

第一章 导 论

第一节 食品安全及食品安全问题

一、食品安全

1996年世界卫生组织（WHO）在其发表的《加强国家级食品安全性计划指南》中将食品安全性与食品卫生两个概念加以区别。食品安全被解释为“对食品按其原定用途进行生产和/或食用时不会对消费者造成损害的一种担保”，食品安全性强调食品中不应含有可能损害或威胁人体健康的物质或因素。食品卫生是指“为确保食品安全性和适合性在食物链的所有阶段必须创造的一切条件和采取的措施”，前者是目标，后者是达到目标的保障。在评价一种食品是否安全时，依靠一定的检测手段提供科学的依据，确定食品中的有害物质的含量和毒性，通过风险评估来考虑其是否造成对人体的实际危害。

目前我们提到的食品安全一般是指相对安全性。要求食品绝对安全是不可能的，绝对安全的食品是没有的。所谓相对安全性，是指一种食物或成分在合理食用方式和正常食用量下不会导致对健康损害的实际确定性。因此，我们在进行食品安全性分析时，应该从食品构成和食品科技的现实出发，明确提供最丰富营养和最佳品质食品的同时，在现有的先进检测方法下，力求把可能存在的任何风险降低到最低限度，科学保护消费者利益。同时，在有效控制食品有害物质或有毒物质含量的前提下，一切食品是否安全，还要取决于食品制作、饮食方式的合理性，适当食用数量，以及食用者自身的一些内在条件。

简单地说，我们的饮食不是完全没有危害的，食品安全不是绝对的。2001年瑞典斯德哥尔摩大学瑞典科学家通过对不接触丙烯酰胺（acrylamide）工作环境的人群进行调查，出乎意料地发现他们身体中含有高水平的丙烯酰胺。这一偶然的发现使瑞典研究者进一步对丙烯酰胺在食品中的可能出现进行观察，在包括炸薯条在内的油炸淀粉类食品中，发现含有丙烯酰胺致癌物。丙烯酰胺并不是一种新的有害物质，它只是决定我们生活健康食物中所含诸多物质中的一种，它在人们传统的制作方法中产生已经存在很长时间了。其实像这样的很多事是事先没有考虑到的。我们食用的大多数食品都可能含有不同水平的导致癌症的物质，但这并不意味着我们就不吃东西了。其实有很多引起癌症的原因，包括生活习惯、环境、吸烟等等，而一些人可能某些特殊的因素缺乏免疫力比其他人更容易得癌症。像丙烯酰胺一样，很多污染物不是一种直接的危害，食品中污染物任何可能的危害来自对其长期的摄入。

因此，食品安全性随着科学技术发展，涉及领域的扩大，将越来越突出。它也将随检测方法革新、临床毒理毒性研究、生产工艺设备改革、风险评估研究等的进步而不断强化和完善。食品安全问题对消费者的切身利益关系，也决定了消费者日益自觉地将作为指导饮食消费方式的原则以及选取、采购食品的首要取舍标准。

二、食品安全问题

20世纪80年代末以来，由于一系列食品原料的化学污染、疯牛病的暴发、口蹄疫疾病的出现和自然毒素的影响，以及畜牧业中抗生素的应用、基因工程技术的应用，使食品安全

问题为全世界所共同关注。食品安全问题已成为 21 世纪消费者面临的首要问题。中国加入 WTO 后，中国食品与国际食品的快速接轨，食品安全问题成为我国面临的重要挑战之一，这无论对农民、消费者，还是食品加工、经销企业来说都至关重要。与先进国家相比，中国在食品安全问题上还存在一定差距，无论是检验检疫方法、标准还是食品安全法规都还有待完善。同国际上重大食品安全事件相比，我国食品安全问题也存在着许多的隐患，稍不留意或不加努力就会出现重大问题。

食品安全问题主要集中在以下几个方面：微生物性危害、化学性危害、生物毒素、食品掺假以及基因工程食品的安全性问题，这也是国际社会普遍关注的。这些食品安全问题通常表现为食源性疾患。食源性疾患是通过摄食而进入人体的有毒有害物质（包括生物性病原体）所造成的食物中毒、肠道传染病、人畜共患传染病、寄生虫病等疾病。

在强调从农田到餐桌的安全评估控制管理体系下，过程分析可以较全面反映食品安全所涉及的危害。现代社会的快速发展在给人们带来丰富、高产的农产品同时，农产品种植养殖生长过程中使用农药、化肥、兽药等也给食用这些农产品的人类健康造成危害。农作物采收、存储或运输不当，发生霉变或微生物污染；食品加工、存储或运输不当，造成食品添加剂、重金属、微生物等污染，和 / 或发生食品腐败变质，都是食品安全的危害点。

全世界每年都有大量的农药施用于农作物。中国也是世界上农药生产和消费量较高的国家，由于多施和不按规定要求滥用农药，我国每年因农药而引起的食物中毒事件屡屡发生，特别是蔬菜中有机磷农药中毒。蔬菜中有机磷农药被人体吸收后，通过血液运到全身各个脏器，有机磷农药中毒后主要表现为出汗、肌肉颤动、心跳加快、瞳孔缩小等，严重的可导致中枢神经系统功能失常。我国有机磷农药残留超出国家标准的现象较为突出。目前，国内蔬菜中农药残留快速检测方法得到了广泛重视和应用，几种常用农药残留快速检测方法也已制定为国家标准推荐方法。

我国每年大量、超量或不合理地使用化肥于农作物上，使化肥在土壤中的残留越来越严重，肥料施用不当、滥用化肥生产的蔬菜对人类健康的威胁并不亚于在蔬菜上残留的农药。硝酸盐本身并没有毒，但在人的口腔和胃肠中会在细菌的作用下还原为亚硝酸盐。当食品中亚硝酸盐大量聚集则可能引起中毒，长期摄入，可诱发消化道系统癌变，如胃癌、肠癌。流行病学试验已经证明，硝酸盐和亚硝酸盐与食品中固有的胺类化合物是致癌物亚胺的前体物质，亚胺的诱癌时间随人体摄入量增多而缩短。由于偏施氮肥，我国蔬菜硝酸盐污染问题已相当严重，特别是叶菜类蔬菜，人体摄入的硝酸盐 85%~90%来自蔬菜。1973 年 FAO/WHO 就制定了硝酸盐和亚硝酸盐的每日允许摄入量（Acceptable Daily Intake, ADI），分别为 3.6mg/kg 体重和 0.13mg/kg 体重；1995 年 FAO/WHO 食品添加剂联合专家委员会（JECFA）重新制定了硝酸盐和亚硝酸盐的 ADI 值，分别为 0~3.7NO₃⁻ mg/kg 体重和 0~0.06 NO₂⁻ mg/kg 体重（JECFA, 1995）。而 1995 年欧洲（EC）食品科学委员会（SCF）制定了硝酸根离子 ADI 值为 3.65（相当 60kg 体重的人 219mg/d）。按照 FAO/WHO 的 ADI 标准计算，中国大部分地区蔬菜中硝酸盐污染已相当严重。国家正在制定蔬菜中硝酸盐限量标准，以保障消费者的食用安全，同时也可以间接起到种植过程合理施用化肥的推动作用。

为了预防和治疗家畜和养殖鱼患病而大量投入抗生素、磺胺类等化学药物，往往造成药物残留于食品动物组织中，国内外发生的因兽药残留不安全引起的消费者中毒事件，增加了消费者对所食用畜产品的担忧和关注。兽药残留既包括原药，也包括药物在动物体内的代谢

产物。在食品中由于药物本身的副反应或耐药性细菌种群的增长，将增加潜在在健康安全问题。目前氯霉素等抗生素兽药残留是欧盟各国对我国检验检疫的重点。近年，在我国由于盐酸克伦特罗（“瘦肉精”）兴奋剂可以使畜禽产生足够的瘦肉而被用在动物体内，从而使很多摄入残留“瘦肉精”的消费者引起中毒反应，产生心跳过快，心慌，不由自主颤抖、双脚站不住，心悸胸闷，四肢肌肉颤动，头晕乏力等神经中枢中毒后失控的现象，严重者甚至死亡。盐酸克伦特罗中毒潜伏期一般为 20min 到 4h，慢性特点会导致儿童性早熟。FDA、WHO 制定畜产品中盐酸克伦特罗的最高残留限量是肉、肝脏、肾、脂肪和奶分别为 $0.2\mu\text{g}$ ， $0.6\mu\text{g}$ ， $0.6\mu\text{g}$ ， $0.2\mu\text{g}$ ， $0.05\mu\text{g}$ 。

金属污染对食品安全性的影响非常重要，它属于化学物质污染的重要内容之一，人们早就对金属的食品安全性问题加以了重视。据分析，重金属污染以镉最为严重，以粮食作物多见，其次是汞、铅等，非金属砷的污染也不可忽视。多数金属在体内有蓄积性，半衰期较长，能产生急性和慢性毒性反应，可能还会有致畸、致癌和致突变的潜在危害。目前，我国儿童金属铅污染较为严重。

毒素是目前极为重视的安全问题。毒素主要表现在自然毒素，如贝类毒素和真菌毒素。贝类毒素不易被加热所破坏，所以其危害性是相当大的。主要的贝类毒素包括麻痹性贝类毒素（paralytic shellfish poison, PSP）、腹泻性贝类毒素（diarrhetic shellfish poison, DSP）。PSP 毒素存在于世界范围之内，现已在鲑鱼内脏中，龙虾及许多蟹类中也发现了 PSP 毒素。PSP 毒素会引起神经系统的疾病，包括颤抖、兴奋及唇舌的灼痛和麻木感，严重时会导致呼吸系统麻木以致死亡。DSP 毒素目前在加拿大东岸、亚洲、智利、新西兰、欧洲等地区发现，可引起轻微的胃肠疾病，但它不是一种可致命的毒素。我国浙江、福建、广东等地曾多次发生贝类中毒，中毒症状主要表现为突然发病、唇舌麻木、肢端麻痹、头晕恶心、胸闷乏力等，部分病人伴有低烧，重症者则昏迷，呼吸困难，最后因呼吸衰竭窒息而死亡。导致中毒的是蚶子、花蛤、香螺、织纹螺等常食用的贝类。真菌存在于大多数的农产品中，真菌毒素直接或间接进入食物链导致动植物食品受到毒素污染。在众多的真菌毒素中，黄曲霉毒素是众所周知的最危险的毒素之一，是一种强致癌物。黄曲霉毒素常发生在花生、坚果等粮油类食品及其制品中，近年来我国频繁出现“毒大米”事件，即为黄曲霉毒素污染事件。所以，目前我国加大了对粮油食品的监督检查力度，同时食品中玉米、花生及其制品中黄曲霉毒素含量成为欧盟各国对我国检验检疫的重点之一。为适应国内和国际形势要求，选择适当可行的方法检验黄曲霉毒素是当务之急。

生物技术产品的出现同样带来了安全性问题。如今，转基因食品早已摆上了人们的餐桌，比如人们大量食用的番茄，甜椒，大豆粉、大豆油等大豆制品。尽管目前还没有足够的证据证明转基因食品对人体有害，但有关转基因食品安全性引起人们的密切关注。目前人们所担忧的是转基因食品对人体健康的风险，转基因产品是否对人类无毒、无副作用，转基因产品与非转基因产品是否“实质等同”、无显著差异。由于生物技术产业高技术工程产品的安全性问题还不确定，较为一致的观点是生物技术产品对人类的健康和生态环境具有潜在风险。各国政府对转基因产品的态度和政策不同，美国、加拿大等国大量生产转基因产品，因而竭力支持其发展；欧盟各成员国、日本、澳大利亚、新西兰等国家以立法或其他形式要求出口国对转基因产品加贴标签，以保护消费者对产品是否含转基因成分的知情权，或以其他方式限制转基因产品的进口；欧盟管理基因改造产品销售与生产的法案，已于 2001 年由欧洲议会通过，该法案严格规定转基因食物、饲料、种子与药物的标识与监控。2002 年 5 月 9

日我国政府发布了《农业转基因生物安全管理条例》，2002年1月5日我国农业部发布了《农业转基因生物标识管理办法》、《农业转基因生物安全评价管理办法》和《农业转基因生物进口安全管理办法》三个管理办法，2002年4月8日卫生部发布了《转基因食品卫生管理办法》。

另外，无知或违法掺假如甲醛、雕白块、增白剂以及过量添加防腐剂、着色剂等，也是食品安全重要的问题。美国FDA于2002年2月11日生效了一项法规（section 417），进口到美国的食品必须注册，以防止出口国产品的不纯、掺假。随着新型的食品加工工艺、加工器具、包装材料等的应用，也给食品安全提出了新的问题，新食品的生产、流通、准备和摄入方式的改变使确保其安全面临新的挑战。

针对食品安全性存在的这些问题，对影响食品安全质量的有害物质进行快速测定日益重要起来。加强对现代食品安全的检验检疫、监督检查、质量控制，通过检验食品中有害物质含量，以保证食品安全、无毒。目前理想的准确、可靠、方便、快速、经济、安全检验方法是保障消费者身体健康的必不可少的重要措施。

第二节 食品安全快速检测方法现状与展望

一、食品安全快速检测方法现状

1. 食品安全快速检测方法

食品安全要得到保障，必须要有质量监督。质量监督离不开标准，通过食品标准来衡量食品质量。食品质量是指食品的食用性能及特征符合有关标准的规定和满足消费者要求的程度。食品的食用性能是指食品的营养价值、感官性状、卫生安全性。食品质量的体现要通过由有关权威部门发布的食品质量要求或食品质量的主要指标检测确定，即食品质量标准。食品质量必须满足消费者在心理、生理和经济上的要求，主要包括卫生安全、营养保健、感官享受、物美价廉等的需要，特别是安全与营养。要全面、正确评价食品质量必须获得食品中有害成分的种类和含量、营养成分的种类和含量、物理特性、感官指标。食品安全质量是食品质量的重要组成。食品安全是食品应具备的首要条件，其安全指标是构成食品质量的基础。食品安全指标主要包括：（1）严重危害人体健康的指标，如致病菌、毒素，必须严格按照标准的规定执行；（2）食品污染指标，包括化学和微生物污染指标，如农药残留、重金属、细菌总数、大肠菌群等；（3）食品掺杂使假指标；（4）安全指标，如转基因成分。

由于科学技术的发展，检验手段与方法多种多样，检测仪器越来越灵敏，检测方法的检测限也越来越低。如何采用最快捷、最经济、最准确的检验方法，是食品安全的一项重要研究内容。就目前的发展趋势看食品安全检测方法首先要体现快速，因为食品在生产、储存、运输及销售等各个环节，都有可能受到污染，都需要控制安全质量。食品生产经营企业、质检人员、进出口商检、政府管理部门都希望能够得到准确而又及时的监控结果。总之，准确、省时、省力和省成本的快速检验方法是多方面都迫切需要的。

什么样的方法算是快速呢？快速检测方法首先是能缩短检测时间，以及在样品制备、实验准备、操作过程简化和自动化上简化方法。可以从三个方面来体现：一是实验准备简化，使用的试剂较少，如培养基的改进，而且容易得到，配好后的试剂保存期较长，能够制成稳定的混合试剂或培养基或辅基，如干燥纸片培养基、试粉等是快速分析的较佳选择；二是样品经简单前处理后即可测试，或采用先进快速的样品处理方式，如重金属检测中的微波消

解、黄曲霉毒素的亲层析法，以及快速先进的滤膜或滤柱技术等；三是简单、快速和准确的分析方法，能对处理好的样品在很短的时间内测试出结果，如硝酸盐试纸、酶联免疫试剂盒等。总之，当试剂采购备齐后，从试剂配制开始，包括样品处理时间在内，能够在几分钟或十几分钟内得到检验结果是最理想的，但这种方法目前还很少。作为理化检验，能够在 2h 内得出检验结果即可认为是较快的方法。作为微生物检验，与常规或传统的方法相比，能够简化试剂的配制和能够缩短 1/2 或 1/3 的时间就可得到检验结果的方法就可认为是较快的方法。对于生物分析采用酶联免疫法，能够在 3~4h 内得到检验结果，也是比较快速的检验方法。而且在微生物的快速检测技术上，很多方法已很成熟，已经受到 AOAC 的认可，并且部分成为了国际标准，如 ISO 方法。

在对检验仪器的选用上，不排除采用先进的分析仪器。只要条件许可，样品处理和测定能够在短时间内完成，即可归纳为快速检验方法之列。如便携式光度计，便携式气相色谱仪或台式微机极谱仪，原子吸收分光光度或荧光光度仪，色谱仪，PCR 仪等。

食品安全快速检验，分为现场快速检验和实验室快速检验。从定性定量角度来看，食品安全快速检验，又分为定性快速筛选检验、半定量检验和全量检验。定性和半定量检验常用于现场检验，对半定量检验难以确定的结果，需送实验室作进一步的检验。有很多快速分析方法已经能达到定量要求。

除饮食营养不平衡外，影响食品安全的因素很多，包括微生物、生物毒素、有害残留物质（农药残留、兽药残留、硝酸盐等）、重金属、食品添加剂、包装材料释出物、放射性物质等。这也就决定了食品安全的快速检测方法的内容和要求。

本书所涉及的内容主要是与食品安全密切相关的有毒有害物质，包括有害化学物质、有害微生物、毒素、转基因食品检验、掺假物质等几大重要且备受关注的食品安全快速检测技术。所介绍的这些快速检测技术均在我国食品安全、质量监督检验部门和科研所得使用，其中 50% 以上在基层就可使用。同时一些快速检测方法正在制订我国国家标准，如蔬菜中硝酸盐快速检测方法、食品中黄曲霉毒素快速检测方法等，还有的已经成为了国家标准方法，如细菌总数、大肠菌群检测方法、农药残留快速检测方法等。书中也有一些方法由于使用的是进口试剂盒、生物试剂或仪器，成率较高，而未能得到普及，比如转基因产品检测试剂盒等。

2. 食品快速检测方法现状

随着高科学技术发展和研究的深入，大量快速和采用现代技术的检测方法不断出现，这些新的快速方法，一般都缩短了传统检测方法的时间，能够较快地得到检测结果，并且操作相对简单。

控制农药残留对人体的危害，最为有效的方法之一是加强对食品中农药残留检测的力度。常用的农药残留理化分析方法不但要有昂贵的气相色谱等分析仪器，而且分析方法手续复杂。国内外诸多研究者开发研制了多种农药残留的快速测定方法，包括生物法和化学法。生物法采用的是生物材料，目前比较好的方法有活体生物测定法、分子生物学方法、生物化学测定法。活体生物测定法使用发光细菌或敏感性家蝇作为测定材料；分子生物学方法则采用免疫反应，如酶联免疫反应，使用特异性的酶联免疫试剂盒；生物化学测定法利用胆碱酯酶抑制原理，使用范围仅限于能抑制胆碱酯酶活性的农药。目前我国成型的农药残留快速测定方法：农药残留试纸法、酶片法、农药残留分光光度计法——抑制率法等均属于生物化学测定法类型；酶联免疫试剂盒法为分子生物学方法；另外还有通过前处理的简化提高了测定

效率的农药多残留扫描法。

目前，国内外化肥污染物硝酸盐快速测定方法主要有硝酸盐电极法、硝酸盐比色法、硝酸盐试粉试纸法。硝酸盐现场快速测定法是市场经济发展趋势，其特点是快速、稳定、灵敏、准确定量、携带方便。我国研究者在研究硝酸盐快速测定方法上已有很大的进展，研制出了硝酸盐试纸快速测定法。实验室常规分析方法需要半天至一天时间完成，而试纸快速测定方法不超过 10min（从样品前处理到出结果），与实验室方法相比较具有很好的相关性，相关系数达到 0.99。另外，只要样品前处理简单，离子色谱在某种意义上也能达到常规检测基础上的快速测定。

食品金属污染物的检验技术，特别是快速检验技术的发展，是食品安全检验技术发展的重要方向之一。金属污染物快速检测技术首先从样品前处理制备入手，通过有效缩短样品前处理时间达到快速测定的目的。因为随着各种高效、灵敏、快速的金属污染物分析仪器（分析方法）的不断出现，传统的样品制备技术与之相比已不相适应，成为快速检验技术发展的主要障碍。微波溶样技术的出现和快速发展，有了一种很好的快速的样品预处理技术与金属污染物的快速准确的检验技术相配合，在一定程度上缩短了常规方法时间，达到食品安全快速检验目的。另外，对金属的检测，人们也在试图通过试纸条等快速检测方法进行突破，有研究表明，铅检测试纸可达到最低检测限为 20mg/L。

在兽药残留检测方面，为了尽可能地保证供应不含残留药物的食品，需要有可以在各种各样复杂基质的检样中对含量非常低的残留药物进行检测的方法以及定量和鉴定的分析方法。兽药残留快速检测方法有抑制试验法、试剂盒法（酶联免疫法）、放射免疫测定法等。抑制试验是传统的实验方法，缺乏灵敏度和特异性，但通过改进，已由平皿法改为现在的试纸方法，如嗜热脂肪芽孢杆菌纸片法，大大缩短了分析的时间。近年来，国外许多公司将试剂盒方法商品化，使兽药残留快速检测得到发展，如美国 Charm 科学有限公司、荷兰 Gist-brocades 食品股份有限公司和美国 Neogen 公司生产的酶联免疫吸附试剂盒。放射免疫测定法也是发展起来的快速测定兽药残留的新方法，如美国 Charm 科学有限公司的 Charm II 6600/7600 抗生素快速检测系统即是现有的放射性免疫检测方法，可以以最快的速度同时检测同类药物中各种兽药在样品中的残留浓度之和，其中 β -内酰胺类、氯霉素类、四环素类、磺胺类、邻氯青霉素及碱性磷酸酶这六项检测已被 FDA 认可，检测的样品包括动物和鱼类的肌肉组织、蛋类、饲料、蜂蜜、尿、血样、水、水果、蔬菜、谷物等。

对食品中黄曲霉毒素快速、有效的检验方法可以检测食品中是否受黄曲霉毒素的污染。通过检验食品中的黄曲霉毒素含量，以保证消费者食用的食品不含黄曲霉毒素。传统黄曲霉毒素分析一般采用薄层色谱法（TLC）、高效液相色谱法（HPLC）。TLC 虽然简便，但灵敏度差；HPLC 虽然灵敏度高，但样品前处理烦琐，操作复杂，时间长。免疫亲和柱法和免疫化学法是近年来用在黄曲霉毒素快速检测的有效方法，虽然都可达到快速简便的效果，但免疫化学法仅能检测单一毒素（如黄曲霉毒素 B₁）含量，而且易出现假阳性结果，难以控制。黄曲霉毒素酶联免疫试剂盒在我国已研制成功。我国标准推荐方法中已有黄曲霉毒素酶联免疫快速检测食品、饲料黄曲霉毒素 B₁，但它的检出限较高，而且容易出现假阳性结果。免疫亲和柱法（包括荧光光度法和 HPLC 法）却能达到既定量准确又快速简便的要求，黄曲霉毒素免疫亲和柱净化高效液相色谱法比传统的 HPLC 法更加安全、可靠、快速，灵敏度和准确度高。目前黄曲霉毒素免疫亲和柱净化高效液相色谱法和荧光光度法正在制定国家标准推荐方法。

对于贝类毒素的测定，目前由于毒素的缺乏显得难以进行。在贝类毒素检测中，虽然也出现了使用酶联免疫快速分析方法，但由于易出现假阳性结果，难以控制等种种原因而不能得到推广。目前小鼠生物试验法检测麻痹型贝类毒素和腹泻型贝类毒素还是常使用的分析方法。

近年来，随着生物技术的快速发展，新技术新方法在食品微生物检验领域得到了广泛应用，有效地提高了检测效率和检验速度。现行一些快速检测方法用于微生物计数、早期诊断、鉴定等方面，大大缩短检测时间，提高了微生物检出率。微生物快速方法包括微生物学、分子化学、生物化学、生物物理学、免疫学和血清学等方面及其它们的结合应用。我国科技检测工作者在微生物快速检测方面做了大量工作，如大肠杆菌试纸片法已经列为国家标准推荐方法；液体奶制品中大肠菌的快速检测方法研制成功，通过样品同含有荧光基团的培养介质底物相结合后测定荧光值来表征样品中有大肠菌存在与否；电阻抗法快速检测食品中沙门氏菌方法也有突破，通过对沙门氏菌选择培养基四硫磺酸盐煌绿增菌培养基（TTB）的改进，加入氧化三甲胺以增加培养基的电阻抗变化灵敏度，通过培养基电阻抗降低的百分比判定沙门氏菌的存在，对于阴性结果能在48h内快速、可靠地检测食品中的沙门氏菌。微生物快速检测方法很多都很成熟，包括自动酶联荧光免疫检测系统（VIDAS）筛选法、荧光酶免疫分析筛选方法、酶联免疫吸附法（ELISA）、金标免疫分析方法、DNA探针检测法、聚合酶链反应（PCR）技术等。在AOAC方法中已经有很多是快速检测方法，在本书中也主要是以近几年权威的AOAC微生物快速测定方法为例，具体见第五章。

目前，对转基因产品的检测提到日程。国内外转基因检测方法有三种，第一种是以核酸为基础的PCR检测方法，包括定性PCR、实时荧光定量PCR、PCR-ELISA半定量和基因芯片等方法；第二种是检测外源基因的表达产物——蛋白质检测方法，分为试纸条、ELISA和蛋白芯片三种方法；第三种是利用红外检测转基因产品化学及空间结构。以核酸为基础的PCR检测方法，是目前国内外检测生物技术产品最常采用的方法。PCR检测方法用于检测原料、加工产品、食品及饲料中被插入的外源基因，具有准确、检测限低、适用范围广等特点。定性PCR和PCR-ELISA半定量检测方法所需设备较简单，快速，但定性PCR结果要进一步进行验证，包括DNA测序、酶切和杂交等，从而易造成操作过程的污染；定量PCR能较准确地进行定量，减少了假阴性和假阳性的可能性，但需要的仪器设备昂贵；基因芯片技术可以同时检测多个外源基因，可以满足生物技术产品检测鉴定品系的要求，但目前芯片技术尚不成熟。目前以蛋白质为基础的转基因产品检测方法只能用于转基因农产品原料检测，其中的试纸条检测方法为粗筛方法，适合现场检验；ELISA方法可以进行定性和半定量，所需检测设备简单；蛋白芯片具有和基因芯片一样的优点，目前还不够完善，但具有发展前景。目前红外光谱仪进行生物技术产品检测还在研究中，只能用于原料产品的检测，该方法具有非常简便快速特点，但必须有标准物质做成标准谱图。

总之，食品安全快速检测技术正在迅猛发展，不同领域进展不尽相同，但其应用价值日益突出。快速检测方法已经成为发展的必然。

二、食品安全快速检测技术展望

新世纪世界性科技革命正在形成，各国都在加速技术创新和科技进步。从定性和定量检测技术两方面出发，准确、可靠、方便、快速、经济、安全检测方法是食品安全检测的发展方向，尽可能使快速检测技术的灵敏度及准确度要能达到标准限量要求，至少

要与标准方法检测结果相当，能在较短的时间内检测大量的样本，还必须具有实际推广应用价值。

食品安全事件全球范围的发生，使食品安全快速检测技术被各个国家所重视。很多快速检测方法被纳入各个国家的标准方法。食品安全快速检测技术在出口贸易中发挥重要作用。在进出口商品检测中，快速检测方法起到了重要作用，提高了工作效率，减少了不必要的浪费。美国 AOAC 已经采纳了很多微生物快速检测技术，但多数是 ELISA 方法，PCR 方法也在微生物检测中得到应用。就目前高技术的发展来看，生物技术将在食品安全快速检测中得到广泛应用，其中生物芯片技术是主要发展方向。生物芯片的设想最早起始于 20 世纪 80 年代中期，20 世纪 90 年代美国 Affymetrix 公司实现了 DNA 探针分子的高密度集成，即将特定序列的寡核苷酸片段以很高的密度有序地固定在一块玻璃、硅等固体片基上，作为核酸信息的载体，通过与样品的杂交反应获取其核酸序列信息。生物芯片由于采用了微电子学的并行处理和高密度集成的概念，因此具有高效、高信息量等突出优点。生物芯片技术广泛用在食品安全、环境、医药等领域。加拿大 Umedik 公司研制的生物芯片技术用在食品安全检测方面取得了突破，具有的检测限低、高灵敏度和特异性在当今快速检测领域是罕见的，只需要 5 μ L 样品就可以定量进行诊断，同时具有费用低、可重复操作等特点。生物芯片检测技术与不同方法检测 *E. coli* O₁₅₇ 比较见表 1-1。由于生物芯片技术通过微加工工艺在厘米见方的芯片上集成有成千上万个与生命相关的信息分子，它可以对食品中的各种污染物的生物化学反应过程进行集成，从而实现对食品安全的高效快捷的测试和分析。

表 1-1 检测 *E. coli* O₁₅₇ 不同方法的比较

公司	产品	技术	定量	培养时间/h	得出结果时间/h	检测限/(CFU/25g)	I/D/M	每个测试价格/美元	仪器价格/美元	多病原菌测试
3M	Petrifilm™	琼脂培养基	✓	48	48.2	1	M	10.58		✓
BioMerieux	VIDUS®	自动 ELISA	×	24	25	1	I/D/M	8	36000	✓
BioControl	VIP®	Lateral Flow	×	18	18.2	1	D	8.5		✓
Neogen	REVEAL®	Lateral Flow	×	8	8.4	1	D/M	7.3		✓
Organon Tecknika	EHEC-Tek®	ELISA	×	30	32		D	11.82		×
Qualicon	BAX®	PCR	×	24	28	1	I/D	8.5	35000	✓
Umedik, Inc	FAST-Q® System	生物芯片	✓	8	8.3	1	I/D/M	7.5	4500	✓

注：I=Instrument, D=Device, M=Media。

资料来源：Umedik, Inc 公司

在对新的生物技术产品的检测方面，美国、加拿大、德国、爱尔兰、葡萄牙、日本、韩国等国家在转基因产品检测上建立了快速方法，有些被定为国家标准方法：2002 年 FAO WHO 食品法典委员会政府间工作组在日本召开了分析方法工作组第七次会议，提交了检测转基因大豆、玉米的 PCR 方法和 ELISA 方法。转基因产品的 PCR 方法、ELISA 方法和红外光谱仪法比较见表 1-2。虽然目前蛋白芯片、基因芯片和红外光谱仪等技术只能检测原

料，但它们同样是转基因食品检测的发展方向，在快速定量检测上生物芯片技术具有非常大的优势。

表 1-2 转基因产品检测方法比较

项 目	PCR 法	ELISA 法	红外检测法
检测目的物	核酸(DNA, mRNA)	蛋白质	分子化学结构与空间结构
定量	✓	✓	×
检测对象	原料、食品、饲料	原料	原料
检测费用	很高	高	较高
检测时间	48h	24h	1h
仪器价格	高	一般	较高

目前我国食品安全管理体系中无论是在判定技术标准，还是检测技术方面都不同程度地相对滞后，很多方法缺乏国家级权威检测标准。加入世界贸易组织后，严格的技术标准要求构成了我国食品（包括农产品及其深加工制品）新的技术壁垒，对我国食品出口造成了重大的影响。我国加入世贸组织后，仅就出口农产品遭退运就呈上升趋势。据欧洲经济委员会调查，非关税壁垒中 25% 以上的贸易障碍是由技术标准造成的。进口国通过提高技术要求设置技术壁垒。为应对国际挑战和保护消费者利益，先进准确的快速检测方法必须建立，包括 PCR 方法、ELISA 方法和生物芯片技术。

我国食品安全快速检测技术今后发展方向是：对食品安全的关键技术攻关，研究开发当前急需的食源性危害快速检测、监测、控制及评价技术。随着我国加入世界贸易组织后面临着食品安全性的严峻形势，迫切的任务是要与国际接轨，一方面用国际先进的快速检测手段完善食品安全体系，另一方面要迎头赶上，研制具有我国知识产权的先进检测设备和方法，用现代的检测技术装备我国的食品安全管理体系。

我国在农药残留、硝酸盐测定、微生物检测等方面取得了一定成绩，农药残留快速测定仪不断涌现，硝酸盐试纸的成功研制也使蔬菜中硝酸盐快速测定成为现实，国产微生物脱水合成检验培养基一直在微生物检测中发挥重要作用。但与国际先进快速方法相比还存在一定差距，如我国粮油食品卫生指标快速检验方法几乎为空白，生产过程在线快速检测仪器性能差、价格高，粮食收购环节快速检测仪器的质量、性能和价格还不能适应农业生产结构调整的需要。而在兽药残留、毒素残留和转基因分析技术上使用的还主要是国外的快速检测产品，如兽药残留试剂盒、亲和层析柱、DNA 提取试剂盒、PCR 反应试剂、DNA 聚合酶、荧光探针等绝大部分是使用国外进口试剂。因此，新世纪我国在加入 WTO 后，要与国际大趋势紧密联系，应该以食品安全战略代替传统的发展思路。我国对食品安全的关注和发展检验食品污染的新技术已提到日程。在国家“十五”科技攻关计划“食品安全关键技术研究”项目已列入“十五”国家科技攻关计划作为重大项目组织实施。其中涉及快速检测方法的研究内容主要包括：

(1) 获得具有我国自主知识产权的 β -兴奋剂、氯霉素和氨基甲酸酯农药、有机磷农药快速检测方法及其试剂盒研制；

(2) 建立用免疫细胞化学法、蛋白免疫印迹法 (western blotting) 对中枢神经系统中疯牛病病原的检测方法，建立检测高致病力禽流感病毒荧光 RT-PCR 方法，使检测时间缩短为 4h；

(3) 研制黄曲霉毒素 B₁、伏马菌素、河豚毒素的 ELISA 测定试剂盒。

(4) 建立沙门氏菌和出血性大肠埃希氏杆菌 O₁₅₇ : H₇ 的 DNA 指纹图谱鉴定技术, 准确诊断和快速溯源; 建立常见食物中毒致病菌的快速检测技术, 实验室诊断由 6 天缩短到 2 天。

但是, 这些内容还远远不能满足我国对食品安全检测的要求, 而且与国际水平相比也还有很多工作要做。

目前国际国内都在积极制定食品安全控制体系, 从食品原料、加工到消费过程都必须考虑质量和安全因素, 虽然对食品的采样检测和分析无法提供充分保护, 但食品安全的检测技术是保护食品安全保护消费者的重要手段, 特别是对产品的快速检测技术更加显得必需和重要。

第二章 检验技术基础知识

第一节 良好的实验室操作规范

1978年美国 FDA 为了确保其所辖产品的申报资料的安全性数据的性质和完整性，颁布了“非临床安全性研究管理规范”，对进行安全性和评价的实验机构在组织、人员、设施、仪器、设备和实验材料等方面提出法规，后逐步发展为目的通行的良好的实验室操作规范（good laboratory practice, GLP）。

本章节所叙述的良好的实验室操作规范是广义上的 GLP。由于快速检验是在较短的时间内完成对试样的定性和定量，有些是常规方法的改进、有些是新推出的快速方法、有些是在特定环境中采取的特殊方法。无论采取哪种快速检验方法都应该达到符合食品安全快速检测技术要求的、科学的食品检测实验室管理方法，符合或力争符合 GLP 的要求。

一、GLP 内容概要

良好的实验室操作规范的内容涉及食品安全快速检测实验室的组织、人员、设施、仪器、设备和实验材料等各个方面。其中，实验设施是基础，人员管理是关键，标准操作是重点，监督体制是保障。现将主要部分作用概述如下。

1. 实验设施

GLP 对实验设施均有非常详细而明确的要求，主要设施有测试各种安全指标的实验室设施、各种不同物品的存放供应设施及试剂配制处理、清洗消毒设施等。

2. 人员管理

具备 GLP 意识、了解和熟悉 GLP 的基本内容、全面掌握并严格执行 GLP 的要求，具有相应的专业及文化程度、严谨的科学作风的职业道德，这是对所有 GLP 人员的总要求。GLP 意识就是对人民健康对食品安全的高度责任感，并清楚地意识到自己的责任，在科学的、全面的、全过程的严格管理和监督下，自觉提供准确的、可信的实验数据、结果、结论和报告。

GLP 法规的人员组成包括三类：实验室负责人（又称课题负责人或研究指导者）、实验（研究）人员和质量保障部门的监督人员。

作为 GLP 实验室负责人应该既是高水平的科学家，又是一个富有实践经验的技术人员，此外还应具备一定的组织能力。实验室负责人应对所分析（研究）项目的技术实施及该分析（研究）的说明、分析、证明文件和结果报告全面负责。其主要任务有：制定实验方案或方案的修订；确保方案的实施；保证正确记录实验数据；核对所有实验数据包括意外事件观察的记录；保证遵循所采用的 GLP 法规；遵循 GLP 的最后说明；保证资料总结和按时归档。当实验室出现违反 GLP 规则的现象时，实验室负责人应保证在第三者客观、公正、严格的立场上，全过程监督检查 GLP 的贯彻执行，并了解和掌握存在和出现的问题，应采取或已采取的措施。

实验（研究）人员应具有实验研究的学科以及有关技术和方法、标准以及学术研究的进展等多方面的知识和水平，在分析专业领域内，不仅在理论的深度和广度上具有较高水平，而且对该专业（如食品化学、分析化学、微生物、生物技术、药物残留分析等）的实用技术

与方法（包括其参考技术与方法）、新进展有相当的跟踪了解。对于专题实验研究中涉及的疑难问题有提供信息、协助、指导解决的能力。

监督人员或称质量保证部门（quality assurance unit, QAU）人员，是贯彻执行 GLP 的关键，也是在实施 GLP 中最难做好的工作。应该选择精通 GLP 及有关实施细则、检查要求等的管理人员，虽然 QAU 人员不一定是专业技术专家，但他对安全评价、实验项目、内容、方法、技术要求、关键与薄弱环节、与之有关的人员、条件、程序等以及可能出现的问题有清晰的了解和分析能力，并能提出解决的方法和建议。更重要的是他必须具有良好的执法素质，坚持 GLP 原则和要求，严格、公正、正直、一丝不苟地进行研究全过程的监督检查。对发现的严重问题、影响数据报告的科学性和可信性的问题，能及时地合情合理地真诚地帮助和服务并保证及时解决。对不能解决、不可弥补的重大失误或出现虚假、伪造等严重违规问题，能坚持 GLP 原则，以人民健康安全为准则，不徇私情，向实验室负责人报告，并提出处理意见。

3. 标准操作

为了保证食品安全试验的准确性，GLP 要求试验操作、微生物培养管理、仪器设备的管理等都要有标准的操作规程（standard operation procedures, SOP），即对具体实验技术操作进行统一规范化，这对保证实验结果的准确性、可比性、真实性和可重复性尤为重要，是实施 GLP 的重点。

食品安全快速检验结果可受主客观多种因素的影响，为了尽量减少这种影响，防止“假阳性”或“假阴性”结果的出现，也为了便于“追因”检查，对安全性试验的每次具体操作必须统一操作规程，主要内容有：被检物及对照物的领取、标记、保管、处理、溶剂和混合抽样；设备及器材的维修管理；微生物菌种的保存，培养；试验的操作、测定、检查及分析；样本的取样及识别；数据资料的处理、保管及检索；可信性保证业务；从保证试验的可信性出发，从事试验者的健康管理有关事项等。以上都应制定出相应的 SOP，使每个工作人员都有章可循，有错可查，方便他人的考核和监督。

可见，制定并严格执行 SOP 对安全性评价工作极为重要，它不仅使试验井井有条地进行，更是保证高质量完成试验的不可缺少的措施，可以说它是安全性评价机构内部的法规性文件。

SOP 的制定必须合理可行，疏密适度，经过准备确实可以操作。过于专门化的 SOP 有可能存在局限性，而需经常修改；若过于笼统，则可能对实验人员没有指导意义，其详细程度主要取决于实验人员受教育程度。

4. 监督体制

质量保证部门（quality assurance unit, QAU），指负责保证安全检测工作机构的各项检验（研究）工作符合 GLP 规定要求的机构。QAU 是不直接参加实验（研究）的独立部门，一般由专职人员组成，其职责是监控每次试验，保证仪器设备、人员素质、测试方法、观察记录、SOP 执行和最终总结报告以及归档与管理均符合 GLP 法规要求。QAU 既要及时报告发现的任何问题，又要定期递交有关实验室管理的详尽记录，其中列出发现的难题、推荐并采纳的措施及检查计划，还包括实验设备和方法上的管理和监督。

QAU 的任务主要有：（1）制定全部研究的总时间表并按测试项目编制索引，包括测试系统、实验项目、实验日期、每项实验的近况、有关负责人姓名和项目负责人姓名；（2）保存 QAU 负责的有关工作协议书副本；（3）定期检查各项实验工作的完整性，并保留每项同

期检查后写成的经严格签字的记录，这些记录应该表明检查日期、检查项目、受检查的工作阶段情况或部分工作及执行检查的人员、检查结果与问题、解决存在问题的推荐措施或已采用的办法、再次检查的日期表，如果发现有可能影响工作完整性的任何问题都应立即提请项目负责人和管理部门注意；（4）定期向管理部门和项目负责人递交每次研究的情况报告，指出问题以及采取的纠正措施；（5）按照适当认可和证明材料来确定工作是否偏离协议书和 SOP 要求；（6）符合最终实验报告以保证准确地说明了所用方法和 SOP 且报告结果准确地反映了原始数据；（7）准备并签署在最终实验报告中一份文件，规定审查日期和向管理部门报告的日期；（8）审查负责人对 GLP 工作所做说明的正确性；（9）审查实验室设备。

二、GLP 的特点

1. GLP 能使实验工作有章可循、严密有序、相互衔接、紧密配合，保证实验数据和结论的科学性、可信性和重复性。

2. 标准操作规程是安全检测机构建设的重要组成部分，是保持实验过程有机联系、工作有序的运行规范，是安全检测机构内部的法规性文件。

3. 强调软硬件结合，硬件需要领导重视和一定力度的经济投入，而软件则依靠科学管理和人员的素质，尤其强调软件的执行管理。

4. GLP 可操作性强，简单明确，便于理解和掌握。

第二节 检验技术基本原则和要求

在检验工作中，特别是本书所要求的快速检测技术，必须遵循一个总的原则，即质量、安全、快速、可操作和经济的原则。

一、基本原则

1. 质量原则

该原则要求食品安全快速检测检验技术保证检测质量，方法成熟、稳定，具有较高的精密度、准确度和良好的选择性，从而确保实验数据和结论的科学性、可信性和重复性。

2. 安全原则

该原则要求食品安全快速检测检验技术所使用的方法不应应对操作人员造成危害及环境污染或形成安全隐患。

3. 快速原则

食品安全快速检测的检验对象多为现场检验或大量样品的筛选，这就要求食品安全快速检测技术所使用的检验方法反应速度快，检测效率高。

4. 可操作原则

由于使用食品安全快速检测检验技术的人员是基层质检部门的技术人员，因此食品安全快速检测检验技术所选用的方法其原理可以复杂，但操作必须简单明确，具有基本专业基础的人员经过短期培训都可以理解和掌握。

5. 经济原则

该原则要求食品安全快速检测方法所要求的条件易于达到，以便方法的推广普及。

二、检测技术操作的一般要求

检测技术操作的一般要求规定如下。

1. 检验方法中所采用的名词及单位制，均应该符合国家规定的标准要求

2. 检验方法中所使用试剂均为分析纯，所使用水为纯度能满足分析要求的蒸馏水或软

化水或其他相当纯度的水，除非特别声明。

3. 检验中所用计量器具必须按国家规定及规程计量和校正。

4. 称量取精度要求用数值的有效数位表示。其中准确称取系指用精密天平进行的称量操作，其精度为 $\pm 0.0001\text{g}$ ；吸取系指用移液管、刻度吸量管取液体物质的操作。

5. 检验有关要求

(1) 检验时必须做空白试验。空白试验是指除不加样品外，采用完全相同的分析步骤、试剂和用量，进行平行操作所得的结果。用于扣除样品中试剂本底和计算检验方法的检出限。

(2) 检验时必须做平行试验。

6. 检验方法的选择

同一检验项目，如有两个或两个以上检验方法时，可根据不同条件选择使用。但必须以国家标准（GB）方法的第一法为仲裁方法。

7. 采样必须注意样品的生产日期、批号、代表性和均匀性。采集的数量应能反映该食品的卫生质量和满足检验项目对样品量的需要。

8. 一般样品在检验结束后，应保留 1 个月，以备需要时复查。保留期限从检验报告单签发日起计算。易变质食品不宜保留。保留样应加封存放在适当地方，并尽可能保持其原状。

第三节 样本采集与保存

一、基本概念

采样（又称取样、抽样）就是从原料或产品的总体（通常是一批食品）中抽取一部分样本，通过分析一个或数个样本，对整批食品的质量进行估计。

根据样本的性质可分为原始样本和平均样本。

原始样本：根据待检食品的性质，按相应规则从待测食品的各个部位采集少量的小样，混合在一起即是该批食品的原始样本。

平均样本：将原始样本混合均匀按四分法平均地分出一部分作为全面检验用的样本。

根据样本的作用可分为试验样本、复检样本和保留样本。

试验样本：由平均样本中分出用于全部项目检验用的样本。

复检样本：对检验结果有怀疑有争议或分歧时可根据具体情况进行复检，故必须有复检样本。

保留样本：对某些样本需封存保留一段时间，以备再次验证。

原始样本通常数量较大，需要采用一定的方式进行取舍，即四分法。具体做法是将采得的原始样本置于一大而洁净的平面上，用洁净器具充分搅拌均匀后堆成一圆锥形，将锥顶压平，使厚度为 3cm 左右，然后等分四份，弃去对角两份，将剩下的两份按上法再进行混合，分四份，重复上述操作直至剩余量为所需的样本量为止。

二、采样基本程序

采样基本程序见图 2-1。

三、采样的原则

1. 代表性原则

食品因加工批号，原料情况（来源、种类、地区、季节等），加工方法，运输、贮藏条件，销售中的各个环节（如有无防蝇、防蟑螂、防鼠等设备）及销售人员的责任心和卫生知

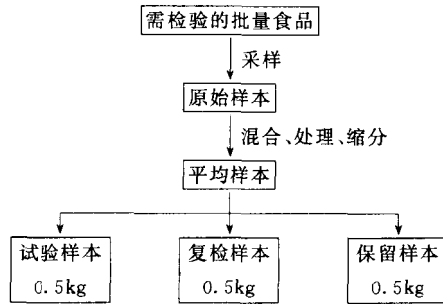


图 2-1 采样基本程序

识水平等都对食品卫生质量有着重要影响。在采样时必须考虑这些因素，使所采的样本能真正反映被采样的总体水平，也就是通过对具代表性样本的监测能客观推测食品的质量。

2. 典型性原则

采集能充分说明达到监测目的的典型样本，包括以下几种样本。

(1) 污染或怀疑污染的样本 应采集接近污染源的食品或易受污染的那一部分，以证明是否被污染。同时还应采集确实被污染的同种食品作一空白对照试验。

(2) 中毒或怀疑中毒的食品 这类样本种类较多，有呕吐物、排泄物、血液、脏器、胃肠及内容物、中毒者吃剩下的食物、药物和其他有关物质。应根据中毒症状、可疑中毒物性质采集可能含毒量最多的样本，中毒者吃剩下的食物、餐具（未洗刷）、药品是最好的检材。

(3) 掺假或怀疑掺假的食品 应采集有问题的典型样本，以证明是否掺假，而不能用均匀样本代表。

3. 适时性原则

因为不少被检物质总是随时间发生变化的，为了保证得到正确结论就必须很快送检。如发生食物中毒应立即赶到现场及时采样，否则不易采得中毒食品，在临床上也往往要等检出的毒物，以便采用有针对性的解救药物，进行抢救。因此采样和送检的时间性是很重要的。

4. 适量性原则

(1) 采样数量应根据检验项目和目的而定，但每份样本不少于检验需要量的三倍，以便供检验、复检和留样备用。供理化检验样本，一般每份样本不少于 0.5kg，液体、半液体食品每份样本量为 0.5~1L，250g 以下包装者不少于 6 包。可以根据检验项目和样本的具体情况适当增加或减少。微生物学检验，按国家有关规定进行。

(2) 对食品卫生检查，通常有包装的，在 100 包以下按 10% 抽样，100 包以上按批号采样不少于 12 个包装，不多余 36 个包装。从 12~36 个包装内取所需样本份数不得少于 3 份，每份样本由 3~4 个包装内采取的样本混合而成。

(3) 作为食品卫生专题调查或制定食品卫生标准或定期监测项目的样本，应按照各项工作所定的样本计划进行。

(4) 对已被污染的食品，应先从感官上分重、中、轻三种污染情况，从各类中采样。可根据污染食品的多少，各类取 1~3 份样本，分别进行检验。

5. 程序原则

采样、送检、留样和出具报告均按规定的程序进行，各阶段都要有完整的手续，责任分明。

四、采样方法

1. 常规采样方法

(1) 散装食品

液体、半液体食品采样 以一池或一缸为一采样单位，即每一池或一缸采一份样本，采样前先检查样本的感官性状，然后将样本搅拌均匀后采样。如果池或缸太大，搅拌均匀有困难，可按池或缸的高度等距离分为上、中、下三层，在各层的四角和中间各取等量样本混合后，再取检验所需样本。对流动的液体样本，可定时定量，从输出口取样后混合留取检验所需的样本。

固体食品采样 对数量大的散装食品如粮食和油料，可按堆形和面积大小采用分区设点，或按粮堆高度采用分层采样。分区设点，每区面积不超过 50m^2 ，各设中心四角共五点；区数在两个以上的两区界线上的两个点为共有点。例如，两个区设 8 个点，三个区设 11 个点，依此类推。粮堆边缘的点设在距边缘 50cm 处。

采样点定好后，先上后下用金属探管逐层采样，各点采样数量一致。从各点采出的样本要做感官检查，感官性状基本一致，可以混合成一个样本。如果感官性状显然不同，则不要混合，要分别盛装。

(2) 大包装食品

液体、半液体食品采样 大包装样本一般用铁桶或塑料桶，容器不透明，很难看清楚容器内物质的实际情况。采样前，应先将容器盖子打开，用采样管直通容器底部，将液体吸出，置于透明的玻璃容器内，作现场感官检查。检查液体是否均一，有无杂质和异味，将检查结果记录，然后将这些液体充分搅拌均匀，用长柄勺或采样管，装入样本容器内。

颗粒或粉末状的固体采样 如大批量的粮食、油料和白砂糖等食品，堆积较高、数量较大时，应将其分为上、中、下层，从各层分别用金属探子或金属采样管采样。一般粉末状食品用金属探管（为防止采样时受到污染，可用双层套采样器采样）；颗粒性食品用锥形金属探子采样；特大颗粒的袋装食品如蚕豆、花生果、薯片等，要将口袋缝线拆开，用采样铲采样。每层采样数量一致，要从不同方位，选取等量的袋数，每袋插入的次数一致。感官性状相同的混合成一份样本，感官性状不同的要分别盛装。

(3) 小包装食品

各种小包装食品（指每包 500g 以下），均可按照每一生产班次，或同一批号的产品，随机抽取原包装食品 2~4 包。

(4) 其他食品

肉类 在同质的一批肉中，可以四角或中间设采样点，每点从上、中、下三层均匀采取可食部分的若干小块，混合为一个样本。如品质不同，可将肉品分类后再分别取样。有时也可按分析项目的要求重点采取某一部位，如检查旋毛虫要取肌基部的肌肉。

鱼类 经感官检查质量相同的鱼堆在四角和中间分别采样，尽量从上、中、下三层各抽取有代表性的鱼样。个别大鱼和海兽，只能割取其局部作为样本。一般鱼类，都采集完整的个体，大鱼（0.5kg 左右）三条作为一份样本，小鱼（虾）可取混合样本，每份 0.5kg。

冰蛋（冰全蛋、巴氏消毒冰全蛋、冰蛋黄、冰蛋白）按生产批号，在生产过程装罐时流动取样，以每四小时生产数量为单位，每半小时取样一次，每次 50g，留入已灭菌的玻璃瓶中混合后送检。已制成冰蛋的，则要用已灭菌的钻头取样，按无菌操作程序进行，取样量不少于 0.5kg。

烧烤熟肉（猪、鹅、鸭）检查表面污染情况，采样方法可用表面揩抹法。

大块熟肉采样，可在肉块四周外表均匀选择几个点，用经高压消毒的板 5cm^2 的金属

制规板，压在所选点的位置上，再用经生理盐水湿润的灭菌棉球拭子，在规板范围内揩抹 10 次，然后，移往另一点做同样揩抹。每个规板只压一个点，每支棉拭揩抹两个点。一般大块熟肉共揩抹 50cm^2 （即 10 个规板板孔，5 支棉拭），每支棉拭揩两个点立即剪断或烧断（剪子要经酒精灯燃烧灭菌）投入盛有 50mL 灭菌生理盐水的三角瓶或大试管中送检验室。

烧烤鹅（鸭），一只为一个样本，以胸、腹、背、头、肛门为采样部位，用经灭菌板孔为 5cm^2 的金属规板和灭菌棉拭子，在胸腹部左右各揩抹 10cm^2 ，在背部左右各揩抹 10cm^2 ，在头、肛门各揩抹 5cm^2 ，共揩抹 50cm^2 ，操作规程与大肉块相同。

对烧熟肉，如需作其他理化指标检查，可以每只（或一大块肉）为一单位，采取有代表性的若干小块 500g 为一份样本，放入广口玻璃瓶中送检。

冷饮（冰棍、冰淇淋等）用灭菌小刀将木棍切断，将冰棍置入灭菌广口玻璃瓶中小包装的冰淇淋应先将包装盒盖打开，用灭菌小匙将包装内的冰淇淋装入灭菌广口玻璃瓶内，每三包为一个样本。无包装或大包装冰淇淋，用灭菌小匙取样 250g 以上装入灭菌广口玻璃瓶内送检。

⑥ 食具采样 选取大食具 2 只，中食具 5 只，小食具 10 只，筷子 3 根，作为一份样本，食具用滤纸贴附法采样，筷子用洗脱法采样。

a. 滤纸剪成 $2\text{cm} \times 2.5\text{cm}$ 小片（每张 5cm^2 ）及 1cm^2 小片，先用灭菌生理盐水湿润滤纸，贴在食具内壁，然后依次取下，放入盛有 51mL 灭菌生理盐水的大试管或三角瓶中，每份食具贴 51cm^2 。将采样的 1mL 作细菌总数测定，50mL 作大肠菌群测定。

餐饮具的安全卫生检测也可直接采用“餐饮具大肠菌群检测纸片法”检测。

b. 筷子用洗脱法采样，在大试管（30mm 口径）里装 50mL 生理盐水，将筷子进口一端浸洗轻摇约 20 次取出送检。

2. 微生物检验无菌采样方法

(1) 采样用具、容器灭菌方法

玻璃吸管、长柄勺、长柄匙，要单个用纸包好或用布袋包好，经高压灭菌。

盛装样本的容器要预先贴好标签，编号后单个用纸包好，经高压灭菌消毒，密闭、干燥。

采样用棉拭子、规板、生理盐水、滤纸等，均要分别用纸包好，经高压灭菌消毒备用。

镊子、剪子、小刀等用具，用前在酒精灯上用火焰消毒。

消毒好的用具要妥善保管，防止污染。

(2) 无菌操作步骤

采样前，操作人员先用 75% 酒精棉球消毒手，再用 75% 酒精棉球将采样开口处周围抹擦消毒，然后将容器打开。

固体、半固体、粉末状样本，可用灭菌小勺或小匙采样，液体样本用玻璃吸管采样，样本取出后，将其装入样本容器，样本容器在酒精灯上用火焰消毒后加盖密封。

散装液体样本采样前，应先用玻璃管搅拌均匀或摇匀，有活塞的用 75% 酒精棉球将采样开口处周围抹擦消毒，然后打开活塞，先将内容物倒出一些后，再用灭菌样本瓶取样本，在酒精灯火焰上端高温区封口。

生产用具、设备、食具采样，可用经灭菌的小刀，把表面干燥的污物刮下装入干燥的灭菌容器中送检；用具、食具表面检查，可用灭菌棉拭子沾湿灭菌生理盐水抹擦表面，将