



普通高等教育食品科学与工程类“十二五”规划实验教材

THE COMPREHENSIVE EXPERIMENTS OF FOOD SAFETY EVALUATION



食品安全性评价 综合实验

车会莲 马良◎主编

中国林业出版社

普通高等教育食品科学与工程类“十二五”规划实验教材

食品安全性评价 综合实验

车会莲 马 良 主编

中国林业出版社

内 容 简 介

食品安全性评价综合实验不单纯是一本实验指导书,它将食品安全性评价的理论和实验有机地融合到了一起,在指导使用者如何对一个食品进行安全性评价的同时,还介绍了相关的基础知识。因此,它不单纯是一本配套的实验教材,还是一本可以独立使用的理论教材。

本书内容分为3篇。第一篇食品安全性评价实验基础,介绍了食品安全性评价实验涉及的所有基础知识和实验技能,包括食品安全性评价实验的要求、动物试验基础、食品安全性评价实验的设计、食品安全性评价实验结果的处理和分析等内容。第二篇食品安全性评价基本实验,从食品的一般安全性评价方法为出发点,进一步就食品的遗传、生殖、发育、致癌、神经以及免疫等方面的安全性评价方法进行了系统的阐述。第三篇食品安全性评价实验应用,以保健食品、食品添加剂、农药和兽药以及转基因食品为例,介绍了食品安全性评价实验方法在评价这些食品时的应用。

本书结合本科生和研究生教学课程建设以及各高校中食品安全专业课程建设,专门而编写的配套实验教材,既可以满足本科生、研究生教学的要求,也可以作为从事食品安全性评价的研究、检测和管理人员的工具书。

图书在版编目(CIP)数据

食品安全性评价综合实验 / 车会莲, 马良主编. —北京: 中国林业出版社, 2014. 2
ISBN 978-7-5038-7347-8

I. ①食… II. ①车… ②马… III. ①食品卫生 - 评价 IV. ①R155.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 003489 号

中国林业出版社·教材出版中心

策划编辑: 高红岩 许 玮

责任编辑: 许 玮

电话: 83282720 83221489

传真: 83220109

出版发行 中国林业出版社(100009 北京市西城区德内大街刘海胡同7号)

E-mail: jiaocaipublic@163.com 电话: (010)83224477

http://lycb.forestry.gov.cn

经 销 新华书店

印 刷 中国农业出版社印刷厂

版 次 2014年2月第1版

印 次 2014年2月第1次印刷

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 13.5

字 数 320千字

定 价 26.00元

未经许可,不得以任何方式复制或抄袭本书之部分或全部内容。

版权所有 侵权必究

普通高等教育食品科学与工程类“十二五”规划实验教材

编写指导委员会

主任 罗云波（中国农业大学食品科学与营养工程学院，教授）

委员（按姓氏拼音排序）

陈宗道（西南大学食品科学学院，教授）

程建军（东北农业大学食品学院，教授）

迟玉杰（东北农业大学食品学院，教授）

江连洲（东北农业大学食品学院，教授）

李洪军（西南大学食品科学学院，教授）

李里特（中国农业大学食品科学与营养工程学院，教授）

廖小军（中国农业大学食品科学与营养工程学院，教授）

任发政（中国农业大学食品科学与营养工程学院，教授）

赵国华（西南大学食品科学学院，教授）

赵新淮（东北农业大学食品学院，教授）

《食品安全性评价综合实验》编写人员

主 编 车会莲 马 良

副主编 邵美丽 李昌模 易有金 周 忻

编 者 (按姓氏拼音排序)

白卫滨 (暨南大学)

车会莲 (中国农业大学)

陈晋明 (山西农业大学)

侯俊才 (东北农业大学)

侯丽华 (天津科技大学)

李昌模 (天津科技大学)

马 良 (西南大学)

邵美丽 (东北农业大学)

生 威 (天津科技大学)

易有金 (湖南农业大学)

周 忻 (中国农业大学)

朱传合 (山东农业大学)

朱 颜 (东北农业大学)

前 言

“国以民为本，民以食为天，食以安为先”，此话道出了食品安全关系着人民健康和国计民生。我们每个人都离不开饮食，而自然界中的任何食物（包括天然食物）都可能含有危险微生物和有毒化学物。在这种情况下，如何确保食品的安全性已成为现代人类面临的重要社会问题。当食品中有害物质的含量在可控制的允许范围内时，这个食品是安全的，反之就是不安全的。因此，为确保食品安全和人体健康，需要对食品进行安全性评价，也就是要利用食品安全性评价的实验方法判断该食品中所含的不安全因素对人体健康危害的可能性以及相对安全的食用条件，即这个食品是否可以安全食用。

食品安全性评价的理论和实践，经过漫长的感性认知和个别现象的总结阶段，在近30年面临许多挑战后得到长足发展。目前，国内食品安全性评价的相关课程已经在许多大学开设，但是食品安全性评价的实验教材尚不多见。随着食品安全性评价工作的日益普遍，食品安全性评价相关实验成为高校食品质量与安全专业学生必须掌握的一门实验性课程，食品安全性评价相关基础知识及技能的教育和培养已经成为食品质量与安全专业教学的必要组成部分。本书在介绍了所有食品安全性评价实验涉及的基础知识和实验技能的基础上，还介绍了食品安全评价方法在评价各种食品中的应用。

全书共分为3篇：食品安全性评价实验基础、食品安全性评价基本实验和食品安全性评价实验应用。本书的编者是来自全国8所开设食品质量与安全专业的大学一线教师，他们是车会莲、马良、邵美丽、李昌模、易有金、侯俊才、朱颜、生威、周忻、白卫滨、朱传合、陈晋明、侯丽华。

在编写过程中，编者吸纳了国内外学者在食品安全性评价领域研究的智慧和结果以及全国各高校食品质量与安全专业在食品安全性评价理论和实验教学方面的成功经验。中国林业出版社的高红岩编辑也为本书的出版付出了辛勤的努力，在此一并向他们表示真诚的感谢！

为使本书具有十分鲜明的现实性、前瞻性、实用性和可读性，成为一部教学与应用、理论与实践相结合的教材和工具书，参加本书的所有编者都付出了艰辛的劳动，但由于涉及领域广泛、编写水平有限，书中难免有不妥和疏漏之处，我们希望广泛征集广大授课教师、学生和其他读者的使用意见，敬请广大同行和读者提出批评和建议，以便我们今后修订、补充和进一步完善本书。

编 者

2013年6月

目 录

前 言

第一篇 食品安全性评价实验基础

第一章 食品安全性评价实验的要求	(2)
第一节 食品安全性评价实验的意义和原则	(3)
第二节 食品安全性评价实验的目的和依据	(4)
第三节 食品安全性评价实验中出现的问題	(5)
第二章 动物实验基础	(9)
第一节 实验动物房	(10)
第二节 实验动物	(11)
第三节 动物实验操作	(12)
第三章 食品安全性评价实验设计、结果处理与分析	(21)
第一节 食品安全性评价实验设计	(22)
第二节 食品安全性评价结果的统计学分析	(24)
第三节 实验结果的统计学分析方法	(26)

第二篇 食品安全性评价基本实验

第四章 食品基础安全性评价	(30)
第一节 食品安全性评价程序	(31)
第二节 急性毒性评价	(32)
第三节 亚急性毒性评价	(39)
第四节 亚慢性和慢性毒性评价	(42)
第五节 蓄积毒性评价	(51)
第五章 食品遗传安全性评价	(54)
第一节 食品遗传安全性评价的基本概念	(55)
第二节 遗传安全性评价的应用	(56)
第三节 常用的遗传安全性评价实验	(57)
第六章 食品生殖与发育安全性评价	(70)
第一节 生殖与发育安全性评价实验设计的要点	(71)
第二节 三段生殖安全性评价实验	(72)

第三节	一代和多代生殖试验	(76)
第四节	生殖安全性评价的检测方法	(80)
第五节	发育毒物预筛试验	(91)
第七章	食品致癌安全性评价	(94)
第一节	基本概念	(95)
第二节	哺乳动物致癌试验	(96)
第三节	与研究致癌作用有关的其他试验	(97)
第八章	食品神经和神经行为安全性评价	(99)
第一节	基本概念	(100)
第二节	神经和神经行为安全性评价试验	(101)
第三节	神经行为安全性评价的应用	(102)
第九章	食品免疫安全性评价	(104)
第一节	基本概念	(105)
第二节	免疫安全性评价方法	(106)
第三节	检测食品中化学物免疫毒性的常用方法	(107)
第十章	食品管理安全性评价	(109)
第一节	危害鉴定与特征描述	(110)
第二节	暴露评估	(112)
第三节	危险性特征描述	(113)
第四节	危险性评估中的不确定性因素	(114)
第十一章	食品毒物动力学研究	(116)
第一节	基本指标	(117)
第二节	常用毒物动力学参数	(118)
第三节	生理毒物动力学模型	(118)

第三篇 食品安全性评价实验应用

第十二章	保健食品的安全性评价	(121)
第十三章	食品添加剂的食用安全性评价	(126)
第十四章	食品工业用酶制剂的安全性评价	(130)
第一节	啮齿类动物 90d 喂养试验	(131)
第二节	鼠伤寒沙门菌回复突变试验	(132)
第三节	外周血淋巴细胞染色体畸变试验	(135)
第四节	铅的测定——二硫腈比色法	(136)
第五节	无机砷的测定	(139)

第六节 菌落总数的测定	(140)
第七节 大肠菌群的测定	(142)
第十五章 新资源食品的安全性评价	(145)
第一节 急性毒性试验	(146)
第二节 非转基因检测	(147)
第三节 农药残留检测	(149)
第四节 重金属检测	(151)
第五节 遗传毒理学试验	(153)
第六节 90d 喂养试验	(164)
第十六章 食品包装材料的安全性评价	(167)
第十七章 转基因食品的安全性评价	(172)
第一节 外源基因表达产物的毒理学检测	(173)
第二节 外源基因表达物质是否存在致敏性	(176)
第三节 转基因食品的亚慢性安全性评价	(192)
参考文献	(204)

第一章 食品安全性评价实验的要求

食品安全性评价的主要目的是明确某种食品是否可以安全食用，评价食品中含有的有害成分的毒性及其风险大小；利用食品安全性评价的资料，确认该物质的安全剂量，以便通过风险评估进行风险控制。现代食品安全性评价除了必须进行传统的毒理学评价外，还需要进行人体研究、残留量研究、暴露量研究、膳食结构和摄入风险性评价等。为了研究食品中外源化学物质的性质和作用，控制其在食品中的含量，保证食品质量，确保食品安全和食用者的健康，对食品中存在的外源化学物质的安全性评价是十分必要的。食品安全性评价是一个不断发展、不断完善的领域，评价的手段和方法也在不断地更新中。

第一节 食品安全性评价实验的意义和原则

食品安全性评价是一种综合性的评价手段,是人们对食品安全性的一个综合性多方面的评价,是利用毒理学的基本方法,通过动物实验和对人的观察,阐明某一化学物质的毒性及其潜在危害,以便为人类使用这些化学物质的安全性作出评价,为制定预防措施,特别是卫生标准提供理论依据。

一、食品安全性评价实验的意义

20 世纪以来,随着现代工业特别是化学工业的迅猛发展,人类在日常生活和生产中接触及使用的新化学品与日俱增。但是,在目前已知的人类可能接触或销售的 500 万种化学物质中,进行化学品毒性登记的只有 10 万余种,而其中人类经常食用或接触的化合物种类已逾 7 万种;此外,许多新化学品正以每年 1 000 种的速度不断涌现。人类长期直接或间接地接触这些化合物所引起的急性、慢性毒性以及致畸、致突变和致癌作用,越来越受到人们的关注和重视。

二、食品安全性评价实验的原则

食品安全性评价是根据一定的程序对食品中所含的某种外源化学物进行毒性试验和人群调查,确定其安全标准,并依此标准对含这些外源化学物的食品做出能否商业化的判断过程。我国卫生部于 2003 年颁布了国家标准《食品安全性毒理学评价程序》(GB 1519.1—2003),该标准规定了食品安全性毒理学评价的程序。

一般来说在食品安全性评价实验中,应该遵循以下 3 个基本的原则:

①化学物在实验动物身上产生的作用,可以外推于人。基本假设:人是最敏感的动物物种;人和实验动物的生物学过程包括化学物的代谢,与体重(或体表面积)相关。这两个假设也是全部实验生物学和医学的前提。根据单位体表面积计算对人产生毒作用的剂量和实验动物通常很接近。

②实验动物必须暴露于高剂量环境下,这是发现对人潜在危害必需的和可靠的方法。此原则是根据质反应的概念,随着剂量或者暴露的增加,群体中效应发生率增加。在食品安全性评价实验中,对相对较少的实验动物必须以较高剂量进行试验,然后根据安全性评价原则外推估计低剂量暴露的危险性。食品安全性评价实验中,一般要设 3 个或 3 个以上的剂量组,以观察剂量-反应(效应)关系,确定受试化学物引起毒效应及其毒性参数。

③成年的健康(雄性和雌性未孕)实验动物和人可能的暴露途径是一致的。选用成年的健康实验动物是为了使实验结果具有代表性和可重复性。以成年的健康实验动物作为一般人群的代表性实验模型,而将幼年和老年动物、妊娠的雌性动物、疾病状态作为

特殊情况另作研究。这样可降低实验对象的多样性,减少实验误差。食品安全性评价实验结果的敏感性取决于受试物处理引起毒效应强度和实验误差两个因素,外源化学物以不同途径染毒,实验动物表现的毒性会有很大差异。

三、评价结果的判定

对食品中某种外源化学物或某种食品进行安全性评价时,必须在遵循上述基本原则的前提下,掌握该化学物的成分、理化性质等基本资料,动物实验资料以及人群的直接观察资料,最后进行综合评定。所谓绝对的安全是不存在的。在掌握上述三方面资料的基础上,进行最终评价时,应全面权衡其利弊和实际的可能性,从确保发挥该物质的最大效益以及对人体健康和环境造成最小危害的前提下做出结论。

第二节 食品安全性评价实验的目的和依据

食品安全性评价实验的目的,是利用体内(主要是指动物)、体外和人体资料相结合的手段实现对食品中外源化学物的食品安全性进行评价。

一、了解受试外源化学物毒作用的表现

在研究食品中外源化学物急性和慢性毒性的试验中,观察受试物对机体的有害作用。对有害作用的观察应是对每个实验动物进行全面的逐项的观察和记录。发现有害作用是进行剂量-反应(效应)研究的前提。一旦确认有害作用存在,是应该停止研究该损害是否可逆和消失、器官和组织功能是否恢复,还是像研究化学物致癌作用那样继续观察停止接触后损害继续发展?毒性的可逆性关系到对食用者的危害评价,如果受损的器官组织能够修复并恢复正常功能,则可能接受较高危险性的接触水平。确定受试物有害作用的靶器官和靶细胞是食品安全性评价研究的重要目的,阐明受试物毒作用的特点,并为进一步的机制研究和毒性防治提供线索。

二、了解受试外源化学物剂量-反应(效应)研究

剂量-反应(效应)研究是食品安全性评价和化学物质毒性研究的基础,通过对不同化学物有害作用剂量-反应(效应)的研究,可以得到该受试物的多种安全性参数。在急性毒性试验中,应得到经口 LD_{50} 。在急性、亚急性、亚慢急性和慢性毒性、致畸和致癌试验中,均应得到相应的可观察到有害作用的最低剂量(LOAEL)和未观察到有害作用的剂量(NOAEI)。在致突变、致癌和致畸等特殊毒性试验中,剂量-反应(效应)研究将为确定受试物是否具有这些特殊毒性提供依据。

三、我国食品安全性评价法律、法规 and 标准

为了保障广大消费者的健康，我国已经制定了一个统一的食品安全性毒理学评价程序对于直接和间接用于食品的化学物质进行科学的安全性评价。《中华人民共和国食品安全法》第二十条规定，食品安全标准应包括：食品、食品相关产品中的致病性微生物、农药残留、兽药残留、重金属、污染物质以及其他危害人体健康物质的限量规定；食品添加剂的品种、使用范围、用量；专供婴幼儿和其他特定人群的主辅食品的营养成分要求；对与食品安全、营养有关的标签、标识、说明书的要求等。我国现行的有关食品安全性评价的法律、法规如表 1-1 所示。

表 1-1 食品安全性评价国家标准

国标序号	实验类型	国标序号	实验类型
GB 15193. 1—2003	食品安全性毒理学评价程序	GB 15193. 12—2003	体外哺乳类细胞基因突变实验
GB 15193. 2—2003	食品毒理学试验室操作规范	GB 15193. 13—2003	30 天和 90 天喂养试验
GB 15193. 3—2003	急性毒性试验	GB 15193. 14—2003	致畸试验
GB 15193. 4—2003	鼠伤寒沙门菌/哺乳动物微粒体酶试验	GB 15193. 15—2003	繁殖试验
GB 15193. 5—2003	骨髓细胞微核试验	GB 15193. 16—2003	代谢试验
GB 15193. 6—2003	哺乳动物骨髓染色体畸变试验	GB 15193. 17—2003	慢性毒性和致癌试验
GB 15193. 7—2003	小鼠精子畸形试验	GB 15193. 18—2003	日容许摄入量的制定
GB 15193. 8—2003	小鼠睾丸染色体畸变试验	GB 15193. 19—2003	致突变物、致畸物和致癌物的 处理方法
GB 15193. 9—2003	显性致死试验	GB 15193. 20—2003	TK 基因突变试验
GB 15193. 10—2003	非程序性 DNA 合成试验	GB 15193. 21—2003	受试物处理方法
GB 15193. 11—2003	果蝇伴性隐性致死试验		

第三节 食品安全性评价实验中出现的问題

随着现代化工农业生产的飞速发展，特别是新的生物技术的应用，生产出了诸如转基因食品、新型生物制剂等高科技食用产品，给食品安全性评价带来了新问题。

一、食品安全性评价实验面临的问题

1. 食品安全性评价要逐步与国际标准接轨

近年来，世界各国逐渐认识到，对各项食品安全性评价实验方法和操作技术的标准化是决定评价结果是否可靠的关键，也是国际、国内不同实验室之间数据能否相互比较的基础，必须制定严格的规范对评价全过程进行质量控制。20 世纪 70 年代，美国食品和药品管理局(FDA)和美国环境保护局(EPA)分别于 1978 年和 1980 年制定并颁布了

“良好实验室规范”(GLP),并列入法规中。随后欧洲经济合作与发展组织(OECP)及世界许多国家(包括我国)也相继确立了GLP原则。为保证规范的各项要求和规范能落实,GLP要求对每项具体操作都要制定出“标准操作规范”(SOP),还要求有独立的质量保证部门。

2. 食品安全性评价是不断发展的

外源性化学物质食用安全性评价的内容是随着社会、经济和科技的发展不断补充、修改和完善的。20世纪60年代以前,评价的内容还比较简单,主要是依据急性、亚急性、慢性毒性试验的结果进行评价。1961年,西欧的一些国家发生了“反应停”事件,引起近万名婴儿畸形。这一恶性事件促使人们对发育、生殖毒性的重视,并在安全评价程序中加强了这方面的内容。

3. 食品安全性评价是不断完善的

随着遗传安全性评价的发展,对化学物质致突变、致癌性的评价成为安全性评价的内容之一。随着化学致癌物研究的不断发展,有些致癌物难以从我们人类的生产、生活环境中消除,而且化学致癌物的致癌作用是无阈值的。

二、食品安全性评价实验设计需注意的问题

按照目前的食品安全性评价规范进行食品安全性评价,在一定程度上可以提高各种外源化学物质的食用安全性,但并不能完全排除对人体健康危害的风险。

1. 敏感性不同

实验动物和人对外源化学物质的敏感性不同,有时甚至存在着质的差别。虽然在食品安全性评价实验中使用了两种或者两种以上的动物,并尽可能选择与人对毒物反应相似的动物,但要完全避免物种差异是不可能的。而且在动物实验中,仅可以观察到体征,而记录不到症状。实验动物一般都选用成年健康的动物,而接触人群可以是不同年龄、人种和种族。

2. 剂量-效应反应不同

在食品安全性评价实验中,为了寻求毒作用的靶器官,并能在相对少量的动物身上得到剂量-反应或者剂量-效应关系,往往需选用较大的染毒剂量,这一剂量通常要比人实际接触的剂量大得多,并且有些化学物在高剂量和低剂量的毒性作用规律并不一致。

3. 接触数量不同

食品安全性评价实验所用动物数量有限,那些发生率很低的毒性反应,在少量动物中难以发现。而化学物质一旦进入市场,接触的人群量往往会增加数万甚至百万倍。这就存在小数量实验动物到大量人群外推的不确定性。

三、食品安全性评价实验结果判定需注意的问题

影响食品安全性评价的因素很多,在进行食品安全性评价实验时所使用的实验方法都应该力求标准化、规范化,并应有严格的质量控制。因此,在进行实验设计过程中,必须要依据受试外源化学物的性质,充分利用国内外现有的研究资料和接触资料,讲究实效地进行科学的实验设计,考虑多方面的因素并消除相应的干扰,尽可能科学、公正地作出评价。

1. 人的可能摄入量

由于进行安全性评价的对象是食品,在进行食品安全性评价的时候,除了要考虑正常成年人的摄入水平之外,还要考虑各年龄阶段的人群(如儿童和老年人等)以及其他敏感人群(如孕妇、乳母及高摄入人群等)。

2. 参考资料

由于存在着动物与人之间的种属差异,在将动物实验结果推及到人时,应尽可能收集人群接触受试物后反应的资料,如职业性接触和意外事故接触等。志愿受试者体内的代谢资料对于将动物实验结果推及到人具有重要意义。在确保安全的条件下,可以考虑按照有关规定进行必要的人体试食试验。

目前各项动物毒性试验和体外试验系统虽有待完善,但却是目前科技水平下所能得到的最重要的资料,也是进行食品安全性评价的主要依据。在得到阳性试验结果,且结果的判定涉及受试物能否应用于食品时,需要考虑结果的重复性和剂量-反应关系。

3. 动物毒性试验结果推及到人

鉴于动物、人的种属和个体之间的生物特性差异,一般采用安全系数的方法,以确保对人的安全性。安全系数通常为100倍,但可根据受试物的理化性质、毒性大小、代谢特点、接触的人群范围、食品中的使用量及使用范围等因素,综合考虑增大或减小安全系数。

4. 代谢试验的资料

代谢研究是对化学物质进行食品安全性评价的一个重要方面,不同化学物质剂量大小及其在代谢方面的差别往往对毒性作用影响很大。在食品安全性评价试验中,原则上应尽量使用与人具有相同代谢途径和模式的动物来进行试验。研究受试物在实验动物和人体内的吸收、分布、排泄和生物转化方面的差别,对于将动物实验结果客观地推论到人具有重要意义。

5. 综合评价

在进行最后评价时,必须在受试物可能对人体健康造成的危害以及其可能的有益作用之间进行权衡。评价的依据除了科学的实验资料外,还与当时的科学水平、技术条件以及社会因素有关。因此,随着时间的推移,很可能结论也不同。随着科学技术的进步和研究工作的不断进展,应定期地对已通过评价的化学物质进行新评价。

世界卫生组织(WHO)在《临床前药物安全性实验原则》的文件中指出:“虽然事先对生物活性物质进行了最仔细彻底的研究,但给人使用时总是不可避免地要冒一定的风险。”这就是体内和体外试验的局限性,尤其是动物实验,即动物实验的结果外推到人的不确定性。目前的食品安全性评价体内试验还都是局限于动物实验,而以上这些都构成了从食品安全性评价的动物实验结果向人群安全性评价外推时的不确定因素,使食品安全性评价的实验具有一定的局限性。

第二章 动物实验基础

动物实验是实验动物作为人的替身而进行各种生命科学实验的过程。动物实验操作技术是实施动物实验的重要手段，在不同的研究领域中有不同的目的和应用。