

揭阳职业技术学院

生物工程系

授 课 教 案

2025-- 2026 学年度第一学期

课程名称 食品安全快速检测技术

班 级 食品检验检测技术 241、241 (3+)

教 研 室 食品教研室

授课教师 林潇红

模块一 绪论

授课章节	模块一 绪论				
教学时数	2 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 1.1 食品安全快速检测的定义和发展背景 1.2 食品安全现场快速检测分类及测定原理 1.3 样品采集与检测结果报告。					
教学目标及要求： 知识目标 1. 了解食品安全快速检测的定义和发展背景； 2. 了解食品安全现场快速检测分类及测定原理； 3. 熟悉样品采集与检测结果报告。 能力目标 1. 能正确认识食品安全快速检测 2. 能正确认识食品安全现场快速检测； 3. 能进行样品采集 4. 能进行检测结果报告。 素质目标 1. 通过了解食品安全快速检测，树立科学意识； 2. 通过熟悉样品采集，树立严谨的学习态度 3. 通过掌握检测结果报告，培养诚信求真的职业素养 课程思政 职业道德观，敬业精神，正确的职业价值观，将个人职业发展与社会需求相结合，在为社会提供优质食品安全检测服务的过程中实现个人价值。					
教学重点及难点： 重点：食品安全快速检测技术的定义 难点：食品安全现场快速检测分类及测定原理					
教学方法及手段：多媒体讲授					

教学过程:

模块一 绪论

一、食品安全快速检测的定义和发展背景

食品安全快速检测技术是食品安全保障的重要支撑。我国农产品、食品生产企业数量多、规模小、分散，法治和自律意识不强;加之我国人口众多，消费人群和渠道也多，因而造成了食品安全问题多发。除了环保因素和生产条件的客观因素外，大多源于对农药、兽药、添加剂等违用、滥用等违法行为所致。)要从根本上解决我国的食品安全问题，就必须对食品的生产、加工、流通和销售等各环节实施全程管理和监控，而实验室检测方法和仪器很难及时、快速而全面地从各环节监控食品安全状况，这就需要先进的能够满足这一要求的快速、方便、准确、灵敏的食品安全分析检测技术。因此，近年来这类技术发展很快，尤其以现代生物技术为基础的食品安全快速检测技术发展最快。

1.食品安全快速检测技术历史沿革

食品安全快速检测技术经历了从 20 世纪 80 年代最早的纸片发展到当今的便携式仪器，从简单的几个项目的快速检测发展到现在的上百个项目的快速检测，从初期的食物中毒突发现场处理到今天的全民食品安全预防。

食品安全快速检测技术经历 5 个阶段的变革:快速检测试剂(包括试剂盒和试纸);快速检测箱(包括试剂盒、试纸及辅助工具);快速检测仪器(读数仪器和辅助仪器);快速检测箱(包括试剂盒、试纸、辅助工具、读数仪器及辅助仪器);快速检测车。

2.食品安全快速检测的定义

食品安全快速检测没有经典的定义，是一种约定俗成的概念。即:包括样品制备在内能够在短时间内出具检测结果的行为称之为快速检测。通常认为，理化检验方法一般在两个小时内能够出结果的即可视为快速方法;微生物检验方法与常规方法相比，能够缩短 1/2 或 1/3 时间出具具有判断性意义结果的方法即可视为快速方法现场快速检测方法一般在 30min 内能够出结果，如果能够在十几分钟内甚至几分钟内出具结果的即是较好的方法。

3.食品安全快速检测技术研究进展及应用

现场快速检测方法与国家标准方法和仪器法相比具有操作简单、快速的优点，但由于大多数快速检测方法在样品前处理、操作规范性方面还有许多待完善之处，目前还只能作为快速筛选的手段而不能作为最终诊断的依据，兼具快速和准确两大优点是快速检测方法追求的目标。随着高新技术的不断应用，目前的食品安全现场快速检测主要呈现 4 大趋势:检测灵敏

度越来越高，残留物的分析水平已达到 1g;②检测速度不断加快;③选择性不断提高;④检测仪器向小型化、便携化方向发展，使实时、现场、动态、快速检测逐渐成为现实。针对我国的特殊国情，目前我国基层单位很多速测技术的应用还只处于定性或半定量水平，易用型的小型化仪器的应用是目前和今后快速检测技术的发展趋势。(1)免疫分析技术、生物化学技术和生物传感器技术

农药残留快速检测方法中主要采用的技术是免疫分析技术、生物化学技术和生物传感器技术。免疫分析技术在农药快速检测的应用研究中十分活跃，测定几十种农药的酶免疫检测试剂盒检测灵敏度高、检测快速(10min 出结果)、成本低、使用简便、安全可靠，操作人员不需特殊培训，样品不需净化，若配备小型光度计，在 1h 内即可同时完成 20 多个样品的检测，其可信度可达 95%以上。胆碱酯酶抑制的生物化学技术可以用于检测有机磷和氨基甲酸酯类农药。如速测卡法、速测片法和农药残毒光度计法，这三种方法也是目前国内应用较多的方法。农药速测卡特别适用于对农贸市场上的蔬菜进行初筛。近年来，研制出的生物传感器在检测有机磷和氨基甲酸酯类农药残留时具有灵敏度高、选择性好和检出限低 (10^{-6} 数量级)等特点。这些传感器检测速度快，几分钟内可同时检测几个样品，准确度高，经复活剂处理可反复使用。

(2)酶联免疫吸附技术

用于抗生素残留的快速检测方法主要有酶联免疫吸附检测法(ELISA)、放射免疫检测免疫传感器和生物芯片等方法。兽药残留是食品安全问题中重要的问题之一。目前在食法、用动物的饲养和疾病防治中大量使用抗生素和甾体激素等药物的现象十分普遍，兽药残留包括抗生素和盐酸克伦特罗(瘦肉精)等残留。其中抗生素包括六大类 50 余种。目前 ELISA 试剂盒已得到广泛应用，国家市场监督管理总局推荐 ELISA 试剂盒作为动物激素和抗生素残留的首选筛选试剂。ELISA 试剂盒用于盐酸克伦特罗(CLB)的检测，其优点是灵敏度高、操作简便、检测迅速且价格便宜，缺点是仍不能实现现场检测并且假阳性率较高。

(3)原子荧光光谱仪原子荧光光谱仪是我国科学工作者发明的一种高效、灵敏、快速的有害元素污染物分析仪器，已列入国家标准方法。目前已经用于食品中砷、铅、汞、铬、镉五大有害元素的检测。直接测汞仪可测定固体和液体中汞含量而不需要进行样品前处理，每一个样品可在 5~6min 内完成，检出限为 0.05ng 级。

(4)比色测定技术

我国农产品中化学有害物质和食品中添加剂的快速检测大都采用比色法，通过试纸或试

管中被检测样品的溶液颜色变化实现样品定性或定量检测。

对于食品安全快速检测技术而言，残留分析包括样品前处理和检测两大基本主题。传统样品前处理技术主要是索氏提取、液液分配、柱色谱等，现代技术涉及固相萃取技术(SPE)、固相微萃取技术(SPME)、基体分散固相萃取(MSPD)、分子印迹技术(MIT)免疫亲和色谱(IAC)、凝胶渗透色谱(GPC)、加速溶剂萃取(ASE)、超临界流体萃取技术(SFE)、微波辅助萃取(MAE)等，这些现代技术得到了广泛应用。快速检测技术通常采用化学和生物两方面分析技术。化学方面主要指化学检测试剂盒(试纸、卡)和电化学传感器等;生物方面包括免疫学方法、分子生物学技术、生物传感器技术和生物芯片等。

4. 食品安全快速检测技术在食品安全治理中的应用

我国食品及农产品品种和总体数量巨大，食品及农产品的生产、加工、流通和消费环节情况相对复杂，总体上呈现食品及农产品体量大、从业主体多、规模化程度不高、从业人员质量安全意识和技能参差不齐等现状，随着社会经济的不断发展，食品及农产品质量水平稳步提升，但仍然会出现一些食品安全风险事件，政府监管部门不断适应食品安全风险变化的形势，采取有效的治理手段，引导食品及农产品的生产、加工、流通和消费，同时，对违法犯罪行为予以打击，确保老百姓的餐桌安全。

(1)食品安全快速检测技术应用的法规基础经过十几年的快速发展，食品安全快速检测技术逐步成为食品安全管理和食品安全风险防控的重要技术支撑之一。2018年12月修正的《中华人民共和国食品安全法》第一百一十二条规定：“县级以上人民政府食品药品监督管理部门在食品安全监督管理工作中可以采用国家规定的快速检测方法对食品进行抽查检测”，该条款正式给予食品安全快速检测技术在食品安全治理过程中的法律地位。同时，为了降低食品安全快速检测技术应用的风险，该法第八十八条规定：“采用国家规定的快速检测方法对食用农产品进行抽查检测，被抽查人对检测结果有异议的，可以自收到检测结果时起四小时内申请复检。复检不得采用快速检测方法”，)通过该条款的规定，进一步明确了食品安全快速检测技术的应用范围。在实际应用过程中，基于该法的规范和食品安全快速检测技术的特性，通常将食品安全快速检测技术作为一种快筛手段，参与到食品安全的治理工作过程中。采用食品安全快速检测技术进行快筛，获得高风险食品及农产品质量安全风险线索，在实验室方法监督抽检的过程中侧重高风险食品及农产品的抽检，有效地提高了监督抽检工作的靶向性，提升了不合格食品及农产品的检出率。2017年，国家食品药品监督管理总局陆续发布蔬菜中敌百虫、丙溴磷、灭多威、克百威、敌敌畏残留，动物源食品中克伦特罗、莱克多巴胺及沙丁胺醇，水产品中孔雀石绿、硝基呋喃类代谢物，食品中呕吐毒素、罗丹明 B、亚硝酸盐、

吗啡、可待因，食用油中黄曲霉毒素 B、液体乳中黄曲霉毒素 M₁等有毒有害物质的快速检测技术和产品标准，一方面，着手对食品安全快速检测产品进行了规范;另一方面，为食品安全快速检测技术的应用创造了更好的条件，推动了食品安全快速检测技术的科学发展。

(2)食品安全快速检测技术在农产品种植、养殖过程中的应用由于食品安全快速检测技术具有操作简单、不受检测场所限制等特性，符合现场检测的需要，在实际应用过程中，种植、养殖企业或食品及农产品监管部门可以采用检测箱、便携式检测仪等快速检测产品，在田间、地头等现场开展快速检测，从源头着手进行食品安全风险防控。

(3)食品安全快速检测技术在食品及农产品流通环节的应用近几年，全国各地在主要的食品及农产品交易市场建立了食品及农产品快速检测工作站，对进入市场交易的食品及农产品进行抽样检测，并及时将检测结果予以公示，有效地防范了有毒有害食品及农产品进入交易市场，提升了老百姓的食品及农产品消费信心。

餐饮及酒店场所，特别是大中专院校、中小学、幼儿园食堂具有集中就餐人数多、备餐作业周期短、操作环境控制水平不一的特点。采用食品安全快速检测技术，一方面，加强对食品及农产品采购过程中的质量验收，把好入口关;另一方面，通过对加工环节过程中的工具、餐饮具的快速检测，促进后厨严格执行标准化作业流程，加强清洁和消毒，确保不发生群体性感染事件。

(4)食品安全快速检测技术在餐饮及酒店食品安全风险防控中的应用

另外，重大活动的餐饮食品安全保障也往往采用食品安全快速检测技术作为重要的食品安全风险防控技术手段。最近几年，在我国举办的世界互联网大会、二十国集团领导人峰会、金砖国家峰会、全国学生运动会等重大活动举办过程中均采用实验室抽检与快检结合的方式，有效地防范了食品安全事故的发生，确保重大活动的安全、有序召开。

(5) 物联网、大数据等信息化技术与食品安全快速检测技术的结合

伴随着食品安全快速检测技术的发展，食品安全快速检测仪器装备也迎来了快速发展的机会，社会上不断出现一些物联网终端形式的食品安全快速检测和在线监测设备，即时反馈各环节食品及农产品质量安全现状，丰富了我国建立食品安全追溯系统的基础信息，并借助大数据分析应用，更好地服务于食品安全风险防控。

展望未来，食品安全快速检测技术将更进一步成为食品从业主体履行主体责任和政府监管部门实施食品安全监管和风险防控的重要手段，区块链等新技术在食品安全快速检测和治理领域的出现，也将更好地为消费者创造参与食品安全社会共治的条件。总之，食品安全

快速检测技术及其应用具有广阔的发展空间，努力从事食品安全快速技术的学习、研究和应用，将为我国食品及农产品质量安全水平的提升做出重要的贡献。

二、食品安全快速检测分类及测定原理

1. 食品安全快速检测分类

食品安全快速检测分为现场快速检测和实验室快速检测。实验室快速检测着重于利用可以利用的仪器设备对检测样品进行快速定性与定量;现场快速检测着重于利用一切可以利用的手段对检测样品快速定性与半定量。现场的食品快速检测方法要求:①实验准备简化,使用的试剂较少,配制好的试剂保存期长;②样品前处理简单,对操作人员要求低;③分析方法简单、准确和快速。

(1)按照检测技术手段分类

目前国内外食品安全中常用的快速检测技术有化学比色分析检测技术、酶抑制技术、生物化学快速检测技术、免疫分析技术以及纳米技术等。

①化学比色分析检测技术食品安全快速检测中常用的如纸片法、试剂盒(卡)等法,与一般的仪器分析方法相比,具有价格低、操作相对简便、结果显示直观、一次性使用、不需检维修维护、专一性等优点,但方法灵敏度较低。

②酶抑制技术 测定样品的种类有限,主要针对有机磷和氨基甲酸酯类农药,欧美将酶法作为普查农残和田间实地检测的基本手段,但酶法的假阳性、假阴性率也较高。③免疫分析技术可较好地测定有机磷、氨基甲酸酯类等几十种农药,这也是目前国外发展的主流技术;对于兽药残留的检测,所用仪器和试剂盒(卡)一半以上依赖进口,价格较高,国产产品的质量与价格都不具备明显优势,推广受到限制;用于毒素的测定,包括侧流式免疫吸附法和 ELISA,后者是国外的主流技术,毒素的快速检测技术在国内应用较少,非常有必要发展重要毒素的免疫分析技术。④生物化学快速检测技术主要用于大肠菌群的检测,应用领域涉及鲜乳中菌落总数快速测定、畜禽产品大肠菌群快速测定等。致病微生物快速检测的主流技术大多为国外技术。

⑤纳米技术 2003 年以后才逐渐在食品安全快速检测中应用,目前发展迅速。纳米技术与生物学、免疫学等技术结合应用于食品快速检测是近年来的研究趋势。

(2)按照检测项目分类目前分为农药残留、兽药残留、微生物、重金属、毒素、添加剂及化学品、包装材料等的检测。

①农药检测 农药是在农业生产中,为保障、促进植物的成长,所施用的杀虫、杀菌、杀

灭其他有害动物(或杂草)的一类药物的统称。根据原料来源可分为有机农药、无机农药、植物性农药、微生物农药,此外,还有昆虫激素。根据加工剂型可分为粉剂、可湿性粉剂、可溶性粉剂、乳剂、乳油、浓乳剂、乳膏、糊剂、胶体剂、熏烟剂、熏蒸剂、烟雾剂、

油剂、颗粒剂、微粒剂等。大多数是液体或固体,少数是气体。因为农药的大量使用,已经使得害虫的抗药性大大增强。研究表明,至少有 500 多种昆虫对一些农药具有抗药性。近几年的检测结果显示,蔬菜农药残留量的抽查结果最为引人关注。有资料显示,全国 23 个大中城市的大型蔬菜批发市场,有 47.5%的蔬菜农药残留量超过国家标准,其中包括非法使用国家禁用和限用的农药。

②兽药检测习惯上将用于预防和治疗畜禽疾病的药物称为兽药。兽药残留是指给动物使用药物后蓄积或储存在动物细胞、组织或器官内的药物原形、代谢产物和药物杂质。世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会(JECFA)1987 年第 32 次会议将兽药残留分为七类:抗生素类、驱肠虫药类、生长促进剂类、抗原虫药类、灭锥虫药类、镇静剂类和 B-肾上腺素类,如土霉素、四环素、氯霉素等,特别是近年来的瘦肉精。

③重金属检测 重金属指相对原子量较大的金属元素,比如汞、铅、镉等;砷也可算重金属,但不是我们传统意义上的金属。通常来讲,重金属对人都有毒害作用。由于水域污染、土壤污染、大气污染等环境污染造成种植业、养殖业的农副产品的重金属污染。④生物毒素检测生物毒素(《海洋化学词典》中的概念)指海洋动植物和微生物产生的危害人类或其他生物生命过程的一类活性化学物质。目前估计有毒的海洋生物大约在 1000 种以上,但充分阐明有毒成分的化学结构和毒理作用的仅几十种。生物毒素中最主要的一类是各种霉菌产生的毒素,如由镰刀菌、黄曲霉菌、黑曲霉菌等产生的毒素。这些毒素可以在植物上生长繁殖而且往往深入其内部,用浸泡、清洗、去皮等办法均难以彻底清除干净。

⑤添加剂检测 添加剂泛指为提高产品质量、性能和使用效果采用的配合料或辅助料,添加到产品主要原料当中,从而改善产品性能,主要用于印染、食品、饲料等行业。2018 年 12 月修正的《中华人民共和国食品安全法》中定义食品添加剂,指为改善食品品质和色、香、味以及为防腐、保鲜和加工工艺的需要而加入食品的人工合成或者天然物质,包括营养强化剂。化学合成的食品添加剂一般有一定的毒性,超限量使用食品添加剂可能对人体造成一定的危害,特别是非法使用国家禁用或限用的添加剂对人体有很大危害,所以使用时要严格控制使用量。饲料添加剂指为满足特殊需要而在饲料中加入的少量或微量营养性或非营养性物质。

⑥分子生物学分析检测技术择性增菌后，不需分离，即可采用免疫技术满足产品包装要求所使用的材料，既包括金属、塑料、玻璃、陶瓷、纸、竹本、天然纤维化学纤维、复合材料等主要包装材料，又包括涂料、黏合剂、捆扎带、装潢材料、印刷材料等辅助材料。当前国际上对用于包装材料的添加剂管理分为两大类，一是允许使用的“许可名单”，二是禁用助剂的“禁用名单”。经过多年实践，发现“禁用名单”存在着一个很大的缺陷，缺少对新物质的约束力。当一种新物质出现时，因为它不在现有的“禁用名单”列，因此可以随便应用于食品包装材料当中，法规无法管理，因此原来制定“禁用名单”的日本和韩国纷纷转向“许可名单”制度，欧美和中国都采用“许可名单”制度。

2.食品安全现场快速测定原理

(1)化学比色分析检测技术

化学比色分析检测方法主要分为:试纸色谱比色测定、试纸比色测定、试管比色测定、滴定比色测定四种方法。①试纸色谱比色测定根据固定相基质的形式可以分为纸色谱、薄层色谱和柱色谱,其中纸色谱是指以滤纸作为固定相的色谱,其原理是利用被分离物质的物理、化学及生物学特性的不同,使它们在某种固定相中移动速度不同而进行分离和分析的方法。

试纸色谱比色

测定目前用于快速测定苏丹红、瘦肉精等有害物。②试纸比色测定 根据待测成分与经过特殊制备的试纸作用所显的颜色与标准比色卡对照,对待测成分定性或半定量。例如,用试纸显色定性作为限量指示测定农药等;用试纸显色的深浅来半定量测定食用油的酸价、过氧化值等。

③试管比色测定 根据待测成分与标准试管所显的颜色比较,对待测成分定性或半定量。例如,用试管显色作为限量指示测定鼠药、未熟豆浆等;用试管显色的深浅半定量测定亚硝酸盐、甲醇、二氧化硫等。试管比色测定可以是目视,也可以用便携式光度计。目前应用便携式仪器对某些成分进行定性或定量的研究比较多,而且市场应用也比较广泛,如便携式甲醇速测仪、农药残留速测仪、食品添加剂速测仪、酸度计、电导仪等。

④滴定比色测定 用刻度或小口滴瓶分别滴定标准溶液和待测溶液,通过计算对待测成分进行定量。例如,酸碱、络合、氧化还原性物质等。

(2)分子生物学分析检测技术

聚合酶链式反应(PCR)是近年来分子生物学领域中迅速发展和广泛应用的一种技术 PCR

技术主要用于检测细菌，其基本原理是应用细菌遗传物质中各菌属菌种高度保守的核酸序列，设计出相关引物，对提取到的细菌核酸片段进行扩增，用凝胶电泳和紫外核酸检测仪观察扩增结果。从样品前处理到 PCR 扩增及得出实验结果 24h 内成。目前，免疫捕获 PCR 法、荧光定量 PCR 法、细菌直接计数法、ATP 生物发光法、微型自动荧光酶标法以基因芯片技术等分子生物学分析检测技术已经应用到食品安全快速检测中。

(3)免疫学分析检测技术

免疫学分析检测技术通过抗原和抗体的特异性结合反应，再配合免放大技术来鉴别菌。免疫学分析检测技术的优点是样品在进行选择性增菌后，不需分离，即可采用免疫技术进行筛选。由于抗原-抗体反应的特异性，所以该方法的种类特别多，目前用于食品安全测的技术主要有免疫磁珠分离法、免疫检测试剂条、免疫乳胶试剂、免疫酶技术、免疫深法或免疫色谱法等。免疫法有较高灵敏度，增菌后可在较短的时间内达到检出度，抗原和抗体的结合反应可在很短的时间内完成。

(4)纳米技术

普通的 ELISA 技术采用的酶标板是一个固相载体，具有固/液相反应接触面积小、连接的抗体易脱落、反应速度慢且不彻底等缺点。目前研究成功的磁分离酶联免疫吸附技术(MS-ELISA)是一种以磁性纳米材料代替传统 ELISA 中的酶标板，将 ELISA 的显色系统与磁分离技术相结合而形成的一种新型检测方法。这种技术主要利用纳米材料的高比表面积、易于形成胶体溶液等特性，使抗原-抗体分子接触面积变大，反应较为彻底;此外，分离使缓冲液的交换操作更为简便快速，灵敏度也得到了提高。目前该技术已广泛应用于食品的快速检测中。

三、样品采集与检测结果报告

1.样品采集

食品安全现场快速检测采样时必须注意样品的生产日期、批号、代表性和均性，采样数量应能满足样品检测项目的需求，一式三份，供检验、复检、备检或仲裁用。

(1)采集样品分类

食品安全现场快速检测样品通常分为客观样品和主观样品两大类。①客观样品 在经常性和预防性食品安全卫生监督管理过程中，为掌握食品安全卫生质量，对食品生产、流通环节进行定期或不定期抽样监测。通常包括下面几方面。

8.食品生产流通过程中，原料、辅料、半成品及成品抽样检验的样品，包括生产企业自检和监督管理部门的监测;

b.食品添加剂的行政许可抽检样品;

c.新食品资源或新资源食品的样品等。

②(主观样品 针对可能不合格的某些食品或有污染食物中毒或消费者提供情况的可疑食品 and 食品原料, 在不同场所选择采样。通常包括以下几种情况。a.可能不合格食品及食品原料;

b.可能污染源, 包括容器、用具、餐具、包装材料、运输工具等;c 发生食物中毒的剩余食品, 患者呕吐物、排泄物、血液等;

d.已受污染或怀疑受到污染的食品或食品原料;

e.掺混 x 娃假掺杂的食品;

1.超期食品及消费者揭发不符合卫生要求的食品

(2)采样原则采样时通常考虑样品的代表性、典型性、时效性及样品检测的程序性。①样品采集的代表性, 这在采样中非常重要。食品因其生产批号、原料情况(来源、种类、地区、季节等)、加工工艺、储运条件以及生产、销售人员的责任心和安全卫生意识对食品质量有很重要的影响。所以, 采样时必须考虑这些因素, 使采集的样品能够真正反映被采集样品的整体水平。

②样品采集的典型性选择性样品的采集要注意针对性地采集能够达到监测目的的典型样品。通常包括下面几种情况。

8.重大活动的食品安全保障, 应采集影响食品安全的关键控制的样品;6.污染或疑似污染的食品, 应采集接近污染源的食品或易被污染部分, 同时还应采

确实被污染的同种食品样品以做对照试验;

c.引起中毒或怀疑引起中毒的食品, 这类样品种类较多, 有呕吐物、排泄物、血肠胃内容物、剩余食物、药品和其他相关物质, 尽量针对性地选择含毒量最多的样品:d.掺假或怀疑掺假的食品, 针对性地采集有问题的典型样品, 而不能用均匀的代表。

③样品采集的时效性)采样后应立即检测, 如果不能立即检测, 应采用适当的方法存, 避免腐败变质造成失效或者污染。

④ 样品检测的程序性)采样、检验、留样、报告均应按规定的程序进行, 各阶段都要有完整的手续, 责任分清。

(3)采样工具和容器① 常用工具 钳子、螺丝刀、小刀、剪子、罐头或瓶盖开启器、手电筒、蜡笔、镊子、笔、胶带、记录纸等。

②专用工具 根据样品性质不同, 需选用不同的采样工具。

a.长柄勺, 用于散装液体样品采集。

b.玻璃或金属管采样器, 适用于深型桶装液体食品样品的采样 c.金属探管或金属探子, 适用于采集袋装的颗粒或粉末状样品;d.取证设备等。

③采样容器采样时根据采集样品的性质注意采样容器的选择。

a.容器密封性好, 内壁光滑, 清洁干燥, 不含待测物质及干扰物质。

b.盛液体或半液体样品的容器, 用具塞玻璃瓶、具塞广口玻璃瓶、塑料瓶等。

..盛固体或半固体样品的容器, 用不锈钢、铝制、陶瓷、塑料制的容器。

d.大宗食品采样备四方搪瓷盘, 现场分样用。

e.容器的盖或塞子必须不影响样品的气味、风味、pH 值及食物成分。

f.酒类、油性样品忌用橡胶瓶塞;酸性食品忌用金属容器;测农药的样品忌用塑料容器。

(4)采样技术

①常规采样)首先做好现场采样记录、样品编号、留样工作。

8.现场采样记录主要包括;被采样单位, 样品名称, 采样地点, 样品产地、商标、量、生产日期、批号或编号, 样品状态, 被采样的产品数量、包装类型及规格, 感官所(包装破损、变形、受污染、发霉、变质、生虫等), 采样方式, 采样目的, 采样现场环境件(包括温度、相对湿度及一般卫生状况), 采样机构(盖章)、采样人(签名), 采样日

期等。6.采集的样品必须贴且标签)明确标记样品名称、来源、数量、采样地点、采样人及采样日期等内容, 现场编号一定要与检测样品及留样编号一致。。甲样要注意下面几点;保持样品原来状态, 易变质的样品要冷藏, 特殊样品需在场做相应的处理。

②无菌采样)现场检测的无菌采样用具、容器要进行灭菌处理;操作人员采样前先 75%酒精棉球消毒手, 再消毒采样开口处的周围。

③不同样品采集 由于样品形态、包装等差异, 采样方法也不同。a 散装食品 液体、半液体以一池或一缸为单位, 采样前, 先检查样品的感官性状,均匀后再采样。如果池或缸太大, 难以混匀, 可根据池或缸的高度等距离分为上、中、下三层, 在四角和中间不同部分三层中各取同样量的样品混合后, 供检验用。流动液体采样, 定时定量从输出口取样, 后混合供检验用。固体样品可按堆型和面积大小采用分区设点或按高度分层采样。分区设点, 每区面积 <50m², 设中心、四角五个点;两区界线上的两个点为两区共有点, 如两个区设 8 个点, 三个区设 11 个点, 依次类推, 边缘点距边缘 50cm 处。如果分层采样, 要先上后下逐层采样, 各

样点数量一样，感官检查后，如性状基本一致，可

混合成一个样品;如不一致，则分装。**b.大包装食品** 一般情况下大包装液体样品容器不透明，很难看到容器内物质的实际情况，用采样管直通容器底部取出样品，检查是否均匀，有无杂质、异味等，然后搅拌均匀，共检验用。颗粒或粉末状如粮食、白砂糖等堆积较高，一般分上、中、下三层，用金属探子从各层分别取样，每层从不同方位采样数量一样，选取等量袋数，每袋取样次数一样，感官性状相同的混合在一起，不同的分别盛放。无论哪种采样，如样品数量较多，都应混合均匀，用四分区法平均样品。

c.小包装食品(<500g/包)每一生产班次或同一批号的产品，随机抽取原包装食品2~4包。

d.其他食品 肉类，同质的肉类按照上、中、下的采样原则，不同质的先分类后分别取样，也可以根据要求重点采集某一部位。鱼类，同质鱼堆在四角和中间分别采样，尽量从上、中、下三层抽取有代表性的样品。一般鱼类都采集完整的个体，大鱼(0.5kg左右)三条作为一份样品，小鱼0.5kg为一份。食具:大食具2只、中食具5只、小食具10只，作为一份样品。

④食物中毒样品 采集剩余食物、呕吐物、排泄物及洗胃液，炊具、容器，患者血液或尿液，带菌者检查的样品，尸体解剖标本，原料、半成品及成品。注意，食物中毒样品的采集数量比普通采样数量多一些，便于反复试验;各种样品的采集要注意无菌操作，防止污染;及时、准确，有代表性，手续完备，检验目的明确，重点突出。

2.结果报告

(1)现场快速检测中常用的计量和计数单位

。质量单位:kg 一千克，g 一克，mg 一毫克， μg 一微克。

。体积单位:L 一升，mL 一毫升， μL 一微升。

。时间单位:h 一小时，min 一分钟，s 一秒。

长度单位:m 一米，cm 一厘米，mm 一毫米。

• 电导单位:S-西门子，mS-毫西门子， μS 一微西门子。

浓度单位:mg/100g，mg/100mL，g/100g，g/100mL，g/kg，mg/kg，mg/L， $\mu\text{g/kg}$ ， $\mu\text{g/L}$ 。

(2)现场快速检测结果的表述

食品安全现场快速检测的方法主要是定性检测、限量检测和半定量检测。

①定性检测

阳性:表示检出了有毒有害物质。

阴性:表示未检出有毒有害物质。

② 限量检测

合格:表示检测结果在标准规定值范围内。不合格:表示检测结果超出或达不到标准规定值。

③半定量检测与限量检测方法的表述形式相同,或者与标准规定数值比较得出具体数据表示检测结果。

(3)食品安全现场快速检测结果报告

食品安全现场快速检测报告中不但要包括检测结果及处理意见,同时样品的相关信息也非常重要、主要包括:样品名称、样品来源、样品数量、编号或批号、采样或送样单位、采样或选样人、样品状态及包装、标示保质期、检测项目、检测依据等,除此之外,还有检测报告单编号、检验日期、检验者、核对者及签发人等内容。实际工作中,要根据现场的具体情况选择需要的样品信息、同时每份报告可以报告一份样品的检测结果,也可以同时出具数份样品的检测结果,样品数量较少时和数量较多时,可以选择不同的报告形式。

作业布置:

- 1.简述食品安全问题多发的原因。
- 2.常用食品安全快速检测技术及其应用。
- 3.如何控制或减少食品安全事件的发生?
- 4.制约食品安全现场快这检测技术发展的因素
- 5.实验室快速检测与现场快速检测的优缺点。
- 6.叙述纸色语比色测定法展开剂的选择原理。
- 7.讨论食品安全现场快速检测的分类方法及其优缺点。
- 8.定性、半定量、定量概念结果表述方法。
- 9.试述采集食物中毒样品时,遵循的原则及采样方法。
- 10.检测报告中必须包括的检样信息有哪些?

参考资料:

主要参考书:

- 1、《食品安全快速检测与预警》 孙远明 化学工业出版社 2017年
- 2、《食品安全快速检测技术》 朱克永 科学出版社 2010年
- 3、《食品安全快速检测》 段丽丽 北京师范大学出版社 2014年

- 4、《食品安全检验技术》 吴晓萍 河南医科大学出版社 2012 年
- 5、《食品安全检验技术》 范俐 厦门大学出版社 2013 年
- 6、《食品质量与安全检验实验》 余以刚 中国标准出版社 2014 年

模块二 快速检测技术分类

授课章节	模块二 快速检测技术分类				
教学时数	4 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 2.1 理化快速检测技术 2.2 免疫学快速检测技术 2.3 分子生物学检测技术。					
教学目标及要求： 知识目标 1. 熟悉理化快速检测技术原理及分类； 2. 熟悉免疫学快速检测技术原理及分类； 3. 了解分子生物学检测技术原理及分类。 能力目标 1. 能正确运用理化快速检测技术于实际操作中 2. 能正确运用免疫学快速检测技术于实际操作中； 3. 能正确运用分子生物学检测技术于实际操作中 素质目标 1. 通过了解几类快速检测技术，树立科学意识； 2. 通过掌握检测结果的判断，培养诚信求真的职业素养 课程思政 严谨细致的科学作风，社会责任感，让他们意识到自己作为未来快速检测技术领域的从业者，肩负着维护公众健康和社会稳定的重要使命，必须以高度的责任心和敬业精神对待每一项检测任务					
教学重点及难点： 重点：食品安全快速检测的基本技术类型 难点：免疫学快速检测技术原理及分类					
教学方法及手段：多媒体讲授					
教学过程：					

模块二 快速检测技术分类

项目一理化快速检测技术

一、化学比色技术

化学速测法主要是根据有机磷农药的氧化还原特性。有机磷农药(磷酸酯、二硫代酸酯等)在金属催化剂作用下水解为磷酸肌醇等，水解产物和检测液反应，使检测液的紫红色褪去变成无色。该方法的特点是避免了用酶的不稳定性，但该方法局限于有机磷农药，灵敏度不高，易受一些还原性物质的干扰。

化学比色技术是利用迅速产生明显颜色的化学反应检测待测物质，通过与标准比色卡相比较进行目视定性或半定量分析。目前，常用的化学比色法包括各种检测试剂和试纸，随着检测仪器的不断发展，与其相配套的微型检测仪器也相应出现。化学比色分析技术在有机磷农药、硝酸盐、亚硝酸盐、甲醛、二氧化硫、吊白块、亚硫酸盐等化学有害物质和菌落总数、大肠菌群、霉菌、沙门菌和葡萄球菌等微生物的检测方面已经得到广泛应用。

化学比色分析法是根据食品中待测成分的化学特点，将待测食品通过化学反应法，使待测成分与特定试剂发生特异性显色反应，通过与标准品比较颜色或在一定波长下与标准品比较吸光度值得到最终结果。化学比色分析法是目前应用比较普遍与成熟的理化快速检测方法，被广泛应用于各类食品分析中。

1.化学速测卡

目前比较常用的化学比色方法包括各种检测试剂和试纸，两者检测原理相同，在试纸上进行反应就是把化学反应从试管里移到滤纸上进行，按反应本质说，都是利用迅速产生明显颜色的化学反应定性或半定量检测待测物质。

目前，配套化学速测卡使用的便携式农药残留速测仪已经在市场上得到了应用

2.化学速测仪

随着检测仪器的不断发展，与其相配套的微型检测仪器也相应出现。与试剂检测方法相配套的微型光电比色计目前已发展得比较成熟，这方面国内技术水平与国外相差不大，如吉大小天鹅的五合一食品安全检测仪及军事医学科学院的微型光电检测仪。与试纸检测方法配套使用的光反射仪，目前国内针对这方面的研究已开始起步，还没有商品化的仪器问世。国外已商品化的产品如德国默克公司生产的与试纸联用的光反射仪，大小只有 19cmX8cmx2cm。反射仪侧面有一个供插入试纸条的小门，其中有一个由金属弹簧控制、可以让光线通过的小窗口。仪器采用电池作电源，光电二极管作光源。光线照射到试纸条上后，一部分光线被试

纸条吸收，另一部分被反射到一个 Cds 光电池，通过微安计来检测电流，转化为浓度单位后直接显示在显示屏上。仪器本身有一个计时器和一个蜂鸣器，保证每次测定有相同的反应时间。反射仪的出现，不仅极大地提高了测定结果的精确度，而且使试纸法由原来只能进行定性、半定量分析发展为可根据需要直接进行定量检测的分析方法。国内目前也在积极开展这方面的研究，如军事医学科学院高志贤课题组，在借国外先进仪器的基础上一直在开展检测试纸与小型光反射仪联用的研究。化学比色分析法与一般的仪器分析方法相比，具有价格便宜、操作相对简便、结果显示直观、一次性使用、不需检修维护、具有一定的灵敏度和专一性等优点。

(1)适用范围

主要用于果蔬、茶、粮食、水及土壤中有机磷和氨基甲酸酯类农药的快速检测，特别适用于农产品质量检测站的快速检测，果蔬生产基地和专业户采摘前田间、地头检测，农贸批发销售市场现场检测，酒楼、食堂、家庭果蔬加工前安全检测。

(2)检测原理

便携式农药残留速测仪是根据国家标准《蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量快速检测》GB/T5009.199-2003 中速测卡法(纸片法)而专门设计的仪器。仪器的检测原理是利用速测卡中的胆碱酯酶(ChE)(白色药片)可催化靛酚乙酸酯(红色药片)水解为 Z 酸和靛酚，由于有机磷和氨基甲酸酯类农药对胆碱酯酶的活性有强烈的抑制作用，因此，根据显色的不同，即可判断样品中含有机磷或氨基甲酸酯类农药的残留情况。

(3)注意事项

①本方法是生物化学反应，应尽可能避免一些物理和化学因素对酶活性的影响。反应最适 pH7.5 左右，测样偏酸或偏碱时应改用磷酸缓冲液浸提处理。反应中，药片表面应保持湿润，最好将每一批样品处理后统一加样，以免时间过长，水分蒸发。葱、蒜、萝卜、韭菜、芹菜、香菜、茭白、蘑菇及番茄汁液中含有对酶活性有影响的植物次生物质，容易产生假阳性。处理这类样品时，不宜剪切过碎，浸提时间不宜过长，以免液汁过多释放影响检测结果。必要时可采用整株(体)蔬菜浸提的方法进行测定。农药速测卡在常温条件下有效期为 1 年，储存时要求放在阴凉、干燥和避光处，有条件者放于 4℃ 冰箱中最佳。农药速测卡开封后最好在 3 天内用完，如一次用不完可存放在干燥器中。

②果蔬农药残留快速检测卡，是用对农药高度敏感的酶和基质做成的卡片，可以快速检测蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯这两大类用量较大、毒性较高的农药的残留情况。选用的酶对农药

敏感，抗干扰性强，操作简便，可以不需要配制试剂，不需要专业的技术培训，任何仪器设备可单独使用，也可配套农药残留快速检测仪使用，提高检测效率。产品容易储存，携带方便，是现场检测的最佳方法。现国内各大果蔬批发市场都已把果蔬农药残留快速检测卡作为常规的检测方法。用此法先对大量的样品进行初筛，然后再用仪器法对少量阳性样品进行定量分析，就可以大大提高工作效率，节省检测成本。

③ 在微生物检测方面，美国 3M 公司的 Petrifilm™ Plate 系列微生物测试片，可分别检测菌落总数、大肠菌群数、霉菌和酵母菌数。用于菌落计数的可再生的水合物干膜，由上下两层薄膜组成，下层的聚乙烯薄膜上印有网格并且覆盖有培养基，上层是聚丙烯薄膜。生化试剂有特异性显色物质和抗生素。待测样品处理后不需要增菌，直接接种纸片，适宜温度培养后计数。Petrifilm 测试片已经通过国际组织 AOAC 的认可。法国相关协会创办了一个食品微生物检测精确度比对项目--RAEMA，自 1988 年以来，共 450 个实验室参与，其统计结果中有 15% 的实验室用 Petrifilm 测试片进行检测。检测对象包括大肠菌群、金黄色葡萄球菌等，并且结果显示用 Petrifilm 测试片有更高的检出率。许多实际样本试验也显示 Petrifilm 测试片法与传统方法相比在统计学上无显著性差异。表 1-1 列举了部分化学比色分析法在食品污染物快速检测中的应用。

二、酶抑制技术

酶抑制技术是利用有机磷和氨基甲酸酯类农药抑制胆碱酯酶的特异性生化反应。酶抑制技术是研究比较成熟、在国内应用广泛的速测技术之一(表 1-2)。

胆碱酯酶主要分为乙酰胆碱酯酶(AChE)和丁酰胆碱酯酶(BChE)，农药对其抑制由于来源不同而有差异，对农药残留的检测精度也因不同品种的农药产品而不同，主要有酶抑制率法、速测卡法和酶生物传感器法

1、酶抑制率法(分光光度仪法)

有机磷和氨基甲酸酯类农药对胆碱酯酶的正常功能有抑制作用，其抑制率在一定范围与农药浓度呈正相关。正常情况下，酶催化神经代谢产物(乙酰胆碱)水解，其水解产物显色剂反应产生黄色物质，在分光光度计 40nm 处有最大吸收峰:如果有农药抑制了活性，就不能水解乙酰胆碱，与显色剂反应则无色。通过测定其吸光度即抑制率来确定话、进而确定农药残留量。

目前，国内大多数农药残留速测仪都是利用颜色的变化(吸光度)原理研究设计。不同公司研制的仪器大同小异，只是有的用乙酰胆碱酯，有的用丁酰胆碱酯，在和底物向用方面存在美

异，从而判定抑制率也存在差异，如农业农村部农药研究所设计的农药速测选用的丁酰胆碱酯酶、而厦门欧达科仪公司和上海光电技术研究所等设计的农残速测仪用的是乙酰胆碱酯酶。

2 速测卡(纸片)法

胆碱酯酶可催化靛酚乙酸酯(红色)水解为乙酸与酚(蓝色)，有机或氨基甲酸类农药对胆碱酯酶有抑制作用，使催化、水解、变色过程发生变化，导致片颜色呈浅蓝色或白色不变，与对照比较可判断出是否含有农药残留。不同公司生产的速测卡有的是利用 Z 酰胆碱酯酶，有的是用丁酰胆碱酯酶，性能各有优劣，对不同农药品种的敏感性也不同，对有机磷和氨基甲酸酯类农药残留检测限在 0.01-8mg/kg、酶抑制技术检测农药残留操作简便、快速、灵敏、经济，样品无须净化，但此方法只能定性，不能定量，在检测韭菜、葱、蒜、萝卜、香菜、茭白、菇及番茄时容易受干扰，只能用作有机磷和氨基甲酸酯类农药残留的初筛

3.酶生物传感器法

酶生物传感器(Enzyme Biosensor, FBS)是以酶为敏感元件的一种传感器，主要由识别底物的固定化层和与之密切结合的信号转换器组成。其工作原理是酶催化底物转换成产物、产物被转换器检测并转换为可定量的信号输出，从而达到检测被测底物浓度的目的，目前用于农药残留检测的生物传感器类型有:电流型生物传感器、电位型生物传感器、电压生物传感器、光纤生物传感器等。其中电流型生物传感器结构简单、酶层和转换器能紧密接触，灵敏度较高。Stoyicheva 用化二亚胺共价键合乙酰胆碱酯酶在石墨电极表面，敌百虫的检测限为 0.3pg/L。乙酰胆碱酯酶包埋于聚乙烯醇-季铵盐(PVA-SbQ)聚合薄层中，构成电流型酶生物传感器，检测有机磷农药，对氧磷和毒死蜱的检测限为 0.3pg/L 和 2.4pg/L。MarioreU 等用一步制备法制备环氧树脂电极，把乙酰胆碱酯酶和组成环氧树脂电极的组分混在一起制备复合电极，从而把酶的固定化和电极的制备过程合二为一，此方法的最大优势是解决乙酰胆碱酯酶的重复使用问题，只需把电极表面重新抛光，去掉失活的表层，即可得到具有原始酶活性的新表面，去除了用变性剂恢复活性的麻烦

三、便携式色谱-质谱联用仪

随着与检测技术相关的各种配套装备的不断发展、近几年针对食品安全的检测车使根本无法应用到现场的一些检测方法得到进一步应用，车载的色谱-质谱联用仪主要由主机空设备、采样探头、专用笔记本电脑四部分组成，优点是可以较快速地检测到低的污染，并能分析污染物质的化学成分，而且与仪器相配套的笔记本电脑里还储存有两千种有害化合物的分析材料，可以针对检测的物质立即从电脑里调出相关的资料进行分析，选取处置方法。随着国家对食

品安全的重视，目前我国的许多相关单位已配备了食品安全检测车，这为便携式色谱-质谱联用仪的应用和推广提供了广阔的发展空间。

四、生物学发光检测技术

生物学发光检测技术的原理是利用细菌细胞裂解时会释放出三磷酸腺苷(ATP)，在有氧条件下，萤火虫荧光素酶催化萤火虫荧光素和 ATP 之间发生氧化反应形成氧化荧光素并发出荧光。在一个反应系统中，当萤火虫荧光素酶和萤火虫荧光素处于过量的情况下，荧光的强度就代表 ATP 的量，细菌 ATP 的量与细菌数呈正比，从而推断出菌落总数。用 ATP 生物学发光分析技术检测肉类食品细菌污染状况或食品器具的现场卫生学检测，都能够达到快速适时的目的。国内外均有成熟的 ATP 生物学发光快速检测系统产品出售。

美国 NHD 公司推出的 ATP 食品细菌快速检测系统--Profile-13560 通过底部有筛孔的比色杯将非细菌细胞和细菌细胞分离，细菌细胞不能通过这种比色杯，之后用细菌细胞释放液裂解细菌细胞，检测释放出的 ATP 量则为细菌的 ATP 量，由此得出细菌总数。此检测系统与标准培养法比对，相关系数在 90%以上，且测定只需 5min。美国 CharmSciencesInc.有一系列通过检测细菌的 ATP 量来控制不同食品卫生安全的产品，如检验食物表面的 Pocket Swab Plus、检测水产品表面的 Water Giene™、检测生肉的 Charm CHEF 等，操作方法都是使用专用药签刮抹待测部位，然后将药签装入笔形管内，插入便携检测仪读数即可。

项目二免疫学快速检测技术

酶联免疫技术

酶联免疫法(ELISA)是一种以酶作为标记物的免疫分析方法，也是目前应用最广泛的免疫分析方法之一。它将酶标记在抗体或抗原分子上，形成酶标抗体或酶标抗原，也称为酶结合物，将抗体抗原反应信号放大，提高检测灵敏度，之后该酶结合物的酶作用于能呈现出颜色的底物，通过仪器或肉眼进行辨别(见彩图 1)。目前，ELISA 方法常用的固相载体是 96 孔聚苯乙烯酶标板，常用的酶是过氧化物酶(辣根)(HRP)，常用的底物是邻苯二胺(OPD)和 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)等。

按照测定方式不同，ELISA 可以分为许多种不同类型。

(1)根据分析对象不同

可分为测定抗原或半抗原的 ELISA 和测定抗体的 ELISA:

(2)根据分析方式的不同

可分为夹心 ELISA 和竞争 ELISA。

(3)根据固定物质的不同

可分为固定抗原的 ELISA 和固定抗体的 ELISA。

(4)根据是否使用放大系统

可分为不使用放大系统的直接 ELISA 和使用酶标二抗或生物素-亲和素等放大系统的间接 ELISA。

其中常用于测定抗原和半抗原的有直接竞争 ELISA、间接竞争 ELISA 和夹心 ELISA(又叫三明治 ELISA)三种方式。

虽然 ELISA 检测方法发展到今天已经是一项比较成熟的技术,但针对具体的检测项目还有许多的工作需要完善。由于抗体的特异性直接影响免疫反应的特异性,在多克隆抗体之后,1975 年 Köhler 和 Milstein 创建了杂交瘤技术并成功制备绵羊红细胞单克隆抗体,目前单克隆抗体主要由杂交瘤技术或基因重组技术制备。国外已用兽药单克隆抗体制备出了兽药残留检测的 ELISA 试剂盒;国内已研制出几种兽药单克隆抗体,并建立了兽药免疫检测的 ELISA。表 1-3 列举了部分目前国内外已制备的 ELISA 检测试剂盒。

二、胶体金免疫分析技术

胶体金免疫分析,也称胶体金试纸条法,是将特异的抗体交联到试纸条上和有色物质上,试纸条上有一条保证试纸条功能正常的控制线和一条或几条显示结果的测试线。当纸上抗体和特异抗原结合后,再和带有颜色的特异抗原进行反应时,就形成了带有颜色的三明治结构,并且固定在试纸条上;如没有抗原,则没有颜色。

免疫学分析法常用于检测有害微生物、农药残留、兽药残留及转基因食品。它的优点是特异性和灵敏度都比较高,对于现场初筛有较好应用前景;不足之处是由于抗原-抗体的反应专一性,针对每种待测物都要建立专门的检测试剂和方法,为此类方法的普及带来难度如果食品在加工过程中抗原被破坏,则检测结果的准确性将受到影响。目前,国内外均已经有相当成熟的利用免疫学分析法的商业化试纸条,如美国的 CharmSciencesInc.研发的系列用于检测牛乳中各种抗生素的免疫纸色谱胶体金试纸条 ROSA 系列。

目前比较常见的胶体金检测试纸条结构如图 1-1 所示。胶体金免疫检测区分为快速检测卡和快速检测试纸条两种形式,其中,快速检测试纸条常见 3.5mm 宽的窄条和 5.0mm 宽的宽条,如图 1-2 所示。表 1-4 列举了部分免疫胶体金检测技术在食品分析中的应用。

项目三分子生物学检测技术

一、生物芯片

生物芯片包括蛋白质芯片(免疫芯片、受体-配体芯片)、核酸芯片(寡核苷酸芯片、基因芯片)、有机分子芯片等。1994年美国能源部、防御研究计划署,俄罗斯科学院和俄罗斯人类基因组计划在1000多万美元的资助下研制出第一块用于测序的基因芯片。虽然当时的测序芯片在准确性方面尚有欠缺,但是它在疾病诊断、药物筛选、基因表达谱测定、环境监测、农作物优育优选和农业病虫害监测、刑侦、军事等方面的应用前景却引起了广泛关注。

《Science》和《NatureGenetics》杂志分别在1998年10月和1999年1月出版了专集,系统介绍了生物芯片研究的重大进展。同时《Science》杂志还把生物芯片评选为1998年的世界十大科技突破之一。各国的政府、相关科研机构和企业对生物芯片技术都十分重视,以生物芯片为核心的各相关产业也在全球迅速崛起,世界范围有几百家较大公司在从事相关研究,提供产品和技术服务

1.免疫芯片

免疫芯片是一种特殊的蛋白芯片,芯片上的探针蛋白可根据研究目的选用抗体、抗原、受体等具有生物活性的蛋白质。芯片上的探针点阵,通过特异性免疫反应捕获样品中的靶蛋白,然后通过专用激光扫描系统和软件进行图像扫描、分析、结果解释,具有高通量、自动化、灵敏度高和多元分析等优点。由于单克隆抗体具有高度的特异性和亲和性,因此是比较好的一种探针蛋白,用其构筑的芯片可用于检测蛋白质表达丰度及确定新的蛋白质。

在免疫芯片的制作过程中,最关键的步骤是抗原或抗体的固定。根据固定原理可分为物理吸附法和共价结合法。物理吸附法简便易行,但是固定的抗原分子数少,在以后的洗涤过程中,固定分子容易脱落,影响结果的判读。近年来,免疫芯片的研制中多采用共价结合法进行抗原或抗体的固定,常用的材料包括玻璃片、硅片、金片、聚丙烯酰胺凝胶膜、尼龙膜等。在众多的共价固定材料中,通常采用的多是玻璃片及聚丙烯酰胺凝胶膜。采用聚丙烯酰胺凝胶膜固定抗原或抗体过程是通过光致聚合作用在玻璃片上制备众多的彼此分开的聚丙烯酰胺凝胶膜,然后用戊二醛进行膜的活化,活化膜上的醛基和抗原或抗体中的氨基反应形成酰胺键,从而完成识别分子的固定。其优点是固定的识别分子数量大,在其上进行的抗原抗体反应近似于液相中的反应,反应速度快,信号强。另外,许多研究者采用玻璃片固定识别分子,玻璃片表面的羟基可以用3-氨丙基三乙氧基硅烷作表面处理,能够偶联核酸、抗体(抗原)、蛋白质、多肽等各种分子,并且多数芯片需采用发光的检测方法,而玻璃片适合了这一要求。

在免疫芯片中常用的标记物有放射性同位素、酶、荧光物质等,依据标记物的不同采用不同的检测方法。采用放射性同位素标记抗原或抗体,具有特异性强、敏感性高的优点,但

由于该方法有放射性污染和需要专门的检测设备等问题，其应用受到了一定的限制。采用酶及荧光物质(Cy3、Cy5)标记抗原或抗体，具有敏感、简便、快速的优点，这两种标记方法克服了放射性同位素标记法的不足，已成为免疫芯片中常用的标记物，抗原与抗体反应结束后用扫描仪进行荧光信号的检测。针对小分子的免疫芯片检测，由于小分子多数不具备两个以上供抗体结合的位点，不能用双抗夹心法进行测定，因此，在芯片上对小分子的检测采用竞争法，即分别对其进行化学衍生并使之与大分子蛋白相偶联，合成各自的蛋白结合物，然后通过蛋白的标记而间接标记小分子，检测时利用非标记小分子对检测液中偶联物产生的竞争强度来确定待测液中小分子的含量。

目前，免疫芯片大多处于研究开发阶段，在技术不成熟的情况下，免疫芯片检测容易产生灵敏度下降、分析误差增多、统计数据偏差较大等一系列问题，所以必须从技术工艺、件设施和管理规范等多个环节严格把关，为免疫芯片技术的日趋成熟和后续的产业化进程定坚实的基础。

免疫芯片在食品快速检测中的应用见表 1-5。

2. DNA 芯片基因芯片(Gene chip,DNA chip)，又称 DNA 微阵列(DNA microarray)，是指按预定位置固定在固相载体上很小面积内的千万个核酸分子所组成的微点阵阵列。在一定条件下，载体上的核酸分子可以与来自样品的序列互补的核酸片段杂交。如果把样品中的核酸片段进行标记，在专用的芯片阅读仪上就可以检测到杂交信号。

基因芯片技术由于同时将大量探针固定于支持物上，所以可以一次性对样品大量序列进行检测和分析。虽然基因芯片技术从本质上与 Southern 印迹或 Northern 印迹相同，只是探针密度极高而已，但它解决了传统核酸印迹杂交(Southern 印迹和 Northern 印迹等)技术操作繁杂、自动化程度低、操作序列数量少、检测效率低等不足。基因芯片以其可同时、快速、准确地分析数以千计的基因组信息的本领而显示出了巨大的威力。这些应用主要包括基因表达检测、突变检测、基因组多态性分析、基因文库作图及杂交测序等方面。有研究表明:通过 PCR 扩增检测靶基因，采用研制的寡核苷酸基因芯片与扩增产物在一定条件下进行杂交，杂交结果通过 ScanArray3000 芯片扫描仪读取并与标准杂交图谱比较，从而判定样品中细菌的种属，并对分离的 20 株细菌进行基因芯片的杂交检测，同时用传统方法对这些菌株进行了鉴定，基因芯片检测结果与传统方法鉴定结果的一致性为 95%(19/20)。

基因芯片技术检测水和食品中常见致病菌具有快速、准确、易于操作等优越性，值得推广应用。采用基因芯片技术可检测细菌、真菌毒素、病毒、支原体、衣原体、立克次体等微

生物。表 1-6 列举了部分 DNA 芯片技术在食品分析中的应用。

3.液相悬浮芯片

Luminex 悬浮芯片技术是美国 Luminex 公司开发的一种多功能的液相芯片分析平台,也称 xMAP®(Flexible Multiple-Analyte Profiling)、多功能悬浮点阵仪(Multi-Analyte Suspension ArrayS, MASA)或液体芯片(Liquid Chip)。它有机地整合了有色微球(Color-coded microspheres or beads)、激光技术、最新的高速数字信号处理和计算机技术。

三、食品现场快速检测技术发展趋势

目前的食品现场快速检测主要呈现 4 大趋势。

①由于高新技术的应用,检测能力不断提高,检测灵敏度越来越高,残留物的超痕量分析水平已达到 ngg 级水平,如图 1-3 所示。

②检测速度不断加快,智能化芯片和高速电子器件与检测器的使用,使食品安全检测周期大大缩短。

③选择性不断提高、高效分离分段、各种化学和生物选择性传感器的使用,使在复杂混合物中直接进行污染物选择性测定成为可能。

由于微电子技术、生物传感器、智能制造技术的应用,检测仪器向小型化、便携化方向发展,使实时、现场、动态、快速检测正在成为现实。针对我国的特殊国情,目前我国基层单位很多快速检测技术的应用还只处于定性或半定量水平,易用型的小塑化仪器的应用是目前和今后快速检测技术的发展趋势。另外,食品样品复杂多样,前处理烦琐费时,建立快速检测方法的同时进一步完善样品的前处理方法,研制适合的小型前处理装置,对于缩短现场快速测定时间及提高测定的准性具有重要的意义。

作业布置:

1. 什么是免疫反应特异性?
2. 何为假阳性?
3. 何为假阴性?

参考资料:

主要参考书:

- 1、《食品安全快速检测与预警》 孙远明 化学工业出版社 2017 年
- 2、《食品安全快速检测技术》 朱克永 科学出版社 2010 年
- 3、《食品安全快速检测》 段丽丽 北京师范大学出版社 2014 年

- 4、《食品安全检验技术》 吴晓萍 河南医科大学出版社 2012 年
- 5、《食品安全检验技术》 范俐 厦门大学出版社 2013 年
- 6、《食品质量与安全检验实验》 余以刚 中国标准出版社 2014 年

模块三 农药残留快速检测技术

授课章节	模块三 农药残留快速检测技术				
教学时数	2 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <p style="padding-left: 20px;">背景知识</p> <p style="padding-left: 20px;">3.1 有机磷、氨基甲酸酯类农药快速检测</p> <p style="padding-left: 20px;">3.2 熏蒸剂的快速检测—溴甲烷的测定。</p>					
<p>教学目标及要求：</p> <p>知识目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 掌握酶抑制法的基本原理和操作方法； 2. 了解免疫分析法的基本原理和特点。 <p>能力目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 能正确运用酶抑制法于实际操作中 2. 能正确运用免疫分析法于实际操作中； <p>素质目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 通过了解酶抑制法及免疫分析法，树立科学意识； 2. 通过掌握酶抑制法及免疫分析法检测结果的判断，培养诚信求真的职业素养 <p>课程思政</p> <p>坚韧不拔、精益求精的职业精神，勇于创新、敢于突破传统思维的科学精神，为推动农药残留检测技术的不断发展注入新的活力</p>					
<p>教学重点及难点：</p> <p>重点：有机磷及氨基甲酸酯类农药快速检测的基本原理</p> <p>难点：有机磷及氨基甲酸酯类农药快速检测的基本技能</p>					
<p>教学方法及手段：多媒体讲授</p>					
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center; font-weight: bold; font-size: 1.2em;">模块二 快速检测技术分类</p> <p style="padding-left: 20px;">背景知识</p> <p style="padding-left: 20px;">农药概述</p>					

有机磷农药：是一类含有磷元素的有机化合物农药。它的化学结构通常包含磷原子，通过抑制昆虫和其他害虫体内的乙酰胆碱酯酶（AChE）活性来发挥作用。这种酶的抑制会导致乙酰胆碱在神经突触处积累，引起害虫过度兴奋、痉挛，最终死亡。有机磷农药的化学结构多样，常见的有敌敌畏、乐果、马拉硫磷等。其优点是药效高、作用迅速，能够有效防治多种农业害虫。然而，由于其对乙酰胆碱酯酶的抑制作用是非选择性的，也会对非靶标生物包括人类产生毒性。

氨基甲酸酯类农药：其化学结构特点是含有氨基甲酸酯基团。它们也是通过抑制乙酰胆碱酯酶来发挥杀虫作用，但与有机磷农药的作用机制略有不同。氨基甲酸酯类农药与乙酰胆碱酯酶的结合相对较松，是可逆的抑制作用。常见的品种有呋喃丹、西维因等。这类农药同样具有高效、低残留的特点，在农业生产中广泛应用，用于防治多种害虫、螨类等。不过，其毒性也不容忽视，尤其是一些高毒的氨基甲酸酯类农药。

农药使用现状

在现代农业生产中，农药是保障农作物产量和质量的重要手段。有机磷和氨基甲酸酯类农药由于其良好的杀虫效果，在全球范围内被广泛使用。然而，由于部分农民可能存在不合理使用农药的情况，如超剂量使用、施药间隔期过短等，导致农产品中农药残留问题较为突出。这些残留的农药不仅会对农产品的质量和安全性产生影响，还可能通过食物链的传递，对人体健康造成潜在危害。

农药残留危害

对人体健康的危害：

急性中毒：有机磷和氨基甲酸酯类农药都可以通过皮肤接触、呼吸道吸入或误食等途径进入人体。急性中毒症状包括恶心、呕吐、腹痛、腹泻、瞳孔缩小、多汗、流涎、肌肉震颤等，严重者可能出现呼吸困难、昏迷甚至死亡。这些症状主要是由于农药抑制了人体的乙酰胆碱酯酶，导致乙酰胆碱在神经肌肉接头处和中枢神经系统中积累，干扰了正常的神经传导功能。

慢性危害：长期低剂量接触这些农药残留可能会对人体的神经系统、免疫系统、生殖系统等产生慢性损害。例如，可能会引起神经系统功能紊乱，出现头痛、头晕、记忆力减退等症状；对免疫系统的影响可能导致免疫力下降，增加患病风险；对生殖系统的危害可能表现为生育能力下降、胎儿发育异常等。

对环境的危害：

对土壤的影响：农药残留会改变土壤的微生物群落结构和功能。有机磷和氨基甲酸酯类农药可能会抑制土壤中一些有益微生物的生长和活动，如固氮菌、解磷菌等，从而影响土壤的肥力和土壤生态系统的平衡。

对水体的污染：农药通过雨水冲刷、农田排水等方式进入水体，会对水生生物造成危害。这些农药可能会影响水生生物的生长、繁殖和行为，甚至导致某些水生生物的死亡。同时，在水体环境中，农药还可能会发生一系列的化学和生物转化过程，产生更具毒性的代谢产物，进一步加剧对环境的危害。

对非靶标生物的影响：除了害虫之外，农药还可能会对蜜蜂、鸟类、蚯蚓等有益的非靶标生物产生毒性作用。例如，蜜蜂在采集花蜜过程中接触到农药残留，可能会导致蜜蜂死亡或行为异常，从而影响蜜蜂的授粉功能，间接影响农作物的产量。

农药快速检测的重要性

随着人们对食品安全和环境保护的关注度不断提高，对农产品中农药残留的检测显得尤为重要。快速检测方法能够在短时间内对大量的样品进行初步筛查，及时发现农药残留超标的农产品，从而有效防止这些不安全的农产品进入市场或食物链。这对于保障消费者的健康、维护农产品市场秩序和生态环境安全都具有极其重要的意义。快速检测方法还可以为农业生产中的农药合理使用提供指导，帮助农民及时调整施药策略，减少农药残留的产生。

2 常用农药的分类及性质

- (1) 有机氯类：六六六、DDT 等
- (2) 有机磷类：敌敌畏、乐果、氧化乐果、对硫磷等
- (3) 氨基甲酸酯类：呋喃丹、涕灭威、西维因等
- (4) 拟除虫菊酯类：氯氰菊酯、联苯菊酯等

3 快速检测方法

(1) 酶抑制法

利用农药对胆碱酯酶的抑制作用，加入特定的显色剂，通过颜色深浅的变化确定是否有农药残留或农药残留相对量的快速检测方法。

酶：动物酶源、植物酶源

(2) 免疫分析法

农药免疫分析始于：1968 年，E.R.Centeno 等制备了抗滴滴涕和马拉硫磷抗体，应用放射免疫法测定。

基础：抗原的免疫原性和免疫反应性，抗原抗体的特异性反应，反应信号的放大

研究热点：高特异性抗体的制备，高灵敏度方法的建立，多残留分析等

(3) 生物传感器法

□电化学生物传感器：以电化学电极为信号转换器，和酶、微生物、动植物组织等其他生物识别元件结合组成。

□光学型生物传感器：由光纤和生物敏感膜组成。

□其他类型生物传感器：电晶体、半导体生物传感器、石英晶体微天平半导体生物传感器。

4 实验室快速检测方法

(1) 色谱法

(2) 毛细管电泳

(3) 光谱法

一、有机磷、氨基甲酸酯类农药的快速检测方法

酶抑制法

原理：有机磷和氨基甲酸酯类农药能够抑制乙酰胆碱酯酶的活性，通过检测酶活性的受抑制程度来判断样品中是否存在此类农药残留。正常情况下，乙酰胆碱酯酶可催化底物水解，水解产物与显色剂反应产生特定颜色变化或可测定的物理化学信号，若存在农药残留，则酶活性被抑制，相应的颜色变化或信号强度会减弱。

速测卡法：将样品提取液滴加到含有胆碱酯酶和显色剂的速测卡上，根据速测卡颜色的变化进行定性判断。如胆碱酯酶可催化靛酚乙酸酯水解为乙酸与靛酚，使红色药片变为蓝色，若样品中含有有机磷或氨基甲酸酯类农药，酶的活性被抑制，红色药片颜色则不会发生变化或变化不明显。

酶抑制率法：使用农药残留快速检测仪，在特定波长下测定酶催化反应前后吸光度的变化，计算出抑制率，进而判断样品中是否存在高剂量的有机磷或氨基甲酸酯类农药。

免疫分析法

原理：基于抗原与抗体的特异性、可逆性结合反应。先将小分子农药化合物与大分子生物物质结合成大分子作为抗原，使动物产生相应抗体，制成试剂盒。检测时，样品中的农药残留与试剂盒中的抗体发生特异性结合反应，通过比色或其他检测手段确定农药残留量。

常用方法：常用的是酶联免疫法（ELISA 法），具有专一性强、灵敏度高、快速、操作简单等优点，可广泛用于现场样品和大量样品的快速检测，能够准确定性、定量，但也存在抗体制备难度大、检测有一定盲目性以及部分抗体依赖进口等局限性。

化学速测法 - 速测灵法

原理：利用具有强催化作用的金属离子催化剂，使有机磷农药在催化作用下水解为磷酸与醇，水解产物与显色剂反应，使显色剂的紫红色退去变成无色，主要针对有机磷农药的残留检测，特别是甲胺磷、对硫磷等农药。

生物传感器法

原理：利用生物活性物质如酶、抗体、微生物等作为识别元件，当其与农药残留物特异性结合时，会产生物理、化学或生物信号的变化，通过相应的传感器将信号转换为可检测的电信号、光信号等，从而实现对农药残留的检测。

近红外仿生荧光探针法

原理：构建能够靶向响应乙酰胆碱酯酶活性的近红外荧光探针，采用近红外激发策略，在不同植物色素共存下实现荧光响应信号的准确测量，进而建立灵敏度高、可靠性好的农药残留抗干扰快速检测方法。该方法可对不同色系样品中有机磷和氨基甲酸酯类农药进行直接快速检测，对部分农药的检出限低于常规仪器检测方法

3.1 有机磷、氨基甲酸酯类农药快速检测

3.1.1 酶抑制法

1. 速测卡法

[适用范围]蔬菜、水果、相应食物、水及中毒残留物中有机磷类和氨基甲酸酯类农药的快速

检测。

[检测原理]胆碱酯酶可催化靛酚乙酸酯（红色）水解为乙酸和靛酚（蓝色），有机磷或氨基甲酸酯类农药对胆碱酯酶有抑制作用，使催化、水解、变色的过程发生改变，由此可判断出样品中是否有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药存在。

[主要仪器]便携式农药残留速测仪、农药残留速测卡、电子天平、超声波提取仪。

[试剂]pH7.5 磷酸缓冲溶液（提取液）

[操作步骤]

整体测定法、表面测定法

[结果判定]白色药品呈天蓝色-阴性，呈浅蓝色-弱阳性，呈白色-阳性

[灵敏度]敌敌畏检出限 0.3mg/kg-水胺硫磷 3.1mg/kg

[注意事项]

2. 分光光度法

[适用范围]叶菜、菜花和部分果菜、菜豆等蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的检测。

[检测原理]利用酶催化乙酰胆碱水解，水解产物与显色剂反应生成黄色物质，该物质在 412nm 处有吸收，测定吸光度随时间的变化值，计算出抑制率，通过抑制率可以判断蔬菜中含有有机磷或氨基甲酸酯类农药残留量的情况。

[主要仪器]农药残留速测仪、电子天平、移液枪、冰箱、超声波提取仪、恒温水浴锅

[试剂]pH8.0 缓冲溶液、显色剂、底物、丁/乙酰胆碱酯酶

[操作步骤]

样品处理、对照溶液测试、样品溶液测试

[结果计算及判定]抑制率大于 50%时，表示有高剂量农药存在

抑制率（%）=
$$\frac{(\square A_0 - \square A_t)}{\square A_0} \times 100$$

[灵敏度]呋喃丹 0.05mg/kg – 甲基异柳磷 5.0mg/kg。

[注意事项]

3.1.2 免疫分析法

1. 有机磷农药免疫胶体金快速检测试剂板

[适用范围]蔬菜、水果、蜂蜜、蜂王浆、肌肉组织和水产品中有机磷农药

[检测原理]农药与金标记的抗体反应，无法与 T 线的抗原结合，T 线显色浅或不显色，为阳性。

[主要仪器]有机磷农药免疫胶体金快速检测试剂板、组织捣碎机、离心机或布氏漏斗。

[试剂]乙腈、氯化钠

[操作步骤]

样品处理、样品检测、读取结果

[结果判定]T 线比 C 线深或一样深，阴性；T 线比 C 线浅或无色，阳性；未出现 C 线，无效。

[特异性和灵敏度]毒死蜱 0.05mg/kg – 甲胺磷 3.0mg/kg

[注意事项]

2. ELISA

[适用范围]纺织品、棉花、粮食、水果、蔬菜、肉、乳、水和土壤中农药残留检测

[检测原理]间接竞争 ELISA

[主要仪器]酶标仪、移液器及吸头、EP 管

[试剂]有机磷 ELISA 试剂盒

[操作步骤]

样品处理、测定

[结果计算]对数坐标纸、软件作图

[灵敏度]1.0 μ g/mL

[注意事项]

3.2 熏蒸剂的快速检测—溴甲烷的测定

[适用范围]粮谷类中溴甲烷熏蒸剂残留量的测定

[检测原理]溴甲烷随水蒸气蒸出后被氢氧化钾-醇溶液吸收，经酸化后与过量硝酸银作用，剩余硝酸银与硫氰酸铵作用，生成红色混合物，颜色的深浅与样品中溴甲烷成比例，从而可以求出溴甲烷的含量。

[主要仪器]水蒸气蒸馏装置、比色管

[试剂]6mol/L 硝酸、5%氢氧化钾-乙醇溶液、0.010mol/L 硝酸银溶液、0.010mol/L 硫氰酸铵标准溶液、溴甲烷标准溶液

[操作步骤]

样品预处理、标准曲线制作、测定

[结果计算]

溴甲烷 (mg/kg) = $m/W \times 1000$

m—样品管中相当于标准管的溴甲烷量，mg；

W—检测时样品实际质量，g

二、溴甲烷的快速检测

溴甲烷简介

溴甲烷是一种无色无味的气体（在高浓度时有类似氯仿的气味），它是一种常用的熏蒸剂，能有效杀死害虫、病菌和杂草种子，在农业、粮食仓储和检疫处理等领域应用广泛。然而，溴甲烷是一种有毒的化合物，对人体的神经系统、呼吸系统和皮肤等都可能造成损害。它还会消耗臭氧层，对环境有一定的危害。

检测原理

气相色谱法（GC）原理

气相色谱法是一种经典的检测方法。它是基于不同物质在固定相和流动相之间的分配系数差异进行分离和检测。在检测溴甲烷时，样品被注入到气相色谱仪中，在载气（如氮气）的带动下，通过装有固定相（如硅胶、分子筛等填充材料）的色谱柱。溴甲烷与其他物质根据其在固定相和气相之间的分配系数不同，在色谱柱中以不同的速度移动，从而实现分离。分离后的溴甲烷进入检测器（如火焰离子化检测器 FID 或电子捕获检测器 ECD），检测器根据溴甲烷的浓度产生相应的电信号，信号经过处理后得到溴甲烷的含量信息。ECD 对溴甲烷这类卤代烃具有较高的灵敏度，因为它是基于卤代烃能够捕获电子的特性进行检测。

光离子化检测（PID）原理

PID 利用高能紫外灯（通常为 10.6eV 或 11.7eV）照射样品气体。当溴甲烷分子吸收紫外光能量后，会发生电离，产生离子和电子。这些离子和电子在电场的作用下形成电流，电流大小与溴甲烷的浓度成正比。PID 具有响应速度快、灵敏度较高等特点，能够快速检测出环境中的溴甲烷。不过，它对其他一些具有相似电离能的有机化合物也可能产生响应，需要结合样品的来源和其他信息进行综合判断。

比色法原理

某些化学试剂与溴甲烷反应后会产生颜色变化。例如，溴甲烷可以与一些含有特定官能团（如胺基）的化合物发生反应，生成有色产物。通过比较反应后溶液的颜色与标准比色卡或使用分光光度计测量吸光度，来确定溴甲烷的浓度。这种方法相对简单、成本较低，但灵敏度和选择性可能不如气相色谱法和光离子化检测法。

快速检测方法

便携式气相色谱仪检测

便携式气相色谱仪体积小、重量轻，便于现场操作。使用时，将含有溴甲烷的空气样品通过采气装置（如气密注射器或气体采样袋）采集后，直接注入便携式气相色谱仪。仪器经过快速的升温、分离和检测过程，一般在几分钟内就能显示出溴甲烷的含量。这种方法准确性较高，能够满足现场快速检测的需求，适用于粮食仓库、熏蒸现场等环境中的溴甲烷检测。

便携式光离子化检测仪（PID）检测

便携式 PID 检测仪操作简单，只需开机预热后，将探头放置在可能存在溴甲烷的环境中，即可实时读取溴甲烷的浓度。它可以快速响应，对突发的溴甲烷泄漏事件能够及时发出警报。不过，在复杂的有机化合物环境中，可能需要对检测结果进行进一步的分析和确认，以排除其他有机化合物的干扰。

快速比色管检测

这种方法是一种半定量的检测手段。将特定的比色试剂封装在比色管中，通过采气装置将样品气体引入比色管。如果样品中含有溴甲烷，试剂会发生颜色变化，将比色管与标准比色卡对比，可大致判断溴甲烷的浓度范围。快速比色管检测方法简便快捷，不需要复杂的仪器设备，适合在现场进行初步的快速筛查。

检测注意事项

无论采用哪种检测方法，检测人员都需要佩戴适当的个人防护装备，如防毒面具、防护手套等，因为溴甲烷是有毒气体。在使用仪器检测时，要按照仪器的操作规程进行校准和操作，确保检测结果的准确性。对于便携式仪器，要定期充电、更换电池和校准传感器，以保证仪器处于良好的工作状态。同时，在采集样品时，要注意采样的位置、深度和时间等因素，以获取具有代表性的样品。

作业布置：

完成课后习题

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品安全快速检测与预警》 孙远明 化学工业出版社 2017 年
- 2、《食品安全快速检测技术》 朱克永 科学出版社 2010 年
- 3、《食品安全快速检测》 段丽丽 北京师范大学出版社 2014 年
- 4、《食品安全检验技术》 吴晓萍 河南医科大学出版社 2012 年
- 5、《食品安全检验技术》 范俐 厦门大学出版社 2013 年

模块四 兽药残留快速检测技术

授课章节	模块四 兽药残留快速检测技术				
教学时数	2 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <p style="padding-left: 20px;">4.1 兽药残留概况</p> <p style="padding-left: 20px;">4.2 兽药残留快速检测原理</p> <p style="padding-left: 20px;">4.3 兽药残留检测卡与试剂盒。</p>					
<p>教学目标及要求：</p> <p>知识目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 了解兽药残留的危害及快速检测技术发展现状； 2. 熟悉免疫学方法检测兽药的基本原理； 3. 掌握兽药残留检测卡和试剂盒的使用方法。 <p>能力目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 能正确运用免疫学方法于兽药检测的实际操作中 2. 能正确进行免疫分析法的结果判定； <p>素质目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 通过了解免疫学方法于兽药检测的实际操作，树立科学意识； 2. 通过掌握免疫分析法的结果判定，培养诚信求真的职业素养 <p>课程思政</p> <p>坚韧不拔、精益求精的职业精神，勇于创新、敢于突破传统思维的科学精神，为推动兽药残留</p>					

检测技术的不断发展注入新的活力

教学重点及难点：

重点：常见兽药残留快速检测基本方法

难点：常见兽药残留快速检测基本技能。

教学方法及手段：多媒体讲授

教学过程：

模块四 兽药残留快速检测技术

4.1 兽药残留概况

4.1.1 兽药残留与食品安全意义

1. 兽药残留：指给畜禽使用兽药或添加剂后，药物以其原形及其代谢产物的形式蓄积或储存在动物的细胞、组织、器官或可食性产品（如蛋、乳）中。

2. 最高残留限量（MRL）：即动物用药后产生的允许存在于食品表面或内部的该兽药残留的最高量。

3. 分类

4. 危害

4.1.2 食品中兽药残留的来源

1. 来源

2. 兽药残留原因

兽药的定义与分类

定义：兽药是指用于预防、治疗、诊断动物疾病或者有目的地调节动物生理机能的物质（含药物饲料添加剂），主要包括血清制品、疫苗、诊断制品、微生态制品、中药材、中成药、化学药品、抗生素、生化药品、放射性药品等。

分类：

按来源分类：可分为天然药物（如植物提取物、动物脏器提取物）、化学合成药物（如磺胺类药物、喹诺酮类药物）和生物技术药物（如基因工程疫苗、单克隆抗体）。

按用途分类：有抗微生物药（用于防治细菌、真菌、支原体等感染）、抗寄生虫药（驱杀体内外寄生虫）、激素类药物（调节动物生长、繁殖等生理机能）、消毒防腐药（用于环境、器械消毒和局部防腐）等。

兽药在畜牧业中的应用现状

在现代畜牧业中，兽药发挥着至关重要的作用。它能够有效预防和治疗动物疾病，提高动物的健康水平和生产性能。例如，在养殖场中，通过合理使用疫苗可以预防动物疫病的大规模爆发，减少经济损失；使用抗生素可以治疗动物的细菌感染性疾病，促进动物生长。然而，由于部分养殖场过度追求经济效益，存在不合理用药的情况，如超剂量、超范围使用兽药，不遵守休药期规定等。

兽药残留的产生原因

不遵守休药期规定：休药期是指动物从停止给药到许可屠宰或它们的产品（乳、蛋）许可上市的间隔时间。如果养殖场在休药期未满足时就将动物屠宰或其产品上市，兽药在动物体内尚未代谢完全，就会导致兽药残留。例如，某养殖场为了提前出售生猪，未遵守规定的抗生素休药期，使得猪肉中含有超标的抗生素残留。

超剂量和超范围用药：一些养殖户为了快速治愈动物疾病或者提高动物生长速度，超剂量使用兽药或者使用未经许可的兽药。比如，在禽类养殖中，超量使用呋喃唑酮等药物，不仅会使禽类体内残留大量药物，还可能导致耐药菌的产生。

用药方法不当：不正确的给药途径或剂型选择也可能导致兽药残留。例如，某些药物本应通过注射给药，但养殖户却采用口服方式，导致药物吸收不完全，在体内残留时间延长。

兽药残留的危害

对人体健康的危害：

毒性作用：兽药残留可能会对人体产生直接毒性作用。例如，氯霉素残留可能导致人体再生障碍性贫血；硝基呋喃类药物残留会引起人体过敏反应，严重的还可能致癌、致畸。

过敏反应：部分人群对某些兽药残留敏感，食用含有残留兽药的动物源性食品后可能会引发过敏反应，如皮疹、瘙痒、呼吸困难等。像青霉素类药物残留就可能诱发过敏体质人群的过敏症状。

耐药性问题：长期食用含有抗生素残留的食品，会使人体内的细菌接触到低剂量的抗生素，从而产生耐药性。这些耐药菌一旦感染人体，治疗将变得更加困难。例如，动物源食品中喹诺酮类抗生素残留可能导致人体肠道菌群产生耐药性。

内分泌干扰作用：一些激素类兽药残留可能会干扰人体内分泌系统。如己烯雌酚残留会影响人体正常的激素平衡，对生殖系统、免疫系统等产生不良影响。

对畜牧业和生态环境的危害：

影响动物产品质量和出口贸易：兽药残留超标的动物产品质量下降，在国际市场上，会导致

贸易壁垒，影响我国畜牧业的出口。例如，欧盟曾因我国出口的虾产品中氯霉素残留超标而禁止进口，给我国水产养殖业带来巨大损失。

对生态环境的污染：兽药通过动物粪便等途径进入环境后，会对土壤、水体和周围生态系统产生污染。例如，兽药残留进入土壤后，可能会影响土壤微生物的群落结构和功能，进入水体后会对水生生物造成危害。

兽药残留的监管措施与法规政策

监管措施：

源头控制：加强对兽药生产企业的监管，确保兽药质量合格、标签说明书规范。对养殖场进行监督检查，指导合理用药，规范养殖记录。例如，监管部门定期对养殖场的兽药使用记录、动物诊疗记录等进行检查。

市场抽检：在动物产品进入市场环节，加大抽检力度。采用快速检测技术和实验室精确检测技术相结合的方式，对肉类、蛋类、奶类等动物产品进行兽药残留检测。例如，在农贸市场、超市等地随机抽取动物产品样本进行检测。

法规政策：我国制定了一系列法律法规来规范兽药的生产、经营和使用，如《兽药管理条例》明确了兽药的研制、生产、经营、进出口、使用和监督管理等各个环节的要求；《动物性食品中兽药最高残留限量》规定了不同兽药在各类动物产品中的残留限量标准，为兽药残留监管提供了法律依据和技术标准

4.1.3 食品中兽药残留控制及其分析

1. 总残留：指对食品动物用药后，动物产品的任何食用部分中药物原形或/和其所有代谢产物的总和。
2. 食品动物：指各种供人食用或其产品供人食用的动物。
3. 日允许摄入量：指人一生中每日从食物或饮水中摄取某种物质而对健康没有明显危害的量，单位 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 。
4. 休药期：食品动物从停止给药到许可屠宰或它们的产品（乳、蛋）许可上市的间隔时间。
5. 奶废弃期：即奶牛从停止给药到它们所产的奶许可上市的间隔时间。
6. NY/T 472《绿色食品兽药使用准则》中 A 级绿色食品中禁止使用的兽药
 - (1) β -兴奋剂类药物：克伦特罗、沙丁胺醇、西马特罗及其盐、酯及制剂
 - (2) 激素类药物：己烯雌酚、甲基睾丸酮、丙酸睾酮、苯丙酸诺龙、苯甲酸雌二醇、玉米赤霉素、去甲雄三烯醇酮、醋酸甲孕酮

(3) 催眠、镇静类药物：安眠酮、氯丙嗪、安定

(4) 抗生素类药物：氨苄砒、氯霉素、硝基咪喃、磺胺类、喹诺酮类、喹噁啉类

(5) 抗寄生虫类药物：苯并咪唑、抗球虫类、硝基咪唑类、氨基甲酸酯类、有机氯杀虫剂、有机磷杀虫剂

4.2 兽药残留快速检测原理

4.2.1 微生物法快速检测兽药残留

1. 平皿法

利用枯草芽孢杆菌等微生物对兽药的敏感性进行检测。

2. 生化检测法

利用嗜热链球菌等微生物对兽药的敏感性进行检测。

方法或试剂盒：TTC、Delvotest、Charm Science、Aria micro test

4.2.2 免疫学方法快速检测兽药残留

1. 药物结构分析和半抗原的合成

(1) 兽药多为小分子化合物，属于半抗原，不具备免疫原性；

(2) 半抗原需偶联大分子载体才能刺激机体产生抗体；

(3) 抗体的特异性由半抗原的化学结构决定。

2. 人工结合抗原的制备

(1) 半抗原偶联蛋白质等成为人工结合抗原；

(2) 偶联蛋白：牛血清蛋白、兔血清蛋白、人血清蛋白、卵清蛋白、血蓝蛋白；

(3) 偶联方法：重氮化法、戊二醛法、EDC 法、活泼酯法等。

3. 抗体的制备

(1) 多克隆抗体的制备；

(2) 单克隆抗体的制备。

4. 检测方法的确立

(1) 胶体金免疫色谱试验测定法

(2) 酶联免疫吸附测定法

(3) 放射免疫测定法

(4) 荧光免疫测定法

(5) 生物感应器

5. 检测方法的评价

4.3 兽药残留检测卡与试剂盒

4.3.1 盐酸克伦特罗检测卡

[适用范围]猪肉、内脏和猪尿液中盐酸克伦特罗含量的检测。

[检测原理]抗原抗体特异反应、侧向色谱、胶体金技术。

[主要仪器]食品加工机、低速离心机、电子秤，移液枪

[材料与试剂]盐酸克伦特罗检测卡、检测试剂 A、检测试剂 B、pH 试纸、剪刀、10mL 试管、一次性塑料吸管、一次性手套

[操作步骤]

样品粉碎——称样——样品处理——加样——读取结果

[结果判定]

阳性：测试线无色、质控线紫红色

阴性：测试线紫红色、质控线紫红色

无效：质控线无色

[灵敏度]3 ng/mL(kg)、5 ng/mL(kg) 、6 ng/mL(kg)

[注意事项]

猪组织、尿液采用不同检测卡；取样剔除脂肪；室温下使用。

4.3.2 莱克多巴胺检测卡

[适用范围]猪肉、内脏和猪尿液中莱克多巴胺含量的检测。

[检测原理]竞争抑制胶体金免疫色谱

[主要仪器]食品加工机、低速离心机、电子秤、移液枪

[材料与试剂]莱克多巴胺检测卡、检测试剂 A、检测试剂 B、pH 试纸、剪刀、离心管、试管、一次性吸管、一次性手套

[操作步骤]

样品粉碎——称样——样品处理——加样——读取结果

[结果判定]

阳性：测试线无色、质控线紫红色

阴性：测试线紫红色、质控线紫红色

无效：质控线无色

[灵敏度]5 ng/mL(kg)、10 ng/mL(kg)

[注意事项]

猪组织、尿液采用不同检测卡；取样剔除脂肪；室温下使用。

4.3.3 氯霉素检测卡

[适用范围]

牛乳、尿样、组织、饲料、乳粉、水产或其制品中氯霉素含量的检测。

[检测原理]

采用高度特异性的免疫色谱检测技术，通过单克隆抗体竞争结合氯霉素偶联物和牛乳中可能含有的氯霉素。

[主要仪器]

低速离心机

[材料与试剂]

氯霉素检测卡、检测反应试剂杯、吸管、离心管、一次性塑料吸管、一次性手套

[操作步骤]

取样——离心——吸取样液——制备待检样品——加样——检测——读取结果

[结果判定]

阳性：测试线无色、质控线紫红色

阴性：测试线紫红色、质控线紫红色

无效：质控线无色

[灵敏度]0.5ng/mL(kg)、1ng/mL(kg)

[注意事项]

组织、尿液、饲料采用不同检测卡；取样剔除脂肪；室温下使用。

4.3.4 牛乳中青霉素酶活性检测试剂盒

[适用范围]

牛乳中残留的青霉素酶。

[检测原理]

间接竞争法，利用青霉素酶可分解牛乳样品中的 β -内酰胺类抗生素的原理，通过配体-受体识别法快速测定与青霉素酶反应后残留的青霉素 G 含量，从而检测牛乳中残留的青霉素酶。

[主要仪器]

温育器、冰箱或保温箱、移液枪

[材料与试剂]

青霉素 G 试剂、试剂筒、阴性质控试剂

[操作步骤]

吸取样品——与青霉素 G 试剂混合——温育——取温育后样品加到微孔中混合均匀——温育——测试条插入微孔——温育——读取结果

[结果判定]

阳性：检测线红色、控制线浅红色

阴性：检测线无色、控制线红色

[注意事项]

试剂盒阴凉干燥处保存；阴性质控需用纯净水还原，不能反复冻融；不能用于检测酸奶

作业布置：

完成课后习题

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品安全快速检测与预警》 孙远明 化学工业出版社 2017 年
- 2、《食品安全快速检测技术》 朱克永 科学出版社 2010 年
- 3、《食品安全快速检测》 段丽丽 北京师范大学出版社 2014 年
- 4、《食品安全检验技术》 吴晓萍 河南医科大学出版社 2012 年
- 5、《食品安全检验技术》 范俐 厦门大学出版社 2013 年
- 6、《食品质量与安全检验实验》 余以刚 中国标准出版社 2014 年

模块五 重金属污染的快速检测技术

授课章节	模块五 重金属污染的快速检测技术				
教学时数	2 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 背景知识 5.1 重金属现场快速检测 5.2 常见重金属实验室快速检测。					
教学目标及要求： 知识目标 1. 熟悉各种重金属现场快速检测技术原理及操作方法； 2. 了解各种重金属实验室快速检测技术原理及操作方法。 能力目标 1. 能正确运用重金属现场快速检测技术于实际操作中 2. 能正确运用重金属实验室快速检测技术于实际操作中 2. 能正确进行重金属快速检测技术的结果判定； 素质目标 1. 通过了解重金属快速检测技术的实际操作，树立科学意识； 2. 通过掌握重金属快速检测技术的结果判定，培养诚信求真的职业素养 课程思政目标 坚韧不拔、精益求精的职业精神，勇于创新、敢于突破传统思维的科学精神，为推动重金属检					

测技术的不断发展注入新的活力

教学重点及难点：

重点：常见重金属元素的快速测定原理

难点：常见重金属元素的快速测定方法。

教学方法及手段：多媒体讲授

教学过程：

模块五 重金属污染的快速检测技术

背景知识

重金属

指密度大于 5.0g/cm^3 的金属元素，包括铁、锰、铜、锌、镉、铅、汞、铬、镍、钼、钴等约有 45 种。

通常所指重金属：铅、汞、镉、钡、铬、锑、砷

1. 铅

(1) 常见化合物：氧化铅、二氧化铅、三氧化铅、醋酸铅、铬酸铅、硝酸铅、硫酸铅、氯化铅、碱式碳酸铅

(2) 引起中毒的化合物：醋酸铅、氯化铅、碱式碳酸铅

(3) 危害：与血浆蛋白结合，血液、消化系统、神经损伤

2. 砷

(1) 常见化合物：三氧化二砷、五氧化二砷、砷酸钙、砷酸铅、巴黎绿、有机砷

(2) 引起中毒的化合物：三氧化二砷

(3) 危害：与血红蛋白结合

3. 汞

(1) 常见化合物：氧化汞、氯化亚汞、氯化汞、氰化汞、硫化汞、硝酸汞、碘化汞、碘化汞钾、雷汞

(2) 引起中毒的化合物：有机汞

(3) 危害：与红细胞结合，蓄积性大，急慢性中毒

4. 钡

(1) 常见化合物：氯化钡、碳酸钡、乙酸钡、硝酸钡、硫酸钡

(2) 引起中毒的化合物：氯化钡、碳酸钡

(3) 危害：肌肉毒，对骨骼肌、心肌、平滑肌有强烈兴奋和刺激作用，最后转为抑制和麻痹

5. 铋

(1) 常见化合物：三氧化二铋、五氧化二铋、三硫化二铋、五硫化二铋、硫代铋酸钠、焦铋酸钾、酒石酸铋钾

(2) 引起中毒的化合物：三价铋化合物

(3) 危害：损害肝脏、心脏、神经系统

6. 镉

(1) 常见化合物：氧化镉、硫化镉、硝酸镉、氯化镉、硫酸镉、硒化镉、氢氧化镉

(2) 引起中毒的化合物：氧化镉

(3) 危害：急慢性中毒

7. 铬

(1) 常见化合物：三氧化二铬、氧化铬、铬酸钾、重铬酸钾

(2) 引起中毒的化合物：三价铬化合物

(3) 危害：急慢性中毒

兽药的定义与分类

定义：兽药是指用于预防、治疗、诊断动物疾病或者有目的地调节动物生理机能的物质（含药物饲料添加剂），主要包括血清制品、疫苗、诊断制品、微生态制品、中药材、中成药、化学药品、抗生素、生化药品、放射性药品等。

分类：

按来源分类：可分为天然药物（如植物提取物、动物脏器提取物）、化学合成药物（如磺胺类药物、喹诺酮类药物）和生物技术药物（如基因工程疫苗、单克隆抗体）。

按用途分类：有抗微生物药（用于防治细菌、真菌、支原体等感染）、抗寄生虫药（驱杀体内外寄生虫）、激素类药物（调节动物生长、繁殖等生理机能）、消毒防腐药（用于环境、器械消毒和局部防腐）等。

兽药在畜牧业中的应用现状

在现代畜牧业中，兽药发挥着至关重要的作用。它能够有效预防和治疗动物疾病，提高动物的健康水平和生产性能。例如，在养殖场中，通过合理使用疫苗可以预防动物疫病的大规模爆发，减少经济损失；使用抗生素可以治疗动物的细菌感染性疾病，促进动物生长。然而，由于部分养殖场过度追求经济效益，存在不合理用药的情况，如超剂量、超范围使用兽药，

不遵守休药期规定等。

兽药残留的产生原因

不遵守休药期规定：休药期是指动物从停止给药到许可屠宰或它们的产品（乳、蛋）许可上市的间隔时间。如果养殖场在休药期未满足时就将动物屠宰或其产品上市，兽药在动物体内尚未代谢完全，就会导致兽药残留。例如，某养殖场为了提前出售生猪，未遵守规定的抗生素休药期，使得猪肉中含有超标的抗生素残留。

超剂量和超范围用药：一些养殖户为了快速治愈动物疾病或者提高动物生长速度，超剂量使用兽药或者使用未经许可的兽药。比如，在禽类养殖中，超量使用呋喃唑酮等药物，不仅会使禽类体内残留大量药物，还可能产生耐药菌。

用药方法不当：不正确的给药途径或剂型选择也可能导致兽药残留。例如，某些药物本应通过注射给药，但养殖户却采用口服方式，导致药物吸收不完全，在体内残留时间延长。

兽药残留的危害

对人体健康的危害：

毒性作用：兽药残留可能会对人体产生直接毒性作用。例如，氯霉素残留可能导致人体再生障碍性贫血；硝基呋喃类药物残留会引起人体过敏反应，严重的还可能致癌、致畸。

过敏反应：部分人群对某些兽药残留敏感，食用含有残留兽药的动物源性食品后可能会引发过敏反应，如皮疹、瘙痒、呼吸困难等。像青霉素类药物残留就可能诱发过敏体质人群的过敏症状。

耐药性问题：长期食用含有抗生素残留的食品，会使人体内的细菌接触到低剂量的抗生素，从而产生耐药性。这些耐药菌一旦感染人体，治疗将变得更加困难。例如，动物源食品中喹诺酮类抗生素残留可能导致人体肠道菌群产生耐药性。

内分泌干扰作用：一些激素类兽药残留可能会干扰人体内分泌系统。如己烯雌酚残留会影响人体正常的激素平衡，对生殖系统、免疫系统等产生不良影响。

对畜牧业和生态环境的危害：

影响动物产品质量和出口贸易：兽药残留超标的动物产品质量下降，在国际市场上，会导致贸易壁垒，影响我国畜牧业的出口。例如，欧盟曾因我国出口的虾产品中氯霉素残留超标而禁止进口，给我国水产养殖业带来巨大损失。

对生态环境的污染：兽药通过动物粪便等途径进入环境后，会对土壤、水体和周围生态系统产生污染。例如，兽药残留进入土壤后，可能会影响土壤微生物的群落结构和功能，进入水

体后会对水生生物造成危害。

兽药残留的监管措施与法规政策

监管措施：

源头控制：加强对兽药生产企业的监管，确保兽药质量合格、标签说明书规范。对养殖场进行监督检查，指导合理用药，规范养殖记录。例如，监管部门定期对养殖场的兽药使用记录、动物诊疗记录等进行检查。

市场抽检：在动物产品进入市场环节，加大抽检力度。采用快速检测技术和实验室精确检测技术相结合的方式，对肉类、蛋类、奶类等动物产品进行兽药残留检测。例如，在农贸市场、超市等地随机抽取动物产品样本进行检测。

法规政策：我国制定了一系列法律法规来规范兽药的生产、经营和使用，如《兽药管理条例》明确了兽药的研制、生产、经营、进出口、使用和监督管理等各个环节的要求；《动物性食品中兽药最高残留限量》规定了不同兽药在各类动物产品中的残留限量标准，为兽药残留监管提供了法律依据和技术标准。

重金属污染的快速检测技术背景知识

重金属污染的定义与来源

定义：重金属污染是指由汞（Hg）、镉（Cd）、铅（Pb）、铬（Cr）、砷（As）等重金属或其化合物造成的环境污染。这些重金属在环境中难以被生物降解，能够通过食物链的富集作用在生物体内积累，对生态系统和人类健康产生长期的危害。

来源：

工业污染源：是重金属污染的主要来源之一。包括采矿、选矿、冶金、化工、电镀、电子工业等行业。例如，在有色金属冶炼过程中，矿石中的重金属会释放到大气、水体和土壤中。铅锌矿冶炼会产生大量的铅、镉等重金属污染物，这些污染物通过废气排放进入大气，然后通过降水等方式进入土壤和水体。

农业污染源：主要包括农药、化肥的使用和污水灌溉。一些含重金属的农药（如砷酸铅）和化肥（如磷肥中含有镉）会导致土壤重金属积累。长期使用污水灌溉农田，若污水中含有重金属，也会使土壤受到污染。

生活污染源：如废旧电池、电子产品等的随意丢弃，其中的汞、镉、铅等重金属会渗出进入土壤和水体。另外，一些含重金属的涂料、油漆等在建筑、家具等使用过程中也可能释放重金属。

重金属污染的危害

对人体健康的危害：

急性中毒：高浓度的重金属暴露可能导致急性中毒。例如，汞中毒可引起口腔炎、牙龈炎、震颤、精神失常等症状；砷中毒会导致恶心、呕吐、腹痛、腹泻，严重时可出现中枢神经系统麻痹、循环衰竭而死亡。

慢性危害：长期低剂量接触重金属会对人体多个系统产生慢性损害。铅会影响儿童的神经系统发育，导致智力低下、学习障碍等；镉会在人体肾脏和骨骼中积累，引起肾功能损害和骨质疏松症；铬（VI）是一种强致癌物，长期接触可能引发肺癌等恶性肿瘤。

对生态环境的危害：

对土壤的影响：重金属污染土壤后，会改变土壤的理化性质和微生物群落结构。影响土壤中养分的循环和植物的生长。例如，镉污染土壤会抑制植物根系的生长和养分吸收，导致农作物减产和品质下降。

对水体的影响：重金属进入水体后，会对水生生物造成毒性作用。它们可以在水生生物体内富集，通过食物链传递给更高营养级的生物。例如，汞在水中会被微生物转化为甲基汞，甲基汞在鱼体内富集，当人食用这些受污染的鱼后，就会摄入高浓度的汞，危害健康。

对大气的污染：重金属以颗粒物等形式存在于大气中，会影响大气能见度和空气质量。一些重金属（如铅）还会随着大气环流扩散到较远的地区，造成区域性的污染。

传统重金属检测方法的局限性与快速检测技术的需求

传统检测方法的局限性：

实验室分析方法复杂：传统的重金属检测方法如原子吸收光谱法（AAS）、电感耦合等离子体发射光谱法（ICP - AES）和电感耦合等离子体质谱法（ICP - MS）等，虽然具有较高的准确性和灵敏度，但这些方法需要专业的实验室设备、复杂的样品预处理和较长的检测时间。例如，ICP - MS 检测虽然精度高，但仪器昂贵，操作复杂，样品前处理需要经过消解等多个步骤，整个过程可能需要数小时甚至数天。

时效性差：对于一些需要及时处理的情况，如突发性环境污染事件、食品或农产品现场抽检等，传统方法无法满足快速检测的要求。在环境应急监测中，需要快速判断污染程度和范围，以便采取及时有效的应对措施，而传统检测方法的周期长，不利于快速决策。

快速检测技术的需求：

现场快速筛查的需要：在环境污染现场、农产品收购站、食品加工车间等场所，需要快速检

测技术对重金属污染进行初步筛查。例如，在农产品进入市场前，通过快速检测技术可以及时发现重金属超标产品，防止其流入市场，保障消费者的食品安全。

应急监测的要求：在发生重金属污染事故，如矿山尾矿库泄漏、工业废水非法排放等事件时，快速检测技术能够在短时间内提供污染状况的初步信息，为应急处理提供依据，如确定污染范围、评估危害程度等，以便快速启动相应的应急处置措施。

5.1 重金属现场快速检测

5.1.1 铅的快速测定

1. 水中铅快速检测

[适用范围]水中铅含量的定性或半定量检测

[检测原理]样品经处理后其中铅与反应试剂显色，与标准色板比色定量

[仪器与试剂]注射器、吸附管、铅试剂管、巯基棉、洗脱液、比色板

[操作步骤]样品富集——试剂释放——抽取洗脱液注入试剂管——反应比色

[注意事项]

2. 果蔬中铅快速检测

[适用范围]果蔬中游离铅及水中铅含量的定性或半定量检测

[检测原理]样品经处理后铅与反应试剂显色，与果蔬铅含量快速检测色阶卡进行比较，读取铅含量。

[主要仪器]剪刀、电子秤、塑料试管

[试剂]试剂 A、试剂 B、试剂 C、试剂 D、蒸馏水

[操作步骤]样品清洗剪碎——称取样品——滴加试剂 A——移取待测液——滴加试剂 B——滴加试剂 C、D——室温显色

[结果判定]样管与色阶卡比较，读取铅含量。

[注意事项]铁离子等可能造成影响，有机铅需先行消解

3. 食品中铅快速检测

[适用范围]白糖、皮蛋、果蔬中铅含量的检测

[检测原理]样品经处理后铅与反应试剂显色，与空白对照管比较

[操作步骤]样品处理——测定

[结果判定]颜色比对照管深，说明铅超标；颜色比对照管浅，则合格。

[注意事项]

4. 水中铅快速检测

[适用范围]用于水中铅（主要为游离铅）含量的定性或半定量检测

[检测原理]样品经处理后与反应试剂显色，观察氯仿层呈色情况，如为绿色、淡绿色或无色则表示阴性

[操作步骤]样品处理——测定

[结果判定]

紫红色：铅约 1 μ g，红色： $\geq 2\mu$ g，绿色、淡绿色或无色：阴性

[注意事项]

5.1.2 砷的快速测定

1. 检砷管速测盒法

[适用范围]食物、水及中毒残留物中砷的快速检测

[检测原理]氯化金与砷反应，可使氯化金硅胶柱变成紫红色或灰紫色，砷含量与变色的长度成正比，可达到半定量目的。

[仪器与试剂]检砷管速测盒（检砷管、反应瓶、酒石酸、二甲基硅油消泡剂、产气片等）

[操作步骤]取样——检测

[结果计算]表 5-1、5-2

[注意事项]

2. 水质检砷管速测盒法

[适用范围]水中砷含量的定性或半定量检测

[检测原理]利用检砷管的变色长度，由定量尺求得砷含量

[仪器与试剂]检砷管、反应瓶和塞、酒石酸、产气片、量尺

[操作步骤]检测装置——检测

[注意事项]

3. 铜片变色定性法

[适用范围]食物中毒残留物中砷、锑、铋、汞、银、硫化物的快速检测

[检测原理]在酸性条件下，某些无机化合物可与金属铜作用产生颜色变化，由此推测可能存在的某些有害化合物。

[主要仪器]电热板、三角烧瓶、铜片

[试剂]优级纯盐酸、氯化亚锡

[操作步骤]

[结果判定]

[注意事项]

5.1.3 汞的快速测定

1. 检汞速测盒法

[适用范围]食物、水及中毒残留物中汞的快速检测

[检测原理]汞与载有碘化亚铜的试纸产生反应，使试纸变为橘红色

[仪器与试剂]测汞试纸、反应瓶、检汞管、试剂棉、酒石酸、消泡剂、产气片

[操作步骤]取样——检测

[结果判定]

橘红色：阳性

不变色：阴性

[注意事项]

2. 铜片变色定性法

[同砷的快速测定方法]

5.1.4 钡盐试剂盒法快速测定钡

[适用范围]食盐等食物、中毒残留物中钡离子的快速检测

[检测原理]钡离子与硫酸根反应生成硫酸钡白色沉淀，利用比浊法做限量测定和中毒物鉴别。

[仪器与试剂]试剂盒（A 试液、B 试液、C 试液），天平、比色管

[操作步骤]取样——检测

[结果判定]

白色混浊深于对照管为阳性

[注意事项]

5.1.5 铈的快速测定

[同砷快速测定方法 3]

5.1.6 水质检镉试剂盒法快速测定镉

[适用范围]水中镉含量的定性或半定量检测

[检测原理]样品经处理后其中镉与反应试剂显色，与标准色板比色定量

[仪器与试剂]注射器、吸附管、镉试剂管、巯基棉、洗脱液、比色板

[操作步骤]样品富集——检测

[注意事项]

5.1.7 水质六价铬速测管法快速测定铬

[适用范围]水中铬含量的定性或半定量检测

[检测原理]水样与显色剂显色，与比色板比色定量

[仪器与试剂]速测管、镊子

[操作步骤]取样——检测

[结果判定]通过“多参数水质快速测定仪”分析含量

[注意事项]

5.2 常见重金属实验室快速检测

5.2.1 铅的快速测定

1 微波消化-原子吸收分光光度法

[适用范围]各类食品中铅的测定

[检测原理]样品经微波消解后，注入原子吸收分光光度计石墨炉中，电热原子化后吸收238.3nm共振线，在一定浓度范围内，其吸收值与铅含量成正比，与标准系列比较定量。

[主要仪器]石墨炉原子吸收分光光度计、微波消解仪

[试剂]优级纯硝酸、过氧化氢、磷酸二氢铵、铅标准溶液

[操作步骤]样品预处理——微波消解——标准曲线绘制——样品测定——基体改进剂的使用

[结果计算]

$$X=(c1-c0) \times V \times 1000 / (m \times 1000)$$

[注意事项]

2 二硫脲比色法

[适用范围]各类食品中铅的测定

[检测原理]在碱性溶剂中， Pb^{2+} 与双硫脲形成红色络合物，溶于氯仿中，红色深浅与铅离子浓度成正比，比色测定。

[主要仪器]分光光度计

[主要试剂]铅标准溶液、双硫脲溶液

[操作步骤]样品预处理——样品测定

[注意事项]

5.2.2 砷的快速测定

1 微波消化-原子吸收分光光度法

同铅的测定方法

2 银盐法

[适用范围]各类食品中砷的测定

[检测原理]样品消化后，以 5 价砷存在，用氯化亚锡和碘化钾还原成 3 价砷，与新生态氢生成 AsH_3 ，再与二乙氨基二硫代甲酸银作用，在有机碱存在下，生成棕红色胶态银，在 540nm 处吸收，进行比色测定。

[主要仪器]分光光度计、马弗炉、测砷装置

[主要试剂]硝酸、硫酸、碘化钾溶液、氯化亚锡溶液、乙酸铅棉花、吸收液、砷标准溶液等

[操作步骤]样品预处理——样品测定

[注意事项]

3 砷斑法

[适用范围]各类食品中总砷的测定

[检测原理]样品经消化后，以碘化钾、氯化亚锡将高价砷还原为三价砷，然后与锌粒和酸产生的新生态氢生成砷化氢，再与溴化汞试纸生成黄色至橙色的色斑，与标准砷斑比较定量。

[主要仪器]玻璃测砷管、三角瓶、橡胶塞、测砷装置

[主要试剂]硝酸、盐酸、碘化钾溶液、氯化亚锡溶液、无砷锌粒、溴化汞试纸

[操作步骤]样品预处理——样品测定

[结果判定]

限量比较、半定量比较

[注意事项]

作业布置：

完成课后习题

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品安全快速检测与预警》 孙远明 化学工业出版社 2017 年
- 2、《食品安全快速检测技术》 朱克永 科学出版社 2010 年
- 3、《食品安全快速检测》 段丽丽 北京师范大学出版社 2014 年

- | | | | | |
|----|---------------|-----|-----------|-------|
| 4、 | 《食品安全检验技术》 | 吴晓萍 | 河南医科大学出版社 | 2012年 |
| 5、 | 《食品安全检验技术》 | 范俐 | 厦门大学出版社 | 2013年 |
| 6、 | 《食品质量与安全检验实验》 | 余以刚 | 中国标准出版社 | 2014年 |

模块六 食品添加物快速检测技术

授课章节	模块六 食品添加物快速检测技术				
教学时数	4 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <p style="padding-left: 20px;">背景知识</p> <p style="padding-left: 20px;">6.1 非法食品添加物快速检测</p> <p style="padding-left: 20px;">6.2 易滥用的食品添加剂快速检测</p>					
<p>教学目标及要求：</p> <p>知识目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 了解各种常见的非法食品添加物及其危害； 2. 熟悉各种常见的非法食品添加物快速检测产品及操作方法。 <p>能力目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 能正确辨别常见的非法食品添加物 2. 能正确运用非法食品添加物快速检测产品于非法食品添加物的检测中 <p>素质目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 通过了解常见的非法食品添加物，树立诚信求真意识； 2. 通过掌握非法食品添加物快速检测产品的使用，培养科学的职业素养 <p>课程思政目标</p> <p>坚韧不拔、精益求精的职业精神，勇于创新、敢于突破传统思维的科学精神，为推动非法食品添加物检测技术的不断发展注入新的活力</p>					

教学重点及难点：

重点：易滥用的食品添加剂的快速检测方法

难点：非法食品添加剂的快速检测方法

教学方法及手段：多媒体讲授

教学过程：

模块六 食品添加剂快速检测技术

背景知识

1 食品添加剂

为改善食品品质和色、香、味，以及为防腐保鲜盒加工工艺的需要而加入食品中的化学合成或天然物质。

分类：

防腐剂：用于抑制微生物生长繁殖，延长食品保质期。如苯甲酸及其钠盐、山梨酸及其钾盐等。苯甲酸能抑制酵母菌和细菌的生长，主要用于酸性食品的防腐；山梨酸对霉菌、酵母菌和好气性细菌有抑制作用，且毒性相对较低。

抗氧化剂：防止食品中的油脂和其他成分被氧化，从而保持食品的风味和营养。常见的有丁基羟基茴香醚（BHA）、二丁基羟基甲苯（BHT）、没食子酸丙酯（PG）等。BHA 和 BHT 主要用于油脂、油炸食品等，能有效阻止油脂的氧化酸败。

着色剂：使食品具有吸引人的色泽。分为天然着色剂和合成着色剂。天然着色剂如 β -胡萝卜素、叶绿素等，来自于天然植物或微生物；合成着色剂如胭脂红、苋菜红等，色彩鲜艳、稳定性好，但有些合成着色剂可能存在安全隐患。

增味剂：能增强食品原有风味或赋予食品新的风味。例如，味精（谷氨酸钠）是常用的增味剂，可提升食品的鲜味；核苷酸类增味剂如 5'-呈味核苷酸二钠常与味精一起使用，有协同增效作用。

甜味剂：用于增加食品的甜味。包括天然甜味剂如蔗糖、果糖等，以及人工合成甜味剂如阿斯巴甜、糖精钠等。人工合成甜味剂甜度高、热量低，常用于无糖或低糖食品中。

膨松剂：使食品在加工过程中产生二氧化碳等气体，从而使食品具有疏松或蓬松的结构。如碳酸氢钠（小苏打）、碳酸氢铵等，常用于糕点、面包等烘焙食品的制作。

食品添加剂的使用现状与存在问题

使用现状：食品添加剂在现代食品工业中广泛使用，对于满足消费者对食品的多样化需

求、延长食品货架期、降低食品生产成本等方面发挥了重要作用。例如，在饮料生产中，使用甜味剂和着色剂可以调配出各种口味和颜色的饮料；在肉类加工中，添加亚硝酸钠可以起到发色和防腐的双重作用。

存在问题：

超范围使用：部分食品生产者为了追求产品的外观、口感等特性，在不允许添加某种食品添加物的食品中使用该添加物。例如，在一些不允许添加合成着色剂的绿色食品或婴幼儿食品中发现添加了合成着色剂，这可能会对特定人群的健康造成危害。

超限量使用：有些生产者为了达到更好的效果，过量使用食品添加剂。如在腌制食品中过量添加防腐剂，这不仅可能影响食品的品质，还会增加消费者的健康风险。

非法添加物问题：一些不法分子为了谋取私利，向食品中添加非食用物质，这些物质不属于食品添加剂范畴，如在奶粉中添加三聚氰胺、在火锅底料中添加罂粟壳等，这些非法添加行为对消费者的生命健康构成了严重威胁。

2 食品添加剂标准

GB 2760《食品添加剂使用卫生标准》及历年增补规定。

3 食品添加剂安全的疑虑

□某些食品添加剂的成分确实有毒。

如：亚硝酸盐和硝酸盐、过氧化苯甲酰

□许多食品添加剂的安全性仍有争议。

如：糖精钠、苋菜红、胭脂红、香兰素

□非法使用非食品用添加物。

如：苏丹红、三聚氰胺、孔雀石绿、吊白块

4 违法使用食品添加剂的行为

□食品中违法添加非食用物质。

如：甲醛、吊白块、苏丹红、碱性橙II、三聚氰胺、硼酸和硼砂、硫氰酸钠、罗丹明 B、铅铬绿、罂粟壳、皮革水解物、工业明胶、溴酸钾、敌敌畏

背景知识

□滥用食品添加剂。

如：亚硝酸盐、二氧化硫、甜味剂、色素、防腐剂、滑石粉、硫酸亚铁

食品添加剂快速检测技术的重要性

保障食品安全：快速检测技术能够在短时间内对食品中的添加物进行检测，及时发现超范围、超限量使用食品添加剂以及非法添加物的情况，阻止不合格食品流入市场，从而保障消费者的食品安全。例如，在农贸市场、超市等销售终端，快速检测可以对蔬菜制品中的防腐剂、肉类制品中的亚硝酸盐等进行现场检测。

满足监管需求：对于食品监管部门来说，快速检测技术可以提高监管效率。在日常监管和执法检查中，能够快速筛查大量的食品样本，锁定可能存在问题的食品，为后续的实验室精确检测和执法行动提供依据。特别是在应对食品安全突发事件时，快速检测技术可以在短时间内对可疑食品进行初步判断，有助于及时控制事态发展。

适应现代食品工业发展：随着食品工业的快速发展，食品的生产与销售速度加快，需要快速检测技术与之相匹配。食品生产企业也可以利用快速检测技术对原材料和产品进行实时监控，确保产品质量符合标准，提高企业的质量控制水平和市场竞争力。

6.1 非法食品添加剂快速检测

1 非法食品添加剂

为了改变食物的色、香、味、质量或体积，人为加入的国家食品安全标准未经允许使用的物质。

2 判定非法食品添加剂的原则

6.1.1 甲醛的快速测定

1 检测意义

甲醛是一种毒性较强的、可以破坏生物细胞蛋白的物质，可引起人体过敏、肠道刺激反应、食物中毒等疾患。

2 适用范围

水发水产品、水浸泡销售的解冻水产品、水浸泡销售的鲜水产品、香菇等水发产品、血制品

3 样品处理

取样——捣碎——振荡——离心——取上清液；

取样——振摇——浸泡——取上清液；

水发水产品直接取浸泡液。

4 检测方法（间苯三酚法）

[检测原理]碱性条件下，甲醛与间苯三酚反应后使溶液出现橙红色特征。

[主要仪器]10mL 纳氏比色管，或具塞塑料离心管

[试剂]1%间苯三酚溶液

[操作步骤]样品液——滴加间苯三酚，观察颜色变化

[结果判定]

橙红色：阳性；浅红色：弱阳性；无颜色变化：阴性

[注意事项]2min 内观察结果；水发鱿鱼、水发虾仁等样品制备液呈浅红色，不适合此法。

4 检测方法（亚硝基亚铁氰化钠法）

[检测原理]碱性条件下，甲醛与亚硝基亚铁氰化钠反应后使溶液出现蓝色特征。

[主要仪器]10mL 纳氏比色管，或具塞塑料离心管

[试剂]4%盐酸苯肼溶液；5%亚硝基亚铁氰化钠溶液；10%氢氧化钾溶液

[操作步骤]样品制备液——加入 4%盐酸苯肼、5%亚硝基亚铁氰化钠、10%氢氧化钾——观察结果

[结果判定]

蓝色或灰蓝色：阳性；浅蓝色：弱阳性；浅黄色：未检出

[注意事项]5min 内观察结果

4 检测方法（AHMT 法）

[检测原理]碱性溶液中与 4-氨基-3-肼氨-5-巯基三唑（AHMT）发生反应，经高碘酸钾氧化成红色化合物。

[主要仪器]10mL 纳氏比色管，或具塞塑料离心管

[试剂]饱和氢氧化钾或 5mol/L 氢氧化钾溶液；5g/LAHMT 盐酸溶液；1.5%高碘酸钾的氢氧化钾溶液

[操作步骤]样品制备液——滴加 3 种试剂——观察结果

[结果判定]

与比色卡对照，得出甲醛含量

4 检测方法（三氯化铁法）

5 注意事项

- 各方法可单独用作定性检测，必要时可同时使用；
- 注意试剂是否需现用现配；
- 与标准色卡比较，可半定量；

□各类食品不得检出甲醛；

□阳性样品送检。

6.1.2 吊白块的快速测定

1 检测意义

甲醛次硫酸氢钠俗称吊白块，加热后会分解出甲醛，引起胃痛、呕吐和呼吸困难，并对肝脏、肾脏、中枢神经造成损害，严重的还会导致癌变和畸形病变。

2 适用范围

粉丝、米粉、面粉、年糕、馒头等米面制品和豆制品、腌渍品、保鲜蔬菜、脱皮蔬菜、血制品、白糖等。

3 检测方法（AHMT+DTNB 组合试剂法）

[检测原理]甲醛次硫酸氢钠在食物中分解成甲醛、次硫酸氢钠和二氧化硫。分解后的甲醛，用 AHMT 试剂快速检测，当出现阳性（紫色）结果时，再快速检测样品的二氧化硫来确定样品中是否含有甲醛次硫酸氢钠成分。

[主要仪器]试管、具塞塑料离心管

[试剂]饱和氢氧化钾或 5mol/L 氢氧化钾溶液；5g/L AHMT 盐酸溶液；1.5%高锰酸钾的氢氧化钾溶液；二氧化硫测试液

[操作步骤]样品粉碎——加水振摇提取——取上清液滴加试剂——观察结果

[结果判定]

□不变色或紫红色以外颜色：阴性；

□紫红色：滴加二氧化硫测试液呈黄色，阳性；不变色或呈黄色以外颜色，阴性。

[注意事项]

3 检测方法（醋酸铅试纸法）

[检测原理]甲醛次硫酸氢钠在酸性介质中与原子态氢生成 H₂S，使醋酸铅试纸变黑；甲醛与乙酰丙酮及铵离子反应生成黄色化合物。

[主要仪器]三角瓶，粉碎机

[试剂、材料]盐酸溶液、锌粒、醋酸铅试纸、乙酰丙酮试剂、乙酸铵溶液

[操作步骤]取磨碎样品——加水混匀——加盐酸、锌粒——盖湿润的醋酸铅试纸——观察结果；

另取样液——加乙酰丙酮、乙酸铵溶液——沸水加热——观察结果

[结果判定]

- 试纸不变色：阴性；
- 试纸变为棕色至黑色：甲醛实验不变色，阴性；变为黄色，阳性。

[注意事项]样品清液有颜色，可采用水蒸气蒸馏法，取馏出液试验

3 检测方法（副品红法）

[检测原理]在甲醛存在下，亚硫酸根离子与副品红生成紫色络合物。

[主要仪器]试剂盒、检测试管、三角瓶、吸管

[操作步骤]取样——加水振摇——样液加入检测管，摇匀——观察结果

[结果判定]溶液蓝绿色：未检出；浅紫色：弱阳性；紫红色：阳性

[注意事项]方法干扰少；含酸性物质，操作应小心；沾到反应液，应清洗干净；阳性样品进一步确证。

6.1.3 苏丹红（油溶性非食用色素）快速测定

1 检测意义

苏丹红是一种人工合成的红色工业染料；具有致突变性和致癌性。

2 适用范围

适用于鸡蛋、鸭蛋、咸鸭蛋（蛋黄）、辣椒粉、辣椒酱、番茄酱等食品中苏丹红等油溶性非食用色素的现场快速检测。

3 检测原理

快速纸色谱测定法：根据化学极性不同，通过展开剂在试纸上的展开距离不同来确定组分的存在。

4 主要仪器

具塞刻度试管、滤纸、毛细管、烧杯

5 试剂

提取剂：乙酸乙酯

展开剂：正丁醇-无水乙醇-氨水=20:1:1

6 操作步骤

样品处理-样品点样-样品展开-结果判定

7 注意事项

- 最低检出浓度 8 μ g/mL；

点样量以展现斑点而无拖尾现象为宜；

如对照物展开后全部堆积到展开前沿处或原点处未移动，说明试剂或操作有问题。

6.1.4 水溶性非食用色素的快速测定

1 检测意义

人工合成色素大多数对人体有害，包括一般毒性、致泻性和致癌性，表现为直接危害或代谢过程产生有害物质及合成过程中带入的砷、铅等污染物的危害。

(1) 孔雀石绿：染料，带金属光泽绿色结晶体，杀真菌剂，被用于防治鱼类真菌感染，具有高毒性、高残留、致癌、致畸、致突变等副作用。

(2) 结晶紫：三苯甲烷类碱性染料，暗绿色，抗真菌剂，被用于鱼类养殖业，对哺乳动物细胞具有高毒性。

(3) 罗丹明 B：鲜桃红色、碱性的人工荧光染料，被非法用于调味品染色剂，易透过皮肤，引起皮下组织生肉瘤，致癌物质。

(4) 碱性嫩黄 O：黄色均匀粉末状化工染料，非法用于糖果、腌黄萝卜、酸菜、面条、腐竹等染色，对皮肤黏膜有轻度刺激，引起结膜炎、皮炎和上呼吸道刺激症状。

(5) 碱性橙 II：偶氮类碱性染料，非法用于豆腐、鲜海鱼染色，造成急性和慢性中毒，可能造成多种癌变。

(6) 酸性橙 II：酸性水溶性染料，非法用于肉制品、豆干、豆皮干等，有强致癌性。

(7) 奶油黄：工业用黄色色素，非法用于酸菜、腌黄萝卜、面条、饮料、糖果、臭豆腐制作汤料等，容易导致肝癌。

(8) 对位红：暗红色染料，结构与苏丹红 I 相似，对眼睛、皮肤和呼吸系统有刺激性。

(9) 卑斯麦棕：深棕色粉末，用于工业染色。

2 适用范围

饮料、汽水、酒类、糕点、糖果

3 样品处理

液体食品

固体食品

4 检测方法（脱脂棉染色法）

[检测原理]直接染料在氯化钠溶液中可使脱脂棉染色，经氨水溶液洗涤后，不会褪色。

[主要仪器]破碎机、烧杯、水浴锅、漏斗、玻璃棉、量筒、脱脂棉、镊子、蒸发皿等

[试剂]10%氯化钠溶液，1%氨水

[操作步骤与结果判定]

[检测原理]碱性色素在弱碱性溶液中可使脱脂纯白羊毛染色，取此染色羊毛的乙酸提取液，于碱性环境中又可重新使新羊毛染色。

4 检测方法（羊毛染色法）

[主要仪器]破碎机、烧杯、水浴锅、漏斗、玻璃棉、试管、量筒、脱脂白羊毛、镊子等

[试剂]10%氨水溶液，1%乙酸溶液

[操作步骤]样品处理—测定

[结果判定]

[注意事项]

4 检测方法（罗丹明 B 的现场快速检测）

[检测原理]罗丹明 B 具有脂溶性，用中性氧化铝固相萃取小柱吸附，用非极性有机溶剂淋洗小柱，若有罗丹明 B 存在，则肉眼可见鲜亮的粉红色条带。

[适用范围]以辣椒粉和辣椒油为主的调味品等。

[试剂]中性氧化铝、正己烷、20%丙酮的正己烷液

[主要仪器]氧化铝固相萃取小柱、玻璃器具

[操作步骤]样品处理、净化洗脱、结果判定

[注意事项]可疑样品送检

6.1.5 硼砂和硼酸的快速测定

1 检测意义

硼砂添加入食品中起防腐、增加弹性和膨胀等作用，成人致死量 15g、婴儿致死量 2~3g，硼砂和硼酸对肾脏有损害。

2 适用范围

牛乳、牛肉、牛肉丸、牛肉制品、虾类、粉肠、腐竹、鱼丸、油面、蒸饺、水饺肉馅、各式粽子、各式糕点及粮食等食品。

3 检测原理

有硼砂或硼酸存在，姜黄试纸变成特征的红色，用氨水使之转变成暗蓝-绿色，加酸又可使之恢复到原来的颜色。

4 主要仪器

三角瓶

5 试剂及试纸

盐酸、浓氨水、姜黄试纸

6 操作步骤

□感官检验：滑爽感

□姜黄试纸检验

□结果判定：试纸显红色或橙红色，用氨水熏即转为绿黑色，为阳性

6.1.6 水发水产品中双氧水的快速测定

1 检测意义与适用范围

在牛百叶、牛肚、海蜇、海参、鱼皮、鸭掌、鱿鱼等食品中使用双氧水，其对人体的安全性有待评估。

2 操作步骤与结果判定

在试纸盒的楔状齿上割断一小段试纸，浸入样品后立即取出，与标准色板进行比色。

3 注意事项

含氯液体与含双氧水的显色区别。

6.1.7 三聚氰胺的快速检测

1 检测意义

三聚氰胺是重要的有机化工原料，禁止认为添加到任何食品中。三聚氰胺被认为毒性轻微，但长期摄入可造成生殖、泌尿系统损害，导致膀胱、肾结合，可进一步诱发膀胱癌。

2 适用范围

原料乳、纯乳、纯乳粉、纯酸奶以及饲料中三聚氰胺的现场快速筛查。

3 检测方法（胶体金免疫色谱竞争法）

[检测原理]三聚氰胺与金标垫上的金标抗体结合形成复合物，若三聚氰胺浓度低于检测限，未结合的金标抗体流到 T 区，形成 T 线，相反则不会形成 T 线。

[操作步骤]原料处理—测定

[结果判定]阳性：C 线，阴性：T 线、C 线，无效：无 C 线

3 检测方法（试剂盒法）

[检测原理]样品中的三聚氰胺经过大约 5min 的快速提取后，与胺盐沉淀试剂发生反应，生成相对稳定的混悬液体，在比浊管中目视比对判定结果。

[试剂盒配置]A 试液、B 试液、5mL 离心管、3mL 一次性吸管、注射器、密闭式微孔滤膜、比浊管、米字比浊片，三聚氰胺对照液。

[操作步骤]

牛乳、酸奶的检测，乳粉的检测，饲料检测

[注意事项]

3 检测方法（家庭乳粉溶解度简易测试）

6.1.8 尿素的定性快速检测

1 适用范围

适用于掺假乳品与饮用水中尿素的定性检测。

2 检测原理

尿素和亚硝酸钠在酸性溶液中生成二氧化碳和氨气，当加入对氨基苯磺酸时，掺有尿素的牛乳呈黄色外观，正常牛乳为紫色。

3 主要器材

1.5mL 试管、含 C 试液的试管，滴管，塑料手套。

4 试剂

A 试液（饱和亚硝酸钠）、B 试液（浓硫酸）、C 试液（对氨基苯磺酸）

5 操作步骤

样品处理—测定—结果判定

6.1.9 甲醇超标的现场快速检测

1 检测意义与适用范围

甲醇可引起人体慢性损害，高剂量时可引起人体急性中毒。

2 检测原理

试样中的甲醇在磷酸溶液中，被高锰酸钾氧化成甲醛，与变色酸在浓硫酸存在下，先缩合，随之氧化，生成蓝紫色化合物，其呈色深浅与甲醇含量成正比。

3 主要器材

离心管、离心管架、能定量的滴管、能定量的塑料吸管、标准酒样参考色卡。

4 试剂

A 试剂、B 试剂、C 试剂、D 试剂、无甲醇的乙醇溶液、10g/L 甲醇标准溶液、甲醇标准使用溶液

5 操作步骤

测定

结果判定：显色深于标样管为不合格

6 注意事项

乙醇浓度对颜色反应干扰较大，检测同步性，浓硫酸小心保管

6.2 易滥用的食品添加剂快速检测

6.2.1 亚硝酸盐的快速检测

1 检测意义

亚硝酸盐具有较强毒性；与血红蛋白结合，导致组织缺氧；与仲胺生成亚硝胺或亚硝酸胺，有强致癌性和毒性。

2 适用范围

适用于火腿肠、午餐肉、酸白菜等食物，水及中毒残留物中亚硝酸盐的快速检测。

3 检测原理

亚硝酸离子首先在弱酸条件下与苯磺酸反应重氮化，然后用与萘乙二胺反应偶合，生成紫红色螯合物。

4 操作步骤与结果判定

(1) 食盐中亚硝酸盐的快速检测及食盐与亚硝酸盐的快速检测

(2) 液体样品的检测

(3) 固体或半固体样品的检测

5 注意事项

亚硝酸盐含量较高时的处理；不宜采用饮用水作为稀释液。

6.2.2 二氧化硫的快速检测

1 检测意义

二氧化硫残留量是亚硫酸盐在食品中存在的计量形式，亚硫酸盐在食品中解离成具有强还原性的亚硫酸，导致胃肠道反应，影响钙磷吸收，免疫力低下，有潜在危害性。

2 检测方法（滴瓶快速测定法）

[适用范围]适用于白糖、淀粉等粉状食品

[检测原理]样品中的二氧化硫以游离型和结合型存在，加入氢氧化钾破坏其结合状态，并使之固定，加入硫酸又使二氧化硫游离，然后用碘标准溶液滴定。

[试剂]1 号试剂、2 号试剂、3 号试剂、4 号滴定液

[操作步骤]样品处理—测定

[注意事项]根据限量标准，可推断各种食品 4 号滴瓶最多不应超过的滴数。

2 检测方法（速测管比色法）

[检测原理]采用 GB/T 5009.34-2003 《食品中亚硫酸盐的测定》改进后的现场半定量快速检测方法。

[适用范围]米面制品、豆制品、盐渍品、保鲜蔬菜、脱皮蔬菜、血制品、白糖等食品

[试剂]A 试液、B 试液

[操作步骤]

6.2.3 明矾含量的快速检测

1 检测意义

大量服用明矾会引起呕吐、腹泻、消化道炎症，甚至出现肋部疼痛、吐出土褐色黏液、血尿及其肾刺激症状，导致胃粘膜坏死，肾皮质肾小管坏死、肝脂肪变性等损害。

2 检测原理

采用特征离子鉴别方法定性，用 Na₂EDTA 络合滴定方法定量。

3 主要仪器

试管、烧杯、移液管、酸式滴定管、玻璃棒、电炉

4 主要试剂

氯化铵-氨试剂、NaOH 溶液、茜素-S 溶液、酒石酸氢钠溶液、氯化钡溶液、Na₂EDTA 标准溶液、乙酸锌标准溶液

5 操作步骤

（1）感官鉴别

（2）特征离子鉴别：铝盐反应、钾盐反应、硫酸盐反应

6 注意事项

EDTA 滴定法干扰因素少；采用回滴法

6.2.4 蜂蜜中糊精和淀粉的快速检测

1 检测意义

掺假蜂蜜不单是经济利益的问题，而且会带来一些食用安全方面的危害，如变质酸败。

2 试剂

碘溶液

3 操作步骤

4 结果判定：溶液变为棕色或紫色或棕紫色，含有糊精；溶液变为蓝色或蓝黑色，含有淀粉及糊精。

6.2.5 面粉中滑石粉、石膏粉的快速检测

1 检测意义

天然沉积而成的滑石粉含有石棉，其细小纤维有致癌性。

2 检测方法（比重法）

[检测原理]利用比重原理，即同种物质同样的体积下质量应该一样。

[操作步骤]

[结果判定]掺滑石粉、石膏粉的面粉质量远远大于正常面粉

2 检测方法（特征离子鉴别法）

[检测原理]样品经消化后，用专用试剂定性或定量检测 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 。 Mg^{2+} 在强碱性溶液中生成 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 沉淀，此沉淀与镁试剂 I 发生吸附作用，形成天蓝色沉淀。

[试剂]镁试剂 I（对硝基苯偶氮间苯二酚）

[操作步骤]消化—检测

[结果判定]根据蓝色沉淀量初步判定滑石粉的量

[注意事项] HCl 、 HNO_3 、 H_2O_2 混合溶剂既破坏面粉有机物，又使滑石粉中的 MgO 溶解，而 SiO_2 沉淀在溶液，不影响测定。

6.2.6 过氧化苯甲酰的快速检测

1 检测意义

过量添加会破坏小麦粉营养成分，分解产物苯甲酸对肝脏功能有严重损害。

2 应用范围

小麦粉、各类面粉及其制品。

3 检测原理

丙酮溶液中，碘化钾和过氧化苯甲酰反应游离出碘单质，再与面粉中淀粉反应呈蓝色。

4 主要仪器

10mL 纳氏比色管或具塞塑料离心管、碘量瓶，量筒、酸式滴定管或者直立瓶。

5 试剂

丙酮、碘化钾溶液、硫代硫酸钠溶液

6 操作步骤

(1) 半定量比色

(2) 精密定量

7 结果判定

颜色与空白对照相同为阴性，颜色呈蓝色为阳性。

作业布置：

完成课后习题

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品安全快速检测与预警》 孙远明 化学工业出版社 2017 年
- 2、《食品安全快速检测技术》 朱克永 科学出版社 2010 年
- 3、《食品安全快速检测》 段丽丽 北京师范大学出版社 2014 年
- 4、《食品安全检验技术》 吴晓萍 河南医科大学出版社 2012 年
- 5、《食品安全检验技术》 范俐 厦门大学出版社 2013 年
- 6、《食品质量与安全检验实验》 余以刚 中国标准出版社 2014 年

模块七 食品微生物快速检测技术

授课章节	模块七 食品微生物快速检测技术				
教学时数	4 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 背景知识 7.1 菌落总数的快速检测 7.2 食品中大肠菌群的快速检测 7.3 霉菌和酵母菌的快速检测 7.4 沙门菌的快速检测 7.5 金黄色葡萄球菌的快速检测 7.6 大肠杆菌 O157: H7 的快速检测。					
教学目标及要求： 知识目标 1. 熟悉菌落总数、大肠菌群、霉菌和酵母菌的快速检测方法； 2. 了解沙门菌、金黄色葡萄球菌、O157: H7 的快速检测方法。 能力目标 1. 能正确进行菌落总数、大肠菌群、霉菌和酵母菌的快速检测 2. 能正确进行沙门菌、金黄色葡萄球菌、O157: H7 的快速检测 素质目标 1. 通过了解菌落总数、大肠菌群、霉菌和酵母菌的快速检测，树立诚信求真意识； 2. 通过掌握沙门菌、金黄色葡萄球菌、O157: H7 的快速检测，培养科学的职业素养					

课程思政目标

坚韧不拔、精益求精的职业精神，勇于创新、敢于突破传统思维的科学精神，为推动非法食品微生物检测技术的不断发展注入新的活力

教学重点及难点：

重点：免疫学方法在食品微生物快速检测中的应用

难点：分子生物学方法在食品微生物快速检测中的应用

教学方法及手段：多媒体讲授

教学过程：

模块七 食品微生物快速检测技术

背景知识

食品微生物的种类与危害

种类：

细菌：是食品中最常见的微生物。例如，致病性细菌包括沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌 O157:H7 等。沙门氏菌主要污染肉类、蛋类、奶类等食品，能引起伤寒、副伤寒以及食物中毒等症状；金黄色葡萄球菌可在富含蛋白质的食物中生长繁殖，产生肠毒素，引发呕吐、腹泻等中毒现象；大肠杆菌 O157:H7 主要通过污染的水源、肉类等进入人体，导致严重的肠道出血性腹泻和溶血性尿毒综合征。

霉菌：在潮湿、温暖的环境下容易在食品上生长。常见的有黄曲霉，它能产生黄曲霉毒素，这种毒素主要污染花生、玉米等粮油作物。黄曲霉毒素是一种强致癌物，可诱发肝癌等多种癌症。

酵母菌：部分酵母菌会导致食品变质。例如，酿酒酵母在合适的条件下能使果汁、蜂蜜等含糖食品发酵变质，但也有一些酵母菌在食品发酵工业中发挥有益作用，如用于制作面包、酿酒等。

危害：

食物中毒：食品中的有害微生物会产生毒素或本身就是病原菌，人们食用后会引起食物中毒。食物中毒的症状包括恶心、呕吐、腹痛、腹泻、发热等，严重的可能会危及生命。

食品腐败变质：微生物在食品中生长繁殖会分解食品中的营养成分，导致食品的外观、气味、口感等发生变化，使食品失去食用价值。例如，细菌分解肉类中的蛋白质，使肉类产生异味、

变色和发黏的现象。

慢性疾病风险增加：长期摄入含有微生物毒素的食品，如黄曲霉毒素，会增加患癌症、肝脏疾病等慢性疾病的风险。

传统食品微生物检测方法的特点与局限

特点：

经典微生物检测方法：主要包括培养法和显微镜观察法。培养法是将食品样品接种到特定的培养基上，在适宜的温度、湿度等条件下培养一段时间，然后观察菌落形态、计数菌落数量等，以此来确定微生物的种类和数量。例如，检测食品中的细菌总数和大肠菌群数通常采用这种方法。显微镜观察法则是利用光学显微镜或电子显微镜直接观察食品中的微生物形态，这种方法可以快速观察到微生物的大致形态，但难以准确鉴定微生物的种类和数量。

准确性和可靠性较高：传统检测方法经过长期的实践验证，在微生物鉴定准确性方面具有较高的可信度。如果严格按照标准操作程序进行检测，能够准确地确定微生物的种类和数量，是判定食品微生物是否超标的重要依据。

局限：

检测周期长：培养法通常需要较长的时间来培养微生物，一般细菌的检测需要 1 - 3 天，霉菌和酵母菌的检测可能需要 3 - 7 天。对于一些易腐食品，这种长时间的检测周期可能导致食品在检测结果出来之前已经变质或销售出去，无法及时控制食品安全风险。

操作繁琐：传统检测方法涉及多个步骤，包括样品采集、预处理、接种、培养、观察和计数等。每个步骤都需要严格的操作规范和无菌操作条件，操作过程较为复杂，需要专业的技术人员进行操作，并且容易受到人为因素的影响，如操作不熟练、污染等，从而影响检测结果的准确性。

不能实时检测：传统方法无法在食品生产、加工、储存和销售的现场进行实时检测。例如，在食品加工流水线或超市货架上，难以使用传统方法快速检测食品中的微生物情况，不利于及时发现和处理微生物污染问题。

食品微生物快速检测技术的产生背景与发展趋势

产生背景：

食品安全需求的推动：随着人们生活水平的提高，对食品安全的要求越来越高，需要更快速、准确的检测方法来保障食品的安全性。消费者希望在购买食品时能够快速了解食品的微生物状况，食品生产企业也需要及时监控生产过程中的微生物污染情况，以确保产品质量。

现代食品工业发展的要求：现代食品工业的生产速度快、产量大，传统检测方法无法满足快速检测大量食品样品的需求。例如，在大型肉类加工企业，每天需要检测大量的肉类产品，如果采用传统检测方法，会严重影响生产效率，增加生产成本。因此，需要开发快速检测技术来适应食品工业的快速发展。

发展趋势：

技术多元化：食品微生物快速检测技术不断发展，出现了多种基于不同原理的检测方法，如免疫学方法（酶联免疫吸附试验、免疫磁珠分离技术等）、分子生物学方法（聚合酶链式反应、基因芯片技术等）、生物传感器方法（光学传感器、电化学传感器等）和代谢学方法（ATP生物发光法等）。这些方法各有优缺点，能够从不同角度快速检测食品中的微生物。

智能化与便携化：为了方便现场检测，快速检测技术正朝着智能化和便携化的方向发展。例如，开发出便携式的微生物检测仪器，这些仪器操作简单，能够自动完成检测过程，并将结果直观地显示出来，使非专业人员也能在现场快速检测食品中的微生物情况。

联用技术与高通量检测：将多种检测技术联用可以发挥各自的优势，提高检测的准确性和灵敏度。同时，高通量检测技术能够同时检测多种微生物或多个样品，大大提高了检测效率，这在应对食品安全突发事件和大规模食品检测中具有重要意义。

方法比较：

1 传统微生物检验：耗时，操作繁杂；

2 微生物快速检测方法基础：微生物学、分子化学、生物化学、生物物理学、免疫学、血清学等；

3 快检方法优势：更快、更方便、更灵敏。

7.1 菌落总数的快速检测

测试片法

以纸片、冷水可凝胶和无纺布等作为培养基载体来测定食品中微生物。优势：使用简单，不需预先配制培养基，方便携带，适用于设备不足的基层实验室和现场即时检测。

[检测原理]将培养基、凝胶和酶显色剂等加载在试纸上，经加样、培养后，细菌菌落在纸片上显现出红色菌斑，通过计数报告结果。

[主要仪器]恒温培养箱、冰箱、恒温水浴锅、电子天平、均质器、振荡器、微量移液管

[试剂]无菌生理盐水、1mol/L 氢氧化钠、1mol/L 盐酸

[操作步骤]样品稀释—接种—培养—计数

[结果计算]

□只有一个稀释度平板上菌落数在适宜计数范围内，计算平均值，乘以稀释倍数；

[注意事项]使用过的测试片上带有活菌，应及时按照生物安全废弃物处理原则进行无害化处理。

7.2 食品中大肠菌群的快速检测

7.2.1 最可能数（MPN）法

[适用范围]适用于各类食品、纯净水等样品中大肠菌群数测定。

[检测原理]大肠菌群可产生 β -半乳糖苷酶，分解液体培养基中的酶底物—4-甲基伞型酮- β -D-半乳糖苷，使 4-甲基伞型酮游离，因而在 366nm 的紫外光灯下呈现蓝色荧光。

[主要仪器]培养箱、冰箱、电子天平、均质器或乳钵，平皿、试管、吸管、广口瓶或三角瓶，玻璃珠，试管架，紫外灯

[试剂]磷酸盐缓冲液、生理盐水、4-甲基伞型酮- β -D-半乳糖苷肉汤

[操作步骤]样品的制备—接种—培养

[结果判定]

- （1）用紫外灯照射，显蓝色荧光为阳性；
- （2）根据 MPN 检索表，报告结果。

7.2.2 平板法

[适用范围]适用于各类食品、纯净水等样品中大肠菌群数测定。

[检测原理]大肠菌群可产生 β -半乳糖苷酶，分解培养基中的酶底物——茜素- β -D 半乳糖苷，使茜素游离并与固体培养基中的铝、钾、铁、铵离子结合形成紫色（或红色）的螯合物，使菌落呈现相应的颜色。

[主要仪器]培养箱、冰箱、天平、均质器或乳钵、平皿、试管、吸管、广口瓶或三角瓶、玻璃珠、试管架

[试剂]磷酸盐缓冲液、生理盐水、茜素- β -D 半乳糖苷琼脂

[操作步骤]样品的制备—接种—培养

[注意事项]

- （1）所有紫色（或红色）菌落数小于 15，仍按公式计算，结果加*号；
- （2）未稀释样品和所有稀释样品，均少于 15 个，结果报告为<15；
- （3）未稀释样品和所有稀释样品，均未发现，结果报告为<1；

(4) 所有紫色（或红色）菌落数高于 150，仍按公式计算，结果加*号。

7.2.3 其他方法

1 试剂盒法

依照国家标准方法将大肠菌群液体检测培养基包被到塑料盒中，配有产气孔，以此替代玻璃发酵管而实现大肠菌群快速检测。

2 测试片法

将检测培养基和特定指示剂加载在特制纸片上，经培养后能够在纸片上生长，在指示剂的作用下菌落具有显著的颜色，则可进行判定和计数。

7.3 霉菌和酵母菌的快速检测

测试片法

[适用范围]各类食品及饮用水中霉菌、酵母菌的计数。

[适用范围]各类食品及饮用水中霉菌、酵母菌的计数。

[检测原理]将霉菌、酵母菌的培养基、可溶性凝胶和酶显色剂加载在特制纸片上，通过培养，在酶显色剂的放大作用下，使霉菌、酵母菌在测试片上显现出来，通过计数报告结果。

[主要仪器]恒温培养箱、冰箱、恒温水浴锅、电子天平、均质器、振荡器、微量移液器

[试剂]无菌生理盐水、1mol/L 氢氧化钠、1mol/L 盐酸

[操作步骤]样品处理—接种—培养

[结果判定]霉菌和酵母菌在纸片上生长后显示蓝色斑点，霉菌菌落显示的斑点略大或有点扩散，酵母菌菌落则较小而圆滑，许多霉菌在培养后期会呈现其本身特有的颜色。

选择菌落数 10~100 个的纸片计数，乘以稀释倍数即为霉菌和酵母菌数目。

[注意事项]使用过的测试片上带有活菌，及时按照生物安全废弃物处理原则进行处理。

7.4 沙门菌的快速检测

试剂盒法

[适用范围]各类食品及动物饲料中的沙门菌快速检测。

[检测原理]样品沿检测装置流动，如对照区和检测区同时出现条带，可初步鉴定样品为沙门菌阳性。

[主要仪器]恒温培养箱、冰箱、恒温水浴锅、电子天平、均质器、振荡器、微量移液器。

[试剂]无菌生理盐水、1mol/L 氢氧化钠、1mol/L 盐酸

[操作步骤]

[结果判定]对照区形成一个条带，阴性；对照区和检测区同时出现条带，阳性。

[适用范围]各类食品中的金黄色葡萄球菌的检测。

7.5 金黄色葡萄球菌的快速检测

测试片法

[主要仪器]恒温培养箱、冰箱、恒温水浴锅、电子天平、均质器、振荡器、微量移液器。

[试剂]无菌生理盐水、1mol/L 氢氧化钠、1mol/L 盐酸

[操作步骤]样品前处理、样品接种、样品培养

[结果判定]呈紫红色的菌落为金黄色葡萄球菌。

[注意事项]

- (1) 必要时前增菌
- (2) 使用后测试片无害化处理

7.6 大肠杆菌 O157: H7 的快速检测

7.6.1 荧光免疫分析法

[适用范围]食品及食物中毒样品中大肠杆菌 O157: H7 的检验。

[检测原理]双抗体夹心酶联荧光免疫分析方法。

[主要仪器]miniVIDAS 或 VIDAS

[试剂]E.coli O157 试剂条、校正液、阳性对照、阴性对照、MLE 卡

[操作步骤]

- (1) 前增菌
- (2) 增菌与处理
- (3) 上机操作（输入 MLE 卡信息、校正、检测）

7.6.2 多聚酶链反应

[适用范围]食品及食物中毒样品中大肠杆菌 O157: H7 的检验。

[检测原理]BAX 全自动病原菌检测系统利用多聚酶链反应（PCR）来扩增并检测细菌 DNA 中特异片段来判断目标菌是否存在。

[主要仪器]BAX 系统主机及工作站、仪器校正板、带帽裂解八联管及管架、盖帽器、去帽器、加热槽、温度计、单道加样器、8 道加样器、冷却器、PCR 管支架、打印机

[试剂]PCR 管、裂解缓冲液、蛋白酶、溶菌试剂

[操作步骤]

(1) 增菌

(2) 上机操作

[结果判定]绿色“-”表示阴性，红色“+”表示阳性，黄色“?”表示不确定结果，黄色“?”带斜线表示错误结果。

作业布置：

完成课后习题

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品安全快速检测与预警》 孙远明 化学工业出版社 2017 年
- 2、《食品安全快速检测技术》 朱克永 科学出版社 2010 年
- 3、《食品安全快速检测》 段丽丽 北京师范大学出版社 2014 年
- 4、《食品安全检验技术》 吴晓萍 河南医科大学出版社 2012 年
- 5、《食品安全检验技术》 范俐 厦门大学出版社 2013 年
- 6、《食品质量与安全检验实验》 余以刚 中国标准出版社 2014 年

模块八 生物毒素的快速检测技术

授课章节	模块八 生物毒素的快速检测技术				
教学时数	2 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 背景知识 8.1 细菌性生物毒素的快速检测 8.2 真菌性生物毒素的快速检测 8.3 其他生物毒素的快速检测。					
教学目标及要求： 知识目标 1. 熟悉黄曲霉毒素快速检测基本原理和操作方法； 2. 了解肉毒毒素、河豚毒素、组胺等的快速检测方法。 能力目标 1. 能正确进行黄曲霉毒素的快速检测 2. 能正确进行肉毒毒素、河豚毒素、组胺的快速检测 素质目标 1. 通过了解黄曲霉毒素的快速检测，树立诚信求真意识； 2. 通过掌握黄曲霉毒素的快速检测，培养科学的职业素养 课程思政目标 坚韧不拔、精益求精的职业精神，勇于创新、敢于突破传统思维的科学精神，为推动生物毒素					

检测技术的不断发展注入新的活力

教学重点及难点：

重点：酶联免疫法的原理和方法

难点：免疫亲和荧光法的原理和方法

教学方法及手段：多媒体讲授

教学过程：

模块八 生物毒素的快速检测技术

背景知识

生物毒素：是指生物来源并不可复制的有毒化学物质，包括动物、植物、微生物产生的对其他生物物种有毒害作用的各种化学物质。

危害：对机体的各种器官和生物靶位产生化学和物理化学的作用，而引起机体损伤，功能障碍以及致畸、致癌，甚至造成死亡等各种不良的生理效应。

1 生物毒素的分类

(1) 根据来源分类：细菌毒素、真菌毒素、植物毒素、动物毒素、海洋生物毒素等

(2) 根据食源性分类：食源性生物毒素、非食源性生物毒素

食源性生物毒素：□细菌性生物毒素：肉毒毒素、葡萄球菌肠毒素、副溶血弧菌毒素、大肠杆菌毒素、志贺菌毒素、霍乱弧菌毒素、沙门菌毒素；□真菌毒素：黄曲霉毒素、麦角生物碱、赭曲霉毒素、玉米赤霉烯酮、T-2 毒素、伏马毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、棒曲霉毒素

背景知识

2 黄曲霉毒素

(1) 目前毒性最大的真菌毒素，肝脏毒，强致癌性；

(2) 12 种：B1、B2、G1、G2、M1、M2、P1、Q、H1、GM、B2a、毒醇；

(3) 常存在土壤、动植物、坚果、大豆、稻谷、玉米、通心粉、调味品、牛乳、乳制品、食用油等中。

3 赭曲霉毒素

- (1) 损害动物的肾脏及肝脏，致畸、致癌；
- (2) 包括 A、B、C 等 7 种结构类似化合物。

4 其他生物毒素

- (1) 动物毒素：河豚毒素、组胺等；
- (2) 植物毒素：氰苷、豆类凝血素、龙葵碱、蓖麻毒素、棉籽油毒素等；
- (3) 微囊藻毒素；
- (4) 贝毒：蛤类、螺类、鲍类、海兔

8.1 细菌性生物毒素的快速检测

8.1.1 肉毒毒素的快速检测（胶体金法）

[适用范围]肉类、豆制品、腌制的菜、酱、蜂蜜、乳液等 A 型肉毒毒素的检出

[检测原理]采用双抗体夹心法，将抗 A 型肉毒毒素特异性抗体包被在硝酸纤维素膜上，用于捕捉标本中的 A 型肉毒毒素，然后用特异性抗体标记的免疫胶体金探针进行检测。

[操作步骤]样品处理—测定

[结果判定]阳性：C 区和 T 区红色线；阴性：C 区红色线

[注意事项]在 5~15min 内观察结果

8.1.1 肉毒毒素的快速检测（反向乳胶凝集法）

[适用范围]香肠、午餐肉、咸牛肉、腊肠、青豆、蘑菇、酱豆腐、豆豉等

[检测原理]用无活性乳胶颗粒（如聚苯乙烯乳胶）作为载体，将肉毒毒素抗体预先吸附在乳胶颗粒上，包被其表面，形成大颗粒型试剂，与食品中的肉毒毒素相互作用出现凝集，抗体可与相对应的抗原结合而出现间接凝集反应。

[主要试剂]生理盐水、乳胶液

[操作步骤]样品处理—测定

[结果判定]全部乳胶凝集，成絮状团块，液体清亮，即显示肉毒毒素检测强阳性；

大部分乳胶凝集成较小的颗粒，液体清亮，即显示肉毒毒素检测中阳性；

半量乳胶凝集成细小颗粒，液体混浊，即显示肉毒毒素检测阳性；

较少量的乳胶凝集成可见的细颗粒，液体混浊，即显示肉毒毒素检测弱阳性或假阳性；

全部乳胶仍为均匀液体，无颗粒，即显示肉毒毒素检测阴性。

[注意事项]

- 若结果显示弱阳性或假阳性，则需采取另外的方法辅助检测；
- 检测时，应与一定稀释度的相应抗原出现阳性反应，与生理盐水出现阴性反应为合格；
- 乳胶致敏时，镜下检查应无自凝；
- 以正常血清代替免疫血清进行乳胶致敏，以作对照。

8.1.2 金黄色葡萄球菌肠毒素的快速检测（胶体金法）

[适用范围]肉馅、凉粉、剩饭、米酒、蛋及蛋制品、乳及乳制冷饮、含乳糕点、糯米凉糕、熏鱼等

[检测原理]采用双抗体夹心法，将抗金黄色葡萄球菌肠毒素特异性抗体包被在硝酸纤维素膜上，用于捕捉标本中的肠毒素，然后用特异性抗体标记的免疫胶体金探针进行检测。

[操作步骤]样品处理—测定

[结果判定]阳性：C区和T区红色线；阴性：C区红色线

8.1.2 金黄色葡萄球菌肠毒素的快速检测（反向乳胶凝集法）

[适用范围]肉馅、凉粉、剩饭、米酒、蛋及蛋制品、乳及乳制冷饮、含乳糕点、糯米凉糕、熏鱼等

[检测原理]金黄色葡萄球菌肠毒素免疫的兔抗体血清经过纯化后与聚苯乙烯乳胶颗粒结合，这些乳胶颗粒与相应的肠毒素相互结合，就会产生相应的凝集反应。

[主要试剂]V型微孔板/10孔验血片、生理盐水、聚苯乙烯乳胶

[操作步骤]样品处理—测定

[结果判定]

如金黄色葡萄球菌肠毒素存在，将会出现凝集反应，形成特定的网络结构，最终在微孔底部扩散形成一层沉淀。

[注意事项]

- 同时提供阴性质控，即与未经免疫的血清结合的乳胶颗粒；
- 食品的抽提物或菌落滤液在5排V型微孔板中进行稀释，可以检测肠毒素最低检测限。

8.1.2 金黄色葡萄球菌肠毒素的快速检测（ELISA法）

[适用范围]乳制品、巧克力、熏肉、鱼肉、生肉、熟猪肉、海产品、液态和灌装菌类、高盐高糖类样品

[检测原理]利用肠毒素与抗体反应和酶的放大作用建立的方法。

[仪器与试剂]

(1) 器材：96 孔微孔板、匀浆机或搅拌器、离心机、磁力搅拌器、pH 计或 pH 试纸、涡旋振荡器、移液器、计数板、0.2 μ m 过滤器、透析袋、酶标仪

[仪器与试剂]

(2) 试剂：ELISA 试剂盒、生肉提取试剂盒、提取缓冲液、pH 调试剂、聚乙二醇、阳性质控稀释液、稀释洗涤缓冲液、发色剂和底物混合液

[操作步骤]样品制备—测定

[结果判定]

- 阳性结果：样品吸光值不低于阈值；
- 阴性结果：样品吸光值低于阈值-0.05；
- 假阳性结果：吸光值介于阈值-0.05 和阈值之间，需透析浓缩重新测定。

[注意事项]

- 安全注意事项
- 试剂配制注意事项
- 结果判定注意事项

8.2 真菌性生物毒素的快速检测

8.2.1 黄曲霉毒素的快速测定（免疫亲和柱法）

[适用范围]大豆、稻谷、玉米、通心粉、调味品、牛乳、乳制品、食用油等

[检测原理]以单克隆免疫亲和柱为分离手段，用大剂量的黄曲霉毒素单克隆抗体固化在水不溶性的载体上，试样中的黄曲霉毒素在经过免疫亲和柱时，能与之发生特异性结合，用甲醇将亲和柱上的黄曲霉毒素淋洗下来，起到分离纯化的效果，再用荧光计和紫外灯作为检测工具。

[仪器与试剂]

- 仪器：4 系列真菌毒素专用荧光分析仪，1.5 μ m 玻璃纤维滤纸，黄曲霉毒素免疫亲和柱，搅拌杯
- 试剂：0.03%溴溶液、0.003%溴衍生溶液、荧光分析仪校准溶液、分析纯氯化钠、流动相

[操作步骤]样品准备—检测

[灵敏度]测定范围：0~300 μ g/kg

[注意事项]

- 在淋洗液中加入溴溶液衍生，可以提高测定灵敏度；

□以纯水校正荧光仪读数；

□免疫亲和柱避免毒素和有毒溶剂的使用。

8.2.1 黄曲霉毒素的快速测定（ELISA 法）

[适用范围]大豆、稻谷、玉米、通心粉、调味品、牛乳、乳制品、食用油

[检测原理]抗原抗体的特异性反应和酶的放大作用，采用竞争模式测定。

[仪器与试剂]

□仪器：微孔板、恒温培育箱、酶标仪、涡流振荡器

□试剂：四甲基联苯胺、30%过氧化氢、牛血清白蛋白、吐温-20、抗体、包被抗原、酶标二抗、缓冲液系统、黄曲霉毒素 B1、底物溶液

[操作步骤]样品处理—测定

8.2.2 赭曲霉毒素快速测定（免疫亲和柱-荧光仪快速测定法）

[适用范围]大豆、绿豆、绿咖啡豆、酒、葡萄汁、调味品、草本植物、猪肾等

[检测原理]以单克隆免疫亲和柱为分离手段，用大剂量的赭曲霉毒素单克隆抗体固化在水不溶性的载体上，试样中的赭曲霉毒素在经过免疫亲和柱时，能与之发生特异性结合，再用甲醇将亲和柱上的赭曲霉毒素淋洗下来，起到纯化分离的效果，再用荧光计和紫外灯作为检测工具。

[仪器与试剂]

□仪器：4 系列真菌毒素专用荧光分析仪、赭曲霉毒素免疫亲和柱

□试剂：荧光分析仪校准溶液、分析纯碳酸氢钠、甲醇-1%碳酸氢钠提取液、PBS 缓冲液

[操作步骤]样品准备—检测步骤

8.2.2 赭曲霉毒素快速测定（酶联免疫吸附直接测定法）

[适用范围]大豆、绿豆、绿咖啡豆、酒、葡萄汁、调味品、草本植物、猪肾等

[检测原理]抗原抗体的特异性反应和酶的放大作用，采用竞争模式测定。

[仪器与试剂]

□仪器：酶标仪、分液漏斗、微孔板、蒸发皿等

□试剂：赭曲霉毒素 A、四甲基联苯胺、甲醇、石油醚、三氯甲烷、无水乙醇、乙酸乙酯、二甲基甲酰胺、30%过氧化氢、牛血清白蛋白、吐温-20、底物缓冲液、赭曲霉毒素 A 样品与标准品稀释液、底物溶液、终止液、赭曲霉毒素 A 标准溶液、包被抗原、抗体

[操作步骤]样品提取—检测

8.2.3 3-硝基丙酸的快速测定（薄层色谱法）

[适用范围]霉变甘蔗及甘蔗汁

[检测原理]3-硝基丙酸经提取、净化及浓缩，点样于硅胶 G 薄层板上，展开后喷以 3-甲基-2-苯并噻唑啉酮脲盐显色剂，在长波紫外灯下显示出黄色荧光点。目视可定性检查，荧光扫描仪可以测定其含量。

[试剂]展开剂、显色剂、3-硝基丙酸标准溶液

[操作步骤]样品处理—检测步骤

[结果判定]3-硝基丙酸的 Rf 值为 0.39，365nm 紫外灯下标准物与样品等距离显示斑点。

8.2.4 伏马毒素的快速测定（免疫亲和柱-荧光仪快速测定法）

[适用范围]玉米及玉米制品、大米、面条、调味品、高粱、啤酒

[检测原理]以单克隆免疫亲和柱为分离手段，用荧光计和紫外灯作为检测工具的快速分析方法。

[仪器及试剂]伏马毒素亲和柱、0.1%吐温-20/PBS 缓冲液、提取液、0.003%溴溶液

[操作步骤]样品处理—检测

8.2.5 呕吐毒素的快速测定（免疫亲和柱-荧光仪快速测定法）

[适用范围]大麦、小麦、玉米、燕麦等谷物

[检测原理]以单克隆免疫亲和柱为分离手段，用荧光计和紫外灯作为检测工具的快速分析方法。

[操作步骤]样品处理—检测

[检测限]1.0~5.0mg/kg

8.2.6 玉米赤霉烯酮的快速测定（免疫亲和柱-荧光仪快速测定法）

[适用范围]玉米、麦类、谷物等

[检测原理]以单克隆免疫亲和柱为分离手段，用荧光计和紫外灯作为检测工具的快速分析方法。

[仪器与试剂]玉米赤霉烯酮亲和柱、真菌毒素专用荧光仪、聚乙二醇 8000、色谱纯甲醇、色谱纯乙腈、氯化钠、玉米赤霉烯酮衍生液、真菌毒素通用标定标准物一套、0.1%吐温-20/PBS 缓冲液、提取液

[操作步骤]样品处理—测定

8.2.7 T-2 毒素的快速测定（免疫亲和柱-荧光仪快速测定法）

[适用范围]小麦、大麦及麦制品

[检测原理]以单克隆免疫亲和柱为分离手段，用荧光计和紫外灯作为检测工具的快速分析方法。

[仪器与试剂]T-2 毒素亲和柱、真菌毒素专用荧光仪、聚乙二醇 8000、色谱纯甲醇、色谱纯乙腈、PBS 缓冲液、氯化钠、T-2 毒素衍生液、T-2 毒素标定标准物一套、0.02%吐温-20/PBS 缓冲液

[操作步骤]样品处理—测定

8.3 其他生物毒素的快速检测

8.3.1 河豚毒素的快速测定（生物检定法）

[适用范围]河豚毒素中毒的食品等

[检测原理]河豚毒素是一种剧毒性的生物毒素，小鼠对河豚毒素的耐受性极差，在纳克/千克的浓度范围内即可导致小鼠，因此是测定样品中河豚毒素的非常快速而有效的方法。

[操作步骤]样品处理—检测

[结果判定]小鼠最初出现不安，突然旋动，继之步履蹒跚，呼吸加快，最后突然跳起，翻身，四肢痉挛而死亡。

8.3.1 河豚毒素的快速测定（化学法）

[适用范围]河豚毒素中毒的食品等

[检测原理]河豚毒素在浓硫酸条件下，可与重铬酸钾进行呈色反应。

[操作步骤]样品处理—测定

[结果判定]呈现美丽的绿色，即说明样品中有河豚毒素。

8.3.2 组胺的快速测定（化学呈色法（重氮法耦合反应））

[适用范围]海产鱼中的青皮红肉鱼类，如鲈鱼、金枪鱼、刺鲀鱼、沙丁鱼等，以及容易分解产生组胺的蛋白质类食品

[检测原理]鱼体重的组胺经提取后，与偶氮试剂在弱碱性环境中进行偶氮反应，偶氮化合物在乙酸乙酯有机相内呈红色，红色的深浅与组胺的含量成正比。

[操作步骤]测定

8.3 其他生物毒素的快速检测

8.3.2 组胺的快速测定（化学呈色法（重氮法耦合反应））

[结果判定]如乙酸乙酯层出现红色，则表示鱼肉中有组胺存在，比色法可测组胺含量。

[注意事项]组胺测定仪也能做到操作简单，快速

8.3.3 氰苷的快速测定（苦味酸试纸法）

[适用范围]扁豆、刀豆、黄豆等豆类食品，杏仁、桃仁、枇杷仁、亚麻仁等果仁

[检测原理]氰化物在酸性条件下产生氰化氢气体，与苦味酸试纸反应，可生成红色的异氰紫酸钠。

[试剂]苦味酸试纸

[操作步骤]测定

8.3.3 氰苷的快速测定（对-邻试纸法）

[适用范围]扁豆、刀豆、黄豆等豆类食品，杏仁、桃仁、枇杷仁、亚麻仁等果仁

[检测原理]氰离子与对-硝基苯甲醛能够缩合为苯偶姻，在碱性条件下，苯偶姻使邻二硝基苯还原，产生典型的紫色反应。

[试剂]对-邻试纸、醋酸铅棉花、碳酸钠饱和溶液、酒石酸固体试剂

[检测步骤]样品处理—测定

[结果判定]试纸出现紫红色，表示有氰化物存在

[注意事项]

- 排除硫化氢的干扰
- 氰化物含量越高，试纸显色时间越快，颜色越深
- 避免阳光直射操作

8.3.4 龙葵碱的快速测定（化学显色法）

[适用范围]马铃薯、番茄及茄子等茄科植物食品

[检测原理]龙葵碱能与矾酸铵、硒酸钠显色，且随着时间变化，颜色变化多样，是龙葵碱的特征性反应。同时龙葵碱也能与浓硝酸、浓硫酸发生氧化还原显色反应。

[试剂]矾酸铵溶液、硒酸钠溶液

[操作步骤]样品处理—测定

[结果判定]

- 加入 1mL 矾酸铵溶液，呈现黄色，以后逐渐转变为橙红色、紫色、蓝色、绿色，最后颜色消失；
- 加入 1mL 硒酸钠溶液，温热，冷却后呈紫红色，后转为橙红色、黄橙色、黄褐色，最后颜色消失；

□滴加浓硝酸和浓硫酸，显玫瑰红色。

[注意事项]在实验过程中注意实验安全，小心使用浓硫酸与浓硝酸

8.3.5 麦角毒素的快速测定（化学显色法）

[适用范围]小麦、大麦、燕麦等谷物类食品

[检测原理]在氨碱性条件下，麦角生物碱被氯仿提取，提取物与对二甲氨基苯甲醛反应，液层面呈蓝紫色色环。另外，麦角碱乙醇溶液在 365nm 紫外光照射下，有强烈的蓝紫色荧光反应。

[试剂]对二甲氨基苯甲醛溶液

[操作步骤]测定

[结果判定]

□一份加入 2mL 对二甲氨基苯甲醛溶液，在两液接触面出现蓝紫色环，数分钟后，氯仿层呈蓝色，说明麦角生物碱存在；

□另一份氯仿提取液置于试管中，水浴加热，挥干氯仿，残留物加无水乙醇溶液，溶解，于 365nm 紫外灯下观察，如产生强烈蓝紫色荧光，说明麦角生物碱存在。

作业布置：

完成课后习题。

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品安全快速检测与预警》 孙远明 化学工业出版社 2017 年
- 2、《食品安全快速检测技术》 朱克永 科学出版社 2010 年
- 3、《食品安全快速检测》 段丽丽 北京师范大学出版社 2014 年
- 4、《食品安全检验技术》 吴晓萍 河南医科大学出版社 2012 年
- 5、《食品安全检验技术》 范俐 厦门大学出版社 2013 年
- 6、《食品质量与安全检验实验》 余以刚 中国标准出版社 2014 年

模块九 包装材料有害释出物快速检测技术

授课章节	包装材料有害释出物快速检测技术				
教学时数	2 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 背景知识 9.1 食品包装材料现场快速检测方法 9.2 食品包装材料实验室快速检测方法。					
教学目标及要求： 知识目标 1. 了解食品包装材料常见有害物质； 2. 了解食品包装材料常见有害物质的快速检测方法。 能力目标 1. 能正确区分食品包装材料常见有害物质 2. 能正确进行食品包装材料常见有害物质的快速检测 素质目标 1. 通过了解食品包装材料常见有害物质，树立诚信求真意识；					

2. 通过掌握食品包装材料常见有害物质的快速检测，培养科学的职业素养

课程思政目标

坚韧不拔、精益求精的职业精神，勇于创新、敢于突破传统思维的科学精神，为推动包装材料有害释出物检测技术的不断发展注入新的活力

教学重点及难点：

重点：ATP 快速荧光检测仪的使用方法

难点：固相微萃取技术

教学方法及手段：多媒体讲授

教学过程：

模块九 包装材料有害释出物快速检测技术

背景知识

食品包装是现代食品工业的最后一道工序，起着保护、宣传和方便食品储藏、运输、销售的重要作用。

1 塑料

(1) 树脂（塑料基本成分）本身所具有的毒性：游离单体、氯乙烯、苯乙烯、酚类、丁腈胶、甲醛

(2) 塑料包装表面污染

(3) 塑料制品在制造过程中添加的稳定剂、增塑剂、着色剂等助剂的毒性

(4) 非法使用的回收塑料中的大量有毒添加剂、重金属、色素、病毒等对食品造成的污染

(5) 油墨污染

(6) 复合薄膜用黏合剂

2 纸类

(1) 造纸原理本身带来的污染

(2) 造纸过程中的添加物

(3) 油墨造成的污染

(4) 储存、运输过程中的污染

3 金属

(1) 金属离子易析出

(2) 容器内壁涂料迁移造成污染：BPA、BADGE、NOGE

4 玻璃

- (1) 熔炼过程中有毒物质的溶出
- (2) 重金属含量的超标
- (3) 加色玻璃种着色剂的安全隐患

5 陶瓷

- (1) 上釉陶瓷表面釉层中重金属元素铅或镉的溶出
- (2) 陶瓷烧制温度低，彩釉未能形成不溶性硅酸盐，易使有毒有害物质溶出

传统检测方法的局限性

检测周期长：传统的检测方法如化学分析法、仪器分析法等，通常需要对样品进行复杂的前处理，再通过实验室仪器进行分析，整个过程耗时较长，无法满足快速检测的需求。例如，对于食品包装材料中某些有害物质的检测，采用传统的气相色谱 - 质谱联用仪（GC-MS）分析，从样品采集、预处理到得出结果，可能需要数天时间。

操作复杂：这些方法往往需要专业的技术人员和昂贵的仪器设备，操作步骤繁琐，对操作人员的技术水平和实验环境要求较高，不便于现场快速检测。如高效液相色谱法（HPLC）检测包装材料中的有害物质，需要进行样品的提取、净化、浓缩等多个步骤，操作过程中任何一个环节出现误差都可能影响检测结果的准确性。

难以实时监测：传统检测方法大多是离线检测，无法在包装材料的生产、使用过程中进行实时监测，难以及时发现有害物质的释出情况，对于一些时效性要求高的检测场景，如食品生产线上的包装材料质量监控，传统方法的应用受到限制。

快速检测技术的发展需求与趋势

食品安全保障的需求：随着人们对食品安全的关注度不断提高，对于食品包装材料的安全性要求也日益严格。快速检测技术能够在短时间内对包装材料的有害释出物进行检测，及时发现问题并采取措施，有效保障食品的质量和安全，满足消费者对食品安全的期望。

适应现代工业生产的需要：现代食品工业生产规模大、生产速度快，传统检测方法无法满足对大量包装材料快速检测的要求。快速检测技术可以在生产线上或仓库中对包装材料进行快速筛查，提高生产效率，降低生产成本，保证产品的质量稳定性，适应现代工业生产的节奏。

技术发展趋势：一是检测方法的多元化，如免疫检测技术、生物传感器技术、光谱分析技术等不断涌现，这些技术各有优势，可以根据不同的检测需求选择合适的方法；二是检测仪器

的便携化和智能化，便于现场操作和快速获取检测结果，如便携式的拉曼光谱仪、电化学传感器等；三是多种技术的联用，将不同检测原理的技术结合起来，提高检测的准确性和灵敏度，实现对多种有害释出物的同时检测

9.1 食品包装材料现场快速检测方法

9.1.1 食品包装材料中三磷酸腺苷荧光现场快速检测法

[适用范围]塑料、纸类、金属、玻璃、陶瓷等食品包装材料

[检测原理]ATP 在虫光素酶的催化作用下，与荧光素在有氧环境及二价镁离子作用下，反应释放出荧光。当荧光素及虫光素酶过量情况下，释放的荧光与 ATP 在一定范围内成线性关系，因此可以通过测量荧光光强检测样品中的 ATP，进而检测其中的细菌总数。

[主要仪器]ATP 快速荧光检测仪

[试剂]荧光素及虫光素酶

[操作步骤]涂抹擦拭被检测物—掰断阀芯—挤入试剂—放入机器

[结果判定]根据仪器显示判定细菌和霉菌数目

9.1.2 食品包装材料中甲醛的现场快速检测法

1 亚硝基亚铁氰化钠法

2 AHMT 法

3 三氯化铁法

9.2 食品包装材料实验室快速检测方法

9.2.1 食品包装材料霉菌快速检测法

[适用范围]塑料、纸类、金属、玻璃、陶瓷等食品包装材料

[操作步骤]取样—加样—培养—观察结果

9.2.2 食品包装材料有害化学物质快速检测法

1 甲醛的快速测定（衍生气相色谱法）

[检测原理]2,4-二硝基苯肼（2,4-DNPH）为衍生剂，在酸性介质中与甲醛反应生成相应的腙，经环己烷萃取，用配有电子捕获检测器（EDC）的气相色谱仪测定生成的腙，间接测定食品包装材料中的游离甲醛。

[主要仪器]HP6890 型气相色谱仪、HP G1800A 型气相色谱-质谱联用仪

[试剂]乙酸、甲醛、2,4-二硝基苯肼溶液、甲醛标准溶液、环己烷、超纯水

[色谱条件]

[标准曲线的绘制]

[样品处理]

[样品测定]

[结果计算] $X=m/V$

X-试样浸泡液中甲醛的含量 (mg/L)，m-测定时所取试样浸泡液中甲醛的质量 (mg)，V-测定时所取试样浸泡液体积 (L)

[注意事项]

衍生反应

衍生物的稳定性

萃取条件的选择

2 乙醛的气相色谱快速检测方法

[适用范围]塑料制品包装材料

[检测原理]直接将固体样品用于检测，样品通过加热，使挥发性成分得到检测。

作业布置：

完成课后习题

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品安全快速检测与预警》 孙远明 化学工业出版社 2017年
- 2、《食品安全快速检测技术》 朱克永 科学出版社 2010年
- 3、《食品安全快速检测》 段丽丽 北京师范大学出版社 2014年
- 4、《食品安全检验技术》 吴晓萍 河南医科大学出版社 2012年
- 5、《食品安全检验技术》 范俐 厦门大学出版社 2013年
- 6、《食品质量与安全检验实验》 余以刚 中国标准出版社 2014年