

第一章 绪论

第一节 食品安全性的概念

安全性一词是基于损害的危险性的反义词而使用的，常被解释为无风险性和无损伤性。1984年世界卫生组织（WHO）将食品安全性定义为：“生产、加工、储存、分配和制作食品过程中确保食品安全可靠，有益于健康并且适合人们消费的种种必要条件和措施”。其中把“食品安全”认为是“食品卫生”的同义语。1996年WHO将食品安全性定义为“对食品按其原定用途进行制作和食用时不会使消费者受害的一种担保”，食品卫生则被解释为“确保食品安全性和适用性在食物链的所有阶段必须采取的一切条件和措施”，在此把食品安全性与食品卫生作为两个概念加以区别。

目前对食品安全性的解释是“在规定的使用方式和用量的条件下长期食用，对食用者不产生不良反应的实际把握”。不良反应包括由于偶然摄入所导致的急性毒性和长期微量摄入所导致的慢性毒性，例如致癌性和致畸性等。随着毒理学、免疫学、分子生物学和超微量分析等学科研究手段的提高，有些曾被认为是绝对安全、无污染的食品，后来又发现其中含有某些有毒有害物质，长期食用可导致消费者慢性毒害或危及其后代健康；而许多被宣布为有毒的化学物质，实际上在环境和食品中都被发现以极微量的形式广泛存在，并在一定含量范围内对人体健康是有益的。

美国学者 Jones 曾建议把食品的安全性分为绝对安全性和相对安全性两个不同的概念。绝对安全性是指不会因为食用某一食品而发生危及健康或造成伤害，即食品绝对没有风险或称零风险。实际上绝对安全性是很难达到的。食品的相对安全性是指一种食物或食物成分在合理食用和正常食用量情况下不会导致对健康的损害。任何食物或食物成分，尽管对人体有益或其毒性极低，但如食用过量或食用方法不当，都可能危及健康，造成危害，如食盐摄入过量会中毒，过量饮酒会伤及身体，偏食能使某些物质在体内积贮产生毒害，这是人们所共知的。另外食品本身含有的天然毒素以及生产过程中人为施加的农药、化肥、兽药、添加剂等也增加了食品的风险。某些食品的安全性又因人而异，如鱼、蟹、蛋、乳等对大多数人是营养丰富、美味可口的食物，而对少数有过敏症的人来说可能又会产生毒性反应，带来危险。由此可见，一种食品是否安全不仅取决于外来不良因素的影响，食品本身、食品加工方法以及食用方式、数量等是否合理得当，还取决于食用者的自身情况。对食品绝对安全性与相对安全性的区分，反映了消费者与生产者和管理者两个侧面在食品安全性认识角度上的差异。前者要求后者提供没有风险的食品，而把近年发生的不安全食品归因于生产、技术和管理的不足。而后者则从食品组成及食品科技的现实出发，认为食品安全性并不是零风险，而是应在提供最丰富的营养和最佳品质的同时，力求把风险降低到最低限度。这两种不同的认识，既是对立的，又是统一的，是人类从需要与可能、现实与长远的不同侧面对食品安全性认识逐渐发展与深化的表现。

食品安全性与毒性以及相应的风险概念是分不开的。毒性是指物质在任何条件下对有机体产生急性或慢性损害或伤害的一种能力。评价一种食品是否安全，并不是根据其内在的固

有毒性，而是看其是否造成实际的伤害。事实上，随着分析技术的进步，已发现越来越多的食品，特别是天然食品中含有多种微量的有毒成分，但这些有毒成分并不一定会造成危害。一般来说含量水平对毒性有重要意义，但对致癌物而言，不管是高剂量、短时期暴露，还是低剂量、长时期的暴露都会发生基因突变、致癌，与致癌物含量水平无关。风险可解释为人所不希望的事件发生的概率或机会多少。食品生产、加工、储存、销售过程中使用食品添加剂及其他化学品等，可能为食品带来一定的风险，但不用这些化学品又会使别的风险加大，如病虫害蔓延，食品质量下降，价格上涨等。因此对食品中可能含有的危害因素只有从风险与获益两个方面充分的认识与理解，做出正确的风险评价，并采用相应的措施控制风险等，才是确保食品安全的关键。

第二节 影响食品安全性的因素

随着新的食品资源的不断开发，食品品种的不断增多、生产规模的扩大，加工、贮藏、运输等环节的增多，消费方式的多样化，使人类食物链变得更为复杂。食品中诸多不安全因素可能存在于食物链的各个环节，主要表现在以下几个方面。

微生物、寄生虫等生物污染。

环境污染。

农用、兽用化学物质的残留。如化肥、农药、兽药等。

自然界存在的天然毒素。

营养素不平衡。

⑥ 食品加工和贮藏过程中产生的毒素。

⑦ 食品添加剂的使用。

⑧ 食品掺伪。

⑨ 新开发的食品资源及新工艺产品。

⑩ 包装材料。

⑪ 过量饮酒。

⑫ 其他。

一、微生物、寄生虫、生物毒素等生物污染

在整个生产、流通和消费过程中，都可能因管理不善而使病原菌、寄生虫滋生及生物毒素进入人类食物链中。微生物及其毒素导致的传染病流行，是多年来危害人类健康的顽症。据世界卫生组织公布的资料，在过去的 20 多年间，在世界范围内新出现的传染病已得到确认的有 30 余种。此外，我国海域辽阔，海洋中寄生吸虫及其他寄生虫种类繁多，这些自然疫源性寄生虫一旦侵入人体，不仅能造成危害，甚至可导致死亡。人类历史上一些猖獗一时的传染性疾病如结核病、脑膜炎等，在医药卫生及生活条件改善的情况下，已得到一定程度的控制。但现实证明人类在与病原微生物较量中的每一次胜利，都远非一劳永逸，一些曾得到有效控制的结核病如今在一定范围内又有蔓延的趋势。由霍乱导致的饮水和环境卫生恶化又开始出现。登革热、鼠疫、脑膜炎等也在世界一些国家或地区接连发生。一种能引起肠道出血的大肠杆菌在欧、美、日本、香港等地先后多次危害人类，在世界上引起了很大的震动。微生物和寄生虫污染是造成食品不安全的主要因素，也始终是各国行政部门和社会各界努力控制的重中之重。

二、环境污染

环境污染物在食品中的存在，有其自然背景和人类活动影响两方面的原因。其中，无机污染物如汞、镉、铅等重金属及一些放射性物质，在一定程度上受食品产地的地质地理条件所影响，但是更为普遍的污染源则主要是工业、采矿、能源、交通、城市排污及农业生产等带来的，通过环境及食物链而危及人类健康。有机污染物中的二噁英、多环芳烃、多氯联苯等工业化合物及副产物，都具有可在环境和食物链中富集、毒性强等特点，对食品安全性威胁极大。在人类环境持续恶化的情况下，食品中的环境污染物可能有增无减，必须采取更有效的对策加强治理。核试验、核爆炸、核泄漏及辐射等能使食品受到放射性核素污染，对食品安全性造成威胁。前苏联发生的切尔诺贝利核泄漏事故，使几乎整个欧洲都受到核沉降的危害。首当其冲的是牛羊等草食动物，欧洲许多国家当时生产的牛乳、肉、动物肝脏中，都因为发现有超量的¹³¹I、¹³⁷Cs、¹¹⁰Ag等放射性核素而被废弃。日本牛乳中所含的¹³¹I也超出正常值的4~5倍量。

三、营养不平衡

营养不平衡就其涉及人群之多和范围之广而言，在当代食品安全性问题中已居于发达国家的首位。因过多摄入能量、脂肪、蛋白、糖、盐和低摄入膳食纤维、某些矿物质和维生素等，使近年来患高血压、冠心病、肥胖症、糖尿病、癌症等慢性病的病人显著增多。这说明食品供应充足，不注意饮食平衡，同样会给人类健康带来损害。我国学者萧家捷曾提出，即使就缺钙这一世界性问题而言，补钙也并非越多越好。人类要保持健康，所需的任何营养素都有适当的限量，而且还要求各种营养素之间保持平衡。

四、农药与兽药残留

农药、兽药、饲料添加剂对食品安全性产生的影响，已成为近年来人们关注的焦点。在美国，由于消费者的强烈反应，35种有潜在致癌性的农药已列入禁用的行列。我国有机氯农药虽于1983年已停止生产和使用，但由于有机氯农药化学性质稳定，不易降解，在食物链、环境和人体中可长期残留，目前在许多食品中仍有较高的检出量。随之代替的有机磷类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类等农药，虽然残留期短、用量少、易于降解，但农业生产中滥用农药，导致害虫抗药性的增强，这又使人们加大了农药的用量，并采用多种农药交替使用的方式，进行农业生产。这样的恶性循环，对食品安全性以及人类健康构成了很大的威胁。

为预防和治疗家畜、家禽、鱼类等的疾病，促进生长，大量投入抗生素、磺胺类和激素等药物，造成了动物性食品中的药物残留，尤其在饲养后期、宰杀前施用，药物残留更为严重。一些研究者认为，动物性食品中的某些致病菌如大肠杆菌等，可能由于滥用抗生素造成该菌抗药性提高从而可形成新的抗药菌株。将抗生素作为饲料添加剂，虽有显著的增产防病作用，但却导致了这些抗生素对人类的医疗效果越来越差。尽管世界卫生组织呼吁减少用于农业的抗生素种类和数量，但由于兽药产品给畜牧业和医药工业可带来的丰厚经济效益，要把兽药纳入合理使用轨道远非易事，因此，兽药的残留是目前及未来影响食品安全性的重要因素。

五、食品添加剂

为了有助于加工、包装、运输、贮藏过程中保持食品的营养成分，增强食品的感官性状，适当使用一些食品添加剂是必要的。但要求使用量控制在最低有效量的水平。否则会给食品带来毒性，影响食品的安全性，危害人体健康。食品添加剂对人体的毒性概

括起来有致癌性、致畸性和致突变性。这些毒性的共同特点是要经历较长时间才能显露出来，即可对人体产生潜在的毒害。如动物试验表明甜精（乙氧基苯脲）能引起肝癌、肝肿瘤、尿道结石等。大量摄入苯甲酸能导致肝、胃严重病变，甚至死亡。目前在食品加工中广泛存在着滥用食品添加剂的现象，如使用量过多、使用不当或使用禁用添加剂等。另外，食品添加剂还具有积贮和叠加毒性，本身含有的杂质和在体内进行代谢转化后形成的产物等，也给食品添加剂带来了很大的安全性问题。

六、食品加工、贮藏和包装过程

食品烹饪过程中因高温而产生的多环芳烃、杂环胺都是毒性极强的致癌物质。食品加工过程中使用的机械管道、锅、白铁管、塑料管、橡胶管、铝制容器及各种包装材料等，也有可能将有毒物质带入食品，如单体苯乙烯可从聚苯乙烯塑料包装进入食品；当采用陶瓷器皿盛放酸性食品时，其表面釉料中所含的铅、镉和锑等盐能溶解出来；用荧光增白剂处理的纸作包装材料，纸上残留有毒的胺类化合物易污染食品；不锈钢器皿存放酸性食品时间较长溶出的镍、铬等也可污染食物。即便使用无污染的食品原料，加工的食品并不一定都是安全的。因为很多动物、植物和微生物体内存在着天然毒素，如蛋白抑制剂、生物碱、氰苷、有毒蛋白和肽等，其中有一些是致癌物或可转变为致癌物。另外，食品贮藏过程产生的过氧化物、龙葵素和醛、酮类化合物等，也给食品带来了很大的安全性问题。

七、新型食品和其他

随着生物技术的发展，转基因食品陆续出现，如转基因大豆、番茄、玉米、马铃薯等。它们具有产量高、富于营养、抗病虫害，在不利气候条件下可获得好收成等优点，具有良好的发展前景。但转基因食品携带的抗生素基因有可能使动物与人的肠道病原微生物产生耐药性；抗昆虫农作物体内的蛋白酶活性抑制剂和残留的抗昆虫内毒素，可能对人体健康有害；随着基因改造的抗除草剂农作物的推广，可能会造成除草剂用量增加，导致食品中除草剂残留量加大，危害食用者的健康。欧洲一些国家规定，基因工程食品应在食品标签上注明。这一点也反映了人类对基因工程食品的安全性问题至今还了解不够，其安全性问题还需要进一步研究确证。

辐照食品在杀灭食品中的有害微生物和寄生虫，延长食品的保藏时间，并提供不经高温处理即可保持食品新鲜状态等方面发挥了很大的作用。目前对辐照食品的安全性研究结果认为，在规定剂量的条件下，基本上不存在安全性问题。但剂量过大的放射线照射食品可造成致癌物、诱变物及其他有害物质的生成，并使食品营养成分被破坏，伤残微生物产生耐放射性等，可对人类健康产生新的危害，这方面的安全性应引起关注。

保健食品是具有某些特定功能的食品。它们既不是药品也不是一般食品，对其食用有特定的针对性，只适宜于某些人群。随意或盲目食用对自身无益的药膳或保健食品，可能会带来不良后果。

此外，假冒伪劣食品、过量饮酒、不良的饮食习惯等对人体健康的危害是有目共睹的。

综上所述，食品不安全因素可能产生于人类食物链的不同环节。其中的某些有害物质或成分，特别是人工合成的化学品，可因生物富集作用而使处在食物链顶端的人类受到高浓度毒物危害。研究和认识处在人类食物链不同环节的不安全因素及其可能引发的饮食风险，掌握其发生发展的规律，是有效控制食品风险，提高食品安全性的前提和基础。

第三节 食品安全性的研究方法

为了预测食品在食用之前是否存在某些风险，确保食品安全和人体健康，就需要采取一些有效的方法研究食品的安全性，为进一步对食品进行安全性评价提供理论依据和技术保障。利用一些相关的理论和技术对影响食品安全性的因素进行定性、定量分析，确定毒性大小和对机体可能产生的危害，并通过必要的统计学方法对研究数据进行处理，以评价其安全程度。

在制定有关食品安全性研究的指标时，必须对食品原料及其来源、食品加工过程的各个环节进行严格的调查分析，同时还要对食品及其原辅料等的污染程度进行实验室检测鉴定。如需确定食品中某种有害物的新的限量指标时，一般应按以下程序进行安全性评价和指标研制：① 通过化学分析法确定该物质的理化特性；② 应用生物医学方法，对该物质进行动物毒理学安全性评价；或者在动物试验的基础上，应用流行病学方法，直接了解该物质对人群健康的影响；③ 整理和评估前述资料，确定该物质的每日容许摄入量（acceptable daily intake, ADI）；④ 检测和分析该物质在各种可能受污染的食品中的实际含量，必要时，还对食品生产加工食品原料的种植（养殖）中的污染源进行调查；⑤ 采用膳食调查方法，评估人通过食品对该物质的日摄入量，并将其与 ADI 值相比较。⑥ 最后，确定食品中该物质的最高容许量或残留量，即制定出食品中该物质的限量指标。评价时，可采用和参考我国食物中毒或食源性疾病的流行病学调查资料、毒理学安全性评价结果等，还应参照国际上权威的评价结论，如，FAO/WHO 食品添加剂与污染物联合专家委员会（JECFA）、FAO/WHO 农药残留联合专家小组认可的各种毒理学评价结果、暴露评估结论、ADI 值等。

涉及的研究方法主要有食品化学、食品分析、生物化学、分子生物学、微生物学、免疫学、遗传学、病理学、毒理学、生物统计学等。我国在食品安全性评价中，1994年由卫生部颁布了《食品安全性毒理学评价程序和方法》标准（GB 15193.1—1994）。其中毒理学研究在食品安全性评价中占有主导地位。

毒理学的任务就是通过选用实验动物作为中毒模型，来研究外源性化学物与机体的相互作用，以及对机体的各种可能影响，并进一步外推至人，做出安全评价。通过全面分析动物实验所得出的资料，综合评价在实际生产环境中，外源性化学物质对人群可能造成的危害，为制订包括卫生标准在内的各种预防措施提供实验依据。

毒理学研究方法包括体外试验和整体实验两种基本类型。

体外试验根据选用的指示生物可分为微生物体外试验和哺乳动物体外试验。微生物体外试验在外源性化学物诱变性和致癌性的筛选方面具有特殊重要意义。哺乳动物体外试验研究可分几种不同的水平：① 器官水平。包括器官灌流和组织薄片培养两种方法。其优点是基本保持器官完整性，常用于毒物代谢的研究。② 细胞水平。细胞培养在毒理学研究中应用极广泛，所应用的细胞包括已建株的细胞系（株）和原代细胞。后者又可用不同的器官进行制备。细胞培养可用于外源性化学物毒性和致癌性的各种过筛试验及解毒药物筛选，同时，也可用来研究化合物的代谢和中毒机理的探讨。③ 亚细胞水平。随着差速离心技术的发展，亚细胞水平的体外试验在毒理学研究中的应用日趋广泛。特别是在研究中毒机理，毒物引起损伤的亚细胞定位以及化合物代谢方面有很重要意义。④ 分子水平。随着各种分析检测手段的提高，分子水平在毒理学研究中的应用也越来越广泛，对进一步研究毒物引起的毒性作用机理，尤其是在研究毒物的遗传毒性、慢性毒性方面具有重要意义。

体外试验的优点是简单、快速、经济，条件易于控制；缺点是体外试验与整体实验不同，缺乏神经-体液调节因素等的控制，不能全面反映整体状况下的生物学效应。

整体实验：在毒理学研究中，通常按染毒的持续时间不同而分为急性、亚急性、亚慢性及慢性毒性实验。但是，对于染毒期限和各阶段试验的具体内容和方法目前国际上仍在不断完善之中。

近年来，欧美毒理学界提出了减少或部分取代使用实验动物的“替代试验方法”。是使用微生物、细胞、组织、基因动物（包括虚拟的数据库）等来预测外来化学物对人的毒性。但还存在着如何外推至人的问题。

当前的发展趋势是重视研究外源化学物更早发生的、在小剂量作用下、分子/基因方面改变的机制。从研究机制出发来改进现行毒理学试验方法，根据毒性作用机制来进行安全性毒理学评价，逐步建立起国际通用的“替代试验方法”与评价标准。

下面就安全性毒理学评价中所涉及的部分试验指标的检测方法做一简要介绍：

一、彗星试验

小鼠精子彗星试验，又称单个细胞凝胶电泳试验，是检测雄性生殖细胞遗传毒性的一种方法。该方法的优点是测试完整细胞 DNA 链断裂，简便又快速。其原理和方法如下。

细胞在体内或体外试验中受化学物作用后，DNA 链发生断裂。将细胞制成单个细胞悬液。在载玻片上制备加有受检细胞混悬液的凝胶，在碱性条件下使细胞裂解，DNA 解旋后进行电泳。带负电荷的 DNA 断裂端由阴极向阳极迁移。DNA 经 EB 染色后在荧光显微镜下可观察到 DNA 受损的细胞核拖一条尾巴、呈彗星状，如 DNA 无损伤则见圆形的核。用图像自动分析仪可测定呈彗星状细胞的数量和比例及计算出受损的 DNA 量。手工操作可用目镜测微尺在荧光显微镜下测量细胞核的直径和彗星尾部的长度作为 DNA 损伤的评价指标。

二、细胞免疫功能的测定

1. 酸性 α -醋酸萘酯酶（ANAE）测定淋巴细胞中含有的各种酶类

不同的淋巴细胞亚群所含的酶类不同，其含量和酶谱均有不同。T 淋巴细胞成熟期可明显增加酸性 α -醋酸萘酯酶的活性。因此可用细胞化学反应法检测 ANAE，作为鉴别 T 淋巴细胞的一种方法。其原理是 T 淋巴细胞浆内的 ANAE，在弱酸性条件下能使底物 α -醋酸萘酯水解成醛酸和 α -萘酚。后者与六偶氮副品红偶联，生成不溶性的红色沉淀物，沉积在 T 淋巴细胞浆内酯酶所在的部位。经甲基绿复染，反应颗粒变暗而呈红黑色。在显微镜油镜下观察 ANAE 阳性的淋巴细胞呈灰或灰绿色，胞浆内有大小不等、数量不一、界限分明的红黑色颗粒或斑块。ANAE 阴性的淋巴细胞呈淡绿或棕黄色，无着色颗粒。每份标本至少计数 100~200 个淋巴细胞，求 ANAE 的阳性率。

2. 淋巴细胞转化实验

可采用外周血分离淋巴细胞培养法或微量全血培养法。其原理是将外周血或分离的白细细胞和植物血球凝集素（PHA）混合进行体外培养，数日后取培养细胞作涂片染色和镜检，可见大部分淋巴细胞转化为体积较大的原始淋巴母细胞，细胞核内生成核仁，并有部分细胞发生分裂的现象。由于 PHA 只激发 T 淋巴细胞转化，因此计数 200 个淋巴细胞，计算出转化细胞百分率，即得淋巴细胞转化率。T 淋巴细胞主要参与机体的细胞免疫，故淋巴细胞转化实验反映的是机体的细胞免疫功能状态。

3. CD4/CD8 比值的测定

T 细胞按其表面抗原及其在免疫应答中的功能可分为 CD4 和 CD8 两大亚群。在正常免

疫应答的情况下，T 细胞亚群之间存在着促进或制约的关系，即 CD4 和 CD8 的比值是稳定的。而当 CD4 和 CD8 之间的平衡遭到破坏时，就会表现出异常的免疫应答，如免疫缺陷或自身免疫性疾病。在免疫毒理学的实验中，测定 CD4 和 CD8 的比值可直接反应出细胞免疫的状况。此方法简单、快速、是国外免疫毒性实验的首选指标之一。目前检测 CD4/CD8 比值的方法有两大类，即免疫荧光法和免疫酶标记法。

免疫荧光法的原理是将淋巴细胞加以分离，制成薄涂片，干燥固定后用荧光标记的 CD 单克隆抗体染色，洗去未结合的荧光抗体后，在荧光显微镜下观察结果，计算 CD4/CD8 比值。免疫酶法测定的原理基本与荧光法相同，只是实验中用兔抗鼠 IgG 抗体代替荧光抗体，加入酶底物后阳性细胞显色，用普通光学显微镜即可观察结果。

三、体液免疫功能测定

1. 溶血空斑实验

溶血空斑实验又称抗体生成细胞的检测，是体外检查和计数产生 IgM 及其他类型 Ig 抗体生成细胞的一种方法。

琼脂平板溶血空斑实验的原理是将羊红细胞免疫 4d 的小鼠取出脾脏制成脾细胞悬液，在半固体琼脂凝胶介质中使脾细胞与羊红细胞混合，浇在平皿内使之形成薄层，37℃ 恒温孵育。抗体生成细胞可释放溶血性抗体，使其周围的羊红细胞致敏，在补体参与下导致脾细胞周围的羊红细胞直接溶血，在其周围形成一个肉眼可见的局部性的圆形透明溶血区，称为溶血空斑。本方法测出的细胞主要是 IgM 抗体生成细胞，每个空斑表示一个抗体生成细胞，空斑大小表示抗体生成细胞产生抗体的多少。

2. 单项免疫扩散实验测定血清中 IgG、IgA 和 IgM

该方法的原理是将一定量的抗体（一般采用的是特异性抗血清）与加热溶化的含缓冲液的琼脂或琼脂糖在 56~60℃ 混匀后，浇于玻璃板或平皿上，成为适当厚度的凝胶层。打孔后加入一系列不同浓度的标准抗原，在合适的温度、湿度环境中，经过一定时间，抗原由小孔向四周呈辐射状扩散，与已混匀在琼脂凝胶中的抗体相互作用。当抗原扩散到一定的距离，抗原和抗体的浓度比例合适时，就形成清晰的沉淀环。当抗体浓度保持一定时，抗原向凝胶内扩散所形成的沉淀到一定时间后不再继续增大，此时沉淀环的大小（直径或面积）与抗原浓度在一定范围内成直线关系。以抗原浓度的对数作为横坐标，以环直径或面积作为纵坐标绘制标准曲线。该方法可以测定体液中多种免疫球蛋白，如 IgG、IgA、IgM 等。

四、大鼠肝脏微粒体的制备及细胞色素 P450 总含量的测定

（一）原理

细胞色素 P450 主要存在于肝脏微粒体中，在还原条件下可与一氧化碳结合，在 450nm 波长处显示最大吸收峰，在 475nm 处为最低吸收峰。根据二者的差值和消光系数来求得细胞色素 P450 的含量。

肝脏微粒体可用钙沉淀法制备，其方法是先制备肝匀浆，将细胞破碎，使细胞组分悬浮在介质中，内质网膜聚集成团，形成微粒体颗粒。肝匀浆先经低速短时间的离心，细胞核、线粒体等较大颗粒形成沉淀。去掉此部分取其上清液，提高离心力并延长离心时间，即微粒体组分沉淀。在去线粒体的上清中加钙，有助于微粒体颗粒的形成和沉淀。

如有超速离心机，可直接将肝 S9 组分， $105 \times 10^3 g$ 离心 1h，即可获得肝微粒体沉淀。

（二）实验步骤

在乙醚麻醉条件下剖开大鼠腹腔，暴露肝脏，用预冷的 0.85% 氯化钠从门静脉灌注

肝脏，剪开腹主动脉，至肝脏为黄白色为止。取出肝脏，用 0.85% 氯化钠洗净表面血污并用滤纸吸干表面水分。

称取肝脏 3g，加 250mmol/L 蔗糖、10mmol/L 三羟甲基氨基甲烷、盐酸缓冲液（pH 值 7.4）18mL，用电动搅拌机带动的玻璃匀浆器制备匀浆（1500r/min），匀浆持续 1min 左右，研杵上下移动约 15 次。

将肝匀浆转移到离心管中，以 600r/min 离心 5min，弃去沉淀部分（细胞核及细胞碎片）后将上清液再以 12000r/min 离心 10min，弃去沉淀部分（线粒体）。在去线粒体的上清液中加入等容积的 16mmol/L 氯化钙、250mmol/L 蔗糖、10mmol/L 三羟甲基氨基甲烷、盐酸缓冲液（pH 值 7.4），经 25000r/min 离心 15min，弃去上清液，沉淀部分为微粒体。将微粒体混悬于 150mmol/L 氯化钾、10mmol/L 三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液（pH 值 7.4）中，再以 2500r/min 离心 15min，沉淀部分即为纯化的微粒体。最后将微粒体混悬在 4mL 5mmol/L 磷酸盐缓冲液（pH 值 7.4）中，用玻璃匀浆器匀化混匀，分装在具塞小塑料瓶（1.5~2.0mL）中。以上操作均在 0~4℃ 条件下进行。微粒体样品如当时不检测，可置 -80℃ 冰箱内保存备用。

测定肝微粒体中蛋白质含量。

根据微粒体中蛋白质含量，用 50mmol/L 的磷酸盐缓冲液（pH 值 7.4）将微粒体中蛋白质含量调整为 2mg/mL。

⑥ 取调整蛋白质含量后的微粒体悬液 2mL，加入 50mmol/L 磷酸盐缓冲液（pH 值 7.4）5mL，通入一氧化碳气体 1min（120 个气泡/min），分装于两个比色杯中，向其中一个比色杯内加入固体连二亚硫酸钠 1mg 左右，混匀，静置 2min。以未加连二亚硫酸钠比色杯调整零点，分别测定 450nm 和 475nm 处的光密度。按下面公式计算：

$$\text{细胞色素 P450 含量 (nmol/mg 蛋白质)} = \frac{\text{光密度}(450\text{nm}) - (\text{光密度 } 475\text{nm})}{105 \times 10^3} \times 10^6 \times \frac{7}{4}$$

式中 105——消光系数，L/(mol·cm)。

五、外源性脾结节测定法

脾结节是造血干细胞增殖和分化的结果，每一个脾结节中包含着一个造血干细胞及其增殖和分化的大量幼稚骨髓细胞和成熟血细胞，同时，受体小鼠脾脏上生成的脾结节与移植的骨髓或脾脏细胞数之间成正比关系。脾结节（CFU-S）测定方法就成了研究多向性造血干细胞以及化学毒物或电离辐射等对造血干细胞损伤效应的定量研究方法。

1. 受体小鼠的准备

一般可采用 8.0~8.5Gy X 射线或 γ 射线进行一次照射，每组小鼠 10~12 只。

2. 供体小鼠的准备

一般每组用 3 只小鼠，用颈部脱臼法处死小鼠后剥离出股骨，用细胞培养液冲出股骨中的全部骨髓细胞并使其在悬液中充分分散，作细胞计数。

3. 尾静脉注射

对每只受体小鼠由静脉注入 0.2mL 适当浓度细胞悬液，使每只受体小鼠在注入骨髓细胞后第 9 天在脾脏上生成 10 个左右的结节，以便于计数分析。

4. 固定和计数

受体小鼠在注射骨髓细胞后于正常条件下饲养。至第 9 天时杀死小鼠，取出脾脏，置于苦味酸-甲醛固定液中固定。1d 后，在解剖显微镜下计算每个脾脏上生成的脾结数。正常小

鼠供体的每根股骨中大约含有 $(15\sim 20)\times 10^6$ 个骨髓有核细胞，每 3×10^4 个骨髓有核细胞可以在受体小鼠的脾脏上生成 $8\sim 10$ 个脾结节，所以每根股骨的骨髓细胞约可生成 $3000\sim 5000\text{CFU-S}$ 。

六、体内扩散盒琼脂培养技术

造血细胞在适当的刺激因子 (CSF) 作用下，可以在体外琼脂培养条件下逐步生成由粒细胞或单核-巨噬细胞组成的细胞团，即 CFU-C。实际上 CSF 存在于正常动物体内。体内扩散盒琼脂培养法是将体外琼脂培养技术与体内扩散盒培养方法结合起来的一种方法 (ADC)，其优点是：造血细胞在比较接近于体内条件下生长；生成的细胞团可在显微镜下直接计数，避免了在体外琼脂培养中所必须加入的 CSF。

小鼠骨髓细胞体内扩散盒琼脂培养方法的具体操作为：用 20mL 费氏培养液从 3 只小鼠的 3 根股骨中冲出全部骨髓细胞，计数有核细胞浓度。另取 10mL 费氏培养液、4.5mL 马血清、1mL 骨髓细胞悬液，混合预热 (37°C) 后加入 2mL 熔融的 5% 琼脂组成培养体系。然后在每个扩散盒中注入 $0.15\sim 0.2\text{mL}$ 上述含琼脂的培养物，以石蜡封口，将扩散盒埋入受过 7.5Gy (750rad) γ 射线照射的受体小鼠腹腔中。经 $5\sim 6\text{d}$ 后取出扩散盒，揭去扩散盒一面的微孔薄膜，在低倍显微镜下计数扩散盒琼脂内生成的细胞集团数。细胞团生成量与种入扩散盒中的骨髓有核细胞数之间呈线性关系，每 10^3 个有核细胞约可生成 $100\sim 200$ 个细胞团 (CFU-C)。在毒理学研究中可以将各种染毒动物的骨髓细胞按上法进行培养，根据扩散盒生成的细胞团以判断外源性化学物对 CFU-C 的影响。

七、骨髓微循环的观察方法

骨髓微循环是骨髓完成造血功能，输送血细胞所不可缺少的条件。要真正认识骨髓造血及其在化学毒物影响下的变化，观察骨髓微循环是一种很有用的实验方法。

骨髓微循环活体观察方法较常用的是刮薄骨皮质法。实验动物有小鼠或兔，用硫苯妥钠腹腔注射达轻度麻醉状态，剪去前或后肢的毛，切开皮肤，暴露尺骨 (小鼠) 或腓骨 (兔) 然后将尺骨或腓骨的两侧用小刀片细心刮薄，直至剩下很薄的一层骨皮质及骨内膜，置于有透射光的显微镜下用低倍镜进行观察。

结果表明有：骨髓静脉窦的形态，静脉窦的数量、血管的直径及血流速度等。可以作摄影或录像记录。

第二章 食品安全性的评价

为了研究食品污染因素的性质和作用，检测其在食品中的含量水平，控制食品质量，确保食品安全和人体健康，需要对食品进行安全性评价。食品安全性评价主要是阐明某种食品是否可以安全食用，食品中有关危害成分或物质的毒性及其风险大小，利用毒理学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。

需要强调的是，食品安全性评价工作是一个新兴的领域，对其评价方法仍然在不断研究、不断完善之中。在实际应用当中可能会存在一些不同的观点，也是在所难免的。

第一节 食品毒理学原理

一、毒理学与食品毒物

毒理学是研究外源性化学物质对生活有机体的有害作用的一门应用科学，其主要任务是对接触外源性化学物进行安全评价。

食品毒理学是一门研究存在或可能存在于食品中称为毒物的小分子物质的种类、含量、分布范围、毒性及其毒性反应机理的科学。其作用就是从毒理学的角度研究食品中所含的内源化学物质或可能含有的外源化学物质对食用者的毒作用机理，检验和评价食品（包括食品添加剂）的安全性或安全范围，从而确保人类健康。现代食品毒理学着重通过化学或生物学领域的理论知识找寻毒性反应的详细机理，并研究特定物质产生的特定的化学或生物反应机制，为食品安全性评价和监控提供详细和确凿的理论依据。1994年和1995年我国颁布和实施了《食品安全性毒理学评价程序和方法》标准和《食品卫生法》，为我国食品质量和安全性提供了法律和行政上的保障。

毒物是指较小剂量就可干扰和破坏生物体的动态平衡，甚至导致生物体死亡的化学物质。有毒物质主要通过化学损伤使生物体遭受损害。如有机磷酸酯类农药可抑制胆碱酯酶的活性，使生物体内的乙酰胆碱大量积累，从而导致生物体的极度兴奋甚至死亡。按照毒物的毒性强弱可分为剧毒、高毒、中毒、低毒、微毒等。一般来说，毒物与非毒物之间没有严格的界限。同一种化学物质，由于使用剂量、对象及方法的不同，可能是毒物，也可能是非毒物。如人体对硒的安全摄入量为每日 $50\sim 200\mu\text{g}$ ，当摄入量低于 $50\mu\text{g}$ 时可能会导致心肌炎、克山病、免疫力下降等疾病；但是，当摄入量超过 $200\mu\text{g}$ 时，可能会导致中毒，若每日摄入量超过 1mg ，则可能导致死亡。

二、剂量-效应关系

毒理学的一个基本原则是对物质的毒性进行定量。无论物质的毒性作用是通过何种机制产生的，一般在一定的剂量范围内，效应总是与该有毒物质的剂量成比例的，同一种物质的毒效应随着剂量的增加，显示出相应的规律性变化。这就是有毒物质的剂量-效应关系（简称为量-效关系，dose-effect relationship）。

一般来说，任何一种有毒物质对于一群实验动物来说，都存在着无作用水平（no ob-

serve effect level, NOEL), 毒物的剂量在这一水平不会对实验动物产生任何特定的毒性反应。但是, 当剂量超过这一水平时, 就可能使个别或部分动物出现某些特定的毒性反应, 随着剂量的加大, 产生这些特定毒性反应的动物数会随之增加。当剂量增加到一定水平时, 能够使产生这些特定毒性反应的动物数达到最多, 此时该群动物对毒物的反应性也最高, 这时的毒物剂量就是能够引起实验动物死亡的平均剂量。

食品法典委员会 (CAQ) 将风险分析分为风险评价、风险控制和风险信息交流三个部分, 其中风险评价在食品安全性评价中占有中心位置。而 NOEL 是制定食品安全性风险评价中最重要的基本参数, 它来之于食品安全性评价程序所限定的动物毒性试验。

ADI 指人长期每日摄入该物质, 对其健康来说检测不出任何急性、慢性有毒作用的剂量, 通常用 mg/kg 体重 $\cdot \text{d}$ 表示。通过将试验动物进行毒理学试验获得的 NOEL 数据外推到人, 可计算出人每日的允许摄入量 (acceptable daily intake, ADI), ADI 等于 NOEL 除以安全系数, 安全系数一般定为 100。ADI 实际上是人的最大无作用剂量。NOEL 也可用于计算化学物的急性和慢性毒性在食品中的暴露水平, 食品中某物质的含量低于该阈值时, 则基本可认为该物质不会引起毒性反应。但是, 致癌物的 ADI 一般用最大耐受剂量 (maximum tolerated dose, MTD) 表示。MTD 数据需要采用不同剂量致癌物质进行动物试验来确定。

按照量-效关系, 在一定的剂量范围内, 同一种毒物随着摄入量的增加, 其毒效应对剂量可出现累积效应。累积效应可分为量反应和质反应两种, 前者如血压、血糖的水平、效应出现的时间长短等可用具体数值表示, 而对肌肉舒缩、神经冲动强弱等, 则可用最大反应的百分率来表示。质反应在毒性测定中, 往往表现为死亡、生存效应的阳性率不同。如果以某一特定反应的累加阳性率或死亡率为纵坐标, 以对数剂量为横坐标, 则可得到一条 S 形曲线。这一曲线即为累积-剂量响应曲线如图 2-1 所示。

在该曲线上的任何一点均可标示出该毒物在该剂量时的毒性情况, 其中, 最重要的参数是半数致死剂量 (median lethal dose, LD_{50})。 LD_{50} 是指能使供试动物 50% 死亡的剂量, 单位为 mg/kg 体重。 LD_{50} 是衡量化学物质急性毒性大小的基本数据。毒理学试验中常利用 LD_{50} 对试验条件类似的许多化学物质的相对毒性的强弱进行比较。

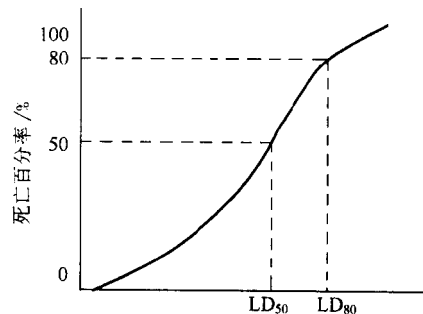


图 2-1 累积-剂量响应曲线

一般而言, 对动物毒性很低的物质, 对人的毒性也很低。对同一种毒物来说, 剂量越大, 则毒性越大。而不同物质的 LD_{50} 差异也很大, LD_{50} 越大, 则表明其毒性越小, 反映在食品方面, 则表明其安全性越高。反之, 则食品的安全性越低。

例如, 已知最具毒性的物质之一的肉毒梭菌毒素的 LD_{50} 约为 $100\text{ng}/\text{kg}$ 体重; 而氯化钠的 LD_{50} 约为 $40\text{g}/\text{kg}$ 体重, 需要消费大量的氯化钠才可以产生毒性。 LD_{50} 为 $2\text{mg}/\text{kg}$ 体重的一种物质对一个体重 60kg 的人而言需摄入较大的量才可产生毒性, 而 LD_{50} 为 $1\text{mg}/\text{kg}$ 体重的极毒物质对一个体重 60kg 的人而言仅需数滴即可产生毒性。需要清楚的是, LD_{50} 等急性毒性指标并不能反映出化学物质对人体健康可能具有的潜在危害。这就常常需要通过进一步的长期或慢性毒性试验来探寻。对一些急性毒性很小或根本检测不出急性毒性的致癌物质来说, 需要长期少量摄入才可能诱发癌的发生。我国卫生部 1994 年在《食品安全性毒理学评价标准》中将各种物质按其大鼠经口 LD_{50} 的大小分为极毒、剧毒、中毒、低毒、实际无

毒和无毒 6 大类，见表 2-1。

表 2-1 化学物质的急性毒性分级

级 别	大鼠口服 LD ₅₀ /(mg/kg 体重)	相当于人的致死量	
		mg/kg 体重	g/人
极毒	<1	0.05	0.05
剧毒	1~50	500~4000	0.5
中毒	51~500	4000~30000	5
低毒	501~5000	30000~250000	50
实际无毒	5001~15000	250000~500000	500
无毒	>15000	>500000	2500

三、食品中毒物的体内过程

食品中有毒物质的体内过程包括在体内的吸收、分布、代谢及排泄，它与毒物的毒性密切相关。其中，毒物在体内的吸收、分布及排泄称为转运，而代谢过程则称为生物转化。由于代谢和排泄过程通常是不可逆的，故合称为消除过程。

(一) 有毒物质的吸收

食品中毒物的吸收是指毒物进入消化道后通过多种屏障进入血液循环的过程。这些屏障主要是生物膜。生物膜是一种半透性膜，一般由类脂质、蛋白质、脂蛋白及低聚糖等组成。膜的结构是以脂质双分子层为基本骨架，其极性部分向外，非极性部分向内，球蛋白镶嵌在脂质双分子层内，生物膜上布满细孔，称为膜孔，水和一些小分子水溶性物质可以通过。

当有毒物质随食品进入机体后，首先要通过生物膜被机体吸收。随之分布到机体的不同组织器官发挥毒性作用。但是，摄入的有毒物质是否会产生危害，或者危害的程度有多大，不仅仅取决于其固有的毒性，而且还取决于它们在机体内存留的数量、分布位置及其在机体内消除的速率等等。这些物质在完成一系列体内过程当中，都需要通过生物膜进行被动和主动跨膜运转。

主动转运需要消耗能量，可由低浓度或低电位差的一侧转运到较高一侧，故又称逆流转运，需要膜上的特异性载体蛋白参与；被动转运主要是通过生物膜起作用，口服毒物后，胃肠液中的毒物由高浓度向低浓度的细胞内扩散透过，又以相似的机理扩散转运到血液中，这种转运不消耗能量，毒物透过的推动力取决于生物膜两侧的浓度梯度即浓度差。由于毒物的被动转运是由浓度高的一侧向浓度低的一侧扩散，其转运速度不仅与膜两侧毒物浓度差成正比，此外还与毒物的性质有关：相对分子质量小的（200 以下）、脂溶性大的（油水分布系数大的）、极性小的毒物较易通过。

有毒物质进入有机体的方式主要是被动扩散而不是主动运输。大多数脂溶性物质（如 DDT 等农药残留等）主要通过在脂质双层中的简单扩散而通过生物膜。水溶性较强的毒物主要通过细胞膜的水相膜孔进行扩散。水溶性较弱的毒物和重金属离子化合物也可通过主动运输的方式通过生物膜。细胞膜对脂溶性物质的吸收几乎没有选择性。活的有机体可以有效阻止水溶性有毒物质透过其生物膜，但不能阻止对绝大多数脂溶性有毒物质的吸收。生物膜的这一作用，可导致机体对脂溶性毒素的吸收和富集，从而易产生毒害作用。

有毒物质污染食品后，可通过口腔进入人体消化道。由于消化道各个部分组织结构的相似性，对毒物均有一定程度的吸收能力。但是由于消化道各部分的组织结构的不同，各种毒物在消化道各段的吸收能力是不同的。另外，吸收能力的大小还与毒物在消化道各部分停留

的时间有关。

毒物被机体吸收进入血液的主要部位是小肠。由于小肠表面有环状皱壁和绒毛突起，绒毛上还有很多微绒毛，绒毛最多的是十二指肠，因此有效吸收面积很大。由于被动吸收的速度与表面积成正比，所以小肠是吸收毒物的主要部位。特别是脂溶性毒物，在小肠中主要通过被动扩散而被吸收，参与主动转运的机会很少。但是也不排除一些相对有毒的物质通过肠细胞的主动转运系统而被吸收。

胃的表面积比小肠小，但一些弱酸性毒物、乙醇和脂溶性有机磷农药在胃内易被吸收。

大肠没有绒毛，表面积小，不是吸收毒物的主要区域。

口腔黏膜上皮细胞由脂质构成，故允许脂溶性毒物通过。口腔黏膜吸收属于被动扩散。毒物经口腔吸收后，通过颈内静脉到达心脏，随血液循环向全身分布。口腔的弱酸性环境能促使有机弱碱性毒物吸收。

（二）有毒物质在体内的分布与储留

1. 在体内的分布

食品中毒物的转移和分布是指在消化道被吸收的毒物，通过各种生理屏障经血液循环分布于全身各组织器官的过程。毒物被吸收后在各组织器官中的分布是不均匀的。毒物的体内分布直接关系到毒物的贮存、消除和毒性效应。一般组织血流量大者转移得较为迅速，因此血流量大的器官就有可能含有较多的转移毒物。

而实际上，影响毒物在体内分布的因素很多，除与各组织器官的血流量密切相关外，还与毒物与血浆蛋白的结合率、毒物与组织的亲和力、血脑屏障以及体液 pH 和毒物的理化性质等有关。

（1）毒物与血浆蛋白的结合率毒物吸收进入血液后可不同程度地与血浆蛋白结合，可分为与血浆蛋白相结合的结合型和不相结合的游离型两类。结合型毒物由于分子质量大，不能进行跨膜转运，又不能代谢排泄，可在血液中暂时贮存，因而也暂时不显示毒性。蛋白结合率较高的毒物在体内消除慢，作用维持时间长。与毒物结合的蛋白质以白蛋白为主，也有少量的 α 球蛋白和 β 球蛋白。各种毒物与血浆蛋白的结合率也是不同的。血浆蛋白与毒物的结合能力有限，而且是非特异性的，具有可逆性和可置换性。当血浆中游离态血浆球蛋白浓度高于结合型浓度时，该动态平衡主要向结合型方向移动；反之，当血浆中游离型浓度低于结合型时，结合型就会重新解离成游离型。因此，这种毒物的贮库被称为“蛋白贮库”。

（2）局部器官血流量总血液量在肝、肾、肌肉、脑和皮肤等组织和器官中最大，故这些器官中毒物分布较多。人体脂肪组织血流量虽小，但脂肪总量很大，是脂溶性毒物的贮库。其他组织如肾上腺和甲状腺，虽然血流总体积小，但对其相对组织质量而言，血流量较大，因而，这些器官也有较高的毒物浓度。骨骼中血流量最小，因而毒素分布最少。

（3）体液 pH 值由于脂溶性毒物容易分布，水溶性毒物难以分布，多数毒物为弱酸或弱碱，其分布受 pH 值影响较大。血液和细胞间液的 pH 值为 7.4，细胞内液 pH 值为 7.0。弱酸类毒物在细胞外以解离型多，不易进入细胞内，弱碱类毒物则较易分布到细胞内。

（4）组织亲和力某些毒物与体内有些组织有特殊的亲和力。如残留于动物性食品中的四环素易结合在骨骼和牙齿；氯喹集中在肝脏等。另外，脂溶性毒物能大量贮存在脂肪中而不显示毒性效应，故有机体内的脂肪组织也称为“脂肪贮库”。脂肪贮库的贮存量有一定限度，一旦达到饱和，那些脂溶性毒物就要分布于作用部位。因此从某种意义上说，脂肪贮库是脂溶性物质对有机体产生毒害作用的一个缓冲区。这也是较肥胖的人脂溶性物质中毒后症

状比较轻微的原因。

(5) 体内屏障体内某些部位，由于组织结构特殊性，对不少毒物的转运可产生屏障作用，直接影响毒物的分布。血脑屏障是血液与脑细胞、血液与脑脊液、脑脊液与脑细胞之间三种隔膜组成，主要由前两种起屏障作用。由于这些膜的细胞间连接比较紧密，膜外还多一层星状细胞包围，故使很多毒物不容易透过而形成保护大脑的屏障，但油/水分配系数大的毒物能以简单扩散的方式通过血脑屏障，将这些毒物浓集在脑中，产生中枢神经毒性。脑膜炎时屏障作用减退，不易通过血脑屏障的青霉素等药物残留也可大量通过。生物学屏障还可减弱某些物质如铅和汞的毒性，这些物质在血脑组织中富集后，可妨碍大脑所需要的营养素向中枢神经系统转运。

胎盘屏障能防止一些外源性化学物质向胎儿移行，在一定程度上保护着胎儿的安全，对防止外源性化学物的胚胎毒性和致畸作用具有重要意义。但是，这种保护作用是十分有限的。有很多有毒物质可以通过胎盘屏障，例如甲基汞、苋菜红、许多病毒和细菌等。

2. 食品中有毒物质的储留

与某些器官或组织细胞结合紧密的有毒物质，可在这些器官或组织中保留一段时间，这些器官或组织被称为储留库。毒物的化学性质直接影响其储留趋势。极性较大的有机毒物主要和血液及组织中的蛋白质结合。化学性质与钙相近的无机毒物主要沉积在骨骼，所以骨骼也是无机离子的一个特别重要的储库。大多数脂溶性毒素主要被脂肪组织吸收和储留。胶原蛋白是体内主要的蛋白质，可结合钙、钡、镁、铅、砷和汞等多种离子。

肝脏和肾脏也是富集和储留毒物的重要场所。肝组织对有机酸、偶氮染料和某些类固醇等均具有较高的亲和能力。

毒物在不同组织储留后，对毒物的毒性可产生不同的影响。如果毒物储留在对其不敏感的部位或远离其敏感部位，其毒性作用就不能充分发挥。例如铅对红细胞有毒性，但对骨骼无毒，因此储留于骨骼的铅对机体的危害性并不大。如果一种毒物正好储留在对其敏感的毒性作用部位，则会增加毒物的毒性。例如骨骼中储留放射性元素⁹⁰Si，则会延长⁹⁰Si在体内的半衰期，并增加⁹⁰Si对骨骼的毒性。

另外，由于竞争作用，一种毒物常被另一种毒物从它的活性部位替换下来，被替换下来的毒物将以游离态释放在血液循环系统中，从而引起毒性的改变。

(三) 有毒物质的生物转化

生物转化系指毒物在体内发生的化学变化。对于大多数毒物来说，在体内经生物转化后失去毒理活性，并被酶转化为极性高的水溶性代谢物而利于排出体外。生物转化部位主要在肝脏。生物转化可分两个时相，第一时相 (phase I) 总的来说是指对脂溶性物质的氧化、还原和水解反应，使脂溶性物质成为易于反应的活性代谢物。第二时相 (Phase II) 一般指一种或多种具有较高极性的内源物质 (如谷胱甘肽或葡萄糖醛酸) 与第一时相代谢产物的结合，以及第一时相代谢产物 (如环氧化物) 的水解。经过第一时相反应后，多数毒物被灭活，但也有少数毒物反而被活化。第二时相与体内物质结合后多数是使毒物活性降低或灭活并使极性增加，从肾排出体外。第二时相可以是在第一时相的基础上发生的，也可以首先发生。此外，也有一些毒物完全不经过转化而直接排出体外。大多数毒物在经过第一和第二时相反应后，通常转化为易溶于水的代谢物，便于经尿或胆汁排出。

细胞色素 P450 氧化酶主要存在于肝细胞的内质网膜上，约占肝细胞蛋白总量的 20%~70。细胞色素 P450 酶系统是促进毒物生物转化的主要酶系统，故又称为肝毒物酶，现在

已经分离出 70 余种。此酶系统的基本作用是从辅酶 II 及细胞色素 b_5 获得两个 H^+ ，另外接受一个氧分子，其中一个氧原子使毒物羟化，另一个氧原子与两个 H^+ 结合成水 ($RH + NADPH + O_2 + 2H^+ \rightarrow ROH + NADP^+ + H_2O$)，故又叫单加氧酶，能对数百种毒物起反应。细胞色素 P450 是一种含铁卟啉类蛋白酶，因还原型 P450 与一氧化碳结合在波长 450nm 处有最大吸收峰而得名。此酶的活性和数量还具有较大的种属差异和个体差异。

(四) 有毒物质的排泄

1. 排泄器官

毒物及其代谢物被排出体外的过程称为排泄。毒物经过生物转化和排泄，可使有机体内部的毒物数量减少。肾脏是毒物的主要排泄器官，有毒物质经肾小球过滤进入尿液后可随尿排泄到体外。肾小球的过滤属于膜孔扩散，肾小球的膜孔较大 (40nm)，除与蛋白质结合牢固的毒物不可滤过外，几乎所有的毒物都可滤过。毒物通过肾小管的分泌和排泄是通过肾小管生物膜上的膜泵转运的，这种主动运输的排泄速度很快。毒物与蛋白质的结合并不阻碍这种主动运输的分泌。非挥发性毒物主要由肾排出。该途径不仅排泄有毒物质的种类多，而且数量也非常大。

有些毒物可先由肝脏排入胆囊，再从胆道随同胆汁进入肠道而被排泄出去。只有一少部分毒物经胆汁分泌排泄。这是由于胆汁的形成速度远低于尿液的形成速度。但对于某些化合物而言，胆汁分泌是主要的排泄途径。如己烯雌酚 (DES) 可通过胆汁排泄，从而可使 DES 在体内的半衰期大大延长，其毒性可增加 130 倍以上。

乳汁分泌在毒物的排泄中占有重要的地位。某些毒物、农药残留 (如 DDT) 和霉菌毒素可通过乳汁少量排出，从而污染牛乳和乳制品。

气体及挥发性毒物主要由肺经呼吸道排出。经口食入后未被吸收的毒物从肠道随粪便排出。有些毒物可经皮肤、汗腺、唾液腺及泪腺等排出体外。

2. 影响排泄的因素

影响毒物排泄的因素主要表现在以下几个方面。

(1) 肾功能毒物在肾脏通过肾小球滤过，肾小管的重吸收和分泌过程，最终被排出体外。当肾功能不全时，毒物的排泄将显著减慢，如果摄入的毒物数量较大或摄入时间较长，则容易发生中毒。

(2) 尿液 pH 值因毒物种类繁多，有弱酸性或弱碱性毒物，尿中的毒物经肾小球滤过后可在肾小管被重吸收，如果在摄入毒物后能适当调整尿液的 pH 值，则可减少毒物的重吸收，促进排泄。

(3) 竞争分泌机制肾小管分泌毒物是由主动转运弱酸或弱碱的两个转运系统组成，有机酸毒物主要通过弱酸转运系统的分泌而排出；有机碱则经弱碱转运系统分泌胆碱和组胺等排出体外。如通过同一个转运系统转运的两种毒物同时进入体内时，则可产生竞争抑制。例如经有机酸转运系统转运的物质可与尿酸竞争，结果使尿酸在血浆中浓度上升而引起痛风。这种情况对制定含有多种毒物的食品的卫生标准有重要意义。

(4) 肝肠循环有些毒物可经肝脏排入胆汁，由胆汁流入肠腔，然后在肠道被重吸收，此过程叫肝肠循环。进行肝肠循环的毒物排泄速度减慢，其生物半衰期较长。抑制肝肠循环可促进毒物排泄，如强心苷中毒时可用考来烯胺抑制肝肠循环，以促进毒物的排泄。

第二节 食品中不安全因素的确定

对食品中任何组分可能引起的危害进行科学测试、得出结论，以确定该组分究竟能否为

社会或消费者接受，据此以制定相应的标准，这一过程称为食品的安全性评价。这些组分包括正常食品成分、添加剂、环境污染物、农药、转移到食品中的包装材料成分、天然毒素、霉菌毒素以及其他任何可能在食品中发现的可疑物质。

食品法典委员会（CAC）将风险分析引入食品安全性评价中，并将风险分析分为风险性评价、风险控制 and 风险信息交流三个部分，其中风险性评价在食品安全性评价中占中心位置。

风险性评价的进行首先要确定食品中可能有哪些危害成分或不安全因素，然后根据毒理学评价、残留水平以及摄入量评价，得出供试食品某种特定危害物导致危险的性质、大小及其某些不确定性的说明。

食品中不安全因素是来源于生物、化学和物理性的有害物质以及食品中过量的营养成分。其中化学及生物性有毒物质是影响食品安全性的主要因素。人类食物中含有的天然成分种类繁多、成分复杂。随着环境污染导致的食品污染以及食品添加剂使用的不断增加，这些物质对人体健康带来的危害越来越突出。估计目前人类接触的化学物质约有五万种，用于食品的约有五千种。这些物质大多数未经过毒理学鉴定。

由于影响食品安全性的毒物水平绝大多数是很低的，建立一些准确的分析方法并正确解释测定数据对食品的安全性评价十分重要。对有毒物质的分析包括毒性检测和毒物分离。首先要准确验明被检物质，只有得到纯度较高的样品，才能比较方便地通过化学鉴定和标准程序对毒物进行定性和定量。然而测定一个混合物的安全性就复杂得多，此时，最重要的是弄清楚混合物的组成，并确定是那一个成分产生了毒性。毒性检测通常是通过观察中毒效应来判断。

毒性检测通常是用大鼠或小鼠作为“动物模型”来进行验证实验。首先要将食物分成不同的组分，并监测检验每一种组分的毒性。具有毒性的组分被进一步分离和检验，直到纯的毒物被完全分离出来。毒物的化学结构可通过各种光谱分析进行确认，常用的分析方法有紫外光谱（UV）、红外光谱（IR）、核磁共振（NMR）和气相色谱-质谱（GC/MS）联用等。

第三节 食品中有毒物质的定量分析

从食品中分离的毒物的化学结构被确定以后，即可对该化学物质进行定量分析。一般而言，每一种毒物的定量分析方法有一系列政府监控或规定的质量标准，以便确保食品中的毒物含量在法定水平之下。

一、样品采集

选择适当的取样方法及相关的统计方法对食品中毒物的分析结果是十分重要的。采样应全面包括整批食品，不能只采其中一部分，并且每份样品中数量要一致，一般每件 2kg。平均样品一般不少于全部检验项目用量的四倍，约为 0.5~1kg。试样的数量取决于检验方法，一般为 100~200g。

对蔬菜、水果、谷物等可根据检测的目的取不同生长期、不同部位的果实茎叶进行测定。对于整批食品可采用随机抽样检验。要使所采样品能够代表总体，减少采样带来的误差，可适当增加样品量或重复次数。另外，由于食物样品的所有部分均需要同等地暴露于提取过程中，所以，经常有必要混合或切细样品以便达到均质化。

对食品中的毒物进行定量分析时，常常是针对样品中的某一特定化合物进行筛选和收集。但是由于不同的化合物所需的样品处理方法不同或相互矛盾，使得“总筛选”不可能进

行。例如有些化学物质的样品需经碱处理以防止酸降解，而另一些化学物质则需要酸处理以防止碱降解。在这种情况下，可能需要一个一般性的或总的筛选试验以便检测一大类的化学物质，之后需要再次收集样品，对筛检中发现的化学物进行针对性的检验和分析。

二、样品的萃取和净化

当采集了适量的具有代表性的样品后，需要再将分析物从食品基质中分离出来。由于食品中的毒物水平一般为微量甚至痕量，为了提高检测器对被分析物的敏感性，获得准确的检测结果，在分析之前常常需要对食品中的毒物进行富集和浓缩。对样品采取这些净化步骤的目的是为了减小进入敏感分析元件的外源化学物质的量，并尽可能避免样品对注射口和分析色谱柱的污染。对样品进行净化的同时，也可以制备一定量的待测物以备进一步的分离。常用的萃取和净化方法有液-液萃取（LLE）、固相萃取（SPE）、超临界流体萃取（SFE）和吹赶-捕集法（P&T法）等。

SPE方法采用高效、高选择性的固定相，能显著减少溶剂用量，简化样品预处理过程，同时所需费用也有所减少。避免了液-液萃取的诸多局限性，如需要大量不相溶的溶剂，样品处理步骤复杂，样品回收率和精密度不理想，处理过程中有乳胶形成和溶剂蒸发时样品易降解造成样品损失等缺点。SPE适用于气相色谱、液相色谱、红外光谱、质谱、核磁、紫外和原子吸收等各种分析方法的样品预处理。

SPE的一般步骤如下。将液态或溶解后的固态样品倒入活化过的SPE柱，然后采取抽真空或加压使样品进入固定相。SPE过程中将保留被测组分和类似的其他组分，并尽量减少不需要的样品组分的保留，保留较弱的样品组分可用一溶剂冲洗掉，然后用另一溶剂把被测组分从固定相上洗脱下来。或者可以使被测组分（分析物）直接通过固定相不被保留，而大部分干扰物被保留在固定相上，也可以达到分离的目的。

三、色谱分析

色谱是一种分离技术，是目前分辨率最高的化学分离方法之一。色谱的分离原理是基于待测物质在互不相溶的两相——流动相和固定相之间的分配系数不同而达到分离的目的。使含待测组分的混合物溶解在流动相中，当流动相通过固定相时，由于混合物中各组分与固定相具有不同的亲和力，使得它们在固定相中具有不同的流速，从而在流动相中分离开来。

将色谱分离技术应用到分析检测领域，并与适当的分析检测手段相结合，就是色谱检测法或色谱分析。色谱法按两相状态分，流动相为气相者叫气相色谱，流动相为液相者叫液相色谱。常用的色谱法有高效液相色谱（HPLC）、毛细管气相色谱（CGC）、薄层色谱（TLC）、超临界色谱（SFC）和毛细管电泳（CE）等。几乎所有的化学物质都可以通过色谱法分离和纯化。色谱法还具有高效、快速、灵活性强等优点。

第四节 食品安全性毒理学评价程序

食品中有毒物质的毒理学数据主要从动物毒理学试验中获得。毒理学研究并不意味着就能直接应用于人。从实验动物获得的毒理学数据外推到人群进行定量的风险性评价时，常常需要3个重要的假设：实验动物和人群的反应性要相似；（高）实验暴露的反应与人的健康有关，并可外推到环境暴露（包括食品摄入）水平；动物试验能够表现出被检物的所有反应特性，这种物质对人有潜在的毒副作用。通常在进行定量风险性评价时可能有很程度的不确定性。从毒理试验获得的数据有限时，就需要运用流行病学方法进行分析。

和毒理学相比，流行病学是一门观察科学。它存在暴露和反应的时间差问题，有可能当