

关注食品安全

分享行业资讯

解析专业科普

服务客户群体

维视角

第 1 期

北京维德维康生物技术有限公司 主办

NO.1 2014 年 7 月



Contents/ 目录

卷首语

新闻资讯

国内动态

- 04 农业部关于印发《2014 年国家农产品质量安全风险评估计划》的通知
- 06 农业部部署加强农产品加工业监测分析工作
- 06 白酒产品中塑化剂风险评估结果
- 07 我国肉菜流通追溯体系试点已覆盖 50 城市
- 08 国家卫计委制定 2015 年食品安全风险监测计划
- 09 上海所有肯德基、麦当劳问题产品被要求全部下架
- 09 邯郸 5 人用含有激素类农药成分的药水生产毒豆芽获刑

国外动态

- 10 粮农组织：全球肉类、牛奶生产量将增加 禽肉增幅最大
- 10 食典委：婴幼儿配方食品含铅量每公斤不得超 0.01 毫克
- 11 联合国粮农组织限定婴儿食品和大米重金属含量

专业科普

实验室小常识

- 12 ELISA 实验的常规布局

概念讲解

- 13 ELISA 技术的优越性

专业解读

- 14 呕吐毒素残留快速检测试纸条的研制

检测应用

- 19 β -内酰胺类抗生素快速检测试纸条

专业服务

- 20 专业的技术服务



NO.1 2014 年 7 月



维德维康微信账户



主办：北京维德维康生物技术有限公司

总编：杨柳

策划：李楠、潘净茹、李宁

编辑：陈青、罗广超、刘珊珊

美术编辑：张茜

文字校对：刘俊清

地址：北京市海淀区北清路 156 号
中关村环保科技示范园地锦路 9 号
院 3 号楼

办公室：010-62974201 82782819

24 小时服务热线：400-8608088

13911340259

传真：86-10-82782819

网址：www.wdwkbio.com

企业内部资料
仅做交流沟通
资讯类信息来源于网络

Preamble/ 卷首语

国以民为本，民以食为天，食以安为先

随着经济社会的不断进步，人们物质生活水平不断提高的同时，人们更加关注食品的卫生与安全，食品安全不仅关乎人们的身体健康和生命安全，而且关系到在社会经济的稳定发展和国家的安定等重大问题。因此，食品安全检测对人们的身体健康和社会发展都有十分重要的意义。

维德维康希望提供一个行业内部交流平台，大家共同学习食品安全相关的法规和标准、分析总结食品安全存在的问题、探讨食品安全检测技术的发展和应用、分享食品安全检测的科研成果。

《维视角》是北京维德维康生物技术有限公司主办的行业内部交流期刊，我们在本期《维视角》期刊内主要设置“新闻资讯”和“专业科普”两大知识版块，希望读者能从我们的期刊内方便的获得行业动态、法律法规、食品安全重大事件等新闻资讯以及食品安全检测行业的最新成果交流与分享、产品使用技术指导等知识科普！

维德维康希望通过不断地努力，为您提供先进的技术成果、优质的产品专业的服务。

维德维康人的愿景

系统构建者、行业标准制定者、产业领导者



农业部关于印发 《2014年国家农产品质量安全风险评估计划》 的通知

来源：农业部

市场导读：农业部关于印发《2014年国家农产品质量安全风险评估计划》的通知。

各省、自治区、直辖市及计划单列市农业（农牧、农村经济）、畜牧兽医、农垦、渔业厅（局、委、办），新疆生产建设兵团农业局（水产局），各农业部农产品质量安全风险评估实验室（实验站）及相关单位：

从2012年开始，我部依法建立国家农产品质量安全风险评估制度，并按年度组织实施。依据2014年农产品质量安全监管工作的部署和安排，我部组织制订了《2014年国家农产品质量安全风险评估计划》，现予印发。请各省级农业行政主管部门、农业部农产品质量安全风险评估实验室（实验站）及相关单位认真组织实施。在风险评估过程中如有意见和建议，请及时与我部农产品质量安全监管局联系。联系电话：（010）59192123、59193235。

农业部

2014年7月7日

2014年国家农产品质量安全风险评估计划

二、评估方式

为全面掌握农产品生产过程和产地收贮运等环节质量安全风险隐患，采取有针对性的管控措施确保农产品生产规范、产品安全，按照《农产品质量安全法》、《食品安全法实施条例》规定和2014年全国农产品质量安全监管工作部署，我部决定在前两年部分农产品质量安全风险隐患摸底排查的基础上，2014年全面推进农产品质量安全风险评估及评估项目的实施。

一、评估产品

2014年国家农产品质量安全风险评估重点围绕“菜篮子”、“米袋子”等农产品，针对隐患大、问题多的品种和环节进行评估，产品类别包括蔬菜、果品、柑橘、茶叶、食用菌、粮油作物产品、畜禽产品、生鲜奶、水产品、特色农产品、农产品收贮运环节和农产品质量安全环境因子等12大类。

（具体评估项目见http://www.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/tz/201407/t20140714_3967896.htm）

2014年国家农产品质量安全风险评估统一按照专项评估、应急评估、验证评估和跟踪评估等4种方式进行。其中，专项评估主要针对风险隐患大的农产品，从生产的全过程找准主要的危害因子和关键控制点，提出全程管控的技术规范或管控指南；应急评估主要针对突发性问题，通过评估找准风险隐患及症结所在，及时指导生产和引导公众消费，科学回应社会关切，确保不发生重大农产品质量安全事件；验证评估

主要针对有关农产品质量安全的各种猜疑、说法和所谓的“潜规则”，通过评估还原事物本质，澄清事实真相，严防恶意炒作，避免对产业发展和公众消费产生不必要的影响；跟踪评估主要针对久治不绝的一些重大危害因子，通过评估及时掌握重大危害因子的发展变化趋势，为执法监管和专项整治提供技术依据。

三、评估任务分工

12类风险评估的具体工作由指定的各风险评估实验室牵头，会同相关风险评估实验室、实验站及地方农业行政主管部门所属农产品质量安全监管机构共同实施。其中，现场调查工作由各相关风险评估实验室会同所在省（区、市）农业行政主管部门所属农产品质量安全监管机构共同开展；取样验证、分析研判、综合会商和结果报送等后续工作，由各风险评估实验室按照任务分工组织实施。

四、结果报送

承担牵头任务的风险评估实验室按照本计划要求，会同各风险评估实验室、实验站和地方农业行政主管部门所属农产品质量安全监管机构，组织制定本大类产品质量安全风险评估实施方案，于2014年6月25日前经国家农产品质量安全风险评估机构（农业部农产品质量标准研究中心）审核后报部农产品质量安全监管局备案认可。各承担具体任务的风险评

估实验室（实验站）按照实施方案制定本实验室（实验站）所承担评估任务的实施细则，按规定时间要求及时将阶段性评估结果和评估报告报各牵头风险评估实验室汇总。承担牵头任务的风险评估实验室将汇总的评估结果和评估报告形成风险评估专报或动态，分别于2014年8月20日、10月20日、12月20日前报国家农产品质量安全风险评估机构（农业部农产品质量标准研究中心）审核和汇总。国家农产品质量安全风险评估机构（农业部农产品质量标准研究中心）组织风险评估专家委员会委员及相关专家对各阶段风险评估结果和报告进行综合评定，形成综合性的风险评估结果报告，于2014年8月31日、10月31日、12月31日前报部农产品质量安全监管局。

五、评估工作要求

（一）请各相关省（区、市）农业行政主管部门（局、委、办）及相应地（市）、县（区）农业部门高度重视，从掌握实情、维护消费、推进产业发展的大局出发，对风险评估工作予以大力支持，协助做好相关现场调查、定点观测等工作。

（二）请各承担评估任务的风险评估实验室（实验站、质检机构）主动加强与各相关省（区、市）农业行政主管部门沟通衔接和会商分析，确保风险评估工作的科学性、针对性和有效性。

（三）各类产品在分析研判和综合会商时，要充分利用农产品质量安全例行监测、监督检查、舆情监测等相关信息。评估过程中要适时邀请相关农产品质量安全监管、检验检测、科学研究、技术推广、认证认可等领域专家参加，确保评估工作的准确性。

（四）国家农产品质量安全风险评估机构（农业部农产品质量标准研究中心）要加强统筹协调和技术指导，在方案制定、细则拟定、评估用标准物质（标准品）确认、能力验证结果汇报等方面，加强联络和服务，为农产品质量安全风险评估工作提供全方位的技术支撑和保障服务。

（五）农产品质量安全风险评估工作所需经费，由农业部在年度预算中安排。未经农业部农产品质量安全监管局同意，任何单位和个人不得引用和公布风险评估结果和相关信息。

备注链接：http://www.moa.gov.cn/zwl/m/tzgg/tz/201407/t20140714_3967896.htm

农业部部署加强农产品加工业监测分析工作

来源：中国经济网

市场导读：据农业部网站消息，针对农产品加工业监测分析工作起步较晚，存在调查制度不一致、行业分类不适合、指标体系不健全、统计范围不完善、信息反馈不及时等问题，为切实履行职责任务，强化各级农产品加工业监测分析工作，提高科学决策能力水平，日前农业部办公厅印发了《关于切实加强农产品加工业监测分析工作的通知》，部署农产品加工业监测分析工作。

《通知》指出，要充分认识农产品加工监测分析工作的重要意义。农产品加工业监测分析是各级政府指导农产品加工行业发展、制定政策措施、推进科学决策的重要依据，是农

产品加工业管理部门必须履行的一项重要职责。加强和完善农产品加工业统计监测和运行分析，对于准确反映农产品加工业发展质量、经营效益、行业结构和区域布局等情况，科学制定农产品加工业发展战略规划，提高农产品加工业管理水平，推动农产品加工业持续健康发展具有十分重要的意义。

《通知》强调，要建立健全制度，突出监测分析重点。各级农产品加工业管理部门要参照《农产品加工业行业划分方式（试行）》、《全国农产品加工业监测表填报细则（试行）》，设计完善地方农产品加工业统计制度和调查方法，做到指标全覆盖、制度可衔接。要重点做好农产品加工业运行情况季度分析、农产品加工业

年度数据汇总和农产品加工业企业监测试点等三方面工作。

《通知》要求，要切实加强组织领导，提供有力保障。各级农产品加工业管理部门要把监测分析工作摆上重要议事日程，切实加强组织领导。一要培育队伍。要明确监测分析工作分管领导、具体负责人和业务人员，建立一支结构完善、力量精干、相对稳定的工作队伍。二要加强培训。要高度重视监测分析人员的能力培养，创造条件组织开展业务培训，不断提高理论素养和业务能力。三要提供保障。各级农产品加工业管理部门要争取设立专项资金，配备办公设备，确保监测分析工作顺利开展。

白酒产品中塑化剂风险评估结果

来源：国家卫计委

市场导读：为防止白酒产品中塑化剂的污染，食品包装材料、容器、加工器具等食品接触材料的生产，以及食品生产企业使用食品包装材料、容器和加工器具时，必须严格执行相关食品安全国家标准。此外，还应采取一切措施，降低白酒中 DEHP 和 DBP 的含量水平。



邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (DEHP) 和邻苯二甲酸二丁酯 (DBP) 广泛用于树脂、塑料、橡胶、油漆及乳化剂等产品的加工生产中,是目前塑料制品中常用的增塑剂(俗称塑化剂)。由于该类物质属于外增塑剂,易于从塑料制品中溶出,进入环境,对食品造成污染。目前,由于塑料制品的广泛使用,DEHP 和 DBP 已成为一种普遍存在的环境污染物。

2012年12月以来,白酒中塑化剂问题引起社会广泛关注。在国务院食品安全办的协调下,原卫生部委托国家食品安全风险评估中心开展风险评估工作。国家食品安全风险

评估中心根据国际通用原则和方法,依据我国居民食物消费量和主要食品中塑化剂含量数据,对成人饮酒者的健康风险进行了评估。国家食品安全风险评估专家委员会根据评估结果认为,白酒中 DEHP 和 DBP 的含量分别在 5mg/kg 和 1mg/kg 以下时,对饮酒者的健康风险处于可接受水平。

为防止白酒产品中塑化剂的污染,食品包装材料、容器、加工器具等食品接触材料的生产,以及食品生产企业使用食品包装材料、容器和加工器具时,必须严格执行相关食品安全国家标准。此外,还应采取一切措施,降低白酒中 DEHP 和 DBP 的含量水平。

我国肉菜流通追溯体系试点已覆盖 50 城市

来源: 中国食品安全报

市场导读: 商务部市场秩序司司长常晓村 17 日在北京举行的第五届中国食品安全高层对话中介绍,为保障食品安全,实现肉菜来源可查、去向可追、责任可究,我国分四批在 50 个城市开展肉菜流通追溯体系建设试点,基本覆盖直辖市、省会城市。

本报讯 胡浩 高蕾 商务部市场秩序司司长常晓村 17 日在北京举行的第五届中国食品安全高层对话中介绍,为保障食品安全,实现肉菜来源可查、去向可追、责任可究,我国分四批在 50 个城市开展肉菜流通追溯体系建设试点,基本覆盖直辖市、省会城市。

肉菜流通追溯体系主要是借助现代物联网,利用中央、省、市三级管理平台,覆盖批发、屠宰、零售、消费环节,利用 IC 卡、二维码、条码等

各种技术,记录肉菜流通的各类信息。消费者可以通过索证、索票的方式进行查询,查询到上游产品的来源以及它的“出生地”。

常晓村说,目前有 2000 多家流通企业纳入了追溯体系建设,平均每天有 100 多万条信息对 3 万多吨、300 多种肉类蔬菜食品进行追溯,覆盖范围包括屠宰场、批发市场、菜市场、超市和团体采购单位。



图片来源于网络

常晓村介绍，下一步将从肉菜追溯体系建设逐步扩大到中药材、酒类、奶制品、水果以及水产品等品种，不断扩大覆盖面，增加产业链条。

在食品安全高层对话中，农业部农产品质量安全监管局副局长金发忠也表示，农业部将会同

食品药品监管部门着力构建农产品产地准出与市场准入衔接机制，加快国家农产品质量安全追溯信息平台建设，尽快将生猪和无公害、绿色、有机、地理标志农产品全部纳入质量追溯试点范围，通过以点带面，逐步实现农产品生产、收购、贮藏、保鲜、运输、销售和消费全链条可追溯。

国家卫计委制定 2015 年食品安全风险监测计划

来源：中国食品报

市场导读：日前，《2015 年国家食品安全风险监测计划》制定暨 2014 年风险监测工作会商会在北京召开。会议指出，食品安全风险监测是《食品安全法》规定国家卫生计生委员会牵头，会同相关部门共同履行的一项重要职责。

会上，国家卫计委表示，将依法制定好 2015 年国家食品安全风险监测计划，进一步强化风险监测的科学性，更加注重样品的代表性，提高发现隐患的敏感性，并将统筹资源、突出重点、落实责任、形成合力。会议还强调，要继续抓好 2014 年风险监测计划的

实施，加强工作指导和督导，做好数据汇总分析和结果通报工作，并注意加强交流，全面提升风险监测专业技术水平。

会议还通报会商了 2014 年国家食品安全风险监测阶段性结果。会议议定，将由食品风险评估中心牵头成立国家食品安全风险监测计划制定专家工作组，相关部门和技术机构以及地方专家共同参与，根据会议要求，研究制定 2015 年风险监测计划具体内容。



上海所有肯德基、麦当劳问题产品被要求全部下架

市场导读：据上海广播电视台电视新闻中心官方微博报道，麦当劳、肯德基等洋快餐供应商上海福喜食品公司被曝使用过期劣质肉。上海食药监部门已经要求上海所有肯德基、麦当劳问题产品全部下架。

来源：人民网

上海电视新闻记者卧底多月，调查上海福喜食品公司，发现了让人触目惊心的食材是如何有组织地流向麦当劳、肯德基、必胜客的，7月20日晚节目播出后，上海食药监部门连夜出击，上海食药监进车间

时一度被阻，目前部分文字证据已被控制。

据东方卫视新闻综合频道报道，麦当劳、肯德基等洋快餐的供应商上海福喜食品公司，将落地肉直接上生产线，各种过期原料随意添加；次品全部

混入生产线，来历不明的牛肉饼就此“洗白”；监管形同虚设，冷冻臭肉重新变身“小牛排”。这些都是福喜公司加工车间内的场景，这些产品一直以来都直接供给麦当劳、肯德基等洋快餐。

邯郸5人用含有激素类农药成分的药水生产毒豆芽获刑

来源：人民网

市场导读：为了让豆芽卖相好，在生产过程中竟然添加一种含有激素类农药成分的药水。7月15日，邯郸市复兴区人民法院公开审理了5起“毒豆芽”案，宋某等5人因犯生产、销售有毒有害食品罪，一审分别获刑一年六个月，并处罚金1万元。

据悉，宋某等5人从2013年8月以来，分别租用复兴区古城西路与市洗煤厂专用铁路交叉口西北角一院内民房，在没有办理任何经营许可证件的情况下，加工生产绿豆芽、黄豆芽。为了让豆芽根少芽长，他们在加工过程中添加了一种俗称“无根豆芽剂”、“无根水”、“植物生长调节剂”的药水，将加工好的豆芽销售到邯郸市蔚庄蔬菜批发市场。

人生产的绿豆芽、黄豆芽样品中检测出4-氯苯氧乙酸、6-苄基腺嘌呤成分。这两种成分均为激素类农药，按规定不得作为食品用加工助剂使用。

法院认为，被告人宋某等人在生产、销售的食品中掺入有毒、有害的非食品原料，均已构成生产、销售有毒、有害食品罪。结合本案被告人生产、销售有毒有害食品的持续时间、销售范围、销售数量等具体情况，法院分别判处宋某等5人

有期徒刑一年六个月，并处罚金1万元。



司法鉴定中心从五名被告

食典委：婴幼儿配方食品含铅量每公斤不得超 0.01 毫克

来源：新京报



市场导读：7月17日，国际食品法典委员会在日内瓦通过一项新的食品安全标准，即每公斤婴幼儿配方食品的含铅量不得超过0.01毫克。国家食品安全风险评估中心今晨向媒体通报了这一消息。

我国婴幼儿配合食品，特别是婴幼儿配方奶粉的质量安全问题，近年来备受关注。

由联合国粮农组织和世界卫生组织共同主办的国际食品法典委员会是联合国食品标准组织，负责制定国际食品安全和质量标准，确保全世界的消费者能够获得更安全和更有营养的食物。食品法典标准在很多情况下被作为国家立法的依据，并为国际食品贸易提供食品安全基准。

对于为婴幼儿配方食品设定铅限量，联合国粮农组织评价说，婴幼儿特别容易铅中毒，给他们的身体健康造成严重甚至永久性影响，尤其会破坏其大脑和神经系统的发育，导致学习能力降低。“存在于环境中的铅，即便是微量的，也会进入生产婴儿配方食品所使用的配料。控制婴儿配方食品含铅量一个办法是从少铅的地点采购原料。”

粮农组织：全球肉类、牛奶生产量将增加 禽肉增幅最大

来源：食品伙伴网

市场导读：据台湾“中央社”消息，11日联合国粮农组织（FAO）预测，随着全球消费者口味的改变，农畜业将渐渐转向肉类和牛奶生产，偏离传统的稻米和谷类生产。

据报道，这项由粮农组织及经济合作与发展组织（OECD）所做的报告，对2023年以前的农畜价格和生产进行了预测。

报告指出，到2023年，全球肉类生产将增加5800万吨，增加的部分有80%来自发展中国家。FAO和OECD表示，禽肉增幅最大，占50%，猪肉占30%；并说，禽肉是便宜的蛋白质来源。报告同时称，家畜饲养及生物燃料的生产增长率，预估将高过作物生产。

联合国粮农组织限定婴儿食品和大米重金属含量

来源：科技日报

市场导读：联合国粮农组织和世界卫生组织 17 日表示，两个机构共同负责的联合国食品法典委员会本周通过了几项旨在保护全球消费者健康的新标准，其中包括婴儿配方食品含铅量和大米含砷量的最高可接受限值。



按照联合国食品法典委员会的新规，每千克婴儿配方食品的含铅量不得超过0.01毫克。婴幼儿特别容易铅中毒，从而会给他们的身体健康造成严重甚至永久性影响，尤其会破坏其大脑和神经系统的发育，导致他们的学习能力降低。存在于环境中的铅，即便是微量的，也会进入生产婴儿配方食品所使用的配料。食品法典委员会建议从少铅的地点采购原料，以控制婴儿配方食品含铅量。

联合国食品法典委员会首

次规定每千克大米的最高含砷量为0.2毫克。长期接触砷会导致癌症和皮肤损伤，还会影响发育，引发心脏疾病、糖尿病，以及损害神经系统 and 大脑。在世界一些地区的地下水和土壤中，自然存在着大量的砷。这种有毒元素可以通过水和土壤被作物吸收，并进入食物链。

与其他作物相比，稻米更加容易吸收砷。在一些亚洲国家，稻米中的砷污染特别令人担忧，因为他们通常使用浅机井，从砷含量很高的沉积层抽

取地下水来灌溉稻田。改善灌溉和农作方法有助于减少砷污染。

联合国食品法典委员会负责制定国际食品安全和质量标准，确保全世界的消费者能够获得更安全和更有营养的食物。食品法典标准在很多情况下被作为国家立法的依据，并为国际食品贸易提供食品安全基准。

ELISA 实验的常规布局

样本处理完毕后，正确合理的试验台布局如下：

1. 以右手持微量移液器为例，准备充足的 200 μ L 枪头及枪头盒放置在微量移液器方便取用枪头的右上角的位置；
2. 盛放废弃枪头的垃圾盒一个，放置在正前方的位置，距离适中，以便微量移液器打掉枪头时刚好能够落入垃圾盒内；
3. 将处理好的样本放置在左手边，方便在点板时随时取用；
4. 准备好计时器，调至需要的反应时间；
5. 将 200 μ L 移液器调至需要的刻度；
6. 将酶标板从塑封袋中取出平放置桌面上，观察酶标板左边的字母标识方向是否正确；
7. 将试剂盒内所需试剂按照顺序排放在酶标板前；
8. 点板前正确佩戴乳胶手套、口罩，身着工作服，保护自身安全的同时，防止飞沫或其他杂质干扰酶标板的反应。



ELISA 技术的优越性

测定生物体内各种微量有机物的方法很多，大致可分为三类：即物理、化学、免疫学方法。在物理学分析方法中，主要借助于高精度的仪器设备，如紫外分光光度计、质谱仪、气相色谱仪和高压液相色谱仪等。应用这些仪器设备，虽然可以检出体内较微量的有机物（可检出范围在 10^{-6} mol/L~ 10^{-12} mol/L 间），但因操作复杂、费时，而且检测成本较高，因此不利于在生产中推广应用。

化学方法主要根据待测物与其他物质的化学反应、产生颜色变化来进行。该方法是最早用于定量测定生物体内微量有机物质的基本方法。但因其检出的灵敏度低（要求采样很多）、特异性差，而且操作麻烦，因此也不利于推广应用。

普通免疫学测定方法很多，最大的优点是特异性强，其弱点是灵敏度相对较差，而且操作麻烦，不利于进行大规模测定。60年代发展的RIA技术在灵敏度方面得到了发展，可检出生物体内 10^{-6} mol/L~ 10^{-12} mol/L 浓度的超微量有机物。相对而言，RIA技术是这些免疫测定技术中较先进的一种，因此评价Elisa技术的优缺点时，常以RIA技术做参照。

RIA技术中用作指示剂的标记物为放射性同位素，而检

测放射性同位素需要昂贵的仪器设备和辐射防护设备，并需有专门从事放射性同位素工作的实验室和放射性废物处理装置，操作人员的健康常常受放射线照射的威胁。另外，就RIA质量而言，尽管目前灵敏度已达 pg/mg（即每毫克样本中含被测物的皮克数）水平，但不可能有太大的改进，因而其发展前景不大。此外，作为RIA指示剂的某些放射性同位素，由于半衰期短，如 ^{32}P 只有 14.3 天， ^{33}P 只有 25 天， ^{125}I 只有 60 天，因而限制了RIA试剂的保存时间。

与RIA技术比较而言，Elisa技术在上述方面表现出如下优越性：

（一）灵敏度高

虽然酶活性调节Elisa方法的灵敏度目前并不十分理想，但在酶活性放大Elisa中，检测的灵敏度远比RIA高。根据质量作用定律。即免疫反应所形成的免疫复合物量与反应物浓度成正比。推测所检测的待测物分子数为1。已知1个摩尔浓度含 6.02×10^{23} 个分子，那么理论推测酶活性放大Elisa方法的最低检测限可达 1.7×10^{-24} mol/L。虽然在实际应用中由于反应条件和试剂纯度以及仪器精度等因素的影响，往往达不到这个水平（大于 10^4 个分子），但

表明Elisa在灵敏度方面的改进潜力是很大的。

（二）特异性强

从免疫反应的角度来说，Elisa与RIA的特异性应该是一致的。但在Elisa方法中，由于作用检测指示剂的酶与其底物的反应有专一性，从而增加了该方法的特异性。

（三）对仪器设备要求不高，测定成本低

Elisa测定在普通实验室便可进行，常用的仪器设备包括加样器、培养箱、酶标专用读数器等。按现有价格折算，酶标仪的价格只及液闪仪的1/6至1/4，因此每测定一个样本所需成本不及PIA的1/10至1/16。某些定性Elisa方法，还可在野外进行，操作十分方便。

（四）方法快速、简便

均质酶免疫测定方法操作时，所有反应试剂均在同一体系内进行，不需任何分离步骤，操作十分简便、快速，数分钟便能得出结果。某些定性Elisa试剂盒，如国外生产的某些奶牛发情鉴定和妊娠诊断Elisa试剂盒，数分钟时间便能完成一次测定。

(五) 试剂保存时间较长

作为检测指示剂用的酶和酶标记物，在低温或干燥条件下相对稳定，可保存半年至数年之久。

(六) 自动化程度高

Elisa 由于不存在放射性同位素污染，因此，除加待测样本需要人工操作外，其他各步骤均可用仪器自动化完成。在这种自动化条件下，平均每人每天可完成 2000 余个样本的检测工作。

(七) 方法种类多

Elisa 技术可以充分利用单克隆抗体的优点，并能利用某些非免疫反应试剂（如 SPA、

凝集素等）的作用，发展成为许多新方法。此外，发展 Elisa 技术还可以从酶及其底物两方面着手。这是因为：第一，用于 Elisa 技术的酶其种类远远多于可用作 RIA 检测指示剂的放射性同位素。生物界的酶多种多样，有希望开发很多类型的酶用于 Elisa，并建立相应的 Elisa 方法。相反，自然界的化学元素是有限的，放射性同位素的种类更加有限。第二，由于酶的多样性，酶作用底物也有多种多样，与此相对应的生色源或供氢体的种类也有远大的开发和发展潜力。

(八) 无放射性同位素污染

Elisa 技术应用酶促反应作为检测免疫反应强度的依据，在终端测定中毋须接触放射性

同位素，根本不存在放射性污染问题（某些为提高检测灵敏度而建立的酶免疫放射底物方法除外）。

鉴于 Elisa 技术与 RIA 技术相比具有以上 8 个方面的优越性，尤其在污染和操作简便性方面，Elisa 技术所具有的长处有利于该项技术在生产和临床实践中推广应用。统计资料表明，尽管 RIA 技术比 Elisa 技术早 5 年诞生，但在生产实践中的应用还不及 Elisa 技术普及。国际原子能机构在推广应用核技术的同时，也在推广非放射性同位素标记技术，以缩小“核扩散”范围。预计在将来，Elisa 技术有逐渐取代 RIA 技术的趋势。

呕吐毒素残留快速检测试纸条的研制

作者：李向梅 韩京朋 苏丽芳等
作者系维德维康公司员工

中图分类号：S859.84
文献标识码：A
文章编号：1671-7236 (2014) 06

关键词：呕吐毒素；试纸条；牛奶

摘要：为研制一种用于检测牛奶中呕吐毒素（deoxynivalenol, DON）残留的快速检测试纸条，试验以人工合成抗原 DON-OVA 和羊抗鼠二抗为原料，包被硝酸纤维素膜；以抗 DON 单克隆抗体为原料，制备金标抗体，并冻干保存于反应板微孔中，最终制备出可用于检测牛奶中 DON 残留的胶体金快速检测试纸条。结果显示，该检测试纸条检测限为 100 μ g/L，重复性、特异性均较好，可用于检测牛奶中 DON 残留。

青贮饲料是指经人工调剂的多汁青饲料，多用于反刍动物的冬春季节饲喂，对泌乳奶牛尤为重要（白晓燕等，2011）。但青贮饲料在储存过程中易受到霉菌毒素的污染，奶

牛进食受霉菌毒素污染的饲料后, 不仅会影响奶牛的生产性能, 且会引起牛奶中霉菌毒素的污染, 影响原料奶的安全性(王星凌等, 2010; 王丽芳等, 2011; 李笑樱等, 2012)。呕吐毒素(vomitoxin), 又称脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON), 是一种无色针状结晶, 熔点为151~152℃, 具有较强的热抗力, 121℃高压加热25 min仅有少量破坏(王金全, 2011; 林少青等, 2009)。DON具有很强的毒性, 可导致动物肠功能紊乱, 引起呕吐、腹泻、腹痛等症状, 且对免疫系统也有影响, 并具有明显的胚胎毒性和一定的致畸作用, 还可能有遗传毒性(金秀娟等, 2010)。1998年, 在国际癌症研究机构公布的评价报告中, DON被列为3类致癌物(封薇等, 2012)。目前, 针对牛奶中DON的检测方法主要是仪器方法, 免疫分析法还很少, 且主要是进口产品(周思等, 2011; 郑楠等, 2012)。为此, 本研究拟利用胶体金免疫层析法制备可检测牛奶中DON残留的快速检测试纸条, 用于基层进行大批量样品的现场快速检测, 防止DON中毒事件的发生。

1 材料与方法

1.1 材料

DON、玉米赤霉烯酮、黄曲霉毒素B₁、赭曲霉毒素A标准品及牛血清白蛋白(BSA)均购自Sigma公司; 硝酸纤维素膜(NC膜)、样品垫、PVC

底板、吸水纸均购自上海金标生物科技有限公司; 胶体金溶液、包被抗原(DON-OVA)、抗DON单克隆抗体均由北京维德维康生物技术有限公司自制。阴性牛奶样品均为市售(经ELISA试剂盒检测确定为DON阴性牛奶)。

FD-1B-50压盖型冷冻干燥机购自上海甄明科学仪器有限公司; XYZ3000划膜仪购自Biodot公司; 数控切条机CT300购自上海金标生物科技有限公司; 烘箱SXH-80购自上海高致精密仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 金标抗体的制备

用0.1 mol/L K₂CO₃溶液调节胶体金溶液pH至8.5, 取10 mg/mL单克隆抗体100 μL加入到1 mL胶体金溶液中, 搅拌30 min; 加入20% BSA溶液10 μL, 继续搅拌15 min; 加入10% PEG8000溶液10 μL, 继续搅拌15 min; 在4℃、4000 r/min条件下离心15 min, 取上清, 然后将上清液在4℃、12000 r/min条件下离心20 min, 取沉淀, 用pH 7.2、0.002 mol/L PBS缓冲液溶解; 再次在4℃、12000 r/min条件下离心20 min, 取沉淀, 用含有1% BSA的pH 7.2、0.02 mol/L PBS缓冲液200 μL重悬沉淀, 获得金标抗体(宋宏新等, 2011)。

1.2.2 金标抗体的冻干

取微孔反应板, 向每个微孔中加入胶体金标抗体溶液50 μL, 然后将微孔反应板放入冷冻干燥机中, 预冻4 h后冻干14 h, 得到微孔底部附着有金标抗体的微孔反应板。

1.2.3 NC膜的包被

用pH 7.2、0.01 mol/L PBS缓冲液将DON-OVA偶联物和羊抗鼠二抗稀释到1 mg/mL, 然后用划膜仪将DON-OVA溶液包被于NC膜上的检测线(T线), 包被量为1 μL/cm; 将羊抗鼠二抗溶液包被于NC膜上的质控线(C线), 包被量为1 μL/cm。包被完毕后, 将NC膜置于37℃恒温培养箱中烘干2 h, 取出后于4℃环境中保存备用。

1.2.4 试纸条组装

按试纸条组装模式图(图1), 将样品垫、NC膜和吸水垫依次按顺序粘贴在PVC底板上, NC膜的始端应被样品垫覆盖, NC膜的末端应被吸水垫覆盖, 样品垫的始端与PVC底板的始端对齐, 吸水垫的末端与PVC底板的末端对齐。组装后的半成品试纸条放入数控切条机, 切割成宽度为3.75 mm的试纸条。



图1 试纸条组装模式图

1.2.5 显色情况及重复性

取 DON 阴性牛奶样品 10 份, 用试纸条进行检测, 每份样品重复测定 2 次, 从试纸条插入微孔后开始计时, 观察试纸条检测线开始显色的时间, 滴加 8 min 后, 观察检测线的显色情况。

1.2.6 样品前处理方法

取 DON 阴性牛奶样品 6 份, 用 DON 标准品添加到 DON 阴性牛奶样品中, 配制含 DON 浓度为 50、100、200 $\mu\text{g/L}$ 的样品, 每个浓度 2 个样品, 用 PBST 缓冲液对牛奶样品进行 1、2、4 倍稀释后, 取试纸条进行检测, 每份样品重复测定 2 次, 观察检测结果, 确定样品前处理方法。

1.2.7 阳性率分布

该试验主要用来评价试纸条的敏感性。用 DON 标准品添加到 DON 阴性牛奶样品中, 配制含 DON 浓度为 0、25、50、100、200、400 $\mu\text{g/L}$ 的样品, 每个浓度 50 个样品, 用试纸条进行检测。以样品添加浓度为横坐标, 阳性率为纵坐标, 绘制阳性率分布图。

1.2.8 检测限

根据阳性率分布结果, 取 DON 阴性牛奶样品, 分别添加 50、75、100、125、150 $\mu\text{g/L}$ DON 标准品, 每个浓度各 20 份, 用试纸条进行检测。

1.2.9 特异性

在 DON 阴性牛奶样品中添加玉米赤霉烯酮、黄曲霉毒素 B1、赭曲霉毒素 A 标准品, 使其终浓度分别为 100、200、400、800、1600 $\mu\text{g/L}$, 按要求进行检测, 确定试纸条的特异性。

1.2.10 假阳性率、假阴性率

取 DON 阴性牛奶样品 100 份, 编号为 1 ~ 100#, 对 51 ~ 100# 样品分别添加 DON 标准品至终浓度为 100 $\mu\text{g/L}$, 按要求进行检测, 每份样品重复测定 2 次。

1.2.11 稳定性

取足够数量试纸条, 放入 45 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱烘烤, 分别于 0、7、15 d 取出进行检测, 用 DON 标准品配制牛奶样品 3 份, 使其终浓度分别为 50、100、200 $\mu\text{g/L}$, 按要求进行检测, 每份样品重复测定 5 次。

2 结果与分析

2.1 显色情况及重复性结果

由图 2 可知, 试纸条开始显色时间为 40 s 左右, 8 min 后的显色情况良好, 且检测线红色条带颜色深浅基本一致, 检测结果均为阴性, 说明试纸条重复性良好。



图 2 显色情况及重复性结果

2.2 样品前处理方法结果

对牛奶样品进行不同倍数的稀释后进行检测, 结果见表 1。由表 1 可知, 牛奶在 2 倍或 4 倍稀释的情况下,

稀释倍数	添加浓度 ($\mu\text{g/L}$)	检测结果 (n = 6)
1	50	全为阴性
	100	全为阳性
	200	全为阳性
2	50	全为阴性
	100	全为阴性
	200	2 份为阳性 4 份为阴性
4	50	全为阴性
	100	全为阴性
	200	全为阴性

表 1 样品检测结果

DON 添加浓度为 200 $\mu\text{g/L}$ 时，试纸条检测结果仍不能全部为阳性；牛奶在稀释 1 倍的情况下，DON 添加浓度为 100 $\mu\text{g/L}$ 时，试纸条检测结果均为阳性。为使试纸条具备良好的灵敏度，样品无需稀释，牛奶样本前处理方法确定为：取未经稀释的待检牛奶样品加入微孔，溶解金标抗体，然后插入试纸条进行检测。

2.3 阳性率分布结果

根据检测结果绘制阳性分布图，结果见图 3。由图 3 可知，DON 浓度为 0、25 $\mu\text{g/L}$ 时，检测结果阳性率为 0；DON 浓度为 100、200、400 $\mu\text{g/L}$ 时，检测结果阳性率为 100%；DON 浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 时，检测结果阳性率为 4%，因此可以判定，该试纸条的检测限为 50 ~ 100 $\mu\text{g/L}$ 。

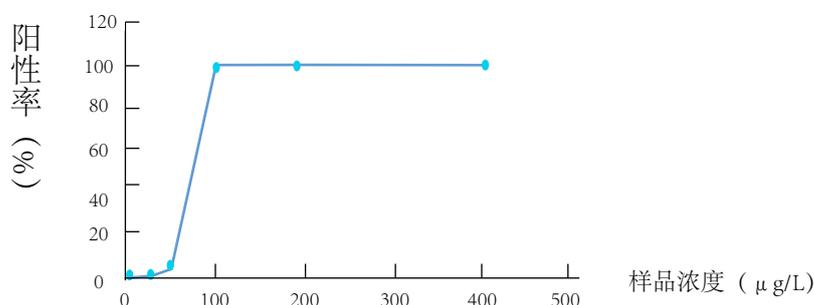


图 3 阳性率分布图

2.4 检测限结果

由表 2 可知，DON 添加浓度 < 100 $\mu\text{g/L}$ 时，样品检测结果大部分为阴性，仅有少量样品检测结果为阳性；DON 添加浓度 ≥ 100 $\mu\text{g/L}$ 时，样品检测结果均为阳性，即可确定本试纸条对牛奶中 DON 残留的检测限为 100 $\mu\text{g/L}$ 。

添加药物	添加浓度 ($\mu\text{g/L}$)	检测结果
DON	50	20 份均为阴性
DON	75	19 份为阴性，1 份为阳性
DON	100	20 份均为阳性
DON	125	20 份均为阳性
DON	150	20 份均为阳性

表 2 检测限结果

2.5 特异性结果

特异性试验结果显示，添加玉米赤霉烯酮、黄曲霉毒素 B1、赭曲霉毒素 A 标准品浓度至 100 ~ 1600 $\mu\text{g/L}$ 范围内的阴性牛奶样品，试纸条检测结果均为阴性，说明试纸条对玉米赤霉烯酮、黄曲霉毒素 B1、赭曲霉毒素 A 均无交叉反应，本试纸条的特异性较好，可满足牛奶中 DON 残留检测的需要。

2.6 假阳性率、假阴性率结果

试验结果显示, 1 ~ 50# 样品中有 1 份样品检测结果为阳性, 通过计算得出, 试纸条的假阳性率为 98%; 51 ~ 100# 样品检测结果均为阳性, 通过计算得出, 试纸条的假阳性率为 0。

2.7 稳定性结果

试纸条经高温加速试验后进行检测, 结果见表 3。由表 3 可知, 经 15 d 加速稳定性试验后, 试纸条开始显色时间为 1 min 左右, 明显延长; 检测线红色条带颜色变浅。由于试纸条的结果是目测判定的, 所以随着颜色变浅, 检测阴性样品的假阳性率明显增高, 因此试纸条不适合在高温下保存。

检测时间 (d)	添加浓度 ($\mu\text{g/L}$)	平均显色时间 (s)	检测结果 (n = 5)
0	50	40	5 次均为阴性
	100	41	5 次均为阳性
	200	40	5 次均为阳性
7	50	51	4 次为阴性, 1 次为阳性
	100	53	5 次均为阳性
	200	50	5 次均为阳性
15	50	62	3 次为阴性, 2 次为阳性
	100	58	5 次均为阳性
	200	61	5 次均为阳性

表 3 稳定性结果

3 讨论

目前中国在 GB 2761-2011 《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》中规定谷物及其制品中 DON 限量指标为 1000 $\mu\text{g/kg}$, 而没有规定牛奶中 DON 的限量标准。近年来, 乳及乳制品安全事件频发, 人们对乳制品的安全性越来越重视, 因此有必要建立乳制品中霉菌毒素残留的检测方法 (王威等, 2009)。本研究制备的 DON 快速检测试纸条应用了胶体金竞争抑制免疫层析的方法, 对牛奶中 DON 残留检测限可达 100 $\mu\text{g/L}$, 整个检测过程只需 5 ~ 8 min, 且结果阴阳性颜色差异明显, 易于判定, 非常适合于大批量样品的现场快速检测, 可有效地防止 DON 中毒事件的发生, 易被基层掌握并大面积推广, 适应中国经济技术发展状况。由于试纸条的结果是目测判定, 在加速稳定性试验中, 试纸条在 45 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中存放 15 d 后进行检测, 检测线条带颜色明显变浅, 而一旦出现条带模糊或变浅, 就无法准确判定结果, 从而出现假阴性或假阳性结果, 因此下一步要对试纸条进行常温 and 冷藏条件下的稳定性验证, 确保试纸条检测结果的准确性 (谢莉等, 2011)。另外, 试纸条检测结果准确性会受到其他环境因素的影响, 如噪声、湿度、光照等, 故后期应对试纸条进行更全面的性能测试。

虽然试纸条检测方法目前只能进行定性检测, 但由于其方便、准确、快速等特点, 被越来越多的应用于基层检测工作中。与此同时, 对试纸条的要求也越来越高, 如检测限要求越来越灵敏、检测有害物质的范围越来越广、同一试纸条可检测的残留种类越来越多, 为顺应这一趋势, 在今后的研发工作中将对试纸条检测残留的种类进行进一步拓展, 并开发可用于基层检测的多联试纸条。

β - 内酰胺类抗生素快速检测试纸条

一、β-内酰胺类抗生素简介

β - 内酰胺类抗生素 (Beta-lactam antibiotic) 是一种种类很广的抗生素，其中包括青霉素及其衍生物、头孢菌素、单酰胺环类、碳青霉烯类和青霉烯类酶抑制剂等。

β - 内酰胺类抗生素抗菌性比较广泛，杀菌性强，因其价格低廉，是临床上许多常见疾病的特效药，为此是许多养殖户与兽医的首选用药。该类抗生素不光只在畜牧养殖中应用，人类许多细菌感染的疾病也会应用此类药物，如我们感冒发烧常吃的阿莫西林、头孢氨苄、头孢克洛等等药物，虽然此类抗生素有很好的预防与治疗疾病的作用，但是长期服用食用含有此类药物的食物，会给我们带来许多危害，故此我国以及欧盟等国家对 β - 内酰胺类抗生素都规定了最大残留限量 (MRL)。我公司又根据我国相关规定《235号公告》研制出了乳制品中 β - 内酰胺类抗生素快速检测产品，其检测限以及国家限量见下表：单位：ppb (ng/mL)

药物名称	欧盟残留限量	我国残留限量	产品检测限
青霉素 G	4	4	2
阿莫西林	4	10	2-4
氨苄西林	4	10	2-4
氯唑西林	30	30	4-6
萘呋西林	—	30	6-8
苯唑西林	—	30	5-10
头孢哌酮	50	—	4-6
头孢匹林	60	—	4-8
头孢唑肟	20	20	5-10
头孢唑啉	50	—	30-50
头孢噻吩	100	100	50-100

那么长期食用含有 β - 内酰胺类抗生素残留的食物会有哪些危害呢？

1 毒性作用

人长期食用含抗生素残留的动物性食品后，药物不断在体内蓄积，对人体产生毒性作用。

2 导致人体肠道内正常菌群失调和紊乱

在正常情况下，人体肠道内的微生物菌群之间维护者共生平衡，对人体健康产生有益作用。但是，如果长期食用抗生素残留超标的动物性食品，就有可能抑制或灭杀某些敏感菌，而耐药菌或条件性致病菌大量繁殖，导致微生物平衡破坏，从而使人与动物易发感染性疾病，并影响某些有益菌群合成人体所需的 B 族维生素和维生素 K。因此，长期摄食抗维生素残留超标食品，可以导致人体有益菌群平衡失调，造成长期腹泻或某些维生素缺乏。

3 增加细菌的耐药性

长期使用含抗生素的动物性食品，容易诱导耐药菌株的出现，使抗生素失去治疗的疾病的价值，给人类疾病的治疗带来困难甚至可能出现一些药物无法控制的细菌感染。

4 抗原性引起人体的过敏和变态反应

经常食用一些有低剂量的抗菌药物残留的食

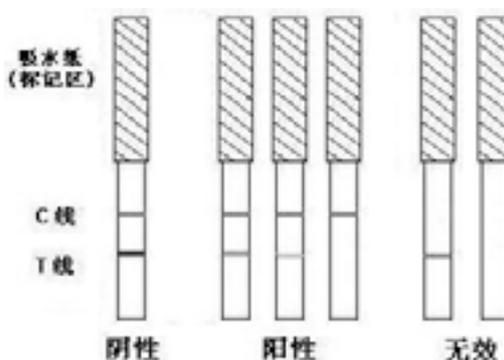
品能使易感人体出现过敏反应。例如，青霉素，其具有抗原性，能刺激机体产生抗体，造成过敏反应，轻者表现为寻麻疹、发热、关节肿痛等，严重时出现过敏性休克，甚至危害生命。

5 “三致”作用

人体长期低剂量地摄入某些抗生素，还可以产生致癌、致畸、致突变作用。

二、检测原理

β -内酰胺类抗生素快速检测试纸条含有事先印制在膜上的肉眼可见的紫红色条带（C线）和固定于测试区的抗原检测线（T线）。微孔中的金标抗体经牛奶样品复溶后在温育器中 50℃ 反应 3 min，将试纸条插入金标微孔中反应 3 min，根据 C 线、T 线的颜色对比判读结果。如图：

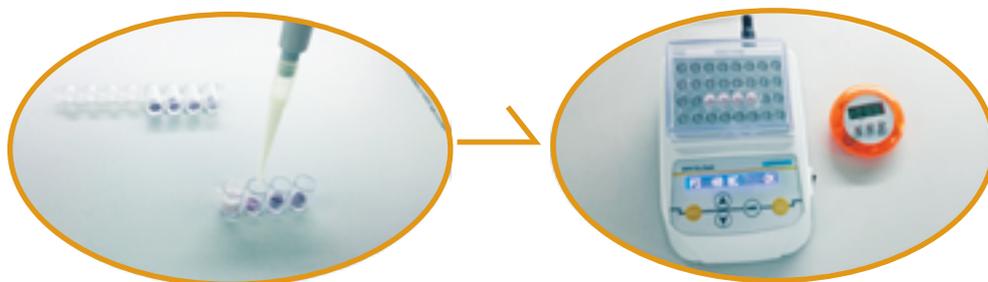


三、产品图片展

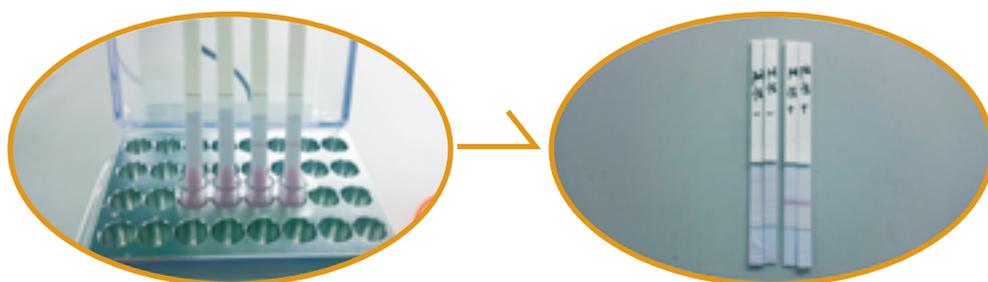


四、产品操作流程以及使用注意事项

第一步：取 200 μ L 奶样加入金标微孔中混均，50℃ 温育



第二步：将试纸条插入微孔中 50℃ 温育，判读结果



五、公司现有产品

产品名称	反应温度	产品规格	检测用时	检测样本
β - 内酰胺类抗生素快速检测试纸条	50℃	8 条 / 包 \times 12 包	3+3min	原奶、奶粉
β - 内酰胺类抗生素快速检测试纸条 (II) 型	40℃	8 条 / 包 \times 12 包	3+3min	原奶、奶粉

专业的技术服务

为了支持、完善广大检测机构及大中型食品企业的食品检验需求，维德维康立足于国家兽药安全评价中心和中国农业大学强大的研发平台和技术资源，充分利用自身优势，通过整合各类社会资源，除了为客户提供质量稳定可靠的产品，还有全面的产品培训、全程技术支持以及强大的售后服务体系。



维德维康拥有一支专业化的销售精英团队，能为您提供 7*24 小时的食物安全检测技术咨询及贴心的售前、售中、售后服务。针对客户实际情况，维德维康建立了许多完整的服务计划，包括：

维德维康钻石服务计划

食物安全检测个性化定制服务，特级技术顾问免费咨询、指导、培训服务，专业技术支持团队不限次数贴心“一对一”技术服务，第一时间优先响应服务请求，24 小时销售精英电话支持。

维德维康白金服务计划

食物安全检测区域性定制服务，技术顾问咨询、指导、培训服务，专业技术支持团队不限次数“一对一”技术服务，第一时间优先响应服务请求，24 小时销售经理电话支持。

维德维康黄金服务计划

食物安全检测定制服务，技术专家咨询、指导、培训服务，专业技术支持团队不限次数贴心“一对一”技术服务，第一时间优先响应服务请求，24 小时销售工程师电话支持。

 **24 小时服务热线：** 400-860-8088
13911340259



北京维德维康生物技术有限公司

地址：北京市海淀区北清路 156 号中关村环保科技示范园地锦路 9 号院 3 号楼
服务热线：400-860-8088 13911340259
电话：010-62974201 82780259
网址：www.wdwkbio.com