测分析技术

们对食用植物油的消费日益增加。消费者在消费的同时, 越来越关注产品的质量。然而“掺杂使假”一直是食品加工、流通和餐饮领域中存在的质量问题, 也是消费者投诉的焦点之一。不法商贩为了谋取暴利, 在食用植物油中按一定比例加入动物油或地沟油以冒充纯植物油, 甚至完全使用地沟油冒充植物油。

地沟油是泔水油、煎炸老油和废弃动植物油脂的总称。精炼后的地沟油色泽、气味、酸价、过氧化值、重金属等指标常接近或完全符合国家《GB 2716-2005 食用植物油卫生标准》，掺混后与正常食用植物油难以区分。通过对动物源性成分的检测可以作为判别食用植物油中是否掺入动物油脂或地沟油的有效方法。目前报道的食品中动物源性成分检测方法主要可分色谱^[1-2]和分子生物学方法两种。分子生物学方法是最常用的方法，包括常规 PCR 方法^[3-4]、实时荧光 PCR 方法^[5-6]、ELISA 方法^[7]和基因芯片技术^[8]等。近年来基于 PCR 方法的油脂中动物源性基因的检测成为逐渐成为研究热点^[5-6, 9-10]。但至今为止，采用环介导恒温扩增技术 (Loop-mediated isothermal amplification, LAMP) 检测食品中动物源性成分的研究报道比较少见^[11]，特别是该技术在油脂中动物源性成分的检测尚属空白。

LAMP 技术主要通过针对目的基因片段上的六个独立区域设计引物，在恒温条件下利用具有链置换活性的 *Bst* DNA 聚合酶启动循环链置换反应，实现对目的基因片段的大量扩增^[12]。因其克服了传统 PCR 反应需要反复升降温、反复热循环扩增的缺点，可实现恒温条件下的连续快速扩增。目前已有 LAMP 技术应用于致病菌^[13-14]、转基因成分^[15-18]检测方面的研究报道。本研究首次采用 LAMP 方法对食用植物油和地沟油中的动物源性成分进行了检测研究，以为油脂的掺假鉴别提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

表 1 LAMP 反应引物
Table 1 Primers used in LAMP

物种	引物	引物序列 (5'~3')
猪	P-F3	GCCTAATCTTGCAAGTCCTAA
	P-B3	GGCTGTTGCTATAACGGTAA
	P-FIP	ACGTCTCGACAGATGTGTGTAAGGCCTGTTCTTAGCAATACA
	P-BIP	TCGCTACCTACATGCAAACGGATCCGTTAGTATAGACCTCGG
	P-FLP	GCTGTTGTTGTGCTGATGTG
	P-BLP	TTGCCTATTTCATCCACGTAGG
牛	N-F3	CGAAAATCCCACCCACTAAT
	N-B3	ATCCGTAGTATATGCCTCGT
	N-FIP	CTAGGAATAGGCCGGTGAGGAATGAAACTTTGGCTCTCTCC
	N-BIP	AACAGCATTCTCCTCCGTCGCTCCGTTTGCCTGTATGTA
	N-FLP	TGCAGAATTAGGCAGATGCT
	N-BLP	TGCCGAGACGTGAACTATG
鸡	C-F3	CCATGATTCTCCATCATACTCC
	C-B3	CATCGGTTTCTCGGTGAT
	C-FIP	AGGTTTCATGGTCAGGTTTCAGGTCCTACTCTAACAACAACCCTG
	C-BIP	CAATTCTCAAGCCCCTGCCTGGCTGGAAGAAGGAGTGA
	C-FLP	GGGTGGGTTTAGTTGTTGTAAT
	C-BLP	TAGGAATCCCTCTAATCCTCCC
鸭	Y-F3	AGCTAACCTCACAGCAGG
	Y-B3	ATGTGGTAGGAGTGTGCT
	Y-FIP	TGGTGAGGAGTAGTAGGATGGCATCTCCACAGCCTCCATC
	Y-BIP	GTAGCAGTGGCCATAATCCAGGTGGTGTGCCATTAGATGTTT
	Y-FLP	CTGTGGGAAGGATGGGTATG
	Y-BLP	TCCTCCTAAGCCTGTACTTACA

大豆油、花生油、玉米油、菜籽油购自本地超市；猪油、牛油、鸡油、鸭油、鱼油自制提取；地沟油由深圳市腾浪再生资源发展有限公司提供。*Bst* DNA 聚

合酶购自 NEB 公司；CTAB、Tris、NaCl、Na₂EDTA、甜菜碱、担体（鲑鱼精 DNA）等购自 Sigma 公司；Taq 酶、dNTP 等购自大连宝生物工程有限公司；荧光

染料 SYTO-9、荧光染料 SYBR Green I 购自英潍捷基(上海)贸易有限公司。

ABI 7500 Real Time PCR System 实时荧光 PCR 仪, 美国 Applied Biosystems 公司; DEAOU-308C 恒温荧光检测仪, 广州迪澳生物科技有限公司; 高速冷冻离心机, Sigma 公司; Synergy UV 超纯水系统, 购自美国 MILLIPORE 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 LAMP 引物设计

根据 GenBank 数据库中猪、牛、鸡、鸭的线粒体基因序列(序列号分别是: KC505411.1、KJ193457.1、KJ778617.1、EU009397.1), 经 BLAST 在线比对软件进行分析, 确定该序列在物种内具有较高的同源性, 选择序列一致的物种特异区域, 利用 LAMP 引物在线设计软件 Primer Explorer Version 4 设计了猪、牛、鸡、鸭的 LAMP 扩增引物。LAMP 引物包括两条外引物(F3、B3)、两条内引物(FIP、BIP)和两条环引物(FLP、BLP)。引物由上海生工生物工程有限公司合成, PAGE 纯化。根据引物扩增效果选取较佳的引物。引物序列见表 1。

1.2.2 基因组 DNA 的提取

采用课题组之前建立的植物油脂 DNA 提取方法[18]。

1.2.3 LAMP 反应及反应体系的优化

25 μL LAMP 反应体系中含有 1.2~2.4 $\mu\text{mol/L}$ FIP、1.2~2.4 $\mu\text{mol/L}$ BIP、0.2 $\mu\text{mol/L}$ F3、0.2 $\mu\text{mol/L}$ B3、0.8~1.6 mol/L 甜菜碱、4~10 mmol/L MgSO_4 、1.6 mmol/L dNTP、2.5 μL 10 \times Thermo pol Buffer、8 U *Bst* DNA 聚合酶及 2 μL DNA 模板。反应条件为 63 $^{\circ}\text{C}$ 反应, 60 min。以双蒸水作为空白对照。LAMP 反应体系配制完成后置于 0.2 mL 离心管中, 在离心管中加入 1 滴石蜡油以避免反应体系挥发和污染。

LAMP 扩增产物采用恒温实时荧光法检测。方法一: 在反应体系中加入 0.2 $\mu\text{mol/L}$ SYTO-9 荧光染料, 通过实时荧光 PCR 仪 (ABI 7500) 设定 Holding Stage 为 63 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 1 个循环; Cycling Stage 为 63 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 63 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 60 个循环, 于 63 $^{\circ}\text{C}$ 45 s 处收集荧光信号, 荧光通道为 FAM。方法二: 在 DEAOU-308C 恒温荧光检测仪中, 在程序界面把实验时间设为 60 min, 温度设为 63 $^{\circ}\text{C}$, 放入样品管点击开始即可进行反应。也可通过向 LAMP 产物中加入 1 μL 稀释 100 倍的 SYBR Green I 染料, 肉眼观察扩增情况, 颜色变绿表明发生了扩增, 橙色表明未发生扩增。

2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 提取结果

油脂中基因组 DNA 的有效提取是实验能否以成功的关键。采用本实验室建立的方法[18], 通过在油脂基因组 DNA 提取过程中加入正己烷充分乳化、加入担体共沉淀剂与目标 DNA 进行共沉淀获得了质量和浓度较高的 DNA 模板。结果表明, 获得的 DNA 模板 260/280 比值均在 1.7~2.1 之间, 浓度在 150~500 ng/ μL , 适合后续的扩增反应。

2.2 LAMP 反应体系优化结果

本研究以自制提取的猪油、牛油、鸡油和鸭油为对象, 主要对 FIP、BIP、甜菜碱、 Mg^{2+} 浓度四个关键参数进行了优化。经过优化后, 确定 LAMP 反应体系 (25 μL) 为: 内引物 FIP 和 BIP 各 1.6 $\mu\text{mol/L}$, 外引物 F3 和 B3 各 0.2 $\mu\text{mol/L}$, 环引物 FLP 和 BLP 各 0.8 $\mu\text{mol/L}$, 1 \times ThermoPol 缓冲液, 1 mol/L 甜菜碱, 6 mmol/L MgSO_4 , 1.6 mmol/L dNTP, 8 U *Bst* DNA 聚合酶, DNA 模板 300 ng。该体系下猪、牛、鸡和鸭源性成分的扩增结果见图 1。

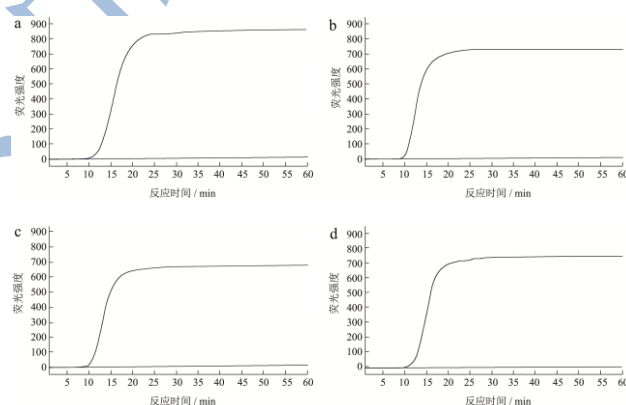


图 1 LAMP 反应优化结果

Fig.1 LAMP reaction under the optimized condition

注: (a) 猪源性成分; (b) 牛源性成分; (c) 鸡源性成分; (d) 鸭源性成分。

2.3 LAMP 特异性实验结果

本研究利用优化好的 LAMP 方法对猪油、牛油、鸡油、鸭油及鱼油、大豆油、花生油、玉米油、菜籽油几个样品进行了 LAMP 扩增, 以验证设计的引物对猪、牛、鸡和鸭源性成分检测的特异性, 扩增产物分别采用实时荧光法 (ABI 7500 荧光 PCR 仪和 DEAOU-308C 恒温荧光检测仪) 进行检测和判别。猪、

牛、鸡和鸭源性成分特异性扩增结果见图 2~图 5。

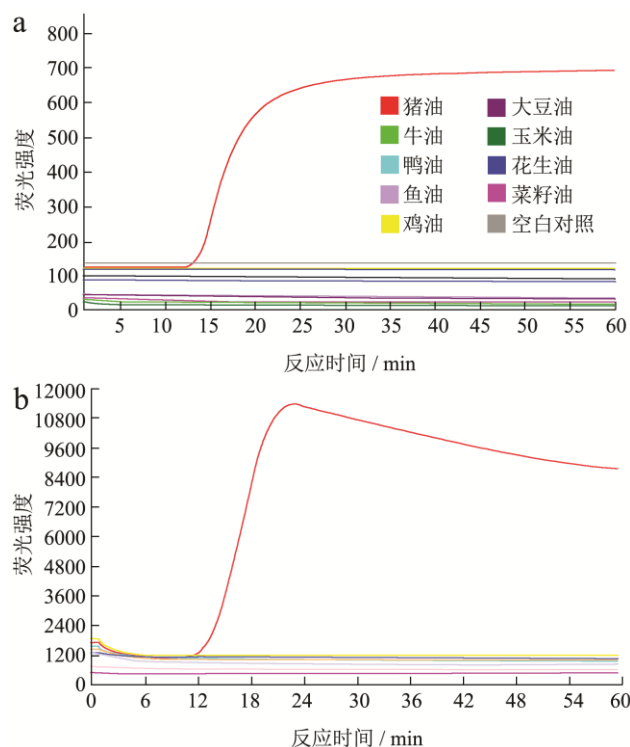


图 2 猪源性成分特异性分析

Fig.2 Specificity analysis of pig-derived ingredients

注: a: ABI 7500 荧光 PCR 仪恒温检测; b: DEAOU-308C

恒温荧光检测仪检测。

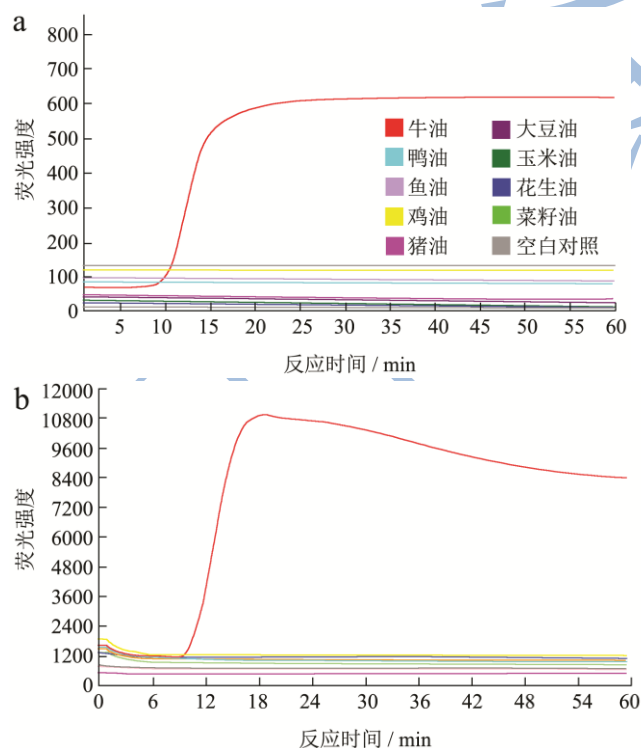


图 3 牛源性成分特异性分析

Fig.3 Specificity analysis of cattle-derived ingredients

注: a: ABI 7500 荧光 PCR 仪恒温检测; b: DEAOU-308C

恒温荧光检测仪检测。

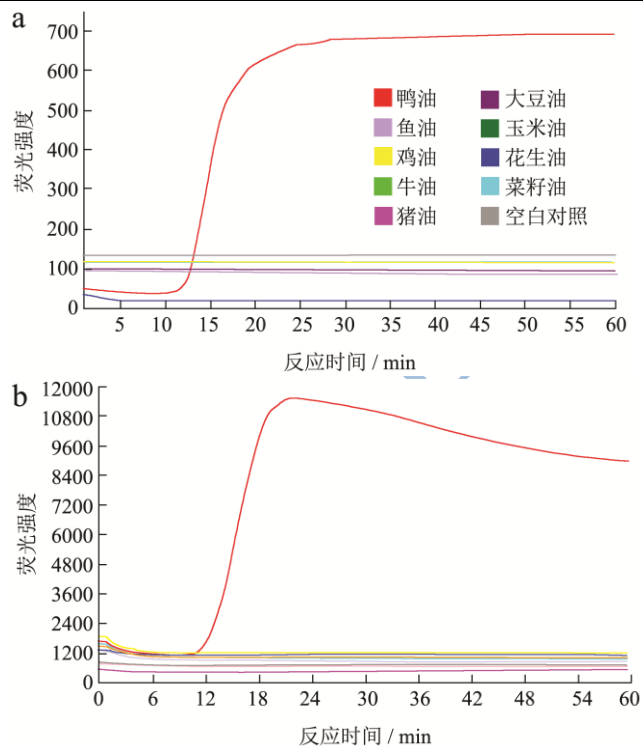


图 4 鸡源性成分特异性分析

Fig.4 Specificity analysis of chicken-derived ingredients

注: a: ABI 7500 荧光 PCR 仪恒温检测; b: DEAOU-308C 恒温荧光检测仪检测。

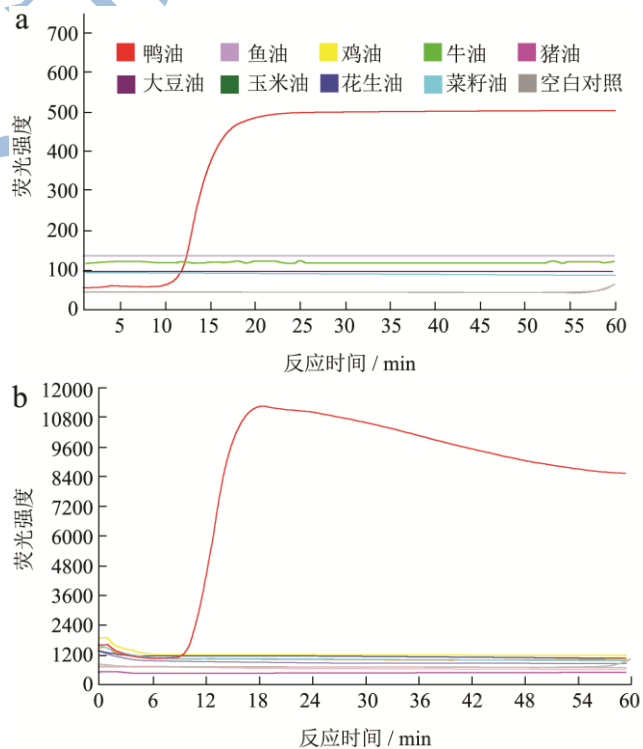


图 5 鸭源性成分特异性分析

Fig.5 Specificity analysis of duck-derived ingredients

注: a: ABI 7500 荧光 PCR 仪恒温检测; b: DEAOU-308C 恒温荧光检测仪检测。

结果显示, 仅猪油、牛油、鸡油、鸭油样品发生

了特异性扩增,其他油脂样品和空白对照均未检测到扩增序列目的片段,表明设计的 LAMP 引物对上述动物源性成分检测具有很好的特异性。

2.4 LAMP 灵敏度实验

2.4.1 动物油模拟掺假油脂

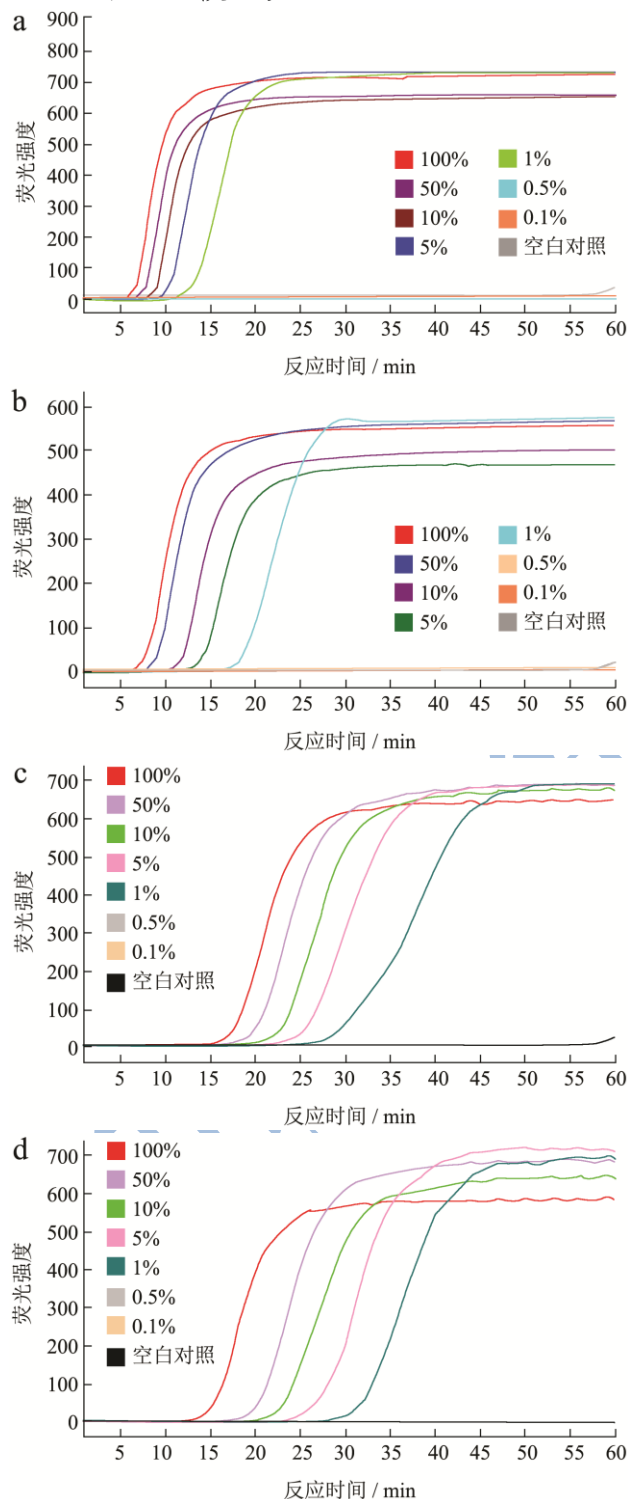


图 6 动物油掺假油脂检测灵敏度分析

Fig.6 Sensitivity analysis of animal oils

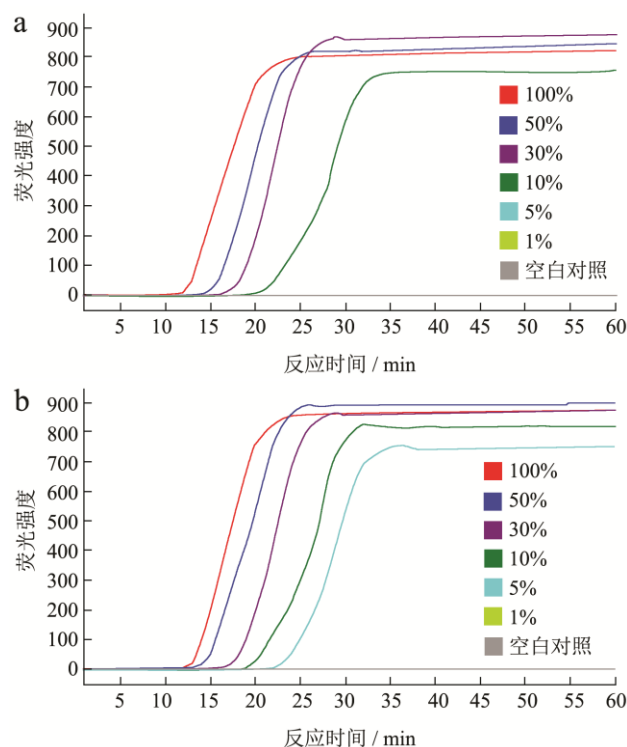
注: (a) 猪油样品; (b) 牛油样品; (c) 鸡油样品; (d)

鸭油样品。

将猪油、牛油、鸡油和鸭油分别用植物油(大豆油、花生油、玉米油)按不同质量比例进行混合制备标准样品(分别稀释至 50%、10%、5%、1%、0.5%、0.1%),用于确定植物油中掺入动物油脂的最低检出限。混合油脂样品提取 DNA 后进行 LAMP 检测分析。大豆油中掺入动物油脂后的检测结果见图 6a,b,c,d。从图可以看出,当四种动物油脂被大豆油稀释到 1%时仍可检出动物源性成分。由此表明,LAMP 可以检测出大豆油中 1%的动物油脂成分,随着动物油脂成分含量的增大,其出峰时间也逐步提前。其他植物油(花生油、玉米油)中掺入动物油脂后,动物源成分的检测灵敏度也均为 1%。

2.4.2 地沟油掺假油脂

将地沟油用大豆油按不同质量比例进行稀释(分别稀释至 50%、30%、10%、5%、1%),用于确定大豆油中掺入地沟油的最低检出限。混合油脂样品提取 DNA 后进行 LAMP 检测分析,结果见图 7a、b、c、d。由图可以看出,LAMP 可以检测出地沟油中猪、鸡两种动物源性成分,即地沟油掺假量在 10%及以上油脂中可检出猪、鸡两种动物源性成分(图 7a、b);当地沟油掺假量在 5%时,油脂中仅可检测到鸡源性成分(图 7b)。由此可见,该方法可以检测到的地沟油检出限为 5%。随着地沟油掺入量的增大,其出峰时间也逐步提前,表明出峰时间与模板 DNA 浓度成线性相关。



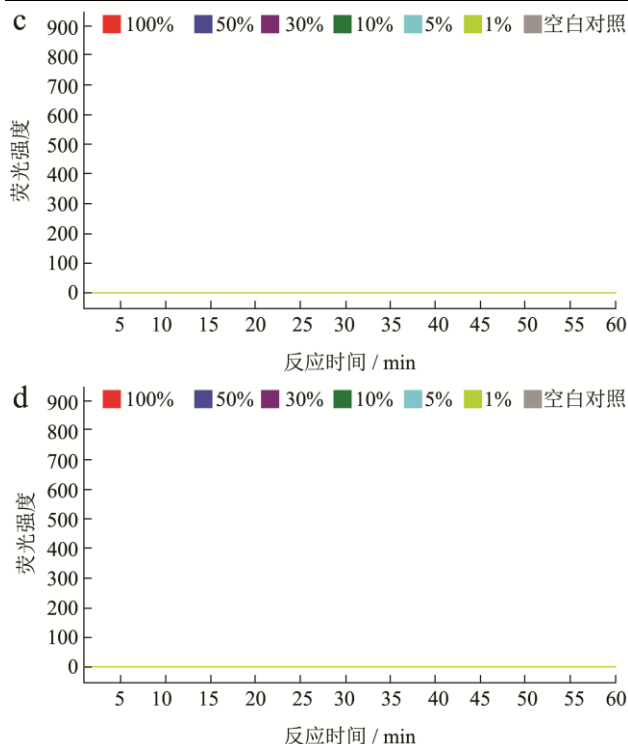


图7 地沟油检测灵敏度分析

Fig.7 Sensitivity analysis of hogwash oils

注：(a) 猪源性成分；(b) 鸡源性成分；(c) 牛源性成分；(d) 鸭源性成分。

2.5 样品检测

表2 油脂样品动物源性成分检测结果

Table 2 Comparison analysis between LAMP and standard method

样品	method	
	LAMP 法 猪、牛、鸡、鸭	实时荧光 PCR 法
大豆油	均未检出	未检出
花生油	均未检出	未检出
地沟油 1#	检出猪、鸡成分	检出动物成分
地沟油 2#	检出猪、鸭成分	检出动物成分
市场散装油 1#	检出猪成分	检出动物成分
市场散装油 2#	均未检出	未检出
餐饮店植物油 1#	均未检出	未检出
餐饮店植物油 2#	均未检出	未检出
餐饮店植物油 3#	均未检出	未检出

采用上述新建的方法对 2 份食用植物油、2 份地沟油样品、2 份集贸市场散装油样品、3 份餐饮店食用植物油共 9 个样品进行了检测分析。结果显示，除 2 份地沟油样品（地沟油 1#和地沟油 2#）和 1 份市场散装油样品（市场散装油 1#）检出动物源成分外，其余样品检测结果为阴性。LAMP 检测结果与实时荧光 PCR 方法（GB/T 21103-2007、GB/T 23815-2009）检

测结果相同，即后者采用通用动物引物亦在阳性的三个样品（地沟油 1#、地沟油 1#、市场散装油 1#）中检测出了动物源性成分。两种方法未出现假阳性或假阴性结果，结果见表 2。

3 结论

3.1 作为高等动物唯一的核外遗传物质，线粒体 DNA 是一个比较理想的用于检测的分子标记靶基因^[19]。本研究针对猪、牛、鸡、鸭的线粒体基因序列分别设计两对特异性的 LAMP 内外引物和两条环引物，建立了利用 LAMP 法检测食用植物油和地沟油中动物源性成分的新方法。研究中主要针对猪、牛、鸡、鸭的常见物种进行引物设计，其中猪和鸡引物不限定物种，牛特异性引物只针对水牛和黄牛物种，鸭特异性引物只针对水鸭和番鸭。最终确定的 LAMP 反应优化条件为：LAMP 反应体系（25 μL）含有 1.6 μmol/L FIP、1.6 μmol/L BIP、0.2 μmol/L F3、0.2 μmol/L B3、0.8 μmol/L FIP、0.8 μmol/L BIP、1 mol/L 甜菜碱、6 mmol/L MgSO₄、8 U *Bst* DNA 聚合酶、1.6 mmol/L dNTP、2.5 μL 10×Thermo pol Buffer 及 2 μL DNA 模板。反应条件为 63 °C 条件下反应 1 h。

3.2 该方法可以检测出动物油脂含量为 1% 及地沟油（来自深圳市腾浪再生资源发展有限公司）含量为 5% 的混合油脂中的动物源性成分。试验过程中，由于地沟油取样的局限性，下一步还需扩大地沟油样品来源，在地沟油的检测灵敏度方面深入研究。通过恒温荧光检测模式建立的食用植物油和地沟油中动物源性成分 LAMP 检测方法具有准确、快速、灵敏度高和易于操作等特点，适合油脂中动物源性成分的快速检测。

参考文献

- [1] Schonherr J. Analysis of products of animal origin in feeds by determination of carnosine and related dipeptides by high-performance liquid chromatography [J]. J. Agric. Food Chem., 2002, 50(7): 1945-1950
- [2] Aristoy MC, Toldra F. Histidine dipeptides HPLC-based test for the detection of mammalian origin proteins in feeds for ruminants [J]. Meat Sci., 2004, 67(2): 211-217
- [3] 冯海永, 韩建林. 羊肉产品中若干动物源性成分的七重 PCR 检测技术应用研究[J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(9): 85-90
FENG Hai-yong, HAN Jian-lin. Application of septenary multiplex PCR detection for some animal components in sheep and goat meat products [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2010, 37(9): 85-90
- [4] Aida AA, Che Man YB, Wong C, et al. Analysis of raw meats

- and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication [J]. *Meat Sci.*, 2005, 69(1): 47-52
- [5] 杨永存,杨冬燕,李浩,等.实时荧光 PCR 检测动物源性基因鉴定地沟油[J].*中国卫生检验杂志*,2013,23(18):3514-3517
YANG Yong-cun, YANG Dong-yan, LI Hao, et al. Identification of hogwash oil through animal - original genes detection with real -time PCR [J]. *Chin. J. Health Lab. Tec.*, 2013, 23(18): 3514-3517
- [6] 王丹,赵琳娜,胡凤月,等.实时荧光聚合酶链式反应检测食用大豆油中动物源成分[J].*食品科学*,2013,34(14):298-300
WANG Dan, ZHAO Lin-na, HU Feng-yue, et al. Detection of animal-origin ingredients in edible vegetable oil by real-time PCR [J]. *Food Science*, 2013, 34(14): 298-300
- [7] Zhang SW, Lai XT, Liu XQ, et al. Competitive enzyme-linked immunoassay for sialoglycoprotein of edible bird's nest in food and cosmetics [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, 60: 3580-3585
- [8] 石丰运,缪建锬,张利平,等.运用基因芯片技术检测牛、山羊、猪和鸡源性成分[J].*生物工程学报*,2010,26(6):823-829
SHI Feng-yun, MIAO Jian-kun, ZHANG Li-ping, Detection of bovine, goat, pig and chicken derived ingredients in animal products with universal PCR-microarray method [J]. *Chin. J. Biotech.*, 2010, 26(6): 823-829
- [9] 赵琳娜,王丹,胡凤月,等.食用植物油中动物源性成分 PCR 检测方法的建立[J].*现代食品科技*,2012,28(5): 588-592
ZHAO Lin-na, WANG Dan, HU Feng-yue, et al. Detection of animal-derived ingredients in edible vegetable oils by PCR method [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2012, 28(5): 588-592
- [10] 王立平,刘晓莉,曹悦,等.PCR 法检测食用植物油中动物源性成分[J].*食品工业*,2013,34(9): 214-217
WANG Li-ping, LIU Xiao-li, CAO Yue, et al. Detection of animal-derived ingredients in edible vegetable oils by PCR method [J]. *The Food Industry*, 2013, 34(9): 214-217
- [11] Ahmed MU, Hasan Q, Hossain MM, et al. Meat species identification based on the loop mediated isothermal amplification and electrochemical DNA sensor [J]. *Food Control*, 2010, 21(5): 599-605
- [12] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. *Nucl. Acids Res.*, 2000, 28: e63
- [13] Han FF, Ge BL. Evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for detecting *Vibrio vulnificus* in raw-oysters [J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2008, 5 (3): 311-320
- [14] 姜侃,吕沁风,汪新,等.三重 LAMP 法检测食品中沙门氏菌、单增李斯特菌和金黄色葡萄球菌[J].*食品科学*,2013,34(24): 182-187
JIANG Kan, LV Qin-feng, WANG Xin, et al. Development of multiplex LAMP method for the detection of *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in foods [J]. *Food Science*, 2013, 34(24): 182-187
- [15] Lee D, La Mura M, Allnutt TR, et al. Detection of genetically modified organisms (GMOs) using isothermal amplification of target DNA sequences [J]. *BMC Biotechnology*, 2009, 9: 7-12
- [16] 袁瑛娜,单潇潇,王宗德,等.应用 LAMP 实时浊度法检测转基因大豆[J].*现代食品科技*,2011,27(10): 1264-1267
YUAN Ying-na, SHAN Xiao-xiao, WANG Zong-de, et al. Development of a real-time turbidimeter-based loop-mediated isothermal amplification assay for detection of transgenic soybean [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2011, 27(10): 1264-1267
- [17] Chen LL, Guo JC, Wang QD, et al. Development of the visual Loop-Mediated Isothermal amplification assays for seven genetically modified maize events and their application in practical samples analysis [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, 59: 5914-5918
- [18] 李向丽,谭贵良,刘垚,等.实时 LAMP 法快速检测食用植物油中的转基因成分 CaMV-35S[J].*现代食品科技*,2014, 30(2):244-248
LI Xiang-li, TAN Gui-liang, LIU Yao, et al. Rapid detection of CaMV-35S promoter in vegetable oils by loop - mediated isothermal amplification method [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(2): 244-248
- [19] Sevilla RG, Diez A, Nor n M, et al. Primers and polymerase chain reaction conditions for DNA barcoding teleost fish based on the mitochondrial cytochrome b and nuclear rhodopsin genes [J]. *Mol. Ecol. Notes*, 2007, 7(5): 730-734