

食品污染物残留的快速检测技术应用综述及展望

张铭润¹, 张燕², 王弘¹, 徐振林¹, 雷洪涛¹, 沈玉栋¹, 孙远明¹, 曾道平³, 杨金易^{1*}

(1. 华南农业大学食品学院 广东省食品质量安全重点实验室农业部农产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 广州 510642; 2. 广东产品质量监督检验研究院, 顺德 528300; 3. 广州万联生物科技有限公司, 广州 510642)

摘要: 近年来, 食品安全问题层出不穷, 食品安全问题正受到人们前所未有的关注。食品中的有害物质严重威胁人类的身体健康, 对其含量进行快速准确分析具有重要意义。快速检测技术比通常的检测技术具有更快的检测速度, 且装置便携、易于实现在线现场检测, 在食品安全分析中发挥了重要作用; 本文简单介绍了快速检测技术在食品污染物残留检测中的运用, 包括检测食品中的农药残留、兽药及饲料添加剂残留、重金属残留、生物性污染物残留等, 对检测方法的优点和不足做了透彻的分析, 并展望其发展方向, 以期为进一步开展食品安全快速分析研究提供参考。

关键词: 食品安全; 污染物残留; 快速检测; 样品前处理

Review and prospect of application of rapid detection technologies on food contamination residues

ZHANG Ming-Run¹, ZHANG Yan², WANG Hong¹, XU Zhen-Lin¹, LEI Hong-Tao¹,
SHEN Yu-Dong¹, SUN Yuan-Ming¹, ZENG Dao-Ping³, YANG Jin-Yi^{1*}

(1. Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment in Agricultural Products Preservation Ministry of Agriculture, Guangdong Provincial Key Laboratory of Food Quality and Safety, College of Food Science, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China; 2. Guangdong Testing Institute for Product Quality Supervision, Shunde 528300, China; 3. Guangzhou Wanlian Biological Technology Co. LTD., Guangzhou 510642, China)

ABSTRACT: In recent years, food safety issues have caused unprecedented attentions by people. The harmful substances in food bring a big threat to human health, so it is important to detect them rapidly. Therefore the rapid detection technologies have grown up faster than those commonly used technologies, and they are easy to implement and online, thus play an important role in food safety analysis. This article introduced the rapid detection technologies in the application of food contaminant residues testing, including detection of pesticide residues in food, veterinary drugs and feed additives residues, heavy metal residues, and biological contaminant

基金项目: 广州市珠江科技新星专项(2013J2200080)、国家星火计划项目(2012GA780001, 2013GA780035)、NSFC-广东联合基金项目(U1301214)、广东省自然科学基金项目(S2013030013338)、教育部博士点基金项目(20114404130002)、广东省科技计划项目(重点专项)(2012A020100002, 2010A032000001-4)、广州市科技企业孵化器发展专项(2012Ss-P204)

Fund: Supported by the Science and Technology Project of Guangzhou City (Zhujiang Xinxing) (2013J2200080), the Natural Spark Program (2012GA780001, 2013GA780035), NSFC-Uion Foundation of Guangzhou(U1301214), National Natual Science Foundation of Guangzhou (S2013030013338), the Ministry of Education Doctoral Foundation(20114404130002), the Science and Technology Project of Guangzhou Province (2012A020100002, 2010A032000001-4), and the Science and Technology Business Incubator Development Progress of Guangzhou (2012Ss-P204)

*通讯作者: 杨金易, 博士, 讲师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: yjy361@163.com

*Corresponding author: YANG Jin-Yi, Ph.D., Lecturer, College of Food Science, south China Agriculture University, Guangzhou 510642, China. E-mail: yjy361@163.com

residues. The advantages and disadvantages of testing method, and prospects of the development direction were also reviewed in order to provide a reference for further research on food safety.

KEY WORDS: food safety; contamination residue; rapid detection; sample preparation

1 引言

近年来食品安全事件频发,食品安全和人体健康问题越来越引起人们的重视,各类有害物残留的检测问题也颇受关注,研究快速检测技术显得尤为重要^[1]。目前,制约着食品安全快速检测技术发展的两个瓶颈问题是样品前处理效率低和快速检测技术不够完善^[2]。要实现食品安全这一目标,需要多种能够满足不同污染物检测的准确、方便、快速、灵敏的快速检测技术,对于基质比较复杂的样品,制约食品污染物快速检测的关键问题是样品前处理,不仅要尽可能完全地提取待测组分,还要尽量除去同时存在的其他杂质物质,避免杂质对检测的干扰,需要开发一些简单有效、省时、省力的前处理方法;因此,完善快速检测技术的同时建立高效的样品前处理方法迫在眉睫。

现有快速检测技术受方法本身的局限或缺乏有效样品前处理技术等局限性,给实际推广应用带来不便。积极探讨各种先进的检测技术和前处理方法,发展能够同时实现高效前处理和灵敏的快速分析技术,以满足当今食品安全分析的迫切需求。

2 快速检测技术在食品污染物检测中的应用

2.1 食品中农药残留的快速检测

目前主要的农药残留污染物包括有机磷类、有机氯类、拟除虫菊酯类、氨基甲酸酯类、苯氧羧酸类、硫代氨基甲酸酯类、二硫代氨基甲酸酯类、植物生长调节剂类、沙蚕毒素类、有机锡类等。国内外要求食品和环境中药残留限量越来越低,对检测技术的要求越来越高,快速检测技术将向着简单、快速、灵敏、多残留、低成本和易推广的方向发展。

2.1.1 快速检测技术在农药残留检测中的实际应用

Kim 等^[3]合成了甲基对硫磷的半抗原,并与载体蛋白偶联合成了人工抗原,然后通过免疫的方法制备了其单克隆抗体;万宇平等^[4]在筛选甲基对硫磷单克隆抗体的基础上,建立酶联免疫检测方法,研制出检测苹果、玉米、蔬菜中甲基对硫磷残留的试剂盒,该试剂盒的灵敏度为 0.5 $\mu\text{g/L}$,变异系数为 7.40%~13.00%;Johnson 等^[5]通过一组相似结构的半抗原的免疫反应得到的抗体进行 ELISA 对比试验,得出同类半抗原的不同链长、P 上连接的 U 或 S 都会影响得到的抗体的性质,从而影响对不同农药的特异性吸附。Manclus 等^[6]在对毒死蜱进行 ELISA 检测实验中利用两种类似结构的半抗原产生的抗体来对毒死蜱进行检测,

得到不同的标准曲线。李世杰等^[7]建立了比色法测定蔬菜中乐果残留量的方法,方法的日内精密度(RSD)在 5.2%~8.3%,氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类、有机氯类等农药不干扰测定。黄花斌等^[8]研制了一套快速检测装置,成功实现几种茶叶中二硫代氨基甲酸酯类农药的检测,加标回收率均超 85%。该快速检测方法操作简便、成本低,利于在基层和企业实验室推广应用。

在农药残留速测法检测中目标物一般用简单的表面冲洗法提取^[9],然而吸着在作物表面的农药往往只是一小部分,因此简单的冲洗法很难满足当前速测技术要求,在这种技术背景下现有酶抑制法速测技术测定蔬菜、水果样品需要对提取方法加以改进,如葱、蒜、萝卜、韭菜、芹菜、香菜、茼蒿、蘑菇及番茄汁液中,含有对酶有影响的植物次生物质,容易产生假阳性,处理这类样品时,可采取整株(体)蔬菜浸提。减少色素的干扰,减少假阳性的产生^[10-11]。也可研究采用新型的前处理技术,如分子印迹技术。于海宁等^[12]以乐果为模板分子,采用本体聚合法按不同配比制备了乐果分子印迹聚合物,合成的分子印迹聚合物对乐果具有特异性吸附能力;作为固相萃取的填充材料,分子印迹聚合物在提取和富集乐果方而有一定的优势,在实际样品前处理过程中有很好的应用前景。目前我国茶叶生产中仍有滥用农药的现象,有机氯农药是可致癌物质,严重危害人类健康^[13]。应用分子印迹固相萃取对茶叶提取物进行分离纯化,对于实现茶叶中的有机氯中的快速、高选择性分析具有较好的应用价值。

2.1.2 传统农药残留快速检测技术的优点和存在的不足,简单归纳如表 1 所示。

2.2 兽药及饲料添加剂残留的快速检测

目前兽药残留主要包括抗生素类、磺胺类、呋喃药类、抗球虫药、激素药类、镇静剂类、生长促进剂类以及蛋白同化激素等多个种类。检测上表现出产品种类繁多、样品基质复杂;需要检测的有毒有害目标物种类和组分较多;目标物含量极低,多是痕量或超痕量水平等特点。目前在饲养畜产品过程中一般会添加固醇类激素如性激素、催乳素等,促进生长的激素和增加蛋白质含量的激素如瘦肉精等。

兽药及饲料添加剂残留快速检测技术的主流方法是免疫检测方法,受体分析方法因其可以对一类药物进行多残留检测,具有专一性较强、灵敏度高、自动化程度高等优点,根据标记和检测手段的不同对受体分析法进行分类,包括放射免疫受体分析法、酶标记受体分析法、胶体金标

表 1 快速检测技术在农药残留检测应用中的优点和不足
Table 1 The advantages and disadvantages of the application of rapid detection technology in detection of pesticide residues

方法	原理	优点	缺点	研究途径及方法	文献
活体检测法	有毒化合物减弱发光细菌体内的荧光强度与毒物的浓度呈一定的线性相关关系	操作简单、方便、快速、低成本	不能准确测定农药品种, 不能精确定量分析, 易出现假阳性或假阴性, 难以找到对照样品。	敏感昆虫击倒率与分析样品中农药残留程度的相应关系及其检出标准的确立, 有待于今后的进一步研究。	[14]
酶抑制—比色法	农药对胆碱酯酶催化水解有抑制作用, 其抑制率与农药的浓度呈正相关。酶抑制产生显色反应, 通过分光光度计比色测定	该法快速、简便、灵敏及成本低等优点	检测结果专一性、准确率、可比性等问题; 测定样品和农药种类有限, 灵敏度、重复性、回收率有待提高。	制造出新一代速测卡和速测仪, 对简单冲洗前处理方法加以改进, 减少假阳性的产生, 在工作中根据实际情况, 选用合适的样品前处理方法。	[15-17]
生物传感器	以生物物质作为识别元件, 将生化反应转变成可定量的物理、化学信号, 从而能够进行生命物质和化学物质检测和监控	灵敏度高、选择性好和检出限低、分析操作简单;	传感器技术目前均处于研究和应用阶段, 并未广泛推广使用。	除了可使用酶、抗体(抗原)、全细胞(微生物/组织)、DNA 作为生物传感器的识别元件之外, 分子印迹聚合物(MIP)和寡核苷酸适配子也会陆续被用作农药检测用途生物传感器的识别元件。	[18]
便携式快速检测仪	通过被测物质与显色剂的反应产物在可见光区吸收光谱的特性来定性鉴别被测物质, 通过 Beer 定律来定量	体积小、便于携带、适于现场分析	灵敏度低, 易受食品色素干扰严重, 样品前处理手段繁琐等问题限制了其在食品安全分析中的进一步应用。	制备可长期保存的固体样品前处理试剂包和固体格氏试剂包, 自制配套的样品快速前处理设备。	[19]
免疫检测法	免疫分析法是利用抗原与抗体特异性结合反应检测各种物质的分析方法。	重复性较好, 灵敏度高	复杂基质中农药提取方法还比较繁琐, 而且回收率也不理想, 制备抗体困难, 易产生交叉反应。缺乏共用试剂以及不适于多残留分析。	应在酶联免疫吸附试剂盒商业开发上加大投入力度, 开发具有广谱特异性的抗体来制备多残留检测试剂盒。	[20-22]

记受体分析法、酶比色法和结合生物传感器的受体分析法。

2.2.1 快速检测技术在兽药残留检测中的应用

Cacciatore 等^[23]开发了表面等离子体共振生物传感器 (SPR)来检测牛乳中阶内酰胺类抗生素残留, 此方法还用于对青霉素 G 的检测, 检测限为 4 μg/kg。朱国念等^[24]建立了水样中克百威残留的放射免疫分析方法(RIA),与传统的分析方法相比,前处理简单,灵敏度更高。研究结果表明,该方法的检出限为 0.175 ng/mL, 用放射免疫测定法与高效液相色谱法检测相同水样中克百威的残留,两者的线性相关系数为 0.9985。魏泉德等^[25]成功建立了基于适配分子的 Dot-ELISA 检测氯霉素残留的方法,可以快速检测牛奶等食品中的氯霉素残留,检测灵敏度达 10⁻⁷ g/L。且具有灵敏性高、特异性强等特点,可作为抗生素残留筛查的较好选择,有广阔的应用前景。王权等^[26]用莱克多巴胺-戊二酸单脂与 BSA 偶联物作免疫原成功地研制了针对莱克多巴胺的特异性抗体,以单抗为基础建立了检测猪尿、猪肉中莱克多巴胺化学发光间接竞争免疫分析法,为进一步研制快速筛选检测试剂盒奠定了基础。

我们在实际检测及研究工作中发现,利用商品化酶联免疫试剂盒研究水产品中孔雀石绿的检测效果,结果表明,样本基质组分的存在会导致检测结果产生显著的偏差,

导致此类快检方法在实际推广应用中受到极大限制^[27]。这一问题也广泛存在于其他类药物的检测实践中,如鱼类等水产品中所含有的部分蛋白质,是导致氟喹诺酮、磺胺类等抗生素、人工合成激素残留酶联免疫检测中基质干扰的主要因素之一,水产样本的基质干扰来源复杂,除了蛋白质的影响之外,仍然可能存在其他的干扰来源,如某些离子、脂肪酸、其他组分等,这尚需进一步探讨研究^[28]。

在兽药残留分析中, QuEChERS 主要用于牛奶、动物源性食品肌肉或肝脏组织中磺胺类、喹诺酮类、苯并咪唑类等兽药的分析。QuEChERS 以其独特的操作流程,以及快速、方便、易操作、成本低廉等优点,逐渐成为各个实验室的必选前处理方法。QuEChERS 对于高蛋白和基质更复杂的样品如牛奶、肝脏等的应用还比较有限,所测试的药物也较有限。因此,开发新型的萃取剂和净化剂,扩大样品前处理的范围, QuEChERS 必将在兽药残留领域得到更广泛的应用^[29]。基于磁性材料的分离技术是近年来国内外研究的一个热点,磁性固相萃取技术(MSPE)作为固相萃取(SPE)的一种新型模式,以其超顺磁性和选择吸附性,在分离科学领域展现出了强大的优势。

2.2.2 快速检测技术在检测兽药残留的实际应用过程中仍然存在问题,简单归纳如表 2 所示。

表 2 快速检测技术在兽药残留检测应用中的优点和不足
Table 2 The advantages and disadvantages of the application of rapid detection technology in drug residue

方法	原理	优点	缺点	研究途径及方法	文献
放射免疫法 (RIA)	利用放射性核素标记抗原或抗体，然后与被测的抗体或抗原结合，形成抗原抗体复合物的原理来进行分析	灵敏度高、特异性强、简单快速、成本低，此法样品前处理方法简便	RIA 标记物具有放射性污染且易衰变、不便于携带、难以实现操作和测量的自动化，操作人员需要接触放射性物质，会损害操作人员的身体，同时测定完成后放射性材料的处置也是个严重的问题。	研究采用无毒性的放射性同位素作为标记物	[30]
酶联免疫试剂盒	利用抗原与抗体特异性结合反应检测	可同时处理大量样品，取样量少、特异性好、灵敏度高、实用性强	ELISA 法中酶的活性易受反应条件影响，盐离子浓度、pH 值、金属离子等影响 ELISA 检测结果，提取过程中出现的乳化现象易使检测结果出现假阳性，存在基质干扰和线性范围不宽等缺陷。	研究灵敏度高，多残留测定的酶联免疫试剂盒，开发亲和力高、特异性强或类兽药广谱抗体	[31-32]
免疫胶体金快速检测技术	借助固载纤维的毛细管作用，使待测物沿膜表面运动与检测区标记物结合显色，从而实现待测物的检测	可用肉眼直接判断结果快速简单、成本低、无污染等优点，用于大量样品的筛选	但由于基质干扰容易出现假阴性与假阳性结果，一般只能完成定性或半定量检测，不能准确定量。	新型纳米材料包括量子点、荧光微球、上转换磷光纳米粒子、纳米磁珠等可用于标记物的改进，减少本底干扰，增加灵敏度	[33]
生物传感器技术	通过各种转换器捕捉目标物与敏感基元之间的反应，然后将其转换成连续或离散的电信号或光信号，再经电子仪器对这些信号处理	便于实现自动化及现场检测	生物传感器的稳定性、灵敏性、重现性和使用寿命等诸多因素的限制，再加上样品的成分复杂且差异较大，在实际应用上还有许多局限。	克服元件的易变性，增加稳定性，实现生物传感器的微型化、多功能化，生产低成本、高灵敏度、稳定性好和寿命长的多残留同时分析的生物传感器	[34]

2.3 重金属的痕量和超痕量残留的快速检测

食品中有毒有害微量元素常见的有砷、汞、镉、铅、锌、铜、铬、钡、锑等元素。环境导致的重金属污染很难处理，食品中铅汞镉等重金属超标严重，来源很难控制，不易消除且周期长等，如何实现快速有效检测重金属污染物是当前面临的一大难题。

重金属残留快速检测方法以酶抑制检测技术、比色法、电化学方法、传感器免疫分析技术研究最多；样品的分离纯化以免疫亲和色谱技术、分子印迹技术、基质固相分散技术为主。

2.3.1 快速检测技术在重金属检测的实际应用

祝波等^[35]用二苯碳酰二肼试纸对海鲜产品中的汞离子进行测定，在 pH 7.5~8.0 的条件下，回收率为 90%~100%，最低检出浓度为 1 μg/mL，且性质稳定，且重现性良好。此外，还有检测管法和试剂盒法。鲍军方等^[36]利用 Hg²⁺的核酸适体修饰纳米金形成探针建立了一种定量检测 Hg²⁺离子的方法。Hg²⁺适体吸附在纳米金表面，使纳米金的稳定性增强，抑制氯化钠对纳米金的团聚作用。溶液中有 Hg²⁺离子存在时，由于适体与纳米金的吸附作用小于适体与 Hg²⁺离子的亲和作用，纳米金失去适体保护在氯化钠作用下发生团聚。溶液颜色由红变蓝，紫外-可见光谱最

大吸收峰由 520 nm 红移至 620 nm。在优化条件下，吸光度的比值(A₆₂₀/A₅₂₀)与 Hg²⁺离子浓度在 5.0×10⁻⁹~7.2×10⁻⁷ mol/L 范围内呈线性关系，检测限可达 3.3×10⁻¹⁰ mol/L。研究了 K⁺、Ca²⁺等常见离子的干扰，结果表明该方法具有良好的选择性。张鹏幸等^[37]将含有 HA 标签的萤火虫荧光素酶(LUC)基因重组到含有四膜虫金属硫蛋白 MTT1 启动子和微管蛋白终止子序列的载体 pBX 中，获得重组质粒 pBX-LUC，用基因枪粒子轰击法将 pBX-LUC 转化入四膜虫细胞中，通过同源重组和巴龙霉素抗性筛选，LUC 基因整合到四膜虫大核基因组 MTT1 位点，获得含有 LUC 基因的细胞株 B2086-LUC。B2086-LUC 对重金属镉和汞的响应敏感，可检测的最低浓度为 5~10 ng/mL；对铜和锌的响应较弱，可检测的最低浓度为 0.5~1 mg/mL。因此，四膜虫 B2086-LUC 可作为环境中镉和汞污染快速检测的全细胞生物传感器，具有重要的开创意义。

在实际样品检测中，目前主要集中在环境如水样和液体样品的快速检测方面，相对于水质样品，食品等固体样品中重金属污染物的提取较难，因为重金属大多存在于食品组分当中，无法通过表面洗涤或简单浸泡进行提取，因此需要通过研究确定相应的提取方法，简化提取步骤，并提高目标物质的提取率。与传统检测法相比，重

金属快速检测法在稳定性及检测结果的重现性方面不尽理想, 需要充分考虑检测过程中的干扰因素, 并对检测方法加以改进。

2.3.2 快速检测技术在重金属残留检测应用中的优点和存在不足, 简单归纳如表 3 所示。

2.4 生物性污染物残留的快速检测

近年来发展起来的免疫学方法及分子生物学方法广泛应用于食源性致病菌、微生物和转基因食品的检测; 生物性污染物快速技术的研究瓶颈问题: 一是如何分离和富集食品样品中的待测生物性污染物; 二是如何提高检测的速度和准确性, 同时检测多目标生物性污染物。加强对食品中食源性致病菌、有害微生物和转基因食品等的鉴定筛选和准确的定量分析具有重要意义。

2.4.1 快速检测技术在生物性污染物检测的实际应用

史艳宇等^[45]建立食品中空肠弯曲菌的聚合酶链式反应-酶联免疫吸附分析法(PCR-ELISA)。该方法特异性强、灵敏度高(比 PCR 高 10 倍), 可以快速、准确检测食品中污染的空肠弯曲菌。传统的检测方法费时繁琐, 需 4~7d 才能完成, 因此 PCR 技术成为沙门氏菌检测研究的热点。钟伟军等^[46]根据编码鼠伤寒沙门氏菌肠毒素 stn 基因的核苷酸序列设计 1 对引物和荧光探针, 建立了荧光定量 PCR 快速检测食品中沙门氏菌的方法, 具有较高的特异性和敏感性。杨林等^[47]根据猪流感病毒(SIV)的 M 基因序列设计了 1 对特异性引物 M1/M2, 针对扩增片段设计合成寡核苷酸探针, 用荧光素 Cy3 标记反向引物的 5'端, 将荧光标记 PCR 产物与芯片杂交, 建立检测 SIV 的基因芯片方法。

表 3 快速检测技术在重金属残留检测应用中的优点和不足
Table 3 The advantages and disadvantages of the application of rapid detection technology in heavy metal residues

方法	原理	优点	缺点	研究途径及法	文献
酶联免疫法	抗原和抗体特异性结合反应检测	具有灵敏度高、特异性强、操作简单、耗时短的特点, 能实现大量筛选	出现假阳性的概率较大, 易引起误判, 免疫原性弱、存在交叉反应	研制金属双功能螯合剂, 制备特异性强、效价高的单抗; 研制新型传感器用于复杂基质中重金属的检测	[38]
便携式重金属残留测量仪	其采用高亮发光二极管作为光源, 以硅光电池作为光电传感器, 可以测量蔬菜水果中的重金属残留物	仪器的外形小巧、携带方便、操作简单、方便快捷, 测量重复性和准确度高	便携式仪器的单色光源数量有限, 所以必须根据现有光源的波长, 从已有的分析方法中筛选合适的化学试剂包	根据现场快速分析的特点及便携式的要求, 对现有的分析体系进行改进, 使化学试剂包在满足测量准确度的情况下, 还具有性质稳定、易于保存、携带方便、使用简便等特点	[39]
酶抑制检测技术	进入生物体内的重金属离子与体内某些酶的活性中心具有特别强的亲和力, 使酶失去活性。	快速、简便、甚至可用于环境样品(尤其是水样)的现场检测等特点, 已日趋成为相关领域的研究热点	重金属种类多, 不易找到对多种金属都敏感且重复性好, 用一种酶只能检测一种金属, 很难达到快速检测目的, 另外目标物质的提取率低、干扰性大等	简化提取步骤并提高目标物质的提取率, 产品化方向发展。	[40]
试纸法	利用迅速产生明显颜色的反应检测重金属离子浓度	方法具有较高的灵敏度、成本低、操作简单、使用和携带方便等优点	难以准确定量, 试纸上能够固定的试剂量有限	将试纸显色与光度检测计结合进行准确定量方法的研究	[41]
生物化学传感器法	利用生物识别物质与待测物质结合或通过化学反应以选择性方式对特定的待分析物质产生响应, 通过信号转换器转变为可输出的光、电等信号	高选择性、高灵敏度、高稳定性、低成本、能在复杂的体系中进行快速在线监测的特点	传统的生物化学传感器制作工艺困难, 成本相对较高	未来传感器技术将向着便携、自动化的方向发展 电化学生物传感器的精确度、选择性和稳定性等参数还需要进一步提高	[42-43]
纳米金比色法	金纳米颗粒表面的功能化基团与检测的目标能够发生配位聚集引起其吸收峰的变宽和位移, 并产生了比色响应, 溶液颜色变化	特异性强、灵敏度高、无需配套仪器、操作简便等一系列优点	应用方向不够明确、以及实际样品采集困难等一系列问题	将纳米金比色检测技术不断完善并与实际应用紧密结合	[44]

对于农产品、食品中转基因成分的快速定量检测显得日趋重要,魏霜等^[48]以水稻内源基因 SPS、外源抗虫基因 Cry1Ab、外源抗虫基因 Cry1Ab/Ac、外源抗虫基因 Btc、报告基因 GUS、NOS 终止子和 CaMV35S 启动子为检测对象,设计 7 对引物,通过优化 PCR 扩增体系中不同引物浓度的配比及退火温度,建立水稻转基因成分的七重 PCR 检测体系。体系能有效检测出水稻及其他作物(大豆、玉米、棉花籽、菜籽粕)中的转基因成分,检测过程简便、特异性好。

在食用植物油转基因快速检测应用中由于食用油经过复杂的加工环节,DNA 降解和破坏极其严重,给转基因检测带来了极大的困难,检测中容易出现假阴性;通过改进 DNA 提取方法、针对内源基因设计质控引物、控制扩增片段长度、使用不同检测技术等方法,排除假阴性并提高了检测灵敏度,使植物油转基因成分的核酸检测技术日趋成熟。目前,国际上仍然没有建立统一的植物油转基因

检测方法,这是一个亟待解决的问题;而对食用植物油转基因成分的定量检测则是未来检测的另一个方向。

2.4.2 快速检测技术在生物性污染物检测的实际应用中的优点和存在不足,简单归纳如表 4 所示。

3 展 望

(1) 随着分子生物技术、基金重组技术、噬菌体展示技术的飞速发展,建立灵敏度更高、重现性更好的快速检测方法,免疫分析技术会以其自身的绝对优势不断进行完善,将在食品污染物残留快速检测方面发挥越来越重要的作用。

(2) 研究开发出更多种新型前处理技术应用到复杂食品基质的前处理中,以进一步扩展新型前处理技术在食品安全检测领域的应用范围,简化复杂基质的样品前处理步骤,提高检测效率,从而保障人类的食品安全。开发新型的

表 4 快速检测技术在生物性污染物检测的实际应用中的优点和不足
Table 4 The advantages and disadvantages of the application of rapid detection technology in biological pollutants

方法	优点	缺点	研究途径及方法	文献
基因芯片技术	高通量,特异性强,灵敏度高	缺乏可信的标准,结果的准确性和重复性也没有保障	结合半导体技术、纳米技术和生物发光技术提高其灵敏度;提高生物芯片微阵列的密度	[49-50]
PCR 及其衍生技术	操作安全、简便快速、灵敏度高、特异性强	致病菌检测鉴定过程中依赖于核糖体 RNA 基因、依赖于蛋白质基因和依赖于重复序列基因	目前任何一种 PCR 方法都不能一次性检测鉴定出所有的致病菌,因此,更新的技术仍有待于进一步研究。	[51]
电阻抗法	敏感性高、反应性快、特异性强、重复性好、劳动强度低	国内相关的技术还未得到普及,阻抗仪的开发、相应图谱的建立还需要一段时间	加快研发适于我国食品检测使用的阻抗仪器,建立高质量的标准曲线	[52]
ATP 生物发光法	简便、灵敏度高、可实时检测	微生物数量、非微生物 ATP、ATP 提取剂、pH、温度、色素等诸多因素影响 ATP 生物发光法。	将免疫磁分离技术应用于 ATP 生物发光法,二者结合使灵敏度大大提高	[53]
免疫检测技术	特异性和灵敏度高	在啤酒有害微生物检测方面,免疫检测技术的应用进展还很慢	选择一些同细胞表面容易吸附的抗体,消除抗体同其他物质间的交叉反应,这样一来可以不需要进行微生物的预培养,从而显著减少检测时间	[54]
噬菌体识别的检测技术	方便、快速、高度特异性	噬菌体一般宿主谱较窄,往往只对细菌某种血清型或分离株有特异性,目前还属于初级实验性研究	将多种噬菌体检测方法联合使用或与其他分子生物学技术、电子传感器技术、免疫学技术、质谱技术等结合达到更灵敏,更快速,更好的检测效果	[55]
微生物检测纸片	成本低、操作简单,	但这种检测方法检出限和保存性等方而培养一定的局限性,这种检测方法只适合做食品的首筛检测。	美国 3M 公司生产的 PF(Petriilm)试纸还加入了染色剂、显色剂,增强了效果,而且避免了热琼脂法不适宜受损细菌恢复的缺陷	[56]
磁免疫分离技术	免疫磁性分离技术可以达到快速分离的目的	目前还存在一定的局限,比如价格昂贵,且易出现交叉反应等情况,因此需要其他技术手段辅助检测。	免疫磁性分离技术与 PCR 技术相结合,简便、快速和特异性增强	[57]

纳米材料, 分子印迹材料(模板分子、功能单体、交联剂、起泡剂)和制备具有高选择性和结合能力的分子印迹聚合物(如水环境中农药分子印迹聚合物、拆分手性农药的印迹聚合物和农药分子印迹人工酶等)具有重要的意义。将高效的样品前处理技术与快检技术联用, 有效地降低食品基体的干扰, 提高待测试样中目标物的浓度, 是发展选择性好、准确度高、可量化的食品安全快速检测新技术的关键。如何建立简单、快速、可靠的快速检测方法, 仍需开展更深入的研究。

参考文献

- [1] 袁纯阳. 浅谈我国食品质量安全现状及全面质量管理对策[J]. 科技创新与应用, 2014, 17: 256.
- Yuan CC. Introduction of food quality and safety in our country present situation and the comprehensive quality management countermeasures [J]. Technol Innov Appl, 2014, 17: 256.
- [2] 黄怡淳, 丁炜炜, 张卓旻, 等. 食品安全分析样品前处理-快速检测联用方法研究进展[J]. 色谱, 2013, (7): 24–30.
- Huang YC, Ding WW, Zhang ZH, *et al*. Development of sample pretreatment techniques-rapid detection coupling methods for food security analysis[J]. Chin J Chromatogr, 2013, (7): 24–30.
- [3] Kim MJ, Lee HS, Chung DH, *et al*. Synthesis of haptens of organophosphorus pesticides and development of enzyme-linked immunosorbent assays for parathion-methyl [J]. Anal Chim Acta, 2003, 493(1): 47–62.
- [4] 万宇平, 孙震, 冯静, 等. 甲基对硫磷残留酶联免疫检测试剂盒的研制[J]. 湖北农业科学, 2013, (5): 1154–1158.
- Wan YP, Sun Z, Feng J, *et al*. Development of an Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for Detecting of Parathion-methyl Residues [J]. Hubei Agric Sci, 2013, (5): 1154–1158.
- [5] Johnson JC, Van Emon JM, Pullman DR, *et al*. Development and evaluation of antisera for detection of the O,O-diethyl phosphorothionate and phosphorothiothiolate organophosphorus pesticides by immunoassay [J]. J Agric Food Chem, 1998, 46: 3116–3123.
- [6] Mancus JJ, Primo J, Montoya A. Development of enzyme-linked immunosorbent assays for the insecticide chlorpyrifos. I. Monoclonal antibody production and immunoassay design [J]. J Agric Food Chem, 1996, 44(12): 4052–4062.
- [7] 李世杰, 付韬, 郑雯. 比色法测定蔬菜中乐果残留量[J]. 预防医学情报杂志, 2012, (11): 927–928.
- Li SJ, Fu T, Zheng W. Colorimetric Method to Detect Residual Dimethoate in Vegetables[J]. J Prev Med Inform, 2012, (11): 927–928.
- [8] 黄华斌, 吕靖, 何少贵, 等. 茶叶中二硫代氨基甲酸酯类农药残留的快速检测装置[J]. 化学工程与装备, 2014, (1): 158–160.
- Huang HB, Lv J, He SJ, *et al*. Dithiocarbamate esters in tea pesticide residues of rapid detection device [J]. Chem Eng Equ, 2014, (1): 158–160.
- [9] 王海凤, 王俊斌, 何新益, 等. 浸洗方式对几种蔬菜中甲拌磷残留的去除效果研究[J]. 食品与机械, 2013, (4): 76–78.
- Wang HF, Wang JB, He XY, *et al*. Removal of phorate residue in several vegetables by different washing methods[J]. Food Mach, 2013, (4): 76–78.
- [10] Wang MT, Mu J, Wu J, *et al*. Determination Study of 77 Organophosphorus and Carbamate Pesticide Residue in Fruits and Vegetables[J]. Food Sci, 2007, 28(3): 247–253.
- [11] 田丽梅. 蔬菜农药残留快速检测技术[J]. 吉林蔬菜, 2013, (5): 38.
- Tian LM. Vegetable rapid detection technology of pesticide residue [J]. Jilin Veg, 2013, (5): 38.
- [12] 于海宁, 华川庐, 沈生荣, 等. 分子印迹技术应用于测定乐果残留量的新方法[J]. 浙江工业大学学报, 2013, (5): 27–31.
- Yu HN, Hua CL, Shen SR, *et al*. New method for determination of residues of dimethoate by using molecularly imprinted techniques[J]. J Zhejiang Univ Technol, 2013, (5): 27–31.
- [13] 胡明燕, 车明秀, 郑芳燕, 等. 茶叶中有机氯农药的分析技术研究进展[J]. 安徽农业科学, 2013, (24): 9962–9963, 10011.
- Hu MY, Che MX, Zheng FY, *et al*. Progresses on the Pretreatment Techniques of Organochlorine Pesticide Residues Analysis in Tea Samples [J]. J Anhui Agric Sci, 2013, (24): 9962–9963, 10011.
- [14] 朱华, 宋航, 边阔. 活体生物在农药残留快速检测中的研究应用[J]. 上海化工, 2012, (4): 32–34.
- Hu MY, Song H, Bian K. Research and Application of Living Organisms in Pesticide Residue Rapid Detection [J]. Shanghai Chem Ind, 2012, (4): 32–34.
- [15] Wu WH. Rapid detection of pesticide residues in fruits and vegetables is analysed [J]. Agric Sci Technol Inform, 2013, (15): 26–28.
- [16] 易涛, 赵明明, 路磊, 等. 酶试剂法快速检测常用农药残留的比较研究[J]. 湖北农业科学, 2012, (21): 186–188.
- Yi T, Zhao MM, Lu L, *et al*. Enzyme reagent method for rapid detection of pesticide residues on commonly used comparative study [J]. Hubei Agric Sci, 2012, (21): 186–188.
- [17] 杜美红, 孙永军, 汪雨, 等. 酶抑制-比色法在农药残留快速检测中的研究进展[J]. 食品科学, 2010, (17): 471–475.
- Du MH, Sun YJ, Wang Y, *et al*. Advances in the Application of Enzyme Inhibition Colorimetric Assay to the Rapid Detection of Pesticide Residues [J]. Food Sci, 2010, (17): 471–475.
- [18] Huang KL, Wu R, Wei SM, *et al*. The Research Development of Bio-Sensor for Testing Pesticide Residue [J]. Enterp Sci Technol Dev, 2009, 22: 19–23.
- [19] 句立言, 王世平, 王勇. 食品安全快速检测技术应用进展[J]. 中国卫生工程学, 2011, (2): 79–82, 84.
- Ju LY, Wang SP, Wang Y, *et al*. Food safety rapid detection technology application progress[J]. Chin J Public Health Eng, 2011, (2): 79–82, 84.
- [20] 金晓辉. 浅谈农药残留速测法的实验室内部质量控制[J]. 科技视界, 2014, (2): 328–329.
- Jin XH. Introduction to pesticide residue method of measuring the laboratory internal quality control [J]. Sci Technol Vision, 2014, (2): 328–329.
- [21] 郝俊红, 张亚斌. 农村生态环境污染快速检测技术研究及应用[J]. 小城镇建设, 2011, (7): 80–82.
- He JH, Zhang YB. Rural ecological environment pollution rapid detection technology research and application [J]. Construction of Small Towns, 2011, (7): 80–82.
- [22] 朱赫, 纪明山. 农药残留快速检测技术的最新进展[J]. 中国农学通报, 2014, 04: 242–250.
- Zhu H, Ji MS. Recent Advances in Rapid Detection Technology of Pesticide Residue [J]. Chin Agric Sci Bull, 2014, 04: 242–250.
- [23] Cacciatore G, Petz M, Rachid S, *et al*. Development of an optical biosen-

- for assay for detection of beta-lactam antibiotics in milk using the penicillin-binding protein 2x [J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 520(1-2): 105-115.
- [24] 朱国念, 吴慧明, 杨挺, 等. 利用放射免疫法测定水中克百威的研究[J]. *核农学报*, 2004, 06: 485-488.
- Zhu GN, Wu HM, Yang T, *et al.* Determination of carbofuran in water by radioimmunoassay [J]. *Acta Agric Nucleatae Sinica*, 2004, 06:485-488.
- [25] 魏泉德, 林毅雄, 沈韧, 等. 基于适配分子及 Dot-ELISA 快速检测氯霉素残留[J]. *中国卫生检验杂志*, 2013, 05: 1158-1160.
- Wei QD, Lin YX, Shen R, *et al.* Detection of chloromycetin residue by aptamer based Dot-ELISA method [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2013, 05: 1158-1160.
- [26] 王权, 赵新宇, 蒋蔚, 等. 检测猪尿、猪肉中莱克多巴胺的化学发光间接竞争免疫分析方法的建立[J]. *畜牧与兽医*, 2013, 03: 17-21.
- Wang Q, Zhao XY, Jiang W, *et al.* Development of an indirect competitive chemiluminescence immunoassay for determining ractopamine residues in swine meat and urine [J]. *Animal Husbandry Vet Med*, 2013, 03:17-21.
- [27] 赵春城, 刘一军, 徐帮兴, 等. 水产品中无色孔雀石绿胶体金免疫层析法检测[J]. *中国公共卫生*, 2009, (7): 788-789.
- Zhao CC, Liu YJ, *et al.* Colorless malachite green in aquatic products colloidal gold immune chromatography test [J]. *Chin J Public Health*, 2009, (7): 788-789.
- [28] 吕芳, 徐锐, 林洪, 等. 水产品中孔雀石绿残留酶联免疫检测的基质干扰及消除方法[J]. *中国渔业质量与标准*, 2013, (1): 59-64.
- Lv F, Xu R, Lin H, *et al.* Enzyme-linked immunoassay of malachite green in aquatic products: elimination source of matrix interference and elimination strategy [J]. *Chin Fishery Qual Standard*, 2013, (1): 59-64.
- [29] 曲斌. QuEChERS 在动物源性食品兽药残留检测中的研究进展[J]. *食品科学*, 2013, (5): 327-331.
- Qu B. Advances in Application of QuEChERS for Detection of Veterinary Drug Residues in Animal-Derived Foods [J]. *Food Sci*, 2013, (5): 327-331.
- [30] 李佐卿, 倪梅林, 章再婷. 鱼肉和鸡肉中磺胺类药物残留的放射免疫测定[J]. *中国卫生检验杂志*, 2005, 6(15): 709-710.
- Li ZQ, Ni ML, Zhang ZT. Detection of sulfonamides residues in fish and chicken by radiation immunoassay [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2005, 6(15): 709-710.
- [32] 韩春卉, 江涛, 李燕俊, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 酶联免疫试剂盒稳定性研究[J]. *食品科学*, 2013, 14: 315-318.
- Han CF, Jiang T, Li YJ, *et al.* Stability of Aflatoxin B₁ ELISA Kit [J]. *Food Sci*, 2013, 14: 315-318.
- [33] 马寅生, 万宇平, 刘清琨, 等. 一种快速检测氟喹诺酮类药物的胶体金试纸卡——配合胶体金试纸卡读数仪使用[J]. *生物技术通报*, 2013, (6): 226-231.
- Ma YS, Wan YP, Liu QJ, *et al.* Gold Immunochromatography Assay for Rapid Detection of Fluoroquinolones-Being Used with a Readout Instrument of Colloidal Gold Test Paper Card Together [J]. *Biotechnol Bull*, 2013, (6): 226-231.
- [34] Lu X, Zheng H, Li X, *et al.* Detection of ractopamine residues in pork by surface plasmon resonance-based biosensor inhibition immunoassay [J]. *Food Chem*, 2012, (4): 1061-1065.
- [35] 祝波, 周杰华, 杨钊, 等. 鲜活海产品中重金属汞的试纸法快速检测研究[J]. *中国海洋药物*, 2011, 30(4): 49-54.
- Zhu B, Zhou JH, Yang Z, *et al.* Study on rapid-detection of heavy metal mercury in fresh and lively seafood by test paper [J]. *Chin J Mar Drugs*, 2011, 30(4): 49-54.
- [36] 鲍军方, 何鹏, 于锡娟, 等. 纳米金探针检测 Hg²⁺ 离子[J]. *化学学报*, 2009, 18: 2139-2143.
- Bao JF, He PG, Yu XJ, *et al.* Detection of Hg²⁺ Using Gold Nanoparticle Probes [J]. *Acta Chim Sinica*, 2009, 18: 2139-2143.
- [37] 张鹏幸, 许静, 卢剑功, 等. 含荧光素酶四膜虫 B2086-LUC 全细胞生物传感器的构建及其对重金属离子的响应[J]. *中国环境科学*, 2013, 06: 1075-1080.
- Zhang PX, Xu J, Lu JG, *et al.* Construction of whole cell biosensor Tetrahymena B2086-LUC containing luciferase and its response to heavy metal ion [J]. *China Environ Sci*, 2013, 06: 1075-1080.
- [38] Hang DB, Wang Y, Liu GW, *et al.* Advances in Heavy Metal Immunoassay [J]. *Natural Sci*, 2010, (3): 311-316.
- [39] 仇江海, 周彤, 王文光. 便携式重金属残留测量仪的研制[J]. *中国计量*, 2010, 07: 68-69.
- Qiu JH, Zhou T, Wang WG. The development of the portable heavy metal residue measurement instrument [J]. *China Metrol*, 2010, 07:68-69.
- [40] 谢俊平, 卢新. 酶抑制法快速检测食品中重金属研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2010, (8): 220-224.
- Xie JP, Lu X. Advances on the Technique of Rapid Determination of Heavy Metals by Enzyme Inhibition in the Contaminated Foods [J]. *Food Res Dev*, 2010, (8): 220-224.
- [41] 戚红卷, 陈雯雯, 岳丽君, 等. 纳米金比色法快速检测水中重金属的研究进展[J]. *环境化学*, 2013, (1): 21-28.
- Qie HJ, Chen WW, Yue LJ, *et al.* Nano gold colorimetric method research progress of rapid detection of heavy metals in water [J]. *Environ Chem*, 2013, (1): 21-28.
- [42] 翟慧泉, 金星龙, 岳俊杰, 等. 重金属快速检测方法的研究进展[J]. *湖北农业科学*, 2010, (8): 1995-1998.
- Zhai HQ, Jin XL, Yue JJ, *et al.* Advances in the Methods of Rapid Determination for Heavy Metals [J]. *Hubei Agric Sci*, 2010, (8): 1995-1998.
- [43] 吴立冬, 刘欢, 李晋成, 等. 电化学生物传感器快速检测重金属研究进展[J]. *中国渔业质量与标准*, 2013, (4): 42-48.
- Wu LD, Liu H, Li JC, *et al.* The development of electrochemical biosensors for rapid detection of heavy metals [J]. *Chin Academy Fishery Sci*, 2013, (4): 42-48.
- [44] 吕彩云. 重金属检测方法研究综述[J]. *资源开发与市场*, 2008, (10): 887-890, 898.
- Lv CY. Review on the Detection Methods of Heavy Metals [J]. *Res Dev Market*, 2008, (10): 887-890, 898.
- [45] 史艳宇, 刘金华, 薛力刚, 等. PCR-ELISA 法检测食品中空肠弯曲菌[J]. *食品科学*, 2013, (10): 246-249.
- Shi YY, Liu JH, Xue LG, *et al.* Rapid Detection of *Campylobacter jejuni* in Foods by PCR-ELISA [J]. *Food Sci*, 2013, (10): 246-249.
- [46] 钟伟军, 赵明秋, 邓中平, 等. 荧光定量 PCR 快速检测食品中沙门氏菌方法的建立及初步应用[J]. *中国预防兽医学报*, 2008, (3): 220-224.
- Zhong WJ, Zhao MQ, Deng ZP, *et al.* Establishment and preliminary application of real-time PCR method for detection of *Salmonella* in food [J]. *Chin J Pre Vet Med*, 2008, (3): 220-224.
- [47] 杨林, 马世春, 苏增华, 等. 猪流感病毒基因芯片检测技术的研究[J]. *中国兽医杂志*, 2008, (7): 3-5.
- Yang L, Ma SC, Su ZH, *et al.* Study on diagnostic gene microarray for de-

- tecting swine influenza virus[J]. Chin J Vet Med, 2008, (7): 3–5.
- [48] 魏霜, 陈贞, 芦春斌, 等. 多重 PCR 检测转基因水稻的转基因成分[J]. 食品科学, 2012, (12): 159–162.
- Wei S, Chen Z, Lu CB, *et al.* Multiplex PCR Detection of Transgenic Components of Genetically Modified Rice [J]. Food Sci, 2012, (12): 159–162.
- [49] 顾鸣, 韩伟, 关嵘, 等. 常见食源性致病菌基因芯片鉴定技术[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(11): 1309–1312.
- Gu M, Han W, Guan R, *et al.* A gene chip method for identifying food-borne pathogenic microorganisms [J]. Chin J Health Lab Technol, 2005, (11): 1309–1312
- [50] 谢雪钦. 食品微生物快速检测方法优劣比较[J]. 质量技术监督研究, 2013, (3): 4–9.
- Xie XQ. Rapid detection of food microorganism methods advantages and disadvantages compared [J]. Qual Technical Supervision, 2013, (3): 4–9.
- [51] 王华, 刘斌. PCR 技术在食品微生物检测中的应用[J]. 生物技术通报, 2010, (02): 63–67.
- Wang H, Liu B. Latest Application of PCR Technology in Food Microorganism Inspection[J]. Biotechnol Bull, 2010, (02): 63–67.
- [52] 王贝妮, 尹中, 徐广伟, 等. 阻抗法在微生物快速检测中的应用[J]. 食品科技, 2012, 01: 264–267.
- Wang BN, Yin Z, Xu GW, *et al.* Application of Electrical Impedance Measurement in the Rapid Detection of Food Microorganism[J]. Food Sci Technol, 2012, 01: 264–267.
- [53] 唐倩倩, 叶尊忠, 王剑平, 等. ATP 生物发光法在微生物检验中的应用[J]. 食品科学, 2008, 6: 460–465.
- Tang QQ, Ye ZZ, Wang JP, *et al.* Application of ATP Bioluminescence in Microbial Detection [J]. Food Sci, 2008, 6: 460–465.
- [54] 王树庆. 啤酒生产中污染微生物的快速检测与鉴定技术[J]. 酿酒科技, 2009, (7): 99–103.
- Wang SQ. Rapid Detection & Identification of Spoilage Microbes in Beer Brewing [J]. Liquor-Making Sci Technol, 2009, (7): 99–103.
- [55] 王峰, 潘赢, 王学涛, 等. 食品微生物快速检测技术研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2013, (8): 128–131.
- Wang F, Pan Y, Wang XT, *et al.* Rapid detection of food microorganism on research progress[J]. Chin J Microecol, 2013, (8): 128–131.
- [56] 董亚萍. 快速检测技术在食品安全检测中的应用[J]. 科技致富向导, 2011, (5): 150, 167.
- Dong YP. Application of rapid detection technology in food safety testing[J]. Guide of Sci-Tech Mag, 2011, (5): 150, 167.
- [57] 王涛, 刘凯, 王艳, 等. 应用免疫磁珠分离法及荧光定量 PCR 技术快速检测肠出血性大肠埃希菌 O157:H7[J]. 中国人兽共患病学报, 2011, (4): 27–29, 15.
- Wang T, Liu K, Wang Y, *et al.* Rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 by immunomagnetic separation and real-time PCR[J]. Chin J Zoonoses, 2011, (4): 27–29, 15.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



张铭润, 硕士, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 1073993438@qq.com



杨金易, 博士后, 讲师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: yjy361@163.com