

ICS65.020.01

B04

DB

深 圳 市 农 业 地 方 标 准

DB 440300/T 32.4—2007

农业转基因生物食用安全性检验 第 4 部分：抗营养作用检验

Edible safety determination of agriculture genetically modified organisms—
PartIV: Testing for anti-nutrients

2007-11-12 发布

2008-02-12 实施

深圳市质量技术监督局 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 项目与程序	1
5 受体生物抗营养作用的检验	1
6 外源基因对受体生物抗营养作用影响的检验	3

前 言

DB440300/T 32-2007 《农业转基因生物食用安全性检验》分成五个部分：

- 第1部分：样品制备；
- 第2部分：毒性检验；
- 第3部分：致敏性检验；
- 第4部分：抗营养作用检验；
- 第5部分：非期望效应检验。

本部分为DB 440300/T 32的第4部分。

本部分由深圳市农林渔业局和深圳市卫生局提出。

本部分由深圳市农林渔业局和深圳市卫生局负责解释。

本部分主要起草单位：深圳市疾病预防控制中心、深圳市农作物良种引进中心。

本部分主要起草人：邓平建 周向阳 杨冬燕 侯红利 刘晋 杨小柯 杨永存 王学林 李永红 吴水清
周鹏 杜忠

农业转基因生物食用安全性检验

第 4 部分：抗营养作用检验

1 范围

本部分规定了农业转基因生物抗营养作用检验的项目、程序和方法。
本部分适用于农业转基因生物抗营养作用的检验。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB 8622 –88 尿素酶活性的测定方法

NY/T 1103.1-2006 转基因植物及其产品食用安全检测 抗营养素第1部分：植酸、棉酚和芥酸的测定

NY/T 1103.2-2006 转基因植物及其产品食用安全检测 抗营养素第2部分：胰蛋白酶抑制剂的测定

NY/T 1103.3-2006 转基因植物及其产品食用安全检测 抗营养素第 3 部分：硫代葡萄糖苷的测定

SZJG 23 农业转基因生物食用安全性要求和评价

DB 440300/T 32.2 农业转基因生物食用安全性检验 第 2 部分：毒性检验

中华人民共和国卫生部 保健食品检验与评价技术规范（2003 年版）

ISO 9167 –1992 硫代葡萄糖苷的测定方法

3 术语和定义

SZJG 23确立的术语和定义适用于本部分。

4 项目与程序

4.1 检验项目

4.1.1 受体生物抗营养作用。

4.1.2 外源基因对受体生物抗营养作用的影响。

4.2 检验程序

检验程序见图 1。

5 受体生物抗营养作用的检验

5.1 资料性审查

5.1.1 申报资料审查

对待检的转基因生物提供的受体生物食用史、抗营养作用、抗营养因子及安全控制措施的资料进行审查，分析受体生物的抗营养作用及可能存在的抗营养因子的名称及分布状态、受体生物食用方法和加工方式对其所含抗营养因子安全控制措施的作用和效果。

5.1.2 信息检索

应用国际通用的生物信息学数据库，检索受体生物的抗营养作用及可能产生的抗营养因子的名称、分布状态及分子特性。对于在国内外均无食用史，或者仅在国外少数国家有食用史，或者仅在国内少数地区有食用史的受体生物，如果在文献和数据库中无法直接检索到受体生物的信息，可检索与受体生物具有近缘关系的传统农业生物抗营养作用的信息。

注：通用生物信息学数据库的定义同 DB 440300/T 32.2 中 5.1.2 的注解。

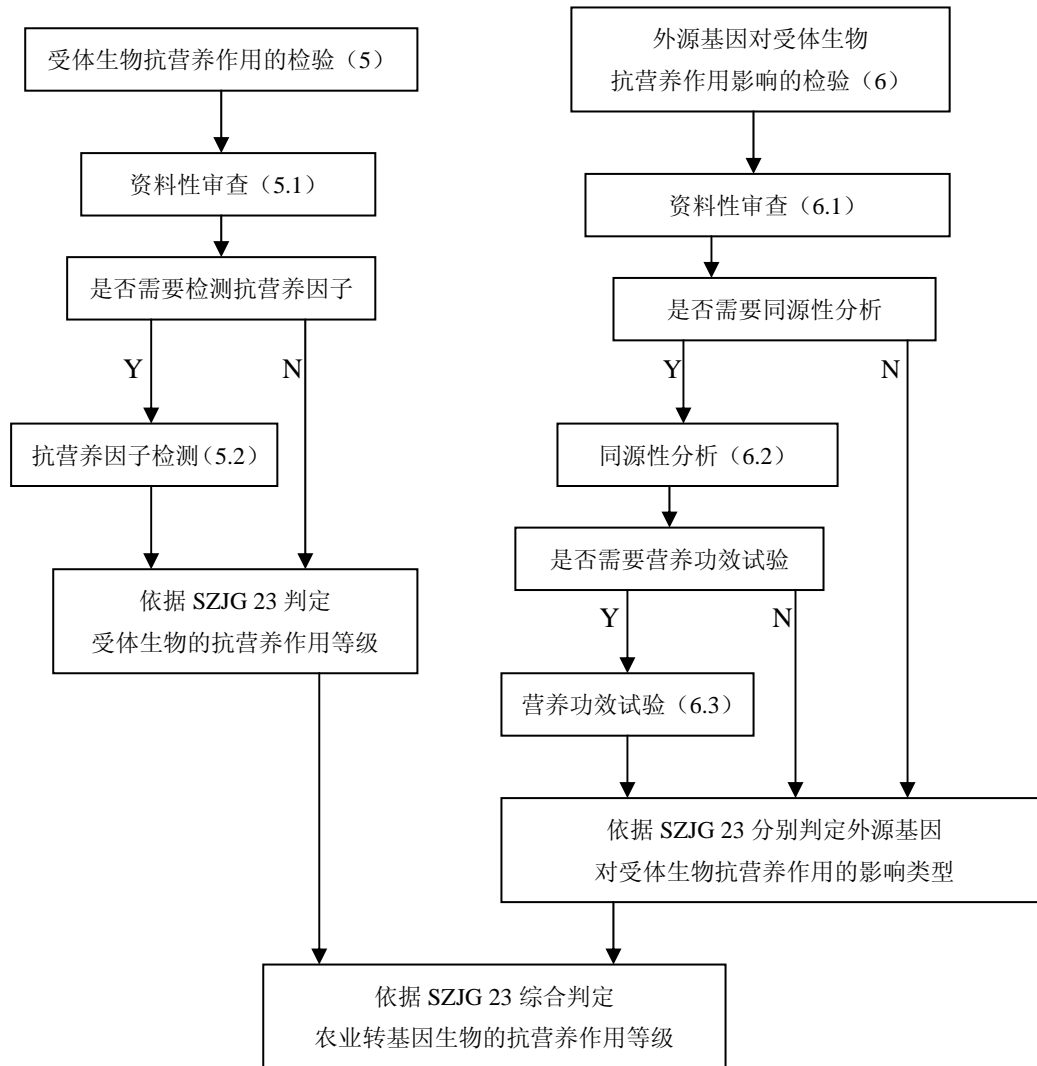


图 1 农业转基因生物抗营养作用检验程序

5.1.3 结果判定

5.1.3.1 受体生物在国内或国外有长期食用史，可判定受体生物为传统农业生物。

5.1.3.2 受体生物在国内外均无食用史，或者仅在国外少数国家有食用史，或者仅在国内少数地区有食用史的生物，可判定受体生物为非传统农业生物。

5.1.3.3 受体生物为相关文献资料和相关数据登录的含有抗营养因子的生物，可判定受体生物有抗营养因子。

5.1.3.4 受体生物为相关文献资料和相关数据登录的不含抗营养因子的生物，可判定受体生物无抗营养因子。

5.1.3.5 对于无法直接检索到抗营养作用信息的非传统农业生物的受体生物，如果与其具有近缘关系的传统农业生物不含抗营养因子，可判定受体生物无抗营养因子；如果与其具有近缘关系的传统农业生物含有抗营养因子，需要检测相应的抗营养因子。

5.2 抗营养因子检验

5.2.1 检验样品：以受体生物为试验样品，以与受体生物具有近缘关系的含有抗营养因子的传统农业生物为对照样品。

5.2.2 检验方法

根据选择检测的抗营养因子，选择下述检验方法或其他检验方法：

植酸、棉酚和芥酸的测定 参照 NY/T 1103.1—2006；

胰蛋白酶抑制剂的测定 参照 NY/T 1103.2—2006；

硫代葡萄糖苷的测定 参照 NY/T 1103.3—2006 或 ISO 9167—1992；

尿素酶活性的测定 参照 GB 8622—88。

5.2.3 结果判定

5.2.3.1 试验样品未检出对照样品所含的相应的抗营养因子，可判定受体生物无抗营养因子。

5.2.3.2 试验样品检出对照样品所含的相应的抗营养因子，可判定受体生物有抗营养因子。

6 外源基因对受体生物抗营养作用影响的检验

6.1 资料性审查

6.1.1 申报资料审查

6.1.1.1 对待检的转基因生物提供的外源基因的序列、来源及改造等相关资料进行审查，分析外源基因的供体生物及食用史。

6.1.1.2 对待检的转基因生物提供的供体生物的抗营养作用记录的相关资料进行审查，分析供体生物的抗营养作用及可能存在的抗营养因子的名称及分布状态。

6.1.1.3 对待检的转基因生物提供的目的基因的设计功能的资料进行审查，分析目的基因导入受体生物基因组后，对受体生物中抗营养因子预期产生的作用。

6.1.2 信息检索

6.1.2.1 检索供体生物在国内外食用时间、范围、方法等相关信息。

6.1.2.2 应用国际通用的生物信息学数据库（同 5.1.2），检索供体生物的抗营养作用及可能存在的抗营养因子的名称、分布状态、分子量、氨基酸序列、分子特性及相关基因序列。

6.1.3 结果判定

6.1.3.1 外源基因的全序列来源于在国内或国外有长期食用史的生物，或者外源基因的全序列与国内外已批准应用于转基因生物的外源基因的序列相同，可判定外源基因的供体生物为传统农业生物；外源基因的全序列来源于在国内外均无食用史的生物，或者仅在国外少数国家有食用史，或者仅在国内少数地区有食用史的生物，可判定外源基因的供体生物为非传统农业生物。

6.1.3.2 外源基因的序列仅部分来源于传统农业生物，或者外源基因的序列来源于对生物原有基因的改造（包括 DNA 片段的拼接、碱基置换、碱基插入或碱基删除等），或者外源基因的全序列与国内外已批准应用于转基因生物的外源基因的序列不同，可判定外源基因的供体生物为非传统农业生物。

6.1.3.3 外源基因的供体生物为相关文献资料和相关数据库登录的含有抗营养因子的生物，可判定供体生物有抗营养因子；外源基因的供体生物为相关文献资料和相关数据库登录的不含抗营养因子的生物，可判定供体生物无抗营养因子。

6.1.3.4 目的基因的设计功能为消除或者降低受体生物中抗营养因子，可判定目的基因的导入预期具有消除或者降低受体生物中抗营养因子的作用；目的基因的设计功能与受体生物中抗营养因子的存在种类或含量无关，可判定目的基因的导入不改变受体生物中抗营养因子的种类或含量。

6.1.3.5 对于供体生物为有抗营养因子的传统农业生物的外源基因，或供体生物为非传统农业生物的外源基因，需要进行同源性分析。

6.2 同源性分析

6.2.1 搜索同源基因

根据外源基因核苷酸序列，应用 GenBank 的 Blast 功能搜索同源基因。

6.2.2 序列同源性分析

6.2.2.1 如有同源基因，获取同源基因的编号、名称及其表达产物的名称、分子量和氨基酸序列（不包含前导序列）。

6.2.2.2 根据外源基因和同源基因表达产物的氨基酸顺序（不包含前导序列），按每 80 个氨基酸为一组，将表达产物分为若干个比较单位。

6.2.2.3 应用 EMBL 的氨基酸序列同源性分析软件，对外源基因和同源基因表达产物的氨基酸序列进行比对分析。

6.2.3 结果判定

6.2.3.1 未搜索到与外源基因的核苷酸序列有连续 18 个或者以上的核苷酸顺序相同的序列，可判定外源基因无同源基因；搜索到与外源基因的核苷酸序列有连续 18 个或者以上的核苷酸顺序相同的序列，可判定外源基因有同源基因。

6.2.3.2 外源基因与同源基因的表达产物每 80 个氨基酸中，有等于或者超过 35% 的氨基酸残基的顺序相同，或者有连续 6 个及以上的氨基酸顺序相同，可判定外源基因与同源基因的表达产物的氨基酸序列有同源性。

6.2.3.3 同源基因的表达产物为天然抗营养因子，外源基因与同源基因的表达产物的氨基酸序列有同源性，可判定外源基因表达产物与天然抗营养因子的氨基酸序列有同源性。

6.2.3.4 对于供体生物为非传统农业生物的外源基因，表达产物与数据库中天然抗营养因子的氨基酸顺序无同源性，需要进行营养功能试验。

6.3 营养功效试验

6.3.1 实验动物的品种和品系

6.3.1.1 常选用断乳的大鼠和小鼠，品系不限，推荐使用近交系动物。

6.3.1.2 选用符合国家二级动物要求的实验动物。

6.3.2 动物分组

6.3.2.1 分为三组：转基因生物组、受体生物对照组及标准配方饲料对照组。

6.3.2.2 小鼠每组 10 只~15 只（单一性别或雌雄比例 1：1）。

6.3.2.3 大鼠每组 8 只~12 只（单一性别或雌雄比例 1：1）。

6.3.3 样品处理

6.3.3.1 转基因生物饲料

6.3.3.1.1 在配制转基因生物饲料时，以最大量加入转基因生物为原则。

6.3.3.1.2 根据转基因食物营养成分的含量，计算其带入饲料中的各种营养成分的量，并按 AIN-93G 配方，补充饲料中不足的营养成分。蛋白质的不足可由酪蛋白补齐。

6.3.3.2 受体生物饲料

6.3.3.2.1 以转基因生物相应的受体生物代替转基因生物，配制受体生物饲料。

6.3.3.2.2 受体生物的加入量与转基因生物的加入量一致。根据受体生物营养成分的含量，计算其带入饲料中的各种营养成分的量，并按 AIN-93G 配方，补充饲料中不足的营养成分。蛋白质的不足可由酪蛋白补齐。

6.3.3.3 标准配方饲料

6.3.3.3.1 以 AIN-93G 配方，配制标准配方饲料。AIN-93G 配方由美国营养学会提供。该配方提供了满足啮齿类动物生长发育所必需的营养成分及含量。

6.3.3.3.2 受体生物饲料与标准配方比较，如蛋白质不足，可用酪蛋白补足。

6.3.4 试验方法

参照“保健食品检验与评价技术规范”规定的营养功能试验方法。

6.3.5 结果判定

6.3.5.1 转基因生物组经 28 d 或 42 d ~ 56 d 实验，其 (食物利用率)_{身长} 和 (食物利用率)_{体重} 均与对照组无显著差异，表明外源基因的表达产物对转基因生物的食物利用率无不良影响，可判定外源基因的表达产物无抗营养作用。

6.3.5.2 转基因生物组经 28 d 或 42 d ~ 56 d 实验，其 (食物利用率)_{身长} 和/或 (食物利用率)_{体重} 显著低于对照组，表明外源基因的表达产物对转基因生物的食物利用率有不良影响，可判定外源基因的表达产物有抗营养作用。
