

维视角

- 关注食品安全
- 分享行业资讯
- 解析专业科普
- 服务客户群体

北京维德维康生物技术有限公司 主办

NO.5 2014年11月

**世界动物卫生组织：
欧洲 H5N8 禽流感或来自亚洲**

联合国警告欧洲防范新禽流感大面积爆发





NO.5 2014 年 11 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
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.wdwbio.com

企业内部资料
仅做交流沟通
资讯类信息及配图来源于网络

卷首语

03 匆匆 -- 朱自清

新闻资讯

- 04 十八大后共出台 44 条司法解释 涉食安等 8 个领域
- 06 农业部 食品药品监管总局关于加强食用农产品质量安全监督管理工作的意见
- 09 云无心：“毒豆芽”是桩“冤案”
- 10 6 品牌牛奶测评报告三：“热伤害”控制或为牛奶国标升级关键点
- 12 孟素荷：未来五年是食品工业创新性发展重要时期
- 13 山西省健全完善食品药品监管体制机制
- 13 陕西省食品药品监督管理局集中开展水产品质量安全专项整治
- 14 四川强化食药监管 推动乳制品猪肉大米食用油追溯体系建设
- 15 现代牧业“污染门”“病牛门”显“万头牧场”隐患
- 17 世界动物卫生组织：欧洲 H5N8 禽流感或来自亚洲
- 18 联合国警告欧洲防范新禽流感大面积爆发

专业科普

19 实验小常识

台式空气恒温摇床

20 概念讲解

Elisa 测定结果的误差分类与来源

21 检测应用

磺胺总量 II 型酶联免疫试剂盒

26 专业解读

同时检测牛奶中喹诺酮类和庆大霉素残留的胶体金免疫层析方法研究

专业服务

37 专业的技术服务



燕子去了，有再来的时候；杨柳枯了，有再青的时候；桃花谢了，有再开的时候。但是，聪明的，你告诉我，我们的日子为什么一去不复返呢？——是有人偷了他们罢：那是谁？又藏在何处呢？是他们自己逃走了罢：现在又到了哪里呢？

我不知道他们给了我多少日子；但我的手确乎是渐渐空虚了。在默默里算着，八千多日子已经从我手中溜去；像针尖上一滴水滴在大海里，我的日子滴在时间的流里，没有声音，也没有影子。我不禁头涔涔而泪潸潸了。

去的尽管去了，来的尽管来着；去来的中间，又怎样地匆匆呢？早上我起来的时候，小屋里射进两三方斜斜的太阳。太阳他有脚啊，轻轻悄悄地挪移了；我也茫茫然跟着旋转。于是——洗手的时候，日子从水盆里过去；吃饭的时候，日子从饭碗里过去；默默时，便从凝然的双眼前过去。我觉察他去的匆匆了，伸出手遮挽时，他又从遮挽着的手边过去，天黑时，我躺在床上，他便伶伶俐俐地从我身上跨过，从我脚边飞去了。等我睁开眼和太阳再见，这算又溜走了一日。我掩着面叹息。但是新来的日子的影儿又开始在叹息里闪过了。

在逃去如飞的日子里，在千门万户的世界里的我能做些什么呢？只有徘徊罢了，只有匆匆罢了；在八千多日的匆匆里，除徘徊外，又剩些什么呢？过去的日子如轻烟，被微风吹散了，如薄雾，被初阳蒸融了；我留着些什么痕迹呢？我何曾留着像游丝样的痕迹呢？我赤裸裸来到这世界，转眼间也将赤裸裸的回去罢？但不能平的，为什么偏要白白走这一遭啊？

你聪明的，告诉我，我们的日子为什么一去不复返呢？

匆 匆

朱自清

十八大后共出台 44 条司法解释 涉食安等 8 个领域



市场导读：根据最高人民法院官网的公开信息，《法制晚报》记者统计发现，十八大以来最高法共计发布了44条司法解释，这些司法解释涉及食品安全、环保、网络监管、劳动保障、刑事、行政诉讼、土地拆迁、经济发展8类民生领域。其中经济领域的司法解释多达16条，网络信息领域的司法解释也有6条，此外，备受群众关注的环境保护、食品安全、土地纠纷也是司法解释的重头。

十八大以来，我国新修订或新制定多部重要法律，与法律相配套的是最高人民法院出台的司法解释。这些司法解释和百姓生活息息相关，对保障人权、呵护民生、完善社会管理、维护社会正常秩序有重要作用。

四中全会公报提出，深入推进科学立法、民主立法；加强重点领域立法，加快完善体现权利公平、机会公平、规则公平的法律制度。

根据最高人民法院官网的公开信息，《法制晚报》记者统计发现，十八大以来最高法共计发布了44条司法解释，这些司法解释涉及食品安全、环保、网络监管、劳动保障、刑事、行政诉讼、土地拆迁、经济发展8类民生领域。

其中经济领域的司法解释多达16条，网络信息领域的司法解释也有6条，此外，备受群众关注的环境保护、食品安全、土地纠纷也是司法解释的重头。

十八大以来发布的司法解释（部分）

施行时间 司法解释类型
 2012.11.22 《关于审理破坏草原资源刑事案件适用法律若干问题的解释》 环保 2013.6.19 《关于办理环境污染刑事案件适用法律若干问题的解释》 环保 2013.5.4 《关于办理危害食品安全刑事案件适用法律若干问题的解释》 食品安全 2014.3.15 《关于审理食品药品纠纷案件适用法律若干问题的解释》 食品安全 2013.7.22 《关于办理寻衅滋事

刑事案件适用法律若干问题的解释》 刑案、网络 2013.9.2 《关于网络查询、冻结被执行人存款的规定》 网络

2013.9.10 《关于办理利用信息网络实施诽谤等刑事案件适用法律若干问题的解释》 网络

2013.9.30 《关于审理编造、故意传播虚假信息刑事案件适用法律若干问题的解释》 网络

2014.1.1 《关于人民法院在互联网公布裁判文书的规定》 网络

2014.10.10 《关于审理利用信息网络侵害人身权益民事纠纷案件适用法律若干问题的解释》 网络

2012.12.10 《关于个人独资企业清算是否可以参照适用企业破产法规定的破产清算程序的批

复》经济

2013.1.23 《关于审理拒不支付劳动报酬刑事案件适用法律若干问题的解释》 劳动保障

2013.2.1 《关于审理劳动争议案件适用法律若干问题的解释(四)》 劳动保障

2014.1.24 《关于审理涉及农村土地承包经营纠纷调解仲裁案件适用法律若干问题的解释》 土地

2012.12.21 《关于审理道路交通事故损害赔偿案件适用法律若干问题的解释》 交通

民生领域界定食品犯罪 量刑标准

瘦肉精、毒奶粉、地沟油……频频发生的食品安全问题，让人触目惊心，最高法也及时出台司法解释严惩食品犯罪、保障食品药品维权。

2013年1月25日，公安部部署全国公安机关开展为期一年的“打击食品犯罪、保卫餐桌安全”专项行动。但在打击食品犯罪的过程中，公安机关也遇到了侦查取证难、定罪入刑难、鉴定检测难等问题。

在这样的背景下，2013年5月2日，“两高”联合发布《关

于办理危害食品安全刑事案件适用法律若干问题的解释》，明确界定了生产、销售不符合安全标准的食品罪和生产销售有毒、有害食品罪的定罪量刑标准，并从严惩处食品监管渎职犯罪、对危害食品安全犯罪从严适用刑罚等，被许多人称为“史上最严食品安全司法解释”。

据公安部网站消息，2013年5月食品安全司法解释出台后，公安机关严格依法履职，“打击食品犯罪、保卫餐桌安全”专项行动成效显著。据统计，2013年，全国公安机关侦破肉制品、食用油、乳制品、保健品等危害食品安全犯罪案件3.4万起，抓获犯罪嫌疑人4.8万名，捣毁“黑工厂”、“黑作坊”、“黑窝点”、“黑市场”1.8万个，破案总量是2012年的2.6倍。

专家观点

结合实际实现科学立法

陈春龙说，十八届四中全会要求科学立法、民主立法，尽量结合实际，解决实际问题，从立法上尽量要求具体。但是法律规定总是没办法那么细致，只能把社会上的很多事抽象到法律条文上来。仅凭法律是不够的，所

以还需要最高人民法院的司法解释，有利于地方法院办案，能够体现科学立法、权利公平。

全国人大常委会法工委刑法室副主任李寿伟认为：“根据司法实践中遇到的情况及时作出司法解释，解决对法律规定理解认识不一致和做法不统一的问题，有利于维护法制统一。”

陈春龙说，实际上，改革开放发展到现在，全国人大公布了数百部法律，与市场经济领域相关的法律占了绝大多数，涉及了方方面面。可以说，发展到今天，越来越成熟。法治是现代市场经济的重要特征，成熟的市场经济体制应该与健全的法治相呼应。

“在市场经济追求经济效益的过程中，也造成了一系列问题。比如说，不少企业为了赚钱，使用地沟油、三聚氰胺等，各地都出现了食品安全事故；一些企业不顾环境，肆意排放污染物，严重影响了当地环境。已出台的相关司法解释，对净化食品药品安全环境起到了严控作用。”陈春龙表示。

来源：法制晚报

农业部 食品药品监管总局关于加强食用农产品质量安全监督管理工作的意见

来源：农业部

市场导读：为深入贯彻中央农村工作会议精神，认真落实《国务院机构改革和职能转变方案》、《国务院关于地方改革完善食品药品监督管理体制的指导意见》（国发〔2013〕18号）和《国务院办公厅关于加强农产品质量安全监管工作的通知》（国办发〔2013〕106号）要求，现就加强食用农产品质量安全监督管理工作衔接，强化食用农产品质量安全全程监管。

为深入贯彻中央农村工作会议精神，认真落实《国务院机构改革和职能转变方案》、《国务院关于地方改革完善食品药品监督管理体制的指导意见》（国发〔2013〕18号）和《国务院办公厅关于加强农产品质量安全监管工作的通知》（国办发〔2013〕106号）要求，现就加强食用农产品质量安全监督管理工作衔接，强化食用农产品质量安全全程监管，提出以下意见。

一、严格落实食用农产品监管职责。食用农产品是指来源于农业活动的初级产品，即在农业活动中获得的、供人食用的植物、动物、微生物及其产品。“农业活动”既包括传统的种植、养殖、采摘、捕捞等农业活动，也包括设施农业、生物工程等现代农业活动。“植物、动物、微生物及其产品”是指在农业活动中直接

获得的以及经过分拣、去皮、剥壳、粉碎、清洗、切割、冷冻、打蜡、分级、包装等加工，但未改变其基本自然性状和化学性质的产品。食用农产品质量安全监管体制调整后，《农产品质量安全法》规定的食用农产品进入批发、零售市场或生产加工企业后的质量安全监管职责由食品药品监管部门依法履行，农业行政主管部门不再履行食用农产品进入市场后的相应质量安全监管职责。现行的食用农产品质量安全分段监管，不包括农业生产技术、动植物疫病防控和转基因生物安全监督管理。农业部门根据监管工作需要，可进入批发、零售市场开展食用农产品质量安全风险评估和风险监测工作。

农业、食品药品监管部门要严格执行《食品安全法》《农产品质量安全法》等相关法律法

规和各级政府及编制委员会确定的部门监管职责分工，认真履行法定的监管职责。农业部门要切实履行好食用农产品从种植养殖到进入批发、零售市场或生产加工企业前的监管职责；食品药品监管部门要切实履行好食用农产品进入批发、零售市场或生产加工企业后的监管职责，不断提升对食用农产品质量安全的保障水平。省级农业、食品药品监管部门要联合推动市县两级政府抓紧落实食用农产品质量安全属地管理责任，将食用农产品质量安全监管纳入县、乡政府绩效考核范围，建立相应的考核规范和评价机制。每年要组织开展一次食用农产品质量安全监管工作联合督查，切实推动监管责任落实。

二、加快构建食用农产品全程监管制度。各地农业、食品药品监管部门要在地方政府统一领

导下,共同研究解决食用农产品质量安全监管中职能交叉和监管空白问题,进一步厘清监管职责,细化任务分工,消除监管空白,形成监管合力。对于现行法律法规和规章制度尚未完全明确的监管职责和监管事项,要在统筹协调的基础上,提请地方政府因地制宜明确监管部门,出台相应的监管措施,避免出现监管漏洞和盲区。农业部门要依法抓紧完善并落实农业投入品监管、产地环境管理、种植养殖过程控制、包装标识、食用动物及其产品检验检疫等制度规范;食品药品监管部门要研究制定食用农产品进入批发、零售市场或生产加工企业后的管理制度,落实好监管职责。

三、稳步推行食用农产品产地准出和市场准入管理。农业部门和食品药品监管部门共同建立以食用农产品质量合格为核心内容的产地准出管理与市场准入管理衔接机制。农业部门要抓紧建立食用农产品产地准出制度,因地制宜地按照产品类别和生产经营主体类型,将有效期内“三品一标”质量标志、动植物病虫害检疫合格证明及规模化生产经营主体(逐步实现覆盖全部生产经营主体)出具的食用农产品产地质量检测报告等质量合格证明

作为食用农产品产地准出的基础条件;食品药品监管部门要着手建立与食用农产品产地准出制度相对接的市场准入制度,将查验农业行政主管部门认可的作为食用农产品产地准出基础条件的质量合格证明作为食用农产品进入批发、零售市场或生产加工企业的基本条件。农业部门和食品药品监管部门要依托基层执法监管和技术服务机构,加强督导巡查和监督管理,确保产地准出和市场准入过程中的质量合格证明真实、有效。

四、加快建立食用农产品质量追溯体系。农业部门要按照职责分工,加快建立食用农产品质量安全追溯体系,可率先在“菜篮子”产品主产区推动农业产业化龙头企业、农民专业合作社、家庭农场开展质量追溯试点,优先将生猪和“三品一标”食用农产品纳入追溯试点范围,推动食用农产品从生产到进入批发、零售市场或生产加工企业前的环节可追溯。食品药品监管部门要在有序推进食品安全追溯体系建设的同时,积极配合农业部门推进食用农产品质量安全追溯体系的建设,并通过监督食用农产品经营者建立并严格落实进货查验和查验记录制度,做好与农业部门

建设的食用农产品质量安全追溯体系的有机衔接,逐步实现食用农产品生产、收购、销售、消费全链条可追溯。

五、深入推进突出问题专项整治。农业、食品药品监管部门要针对食用农产品在生产、收购、销售和消费过程中存在的突出问题,有计划、有步骤、有重点地联合开展专项治理整顿。始终保持高压态势,严厉惩处各类违法违规行为。在专项整治和执法监管过程中需要联合行动的,要统筹协调、统一调度和统一行动;在各环节查处的违法违规案件,该移交的要依法按程序及时移交;需要相互配合的,要及时跟进。

六、加强监管能力建设和监管执法合作。农业、食品药品监管部门要不断推进食用农产品质量安全监管机构和食品安全监管机构的建设与人员配备,并抓紧与编制、发改、财政等部门衔接沟通,加快建立健全基层食用农产品质量安全监管和食品安全监管队伍,将基层监管能力建设纳入年度财政预算和基本建设计划,采取多项措施,着力提高基层食用农产品质量安全和食品安全监管能力。农业、食品药品监管部门要建立食用农产品质量安

全监管信息共享制度，定期和不定期互换食用农产品质量安全监管中的相关信息。建立风险评估结果共享制度，加强食用农产品质量安全风险交流合作。建立违法案件信息相互通报制度，密切行政执法的协调与协作。加强应急管理方面的合作，开展食用农产品质量安全（食品安全）突发事件应急处置合作和经验交流。共同建立、完善食用农产品质量安全监管统计制度，强化统计数据共享。可根据需要就食用农产品质量安全和食品安全领域重大问题开展联合调研，为解决食用农产品质量安全和食品安全领域突出问题提供政策建议。

七、强化检验检测资源共享。各地要按照《国务院办公厅关于印发国家食品安全监管体系“十二五”规划的通知》（国办发〔2012〕36号）、《国务院办公厅转发中央编办、质检总局关于整合检验检测认证机构实施意见的通知》（国办发〔2014〕8号）、《国务院办公厅关于印发2014年食品安全重点工作安排的通知》（国办发〔2014〕20号）要求，在地方人民政府的统一领导下，共同做好县级食用农产品质量安全检验检测资源整合和食品安全检验检测资源整合工

作，逐步解决基层检验检测资源分散、低水平重复建设、活力不强等问题。当前，根据农业、食品药品监管部门新的职能分工和监管工作需要，由农业部门和食品药品监管部门共同对已经建立的批发、零售市场（含超市、专营店等食用农产品销售单位）食用农产品质量安全检验检测资源（包括机构、人员、设备设施等）实施指导管理。建在市場外的食用农产品质量安全检验检测资源，以农业部门为主进行监督管理和技术指导；建在市場内的食用农产品质量安全检验检测资源，以食品药品监管部门为主进行监督管理和技术指导。农业部门和食品药品监管部门根据食用农产品质量安全监管和食品安全监管工作需要，可共享农业系统和食品药品监管系统建立的农产品质量安全检测机构 and 食品安全检测机构。

八、加强舆情监测和应急处置。农业、食品药品监管部门要加强食用农产品质量安全突发事件、重大舆情跟踪监测，建立重大舆情会商分析和信息通报机制，及时联合研究处置突发事件和相关舆情热点问题。两部门要根据科普宣传工作的需要，加强食用农产品质量安全和食品安全

科技知识培训和法制宣传。重大节日和节庆期间，要适时联合开展食用农产品质量安全宣传活动，全面普及食品科学知识，引导公众放心消费。

九、建立高效的合作会商机制。农业部、食品药品监管总局建立部际合作会商机制，成立分别由两部门主管食用农产品质量安全监管工作的部级领导任组长的领导小组，积极推动和明确食用农产品质量安全监管工作的协调与合作事宜。各地要参照农业部和食品药品监管总局的做法，尽快建立两部门合作机制，明确对口的协调联络处（局、办），加强食用农产品质量安全监管工作的协作配合。

食用农产品质量安全监管涉及的品种多、链条长，两部门要在依法依规认真履职的基础上，密切协作、加强配合，构建“从农田到餐桌”全程监管的制度和机制。各地在食用农产品质量安全监管工作中遇到的问题和有关意见、建议，请及时与农业部农产品质量安全监管局和食品药品监管总局食品安全监管二司联系。

农业部 食品药品监管总局
2014年10月31日

云无心：“毒豆芽”是桩“冤案”

市场导读：消费者可能对这几种“化学物质”不熟悉，但或许都听说过“毒豆芽”。所谓的“毒豆芽”，通常就是指使用“无根素”“膨大素”长出来的豆芽，媒体在报到时总会控诉“黑窝点丧心病狂”、“使用了这些化学物质的毒豆芽”会如何危害健康等等。而所谓的“无根素”“膨大素”，就是上面列出的那些植物生长调节剂！

11月6日，《食品安全国家标准豆芽（草稿）》向社会征求意见。在这份草稿中，明确规定了6-苄基腺嘌呤、赤霉素、4-氯苯氧乙酸钠和乙烯的残留量标准。这也意味着：这几种“生物生长调节剂”可以合法用于豆芽生产中！

消费者可能对这几种“化学物质”不熟悉，但或许都听说过“毒豆芽”。所谓的“毒豆芽”，通常就是指使用“无根素”“膨大素”长出来的豆芽，媒体在报到时总会控诉“黑窝点丧心病狂”、“使用了这些化学物质的毒豆芽”会如何危害健康等等。而所谓的“无根素”“膨大素”，就是上面列出的那些植物生长调节剂！

也就是说，按照这份国家标准（虽然它还只是征求意见的草稿，从科学角度，关于植物生长调节剂的规定完全合理），那些

“毒豆芽”只是不合法规的牺牲品。而媒体所控诉的各种“毒害”，仅仅是莫须有的“欲加之罪”。

虽然，在国标不允许使用它们的时候，使用了的确是违法的。但是，违法是管理问题，而是否有毒是科学问题。不管是在过去还是将来，使用了这些植物生长调节剂的豆芽，都不会有害健康，也根本不是“毒食”。实际上，它们在世界各国、多种农产品中广泛使用。它们的毒性很低，而使用本身有“自限性”——也就是说低浓度使用能达到目标，而“滥用”不仅没有意义反而可能有反作用，所以实际上可以视作“无毒”。世界上很多国家甚至没有制定“残留量”标准，日本虽然制定了残留量标准，限量也比中国这份标准中的设定要宽松得多。从这个意义上说，这份国标草稿中的限量，可能是“世界

最严的标准”。

这么一些无毒无害、能让豆芽长得更多更好的农用产品，之所以成为媒体报道中“毒食”的原因，主要是监管混乱的结果。豆芽是大豆发芽而得——如果按照大豆制品来算，它似乎可以算作“加工食品”，用于加工食品的化学试剂也就该是“食品添加剂”。最初的豆芽就是这么管理的。但是后来，大概又觉得这么划分有点怪异，大豆长芽更符合农业生产的特征。于是，就把6-苄基腺嘌呤和赤霉素“踢出”了食品添加剂名单，但农业部门又没有把它们接过去，于是，再使用它们就是非法的了。但它们在豆芽生产中已经用了很长时间，效果的确很好，许多豆芽生产者也就接着使用，从而成为了制造“毒食”的“黑心窝点”。人类农业的发展历史，就是不断改进人工干预手段，使得农产品在

保障安全的前提下长得更多、更快、更好的历史。生物生长调节剂的合理使用,是一种安全性高、效果优越的干预手段。比如杀虫剂,或多或少都有一些毒性,于是它们的使用也就往往有更多的规范。而植物生长调节剂,低毒和使用剂量的自限性,使得它们

很难达到“危害健康”的残留量。可以说,它们的使用,是农业技术的进步——实际上,6-苄基腺嘌呤和赤霉素用于豆芽生长,当初的确是作为技术创新获得了省级星火科技二等奖。只是因为监管的混乱,它们才变成了“非法添加剂”,然后经过媒体渲染变

成了“毒食”之源。这,不能不说是中国农业发展的遗憾。

这一份新的国家标准如果最终定版施行,不仅有利于食品业发展,也可说是为所谓“毒食”重新正名。

来源: 人民网

6 品牌牛奶测评报告三: “热伤害”控制或为牛奶国标升级关键点

市场导读: 调制乳、灭菌乳、国产奶、进口奶,市面上各式各样的乳制品已让人眼花缭乱。消费者或许对乳制品的分类不甚了解也不太在意,然而怎么选一款好牛奶却是始终关心的。在《消费者报道》此次专题采访中,不少专家建议消费者购买牛奶时尽量选择保质期更短的牛奶。这不单是消费者的选择,也是中国奶业发展大势所趋。

优选巴氏奶

牛奶按灭菌方式不同主要分为巴氏杀菌乳、灭菌乳、保持灭菌乳。巴氏奶和灭菌奶为主的中国奶业市场,二者的实际份额之比是2:8。

“巴氏奶更新鲜一些,其中微量活性成分会更多地被保留,味道更新鲜,日常用它比较好。但常温的灭菌奶也并非一无是处,出门的时候携带就非常方便。”中国农业大学食品学院营养与食品安全系副教授范志红这

样看待巴氏奶和灭菌奶。

中国营养协会理事焦通也表示认同,超高温灭菌可以杀灭有害物质。从食品安全角度来说,超高温灭菌乳很安全,但是奶中有很多生物活性物质会被高温破坏。

对于消费者来说,在缺乏监督的情况下,某些企业可能会采用不合规范的技术手段加以掩盖菌落总数超标的原料奶。多次加热(包括预巴氏杀菌)或者超强度热处理是最常见的两种手

法。其结果不仅是额外消耗了大量的能源,更为致命的是严重损坏了牛奶的活性成分。

“只有生奶和巴氏鲜奶没有出现在国际贸易品种的目录里。它们都是保质期短于10天的特殊商品,是奶制品国际贸易的‘盲点’。对于正常的国际贸易而言,长距离冷藏运输短保质期的生奶和巴氏鲜奶的成本,在目前的技术条件下高得简直难以承受。”上海奶业行业协会专家委员会副主任顾佳升于10月23日撰文指

出。

换言之，他提到，中国市场里的巴氏鲜奶是具有“人无我有”性质的一种液态奶品种。从当前情况来看，认真做好巴氏鲜奶将是中国奶业得以存在和发展的“唯一可靠选择”。

今年，进口奶和国产奶的价格大幅下降，价格差距越来越小。在这样的前提下，乳业分析师宋亮认为，国产牛奶必须往新鲜、低温化发展。

“目前进口牛奶对市场冲击还不大。2013年我国生产的常温奶约1300万吨，2014年预计进口常温奶约30万吨，但预期未来冲击比较大。”宋亮补充道。

“热伤害”平衡品质

2010年，中国发布《生乳》(GB19301-2010)等66项食品安全国家标准。涉及牛奶产品的有《巴氏杀菌乳》、《灭菌乳》、《调制乳》等。

其中只有巴氏奶是仅以生牛(羊)乳为原料，经巴氏杀菌等工序制得的液体产品。而在灭菌乳和调制乳中，可以添加或不添加复原乳，但添加了需要标注。此次检测的6品牌8款牛奶产品中，除了旺仔牛奶有在包装上以大字标注“复原乳”，其他产品均标注原料为生牛乳。而在市

场上的产品，除了极个别有在配料表中注明添加奶粉，大部分也为生牛乳。

“中国乳制品资源分布不均匀，却又人口众多，需求量大。从进出口数据来看，有可能会出现使用复原乳而未标注的情况，但复原乳是很重要的补充形式。复原乳产品作为乳品供应是达标的，可以满足三四线城市的基本需求。”宋亮认为，复原乳是必要的。

而在关于复原乳的讨论中，对于复原乳标注和监管的缺失，一直受到业界关注。对此，广州乳业协会会长王丁棉表示，现在的国标是比较粗糙的，有许多地方应予充实和完善，相信国家会在这方面有所作为。

“农业行业标准 NY/T 939-2005《巴氏杀菌乳和灭菌乳中复原乳的鉴定》在中国的环境里已经运用了多年。实践告诉我们，这个标准既容易受到乳品企业不规范热处理的干扰，也由于缺乏原料乳粉的热处理等级标准，因而难以定量计算。这是中国目前的国情。”顾佳升在2014年8月发表的《完善复原乳检验和监管的思考》中即指出，国际上采用的是更为先进的，且适用于所有“奶制品的热伤害程度”鉴别鉴定原

则。

简而言之，生牛乳在加工成粉的过程里经受的热负荷不同。热负荷越大则牛乳的营养成分遭受的损失越大，这种损失主要表现为乳汁中多种营养物质生理活性的丢失，而不是数量的变化。经典的乳蛋白质、乳脂肪、乳糖、水分等“成分含量”类的指标并不能体现它们的变化，而需要采用新的评估指标。

对于消费者来说，在缺乏监督的情况下，某些企业可能会采用不规范的技术手段加以掩盖菌落总数超标的原料奶，多次加热(包括预巴杀)或者超强度热处理是其中最常见两种手法。其结果不仅是额外消耗了大量的能源，更为致命的是严重伤害了牛奶的活性成分。

通过对受热后变性或钝化的成份如乳蛋白里的各种乳清蛋白和酶，以及经热处理之后新产生的物质如乳果糖、糠氨酸等指标进行检测，那么，复原乳的“滥用以及被妖魔化”两种不良倾向，都可以得到监管了。

宋亮也估计，未来的一两年国家将对牛奶标准进行升级，建议政府对乳蛋白的热强度这块提高技术指标和监控。

来源：消费者报道



孟素荷： 未来五年是食品工业 创新性发展重要时期

来源：中国经济网

市场导读：以“科研释放威力”为主题的中国食品科学技术学会第十一届年会今日于杭州召开。中国食品科学技术学会理事长孟素荷在致辞中指出，未来五年将是中国食品工业创新性发展的重要时期，目前中国食品科学界急需以科研释放威力，为中国食品工业创新发展提供动力。

中国经济网北京 11 月 5 日讯（记者 刘潇潇）以“科研释放威力”为主题的中国食品科学技术学会第十一届年会今日于杭州召开。中国食品科学技术学会理事长孟素荷在致辞中指出，未来五年将是中国食品工业创新性发展的重要时期，目前中国食品科学界急需以科研释放威力，为中国食品工业创新发展提供动力。

“本次年会主题为‘科研释放威力’，而科技的威力源自能量，释放需要助推。我们的能量在哪里，我们释放的底气何在？”孟素荷指出，中国食品科技的威力源于中国在满足于食品需求中焕发出和活力的追求力，源于食品工业与科技界巨大的体量以及

持续 30 年的厚积薄发，也源于中国所根植的深厚的饮食文化的沃土。

孟素荷指出，当前食品科学界急需面对三大问题。第一大问题是食品科学界的整体目标仍在游离，急需浓缩，“前期多战略、少战术，多纵笔、少横笔”，缺乏占在国家历史上俯视行业发展的纵深思考。第二大问题是食品科技界多高原，“或者是有高原，少高峰”，专业相近，学科雷同，并且面目相似，同质化明显。第三大问题是食品科技缺乏自主创新，需尽快将推进建立中华风味大型数据库及食品工业与信息技术相结合。

孟素荷认为，未来五年将是中国食品工业创新性发展的重要

时期，也是食品科学界大有作为的重要历史机遇期。“中国食品科学技术学会将持续地集聚起中国食品的科技和力量，加速企业和科技的对接，在传承与创新中赢得未来，这是产业发展的需求，是本次大会的使命，更是中国科学家的使命。”孟素荷说。

据悉，本次中国食品科学技术学会第十一届年会为期两天，吸引了来自食品产业和科技界的 860 余名代表相聚杭州。年会期间参会专家、学者将围绕食品工业转型、食品科技与食品产业关系、食品产业人才培养、食品科技未来发展等话题展开交流和探讨。此外，论坛还将举行 2014 年度中国食品科学技术学会科技创新奖颁颁奖仪式。

山西省健全完善食品药品监管体制机制

来源：国家食药监总局

核心提示：山西省食品药品监督管理局紧紧围绕十八届三中全会提出的“完善统一权威的食品药品安全监管机构，建立最严格的覆盖全过程的监管制度，建立食品原产地可追溯制度和质量标识制度，保障食品药品安全”这一主线，健全完善食品药品监管体制机制，不断提高食品药品监督管理水平。

一是大力推进食品药品监管体制改革。系统构架了省、市、县、乡、村五级工作体系，目前，省市县三级改革基本到位，乡级改革正在稳步推进。

二是探索建立重点食品原产地可追溯制度。重点抓住消费量比较大、食品安全风险高的乳制品、肉制品，以晋中平遥、吕梁文水、朔州应县、山阴为试点，积极探索从原辅料采购使用、生产过程控制、产品出厂检验、产品销售追溯等全过程的可追溯体系。

三是健全完善严格的食品药品监管制度。先后与省公安厅、省检察院、省高院联合出台了《食品药品涉刑案件物证检验鉴定规定》，为准确、高效打击食品药品涉刑犯罪开辟了绿色通道；出台《食品药品信用档案工作制度》和《食品药品安全“黑名单”管理制度》，积极推进企业信用管理；与山西保监会制定了《山西省食品药品安全责任保险制度试点工作实施方案》，共同推进实施食品安全责任保险制度；制定了《健全完善食品安全信息发布

和舆论引导工作机制》，充分发挥媒体舆论监督和导向作用；组织修订了《山西省食品安全举报奖励办法》，着力解决群众举报不方便、不信任、积极性不高的问题。

四是推行实施“四化”监管模式。推行“责任网格化、检查格式化、管理痕迹化、监管信息化”监管模式，有效解决责任落实难、监管不到位、不规范和监管效率低等问题。

陕西省食品药品监督管理局集中开展水产产品质量安全专项整治

来源：国家食药监总局

此次专项整治活动以对虾、罗非鱼、大黄鱼、大菱鲆、加州鲈鱼、草鱼、鲤鱼、鲢鱼、鳙鱼、乌鳢、鳊鱼、鳊鱼和鲫鱼等

13个品种为重点，重点查处在水产品养殖经营销售过程中非法添加孔雀石绿等违禁物质和兽药，严厉打击超限量使用兽药造成氯

霉素、硝基呋喃代谢物、铅、镉、甲基汞、无机砷、喹诺酮类药物残留等药物和重金属残留超标。整治期间要求养殖经营

单位监督检查覆盖面达到100%，重点产品监督抽检覆盖面达到100%。

在专项整治活动中，食品药品监管部门主要负责水产品进入批发、零售市场或者生产加工企业后的监督管理。水务部门主要

负责水产品从养殖环节到进入批发、零售市场或者生产加工企业前的监督管理。农业（畜牧）部门主要负责水产养殖兽药生产、经营企业和饲料的监督管理。

为确保整治效果，要求各监管部门依据职能，全面加强水产

品投入品环节、养殖环节和市场环节监管，认真开展执法检查、专项监督抽检、大案要案查处，开展联合执法检查，排查处置水产品各环节质量安全隐患，加大典型案件曝光力度，震慑违法行为。

四川强化食药监管 推动乳制品猪肉大米食用油追溯体系建设

来源：四川在线

核心提示：11月25日，记者从省政府网站发布的《四川省人民政府办公厅关于进一步加强食品药品监管体系建设有关事项的通知》（以下简称“《通知》”）获悉，我省将推动以乳制品等高风险食品，猪肉、大米、食用油等大宗食品为重点的安全追溯体系建设，建立药品生产和医疗器械重点产品电子追溯体系，实现食品药品来源可追溯、去向可查证、责任可追究。

《通知》指出，目前我省已完成省市县三级食品药品机构改革，各市（州）、县（市、区）要把食品药品体制改革和监工作纳入政府综合目标考核范畴进一步建立健全目标责任考核体系，要落实食品药品安全地方政府属地管理责任、监管部门监管责任、企业主体责任、相关部门协管责任的“四位一体”责任体系，强化协调联动，提高共治共管能力。同时，在推进农业、畜牧、水产等机构改革过程中，要切实加强食用农产品种植养殖环节质量安

全监督管理。

在强化基层监管执法上，《通知》要求要加强工商、公安、食品药品监管所（站）的协作配合，强化基层一线食品监管，打通监管执法的“最后一公里”。当前，重点要解决好乡镇（街道）监管所无工作人员、无办公场地、无执法装备等问题。各县（市、区）监管力量和重心都要下沉，采取巡回检查、集中执法等方式，确保基层一线食品药品安全工作有人抓、有人管，并通过公招或遴选方式，把编制内的人员尽快

配强配齐。

在推进检验检测能力建设上，《通知》指出要加快市级检验检测所、区域检验检测中心、县乡快检设施设备建设，健全食品药品风险预警、检验检测、产品追溯等技术支撑体系，确保各级食品药品监管机构有效履行职责。加强监管信息平台建设，强化跨区域、跨层级、跨部门的信息共享和业务协同，建立全覆盖的数据库，建立食品药品动态监管系统，推进科学监管、精准监管、高效监管。



现代牧业“污染门”“病牛门” 显“万头牧场”隐患

现代牧业在一周内遭遇两次经营重大事件。牛粪污染领巨额罚单的余波未了，近日又陷入“问题牛”风波。

公开资料显示，现代牧业是全球第一家以奶牛养殖资源上市的企业，也是国内规模最大的奶牛养殖企业及高品质生乳供应商。

安徽省肥东县环保部门因现代牧业旗下子公司现代牧业（肥东）有限公司的环境违法行为向其开出巨额罚单。现代牧业（肥东）有限公司位于安徽省肥东县白龙镇长王村，建设占地面积2383亩，总投资6.5亿元人民币。

肥东县环保局调查称，经查该水塘水体受到污染的主要污染物是沼液，来源于现代牧业（肥东）有限公司，该水塘存储沼液未经环保部门许可，未做任何污染防治措施，属现代牧业（肥东）有限公司擅自利用槽罐车外运沼液在此倾倒，造成环境污染。

而“问题牛”风波涉事的是现代牧业（宝鸡）有限公司（以下简称现代牧业宝鸡公司），位于陕西省眉县，是现代牧业的万头规模养殖牧场之一。作为万头以上的牧场，宝鸡牧场的规模在现代牧业各牧场中举足轻重。后“三聚氰胺”时代，我国奶牛养

殖规模化经营提速，在政策感召和资本注入之下，“万头牧场”兴起。宝鸡牧场现在总共有1.7万头牛。

据报道，陕西犇犇牧业有限公司通过竞标，购买了现代牧业宝鸡公司90头淘汰牛。西安市动物疾病预防控制中心出具的动物疫病检验报告显示，其中5头牛“结核病”检测结果呈阳性，37头牛“布病”抗体检测呈阳性。目前，犇犇牧业法人代表李海平因“涉嫌生产、销售不符合安全标准的食品罪”，被警方刑事拘留。

“但现代牧业宝鸡（公司）出售的牛耳标与产地不符合，牛是眉县的，而开具检疫票和证明，及挂耳标的却是扶风县，这是不允许的。”相关监管部门工作人员说，现代牧业宝鸡公司称，90头牛都打疫苗了，但是没有报备，正常程序是公司自己打，疫苗可以自己买，但是要报备上级部门（陕西省畜牧局）批准以后才能打。

事实上，这已不是现代牧业宝鸡公司第一次“事故”。据报道，今年3月27日，眉县动物卫生监督所接到群众举报称，现代牧业宝鸡公司在对外销售病牛，后经查实，现代牧业宝鸡公司因此被罚2000元。

在专家看来，现代牧业连续陷入“污染门”和“病牛门”，也显示了“万头牧场”的隐患。乳业专家宋亮表示，“万头牧场”

奶牛养殖不仅对地理环境、饲料、水源和物流运输等要求很高，对环境的承受能力也有严格要求，我国奶牛养殖应该遵循规模适度化的原则。发展“万头牧场”的风险包括奶牛病疫情的防治，奶牛场的牛粪牛尿污水废渣的环境污染、饲料供应的有效保障，项目建设对投资者造成的财务压力，政策因素和市场因素等。此外，国内大规模养殖场的管理人才十分匮乏。随着“万头牧场”的迅速发展，这些隐患也逐步暴露出来。

如今人们所关心的是，这些问题牛的产品又去了哪些下游企业？《经济参考报》记者11月11日致电现代牧业总裁高丽娜，但电话并未接通。公开资料显示，作为国内最大的奶源企业，现代牧业从成立之初就定位明确，该公司每年70%以上的奶源都供

应给下游企业蒙牛，支撑“特仑苏”这一品牌打入高端奶行列。目前，该公司已建成万头牧场24个，全群成乳牛单产近9吨。蒙牛集团媒体总监11月13日接受《经济参考报》记者采访时表示，对包括现代牧业在内的所有奶源供方的原奶进行严格检测，确保质量安全。

11月12日现代牧业发布澄清公告称，公司了解有关政府部门正就事件进行调查。公司亦已全力配合有关政府部门作出上述调查并提供所有需要的相关的信息和资料。就董事会目前的估计，该事件不会对集团的财务状况或运营带来重大之不利影响。但澄清公告并未提到牛粪污染的情况。不过，11月12日，现代牧业股价大跌8.5%，报收于2.8港元。（曾亮亮 林远）

来源：经济参考报





世界动物卫生组织：欧洲 H5N8 禽流感或来自亚洲

德国北部梅前州 11 月 6 日确认，该州一火鸡养殖场出现高致病性 H5N8 禽流感疫情。这是欧洲首次出现 H5N8 型禽流感疫情。继德国之后，荷兰和英国的两处禽类养殖场也先后确认出现该种病毒。

瓦拉表示，H5N8 型禽流感病毒此前曾在亚洲国家出现。尽管目前仍需等待病毒基因检验结果来证明，但很有可能是野生候鸟在迁徙过程中将病毒从亚洲传到了欧洲。

他说，尽管这种禽流感病毒尚未在其他地区发现，但由于候鸟可以进行长距离迁徙，H5N8 型禽流感病毒将来也有可能出现在亚洲和欧洲以外地区，应加以防范。

迄今为止，尚无人类感染 H5N8 型禽流感病毒的案例。瓦拉说，这只代表人类“目前或许”无法感染这种病毒，却不能完全排除这一可能性，“因为所有类型的禽流感病毒都有可能因基因突变或重组而发生改变”。

谈到防控禽流感疫情的方法，瓦拉建议，各国应在全国范围建立起完善的动物卫生监督网络，保持动物卫生管理部门、公立动物卫生服务机构和私人兽医诊所之间的良好配合，确保在病毒出现时迅速检测出疫情并及时采取应对措施。

此外，还应尽量避免家禽与野生鸟类的接触，禽类养殖场应将喂养畜禽的饲料放置在室内而非室外，避免野生鸟类在接触饲

料时将其污染，从而使其他食用饲料的禽类感染病毒。

瓦拉强调，当疫情出现后，应迅速扑杀受感染的活禽并销毁尸体，立即对相关场所进行彻底消毒，并在一定时间内对农场实施隔离，禁止其与外界的货物及人员往来。

世界动物卫生组织成立于 1924 年，总部设在巴黎，是政府间国际组织，共有 180 个成员。该组织致力于收集并通报世界动物疫病的发生、发展情况及相应控制措施，促进并协调各成员加强对动物疫病监控的研究，制定动物及动物产品国际贸易中的动物卫生标准和准则。

来源：新华网

联合国警告欧洲防范新禽流感 感大面积爆发



核心提示：联合国粮农组织和世界动物卫生组织 24 日警告称，在欧洲发现的新型禽流感病毒对家禽构成严重威胁，位于黑海和东大西洋沿岸鸟类迁徙路线上的国家尤其应该加强防范。

来源：中国新闻网

中新社联合国 11 月 24 日电（记者 邓敏）联合国粮农组织和世界动物卫生组织 24 日警告称，在欧洲发现的新型禽流感病毒对家禽构成严重威胁，位于黑海和东大西洋沿岸鸟类迁徙路线上的国家尤其应该加强防范。

德国、荷兰和英国都已证实，在这三国的家禽农场中发现的新禽流感病毒皆为 H5N8，而且德

国政府在一只野生鸟类身上也找到了这一病毒。

本月，英、德、荷三国爆发禽流感病毒。据当地媒体 23 日报道，德国北部梅前州农业部证实，调查人员在当地一只野鸭体内检测出 H5N8 型禽流感病毒，这是欧洲首次在野生鸟类体内检出这种高致病性禽流感病毒。

粮农组织警告说，在一些兽医应对能力有限的国家里，如果生物安全条件较差的家禽养殖体系被 H5N8 型病毒感染，那么这一病毒会迅速传播，并对这些国家脆弱的生计以及经济、贸易造成毁灭性打击。这些国家最好赶紧采取措施提高生物安全，保持

警惕，尽早发现疫情并启动兽医服务快速应对。

H5N8 型病毒目前还未被确认是否会感染人类，但它对于家禽而言仍然是一种高致病性病毒，会造成大量家禽死亡。专家称，英德荷三国在间隔非常短的时间内发现 H5N8，而且在野生鸟类和三个完全不同的家禽养殖体系中同时被发现，这说明野生鸟类在传播 H5N8 型禽流感中扮演非常重要的角色。而且，野生鸟类感染病毒后症状并不明显，并可携带病毒远距离迁徙。

尽管迄今仍未有人感染 H5N8 的病例，但 H5N8 却与 H5N1 型病毒有关，后者在 2005 年到 2006 年期间从亚洲传至欧洲和非洲，造成近 400 人和数以百万计的家禽死亡。

粮农组织和世界动物卫生组织称，新病毒的出现提醒全球，禽流感病毒还在继续进化，仍对公共健康、食品安全、贸易和经济造成潜在危险。因此，全球仍应保持高度警戒，持续采取控制措施和金融资助。（完）

实验室小常识

——台式空气恒温摇床

技术服务中心：潘净茹



台式空气恒温摇床是一种培养制备生物样品的生化仪器，是生物、微生物、生物制品、遗传、病毒、医学、环保等不可缺少的实验设备。仪器为落地式，整机重心低，在连续工作中平稳可靠。

台式空气恒温摇床使用方法：

- 1) 仪器应用放置在较牢固的工作台上，环境应清洁整齐，温度适中，通风良好。
- 2) 打开使用开关，指示灯亮，显示窗进入设置状态——数字闪烁，根据实验需求，按压(→)键逐一对温度、转速、时间进行设置，此时显示屏显示的温度为箱内空气的实际温度，温度设置后需待显示屏温度停止变动后使用。
- 3) 将离心管管盖盖好，并装入自封袋内，用橡皮筋固定，将离心管横置摇床内，固定好，防止离心管在摇床内冲撞。
- 4) 轻轻将摇床盖盖上，按压(开始/start)键，开始振摇即可。

注意事项：

1. 用户提供的电源插座应有良好的接地措施。
2. 严禁在正常工作的时候移动机器。
3. 在转速范围内中速使用，可延长仪器使用寿命。
4. 横置离心管的目的是确保离心管内的液体充分混合均匀，并将管盖盖好装入自封袋内固定，防止液体冲出离心管，污染腐蚀机器。





Elisa 测定结果的误差分类与来源

产品服务中心：陈青

一、误差及其分类：

误差：elisa 测定结果与真实数值之间的差异叫误差。误差可分为随机误差和系统误差两大类。

随机误差：指某实验室不同测定方法之间或同一次测定不同样本（但样本为同一类）之间因随机因素引起的实验误差，这类误差可以通过建立标准曲线控制在一定范围内。

系统误差：指同一实验室使用不同方法或不同实验室使用同样方法之间的误差。这类误差常常引起一系列甚至整批样本的测量值偏向一侧，故又称为偏差。在 elisa 中，系统误差是可以而且应该通过努力降低到可忽略的程度。

二、误差来源：

Elisa 测定结果的误差来源有两个方面：

实验误差：

即在酶促反应和免疫反应两个过程中所出现的误差。如移液误差（加样误差）、稀释误差（标准品稀释）、回归误差、错分误差（分离不完全引起）等；

系统误差：

1. 因反应时间不正常、反应条件不稳定、分离过程不恒定所致的误差和技术误差（样本和标准品加样使用不同的加样器）等。
2. 计数误差：包括用酶标仪测量反应液 OD 值过程中所引起的误差（如光线、载体板质量等对测量的影响，酶标仪探头被污染等）和仪器本身的误差。
3. 计算结果时标准曲线的拟合程度和计算本身引起的误差（如

回归系数计算误差、浓度在标准曲线两端样本的计算所引起的误差等）。

由上述内容可知 elisa 测定的结果受多方面因素的影响极易出现误差，尤其 elisa 是微量分析，又使用了生物试剂，如抗原、抗体、酶标记物等。众所周知生物制品是极不稳定的，不同批次的生物制品质量会有差异，同一批生物制品在不同保存时间和不同保存条件下的质量也是不同的（即生物制品的性质具有可变性和易变性，易受各种因素如：环境、温度、时间等影响）。如果 elisa 试剂盒生产厂家没有完整的质量控制标准和方法，那么所生产的产品在检测样本时就极有可能得出错误的结果。因此选择有严格质量控制标准的 elisa 生产厂家的产品是十分有必要的。

磺胺总量 II 型酶联免疫试剂盒

技术服务中心：潘净茹

一、磺胺类药物简介

磺胺类药物：是指具有对氨基苯磺酰胺结构的一类药物的总称，是一类用于预防和治疗细菌感染性疾病的化学治疗药物，其抗菌谱较广，对大多数革兰阳性菌以及革兰氏阴性菌有抑制作用。

磺胺类 (SAs) 药物在畜牧生产中应用十分广泛，主要在动物疾病防治方面有显著的疗效，可以治疗禽霍乱、禽伤寒、禽副伤寒、禽白痢、鸡传染性鼻炎、

火鸡亚利桑那病等，此外对家禽各种球虫病、卡氏白细胞原虫病等，也有较好效果。

除此之外，磺胺类药物在饲料添加剂方面也被广泛应用，其主要原因还是由于其性质稳定，价格低廉，加之该类药物不是国家禁用药物，所以这也是导致市场上出现许多含有磺胺类药物残留的动物性食品。

人食用了磺胺类药物的食品，会引起过敏反应，甚至引发癌变，令由于磺胺类药物在人类日常医疗中也是常用药物，

也可能回到导致形成磺胺类药物的耐药性，造成用药无效，甚至出现无药可医的状况发生。

二、检测原理

样品中的磺胺类药物与酶标板上固定的抗原特异性竞争抗体，加入酶标 II 抗，催化显色，根据显色的深浅来判断样品中磺胺类药物的含量。显色深，含量少；显色浅，含量多。

三、产品图片展示



四、产品操作流程以及使用注意事项

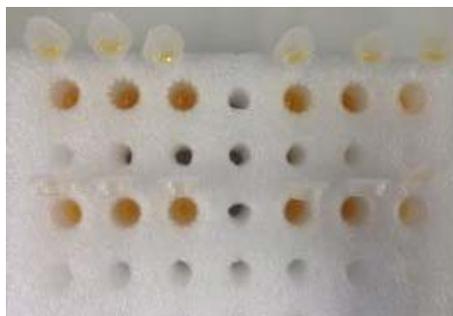
仔细阅读说明书，配制实验过程中所需试剂（如洗涤液）。

样本前处理：

- 1、从冷藏室内取出待检样本鸡蛋，并准备七号自封袋备用；
- 2、将鸡蛋破壳打入自封袋中并做好标记，手动方法将自封袋内的鸡蛋蛋清与蛋黄混合均匀备用。



- 3、用移液器量取 200 μ L 混合均匀的蛋液和 800 μ L 的去离子水加入 1.5mL 的离心管中，充分混匀，做好标记备用。

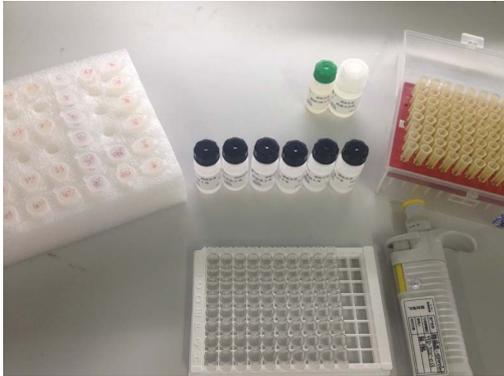


点板操作流程

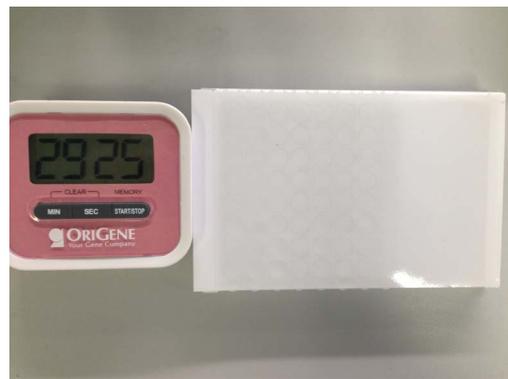
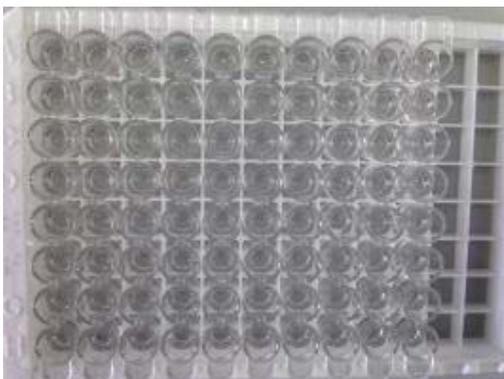
- 1、将不需要的微孔取出放置铝箔袋内，装入塑封袋内保存。



2、将操作所需试剂、酶标板、微量移液器及枪头准备齐全，开始进行点板操作。



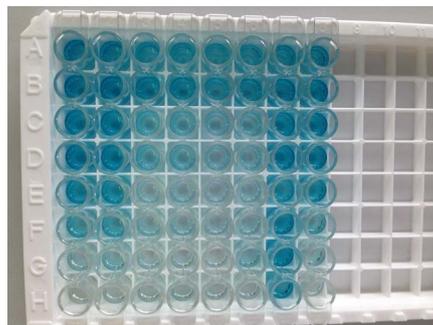
3、将标准品工作液 / 样品，酶标 II 抗工作液，抗体工作液按照说明书要求依次加入酶标微孔中，并计时。



4、待反应时间完成，将酶标板内液体抛掉，连续洗板四次，并拍干。



5、将 AB 液 1:1 混合后，在每孔中加入 100 μ L，并计时 15min 进行显色；



6、待到达显色时间后，每微孔中加入 50 μ L 终止液，并在 5min 内读取数据。



五、数据处理分析

- 1、打开维德维康分析软件，读取数据；
- 2、在软件的界面进行标准品和样本的数据设置；



3、设置完成后，在分析软件的界面上进行布板的设置，点击数据分析按钮，同时可以根据需求打印实验报告或存储数据和报告。



六、公司产品介绍

| 产品名称 | 反应模式 | 产品规格 | 检测样本 |
|---------------------|------|-------|--|
| 磺胺十七合一酶联免疫试剂盒 | 一步法 | 96孔/盒 | 组织方法一(猪肉) 组织方法一(鸡肉、鱼肉、虾肉) 组织方法二(鱼肉、虾肉) 猪肝、鸡肝、牛肉、羊肉、鸭肉、熟食(肉制品) 蜂蜜、猪尿、原奶、血清(牛血清) |
| 磺胺总量酶联免疫试剂盒(Ⅱ型) | 一步法 | 96孔/盒 | 组织方法一(猪肉) 组织方法一(鸡肉、鱼肉、虾肉) 组织方法二(鱼肉、虾肉) 猪肝、鸡肝、牛肉、羊肉、鸭肉、熟食(肉制品) 鸡蛋、 蜂蜜、尿样(猪尿)、原奶、血清(牛血清) |
| 磺胺类(七合一)酶联免疫试剂盒(Ⅱ型) | 一步法 | 96孔/盒 | 组织方法一(猪肉) 组织方法一(鸡肉、鱼肉、虾肉) 组织方法二(鱼肉、虾肉) 组织方法三(猪肝) 牛肉、羊肉、鸭肉、火腿肠、腊肉、腊肠、原奶 尿样(猪尿)、血清(牛血清) |
| 磺胺总量酶联免疫试剂盒(血清) | 二步法 | 96孔/盒 | 血清(牛血清) 鸡全血 |
| 磺胺总量酶联免疫试剂盒(制剂) | 一步法 | 96孔/盒 | 制剂 |
| 磺胺二甲基嘧啶酶联免疫试剂盒 | 二步法 | 96孔/盒 | 原奶、猪肉、鸡肉、鸭肉、虾肉、 蜂蜜(原蜜、成品蜜) |
| 磺胺喹恶啉酶联免疫试剂盒 | 二步法 | 96孔/盒 | 方法一(鸡肉) 方法一(鸭肉、猪肉、鸡肝) 方法二、原奶 |
| 磺胺二甲氧嘧啶酶联免疫试剂盒 | 一步法 | 96孔/盒 | 鸡蛋 组织(鸡肉、鸭肉) |

同时检测牛奶中喹诺酮类和庆大霉素残留的胶体金免疫层析方法研究

李向梅^{1,2}, 王战辉¹, 肖希龙¹, 王照鹏², 温凯¹, 吴小平², 夏曦¹, 武晋孝³, 江海洋¹

(1 中国农业大学动物医学院, 北京 100193; 2 北京维德维康生物技术有限公司, 北京 100095; 3 山西省饲料兽药监察所, 山西 030027)

摘要:【目的】喹诺酮类药物和庆大霉素均为高效、广谱抗生素, 对大多数革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都具有显著的抗菌效果, 是中国畜牧业和水产业中常用的两类兽药。由于这两类药物在动物源性食品中的残留可能导致对人类健康的危害, 因此, 为了保护消费者的健康, 研究和制定动物源性食品中同时检测这两类药物的残留检测方法对完善中国的食品安全监测体系具有重要意义。

【方法】建立了同时检测牛奶中 13 种喹诺酮类和庆大霉素残留的胶体金免疫层析方法。利用获得的喹诺酮类和庆大霉素单克隆抗体, 采用柠檬酸三钠还原法制备胶体金颗粒, 并对这两类抗体按比例进行混合标记。同时, 采用方阵法系统研究了胶体金标记这两类抗体时的 pH 值和抗体用量对灵敏度的影响, 并对这两类药物抗原的包被条件进行选择确定。在此基础上研发出可同时检测牛奶中 13 种喹诺酮类药物和庆大霉素的胶体金快速检测试纸条, 试纸条采用直接竞争法原理。【结果】该方法可同时检测恩诺沙星、环丙沙星、诺氟沙星、氟甲喹、培氟沙星、氧氟沙星、依诺沙星、噁喹酸、麻保沙星、氟罗沙星、奥比沙星、达氟沙星和洛美沙星这 13 种喹诺酮类药物和庆大霉素, 对其他喹诺酮类药物如: 沙拉沙星、二氟沙星、司帕沙星、帕珠沙星等无交叉反应, 同时对其他氨基糖苷类药物如: 链霉素、新霉素、卡那霉素也无交叉反应。该试纸条对牛奶中这 13 种喹诺酮类药物和庆大霉素的检测限均为 $20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 完全满足国家对这两类药物的残留限量要求。牛奶样本直接检测, 无需处理, 整个检测过程 5 min 内完成。【结论】采用该方法和 HPLC-MS/MS 对 60 份牛奶盲样进行对比检测, 阳性样品全部检出, 同时筛选方法未出现假阳性和假阴性现象, 二者的测定结果基本相符, 表明该方法准确可靠, 适用于现场大批量样品的快速检测和筛选。实际操作过程中, 可以采用胶体金免疫层析对样品进行现场快速初筛; 筛选的疑似阳性样品, 可以采用 HPLC-MS/MS 方法对样品中 QNS 和 GEN 的含量进一步确认。

关键词: 喹诺酮类; 庆大霉素; 残留; 胶体金免疫层析

Development of a Colloidal Gold Immunochromatographic Technique for Simultaneous Detection of Quinolones and Gentamicin in Milk

LI Xiang-mei^{1,2}, WANG Zhan-hui¹, XIAO Xi-long¹, WANG Zhao-peng², WEN Kai¹, WU Xiao-ping²,
XIA Xi¹, WU Jin-xiao³, JIANG Hai-yang¹

(¹College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193; ²Beijing WDWK Biotechnology Company, Ltd., Beijing 100095; ³Shanxi Institute of Feed and Veterinary Drugs Control, Shanxi 030027)

Abstract: 【 Objective 】 Quinolones and gentamicin are highly effective and broad-spectrum antibiotics. They have significant antibiotic effects on gram-negative and gram-positive bacteria, and are widely used in agriculture in China. Because these two types of drug residues in foods of animal origin may cause harm to human health, therefore, in order to protect the consumers' health, it is necessary to develop a detection method for simultaneous monitoring these two types of drugs residue level in food. A colloidal gold immunochromatographic method was developed for the simultaneous detection of 13 quinolones and gentamicin residues in milk. 【 Method 】 In this study, based on the quinolones and gentamicin monoclonal antibodies, the colloidal gold particles were prepared by sodium citrate reduction method, and mixed labeled with same ratio of these two types of monoclonal antibodies. The effect of pH and antibody amount for gold-antibody conjugation on the strip test sensitivity was investigated. Meanwhile, the coating condition of these two types of antigens was selected. A colloidal gold rapid test strip was developed to simultaneously detect 13 quinolones and gentamicin residue in milk on these bases, and the test strip using the principle of direct competition. 【 Result 】 The results showed that the method can simultaneously detect 13 quinolones and gentamicin. These 13 quinolones include enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, flumequine, pefloxacin, ofloxacin, enoxacin, oxolinic acid, marbofloxacin, fleroxacin, orbifloxacin, danofloxacin and lomefloxacin. The test strip has no cross-reaction to other quinolones such as sarafloxacin, difloxacin, sparfloxacin and pazufloxacin, etc. At the same time, it has no cross-reaction to other aminoglycosides such as streptomycin, neomycin and kanamycin. The limit of detection was estimated to be 20 ng · mL⁻¹ in milk for both the 13 quinolones and gentamicin, since the detection test line on the strip test completely disappeared at this concentration. The detection limit for milk sample of these two types of drugs fully meets the detection limit requirements of China. Samples were detected directly without treatment, and the entire testing process was completed within 5 min. 【 Conclusion 】 A parallel analysis of quinolones and gentamicin in 60 blind raw milk

samples conducted by HPLC-MS/MS showed comparable results to those obtained from the strip test. All positive samples were detected while false positive and false negative phenomenon did not appear with this screening method. The results demonstrated that the developed method is suitable for the onsite determination of quinolones and gentamicin residues in a large number of samples. Since this method provides only qualitative and semiquantitative results, the determined positive samples should be further confirmed by more sensitive methods such as HPLC-MS/MS.

Key words: quinolones; gentamicin; residue; colloidal gold immunochromatographic

引言

【研究意义】喹诺酮类(QNS)和庆大霉素(GEN)均为广谱、高效抗生素,对大多数革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都具有显著的抗菌效果,因此是农业、畜牧业和水产业中常用的兽药,也常被添加到饲料中促进动物的生长发育^[1-2]。随着这两类药物在畜牧养殖业的不断应用,其残留问题日趋严重,在动物性食品中的残留不仅危害人的身体健康,如QNS可引起恶心、呕吐,影响软骨发育,GEN具有耳毒性和肾毒性,还污染环境、影响新药开发和临床用药,而且不利于养殖业的健康发展及畜禽产品的出口;更为严重的是动物性食品中残留较低浓度的药物容易诱导人类致病菌产生耐药性,不利于该类药物治疗人类疾病的治疗。为严格控制这两类抗生素在动物源食品中的残留,保证人民身体健康,保证进出口产品质量,提高中国畜产品的国际信誉,中国农业部第235号公告对这两类药物在动物源性食品中的最高残留限量(MRLs)均作了明确规定^[3]。因此,

研究这两类药物的残留检测方法对中国的食品安全监测具有非常重要的意义。【前人研究进展】目前国内外用于动物源食品中QNS和GEN残留检测的分析方法主要有微生物法^[4]、放射化学法^[5]、免疫分析法^[6-10](包括放射免疫法、酶联免疫法、荧光免疫法、免疫传感器和蛋白芯片)、薄层色谱法^[11]、毛细管电泳色谱法^[12-13]、高效液相色谱法^[14-16]、气相色谱-质谱法^[17]、液相色谱-质谱法^[18-20]等。微生物方法所需设备简单、价格低廉,适合于大批样品的检测;但是该法存在菌种不易筛选,影响因素复杂、检测耗时长、稳定性差、精确度低、灵敏度低的特点,往往不能满足目前实际检测工作的要求。高效液相色谱、质谱联机等仪器方法灵敏度高,可以提供定量及确证分析,但是前处理复杂,需要昂贵的仪器,且对操作人员有专业的要求,不适合基层检测分析。【本研究切入点】免疫分析法是近年来快速发展的一种方法,具有灵敏度高、特异性强、适用范围广、操作简便、快捷、成本低廉及现场适应能力强等优点。胶体金免疫层析法与其他免疫方法如ELISA相比,

样品前处理简单,不需任何仪器,结果可在5—10min内获取,且对操作人员没有专业要求,非常适合现场大批量样本的筛选。但目前国内外还未出现可同时检测QNS和GEN两类药物的胶体金免疫方法的报道。【拟解决的关键问题】建立同时检测牛奶中QNS和GEN两类药物残留的胶体金免疫层析方法。

1 材料与amp;方法

本试验于2013年1—7月在中国农业大学国家兽药安全评价中心及北京维德维康生物技术有限公司完成。

1.1 主要试剂和仪器

喹诺酮类单抗和抗原、庆大霉素单抗和抗原均由北京维德维康生物技术有限公司制备。庆大霉素(GEN)、链霉素(STR)、卡那霉素(KAN)、新霉素(NEO)、恩诺沙星(ENR)、盐酸环丙沙星(CIP)、诺氟沙星(NOR)、氟甲喹(FLU)、培氟沙星(PEF)、沙拉沙星(SAR)、二氟沙星(DIF),以上药品购自中国兽药监察所。氧氟沙星(OFL)、噁喹酸(OA)、麻保沙星(MAR)、氟罗沙星(FUL)、奥比沙星(ORB)、依诺沙星(ENO)、达氟沙星(DAN)、洛美沙星(LOM)、司帕沙星(SPA)、帕珠沙星(PAZ)、牛血清白蛋白(BSA),氯金酸等以上药品均购自Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)。硝酸纤维素膜(NC膜),美国Millipore公司;吸水纸、PVC底板等购自上海金标公司。恒温磁力搅拌器,德国Heigoph公司;高速冷冻离

离心机,德国Kendro公司;电子分析天平,Mettler-Toledo仪器公司;微电脑自动斩切机ZQ2000,上海金标公司;B-3060喷膜平台,美国BioDot公司,冷冻干燥机FD-1B-50,北京博医康实验仪器有限公司。

1.2 胶体金的制备

采用柠檬酸三钠还原法制备^[21]。取100 mL双蒸水加热至沸腾,在持续搅拌的情况下加入1 mL 1% (w/v)的氯金酸,等水再次沸腾以后,取2 mL 1% (w/v)的柠檬酸三钠,一次性快速加入锥形瓶中。继续搅拌加热15 min,直至溶液呈透亮的红色。室温冷却,用去离子水恢复到原体积,4℃保存备用。

1.3 金标抗体的制备

本研究采用棋盘法确定抗体标记的最佳pH值和最佳抗体用量。将装有100 mL胶体金溶液的洁净小烧杯置于磁力搅拌器上并搅拌,用 $0.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ K_2CO_3 调pH值至8.5,然后逐滴加入10 mL用双蒸水稀释的混合抗体,搅拌10 min后,加入20% (w/v) BSA溶液2 mL,继续搅拌10 min,4℃ 12 000 r/min离心30 min,弃上清,用 $0.02\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS (5%蔗糖,1%BSA,0.5%吐温20,pH 7.4)将管底红色沉淀悬溶至100 mL,将悬溶好的金溶液加入到洁净酶标微孔中,每孔加入40 μL ,然后放入冷冻干燥机中冷冻过夜,将冻好的金标微孔用铝箔袋密封好待用。

1.4 抗原包被液和包被条件的选择

分别采用 $0.05\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 9.6的碳酸盐缓冲液(CB)、 $0.01\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 9.0的Tris-HCl缓冲液和 $0.01\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 7.4的磷酸盐缓冲液(PBS)作为包被缓

冲液，将包被原稀释后用 BioDot-3060 喷在 NC 膜上，比较三者检测线颜色深浅及灵敏度；分别将喷有包被原的 NC 膜置于 37℃ 干燥 2h 后保持 37℃ 干燥过夜，比较两者检测线颜色深浅及灵敏度。

1.5 检测过程

取 200 μL 新鲜奶样加入微孔金中，轻轻来回吹打 3—4 次使微孔金完全溶解后，将组装好的试纸条插入微孔中，5 min 后即可观察结果。检测结果见图 1。

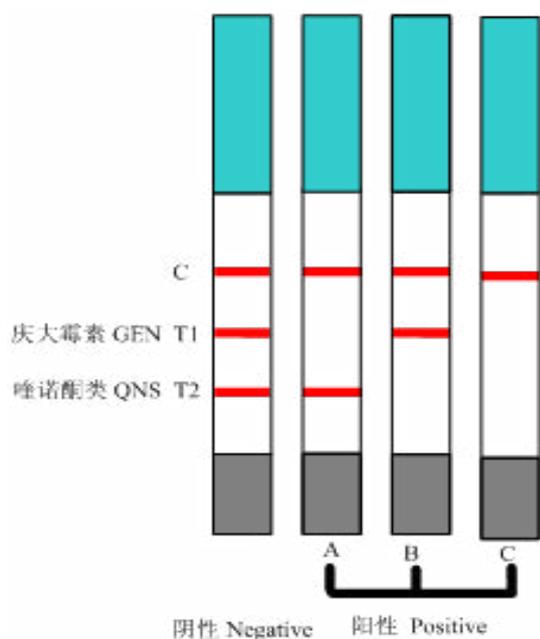


图 1 试纸条检测结果示意图

Fig. 1 Schematic description of detection results of the test strip

1.6 试纸条参数确认

1.6.1 检测限

随机抽取 120 份经国家兽药安全评价中心检测不含 QNS 和 GEN 的阴性牛奶样本，抽出 100 份样

本平均分成 5 组，用 ENR 和 GEN 标准品工作液添加 5 个浓度梯度，分别为 5-5、10-10、20-20、50-50、100-100 ng · mL⁻¹，另 20 份样本做阴性对照。共 3 个批次，两个重复试验。将 T1、T2 检测线刚好完全消失的浓度定为检测限。

1.6.2 交叉反应

分别将上述 17 种喹诺酮类药物和 4 种氨基糖苷类药物工作液作系列稀释：即 100、50、20、10、5 ng · mL⁻¹，同时设阴性对照，分别用试纸条进行测试。

1.7 盲样检测

为了鉴定试纸条的准确性与可靠性，从国家兽药安全评价中心随机抽取 60 份奶样，并用胶体金试纸条、《SN/T 1751.2-2007 进出口动物源食品中喹诺酮类药物残留量检测方法 第 2 部分：液相色谱 - 质谱 / 质谱法》和《GB/T 21323-2007 动物组织中氨基糖苷类药物残留量的测定 高效液相色谱 - 质谱 / 质谱法》对牛奶中 QNS 和 GEN 的含量进行检测并比对结果。

2 结果

2.1 胶体金颗粒选择

本研究采用柠檬酸三钠还原法制备胶体金溶液。胶体金颗粒大小与柠檬酸三钠的加入量有关。随着加入的柠檬酸的量增加，胶体金的最大吸收波长下降。但加入的柠檬酸钠的量超过 2.5 mL，最大吸收波长基本不变。胶体金颗粒大小对试纸条的灵敏度和显色的影响见表 1。

表 1 胶体金颗粒大小选择

Table 1 Selection of colloidal gold particle size

| 柠檬酸钠的量 Trisodium citrate (mL) | 最大吸收波长 Maximum absorption wavelength (nm) | 显色情况 Color development (T1/T2) | 检测限 LOD (ng · mL ⁻¹) |
|----------------------------------|--|-----------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | 527 | +++++, 显色很深 Deep color | ENR: 40; GEN: 40 |
| 1.6 | 520 | +++++, 显色很深 Color depth | ENR: 30; GEN: 30 |
| 2 | 518 | ++++, 显色好 Good Color | ENR: 20; GEN: 20 |
| 2.5 | 517 | +++ , 显色一般 Color general | ENR: 10; GEN: 10 |
| 3.5 | 517 | +++ , 显色一般 Color general | ENR: 10; GEN: 10 |
| 5 | 517 | +++ , 显色一般 Color general | ENR: 10; GEN: 10 |

由表 1 可知, 加入 2 mL 1% 柠檬酸三钠时, 试纸条的显色和检测限可达到最佳状态。且该条件下制备的胶体金颗粒均一, 粒径适中, 因此随后实验均采用该条件下制备的胶体金溶液。

2.2 金标抗体最佳 pH 值和最佳蛋白用量的筛选结果 采用方阵法测定的 pH 值和抗体蛋白用量对试纸条检测限影响的结果见表 2。

由表 2 可知, pH 值的改变对灵敏度的影响很大, 当 pH 为 5.5 时, 抗体不能和胶体金偶联, 偶联过程胶体金溶液即分解变色。而当抗体用量降低至 5 μg · mL⁻¹ 时, 制得的金标抗体不稳定。当 pH 值

在 6.5—7.5 之间, 抗体用量为 10—30 μg · mL⁻¹, 试纸条检测线均显色, 但加入 50 ng · mL⁻¹ 的标准溶液检测线仍不消失。当 pH 值在 8.5—9.5 之间, 灵敏度明显上升, 检测限均能达到 20 ng · mL⁻¹。但 pH8.5 的显色明显强于 pH9.0 以上。因此, 在初步优化的基础上对偶联 pH 值和抗体用量进行了进一步优化, 结果表明, 当 pH 为 8.5, 抗体用量为 10 μg · mL⁻¹ 胶体金时, 试纸条检测限和显色均达到最佳状态。

2.3 包被液和包被条件的选择

包被液和包被条件对试纸条显色和检测限的影响结果见表 3。

表 2 不同 pH 值和抗体用量对检测限的影响

Table 2 Effect of different pH and antibody amounts on limits of detection

| 抗体量 Antibody amount (μg · mL ⁻¹) | P H | | | | |
|---|-----|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | 5.5 | 6.5 | 7.5 | 8.5 | 9.5 |
| 5 | NS | NS | NS | NS | NS |
| 10 | NS | > 100 ng · mL ⁻¹ | > 50 ng · mL ⁻¹ | ≤ 20 ng · mL ⁻¹ | ≤ 20 ng · mL ⁻¹ |
| 20 | NS | > 100 ng · mL ⁻¹ | > 50 ng · mL ⁻¹ | ≤ 20 ng · mL ⁻¹ | ≤ 20 ng · mL ⁻¹ |
| 30 | NS | > 100 ng · mL ⁻¹ | > 50 ng · mL ⁻¹ | ≤ 20 ng · mL ⁻¹ | ≤ 20 ng · mL ⁻¹ |

NS: 不稳定 No stable

表 3 包被液和包被条件的选择结果

Table 3 Selection of coating buffer and coating condition

| 项目 Items | | 显色情况 Color development | 抗体 Antibody amount (ng · mL ⁻¹) | | |
|---------------------------|-------------------|---|---|----|----|
| | | | 5 | 10 | 20 |
| 包被液 Coating buffer | CB | ++++ 放置时间长 T、C 线显黄色 Place a long time, T, C line would turn yellow | + | ± | - |
| | Tris-HCL | ++++ 但 T、C 线扩散 T, C line would spread | + | ± | - |
| | PBS | ++++ | + | ± | - |
| 包被方式 Coating condition | 37 C 2 h | ++++ | + | ± | - |
| | 37 C 过夜 Overnight | ++++ | + | ± | - |

- : 阴性 Negative; + : 阳性 Positive; ± : 弱阳性 Weakly positive

结果表明, 采用 PBS 作包被液较之 CB 和 Tris-HCL 效果更好, 说明盐离子浓度和 pH 值可影响包被原在 NC 膜上的吸附效果。喷涂包被原的 NC 膜 37℃ 干燥 2 h 并 37℃ 干燥过夜检测线显色深浅和灵敏度均相当, 因此, 为节约操作时间, 选择 37℃ 干燥 2 h 的方式进行包被。

2.4 试纸条参数的确定

2.4.1 检测限确定

采用系列浓度添加的奶样进行试纸条的跑样, 确定试纸条的检测限。结果见图 2。阴性对照控制

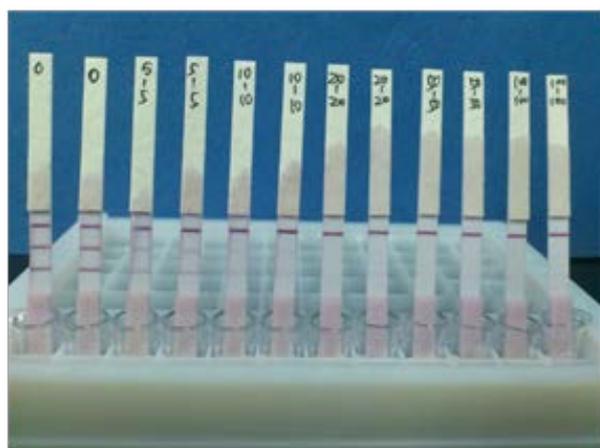


图 2 牛奶样本的试纸条检测

Fig. 2 Strip test for the detection of ENR and GEN in milk

线和检测线均显色, 当 ENR 和 GEN 的添加浓度均为 5 ng · mL⁻¹ 时, 检测线显色明显变浅, 滴加 20-20 ng · mL⁻¹ 以上浓度时, T1 和 T2 检测线则完全消失。因此试纸条检测牛奶样本中 ENR 和 GEN 的检测限可定为 20 ng · mL⁻¹。

2.4.2 交叉反应试验 试纸条的交叉反应试验结果见表 4。试纸条对氨基糖苷类的其他 3 种药物 KAN、NEO、STR 无交叉反应。对喹诺酮类药物如 CIP、NOR、FLU、PEF、OFL、ENO、OA、MAR、FUL、ORB、DAN、LOM 的交叉反应明显, 且对这 12 种药物的检测限均可定为 20 ng · mL⁻¹。对其余喹诺酮类药物如 SAR、DIP、SPA、PAZ 均无交叉反应。

ENR 和 GEN 的添加浓度从左至右的浓度分别为 0-0、5-5、10-10、20-20、50-50 和 100-100 ng · mL⁻¹

The spiked levels used were 0-0, 5-5, 10-10, 20-20, and 100-100 ng · mL⁻¹ from left to right. The level of 20-20 ng · mL⁻¹ ENR and GEN in milk causes complete disappearance of the test line

表 4 试纸条交叉反应试验结果

Table 4 Cross-reactivity of the test strip

| 药物 Drug | 标准液浓度 The concentration of standard solution (ng · mL ⁻¹) | | | | | |
|------------|--|---|----|----|----|-----|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | 50 | 100 |
| GEN | — | — | ± | + | + | + |
| KAN | — | — | — | — | — | — |
| STR | — | — | — | — | — | — |
| NEO | — | — | — | — | — | — |
| ENR | — | — | ± | + | + | + |
| CIP | — | — | ± | + | + | + |
| NOR | — | — | ± | + | + | + |
| FLU | — | — | ± | + | + | + |
| PEF | — | — | ± | + | + | + |
| SAR | — | — | — | — | — | — |
| DIP | — | — | — | — | — | — |
| OFL | — | — | ± | + | + | + |
| ENO | — | — | ± | + | + | + |
| OA | — | — | ± | + | + | + |
| MAR | — | — | ± | + | + | + |
| FUL | — | — | ± | + | + | + |
| ORB | — | — | ± | + | + | + |
| DAN | — | — | ± | + | + | + |
| LOM | — | — | ± | + | + | + |
| SPA | — | — | — | — | — | — |
| PAZ | — | — | — | — | — | — |

—: 阴性 Negative; +: 阳性 Positive; ±: 弱阳性 Weakly positive

2.5 盲样检测

随机抽取 60 份盲样, 分别用 HPLC-MS/MS 与试纸条方法同时进行检测。用 HPLC-MS/MS 共检测出 6 个阳性样本。其中, 检测 10 号样本含 GEN 156 ng · mL⁻¹, 17 号样本含 GEN 98 ng · mL⁻¹, 26 号样本含 OFL 12.5 ng · mL⁻¹, 33 号样本含 GEN 64 ng · mL⁻¹, 45 号样本含 GEN 189 ng · mL⁻¹, 52 号样本含 OFL 45 ng · mL⁻¹, 其他样本均为阴性, 试纸条的检测结果与 HPLC-MS/MS 的检测结果完全吻合。结果表明筛选方法可将阳性样本全部检出, 且未出现假阳性和假阴性现象。部分盲样的试纸条检测结果见图 3。



图 3 部分盲样试纸条检测结果

Fig. 3 Strip test for the detection of some blind raw milk samples

3 讨论

本研究首次报道了胶体金免疫层析方法同时检测牛奶中喹诺酮类和庆大霉素的残留。2005 年, Jin 等 [22] 报道了牛奶和血浆中庆大霉素残留检测的胶体金免疫方法, 2008 年, Zhu 等 [2] 报道了鸡肉组织中 12 种喹诺酮类药物残留检测的胶体金方法。胶体金颗粒与抗体蛋白标记过程中, 一般采取一对一的方式, 即将单个抗体蛋白与胶体金颗粒进行标记,

这种方式既比较容易实现, 同时标记的抗体也比较稳定。本研究为了能在一个试纸条上同时检测两类药物, 先将单个抗体蛋白与胶体金颗粒进行标记, 在确定单个抗体蛋白标记的最佳 pH 和最佳抗体用量后, 先选定一个适合两个抗体蛋白同时标记的 pH 值, 然后将两个抗体蛋白按一定比例混合, 这个比例范围可以从 9 : 1 到 1 : 1 进行摸索。在确定两个抗体蛋白的最佳比例用量后, 再返回摸索抗体标记的最佳 pH 值。本研究同时对比了抗体蛋白进行

单独标记后再混合在一起的检测效果。结果表明：混合标记比单独标记再混合的金标抗体更加稳定，试纸条显色颜色更加均一和一致。单独标记的金标抗体混合后，显色效果和检测限不一定与单独标记时一致，最主要的问题还是金标抗体不如混合标记稳定，这可能与两个抗体与胶体金颗粒结合的电荷是否平衡有关系。单独标记再混合，可能有一个电荷再平衡的过程，所以导致不稳定。当然这种混合标记的前提必须建立在两个或多个抗体蛋白单独标记时最佳 pH 相同或接近的情况下，这取决于抗体的特性和效价。这种一个试纸条进行多残留检测的模式，是今后胶体金免疫层析方法发展的趋势。

本试验对试纸条上包被 GEN 和 QNS 抗原的位置进行了研究。首先将 GEN 抗原包被在 T1 位置，QNS 抗原包被在 T2 位置，然后互换位置进行对比试验。发现显色和抑制没有差异。

为了验证多种抗体蛋白混合标记的稳定性，本研究对冻干金标抗体进行了加速稳定性试验。将冻干金标抗体 45℃ 烘烤 15 d 后，发现试纸条的显色和抑制情况与 45℃ 0 d 的结果基本没差异，结果证明了这种混合标记法的可行性。

References

- [1] Li X M, Chen Y Q, Tang S S, He J K, Shang Y H, Xiao X L. Residue Depletion of Gentamicin in Swine Tissues after Intramuscular Administration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57: 7356-7362.
- [2] Zhu Y, Li L, Wang Z H, Chen Y Q, Shen J Z. Development of an immunochromatography strip for the rapid detection of 12 fluoroquinolones in chicken muscle and liver. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56: 5469-5474.

试验中采用胶体金免疫层析法、HPLC-MS/MS 法对牛奶样本进行了检测，结果表明，采用这两种方法，阳性样品全部检出，同时筛选方法未出现假阳性和假阴性现象，说明二者的测定结果基本相符。实际操作过程中，可以采用胶体金免疫层析对样品进行现场快速初筛，筛选的疑似阳性样品，可以采用 HPLC-MS/MS 方法对样品中 QNS 和 GEN 的含量进一步确认。

4 结论

本研究成功建立了可同时检测牛奶中 13 种喹诺酮类药物和庆大霉素残留的胶体金免疫层析方法。试验结果表明该方法对牛奶中 13 种喹诺酮类药物和庆大霉素的检测限均为 $20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。牛奶样本直接检测，无需处理，整个检测过程 5 min 内完成。采用该研制的试纸条和理化分析方法对抽检牛奶样本进行对比检测，结果表明，二者的测定结果基本相符，表明该试纸条检测方法准确可靠，适用于现场大批量样本的快速检测和筛选。

- [3] 动物源食品中兽药最高残留限量. 农业部公告 [2002] 第 235 号, 2002 年 12 月 24 日. The maximum residue limits of veterinary drugs in food products of animal origin. *Bulletin of Ministry of agricultural* [2002] no. 235th, December 24, 2002. (in Chinese)
- [4] Shaikh B, Allen E H. Overview of physical-chemical methods for determining aminoglycoside antibiotics in tissues and fluids of food producing animals. *Journal of the AOAC International*, 1985, 68: 1007-1013.

- [5] Boison J O, MacNeil J D. Chemical analysis for antibiotics used in agriculture. *Journal of the AOAC International*, 1995, 4 (6): 256-259.
- [6] Haasnoot W, Stouten P, Cazemier G. Immunochemical detection of aminoglycosides in milk and kidney. *Analyst*, 1999, 124: 301-305.
- [7] Loomans E E M G, Wiltenburg J V, Koets M. Neamin as an immunogen for the development of a generic ELISA detecting gentamicin, kanamycin, and neomycin in milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51: 587-593.
- [8] Brown S A, Newkirk D R, Hunter R P. Extraction methods for quantitation of gentamicin residues from tissues using fluorescence polarization immunoassay. *Journal of AOAC International*, 1990, 73: 479-483.
- [9] Bucknall S, Silverlight J, Coldham N, Thorne L, Jackman R. Antibodies to the quinolones and fluoroquinolones for the development of generic and specific immunoassays for detection of these residues in animal products. *Food Additives and Contaminants*, 2003, 20: 221-228.
- [10] Huet A C, Charlier C, Tittlemier S A, Singh G, Benrejeb S, Delahaut P. Simultaneous determination of (fluoro) quinolone antibiotics in kidney, marine products, eggs, and muscle by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54: 2822-2827.
- [11] Bhogte C P, Patravale V B, Devarajan P V. Fluorodensitometric evaluation of gentamicin from plasma and urine by high-performance thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography B*, 1997, 694: 443-447.
- [12] Long Y H, Hernandez A, Kaale E. Determination of kanamycin in serum by solid-phase extraction, pre-capillary derivatization and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B*, 2003, 784: 255-264.
- [13] 尹茶, 吴玉田. 高效毛细管电泳法同时测定 4 种喹诺酮类药物. *药物分析杂志*, 1997, 17(6): 371-373.
- Yin C, Wu Y T. Determination of four quinolones by high performance capillary electrophoresis. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 1997, 17(6): 371-373. (in Chinese)
- [14] Liao L, Rao Y, Yang G X, Huang X H, Zeng Z L, Zeng Z L. Development of HPLC method for multiresidue determination of 12 quinolones in egg. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(8): 2419-2424.
- [15] Amond A I, Clark B J, Chrystyn H. Determination of gentamicin in urine samples after inhalation by reversed-phase high-performance liquid chromatography using pre-column derivatisation with o-phthalaldehyde. *Journal of Chromatography B*, 2002, 769: 89-95.
- [16] Clarot I, Chaimbaul P, Hasdenteufe F. Determination of gentamicin sulfate and related compounds by high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1031: 281-287.
- [17] Preu M, Guyot D, Petz M D J. Development of a gas chromatography- mass spectrometry method for the analysis of aminoglycoside antibiotics using experimental design for the optimization of the derivatisation reactions. *Journal of Chromatography A*, 1998, 818: 95-108.

[18] Hatano K. Simultaneous determination of quinolones in foods by LC/MS/MS. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2004, 45(5): 239-244.

[19] Cherlet M, Baere S D, Backer P D. Determination of gentamicin in swine and calf tissues by high-performance liquid chromatography combined with electrospray ionization mass spectrometry. Journal of Mass Spectrometry, 2000, 35: 1342-1350.

[20] Loffler D, Ternes T A. Analytical method for the determination of the aminoglycoside gentamicin in hospital wastewater via liquid chromatography-

electrospray-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 2003, 1000: 583-588.

[21] Zhou P, Lu Y, Zhu J, Hong J, Li B, Zhou J, Gong D, Montoya A. Nanocolloidal gold-based immunoassay for the detection of the N-methylcarbamate pesticide carbofuran. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 4355 - 4359.

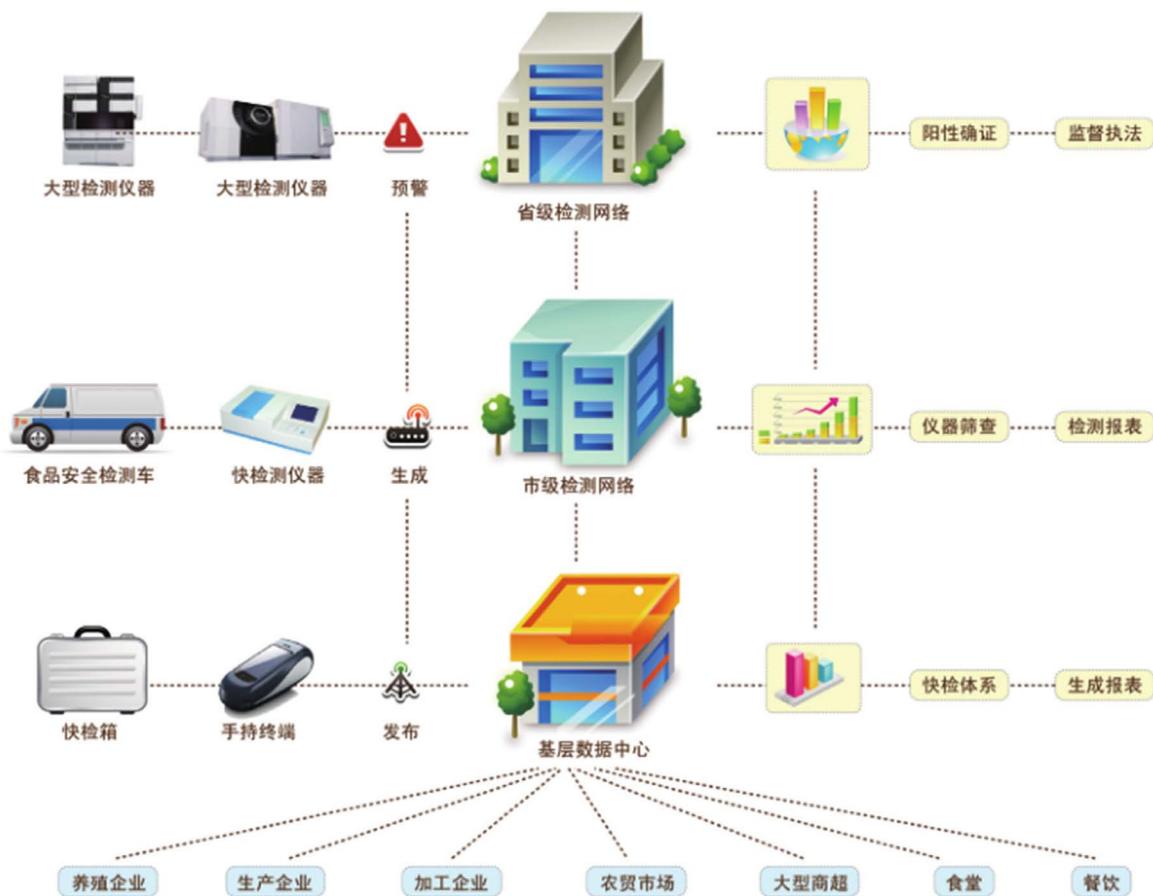
[22] Jin Y, Jang J W, Han C H, Lee M H. Development of ELISA and immunochromatographic assay for the detection of gentamicin. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53: 7639-7643.

备注：此文章发布在《中国农业科学》杂志
(责任编辑 林鉴非)



食品安全监控解决方案

北京维德维康生物有限公司立足于强大的研发平台，整合社会优势资源，从农田到餐桌整个产业链为广大客户提供完整的实验室解决方案。



食品安全监控整体解决方案，包括食品安全监控体系、监管网络体系及培训体系的建立。可提供监管网络设备、实验室仪器耗材、技术支持、人员培训等一体化服务，帮助监管部门建立起省、市、县、乡四级食品安全监控网络。各级实验室可根据实际需求建立不同规模的实验室。



24 小时服务热线：

400-860-8088
13911340259



维德维康微信账户

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
网址：www.wdwkbio.com 传真：010-62987854 82782819
服务热线：400-860-8088 13911340259 电话：010-62974201 62668360