

内容简介

《食品安全快速检测技术前沿与发展趋势》是一部全面、系统、深入探讨现代食品安全快速检测技术发展现状、核心原理、应用场景及未来走向的专业著作。本书立足于国家食品安全战略需求，结合全球科技进步与中国实践特色，旨在为政府监管、企业自控、科研创新和公众参与提供理论支撑与实践指南。

全书以“技术—应用—治理”为主线，首先从多维角度对快速检测技术进行科学分类：按检测原理分为免疫分析法、分子生物学法、生物传感技术、光谱成像等；按检测对象涵盖生物性危害（如致病菌、真菌毒素、过敏原）、化学性危害（如农兽药残留、非法添加物、重金属）以及食品掺假、转基因成分等；按应用场景则贯穿食品生产、流通、餐饮及消费者终端全过程。书中通过大量实例说明，快速检测已深度融入乳制品、肉制品、粮油、果蔬等行业的原料验收、过程监控与出厂检验环节，成为企业落实主体责任、防范风险的关键工具。

本书特别强调快速检测与传统确证方法的互补关系，提出“快筛慢确证”的协同机制——快速检测作为高通量筛查手段，实现风险早发现；实验室确证则以其高精度和法定效力，支撑执法决策。二者相辅相成，共同构建高效、科学、合法的现代食品安全监管体系。同时，作者系统梳理了国内外快速检测技术的发展脉络，从早期的化学比色法、酶抑制法，到免疫层析、PCR 技术的广泛应用，再到当前集成化、智能化、便携化的生物传感器与多模态检测平台，清晰展现了技术演进的逻辑与趋势。

尤为突出的是，本书不仅关注技术本身，更注重其在社会治理中的延伸价值。快速检测已成为风险预警的“前哨站”、精准监管的“导航仪”、企业自控的“催化剂”和社会共治的“黏合剂”。在大型商超、农贸市场、“明厨亮灶”工程乃至家庭自检中，快速检测正推动食品安全从专业领域走向大众生活，促进信息透明、信任重建与责任共担。最后，本书展望了人工智能、物联网、大数据与快速检测深度融合的未来图景，为构建智慧化、网络化、全链条的食品安全治理体系提供前瞻性思考。

本书兼具学术性、实用性与前瞻性，适合食品安全监管人员、科研工作者、高校师生、食品企业质量管理人员及相关从业者阅读参考。



食品安全快速检测技术前沿与发展趋势
Frontiers and Development Trends of Rapid Food Safety Detection Technologies

李莉 著

SCIENTIFIC
Publishing Limited

Frontiers and Development Trends of Rapid Food Safety Detection Technologies

食品安全快速检测技术前沿与发展趋势

李莉 著



SCIENTIFIC
Publishing Limited

作者简介



李莉, 出生于 1987 年 3 月, 女, 汉族, 本科, 高级工程师, 河南虞城人, 从事食品检验检测研究。2010 年 7 月至今在商丘市产品质量检验加测中心食品室, 2016 年 12 月评审通过工程师, 2023 年 12 月评审通过副高级工程师。2010 年 7 月至 2013 年 7 月, 主要从事食品中的水分、灰分、脂肪以及常规参数的酸碱滴定检测; 2013 年 8 月至 2016 年 9 月在食品室主要从事小麦粉品质检验及食品添加剂、着色剂, 兽药残留检验。2016 年 10 月至今主要负责报告的审核签发工作及科室相关的一些日常管理工作。

任职以来, 先后发表论文 6 篇, 其中核心论文 1 篇《食用菌农药残留含量检测方法及试验》; 参与编写论著《食品营养学与饮食健康》、《食品蛋白基料加工原理与技术》; 2016 年和 2017 年, 分别与河南阿凡提食品股份有限公司合作自筹项目《马齿苋熟制挂面生产工艺研究》, 商丘学院合作自筹项目《鲜红薯酿造食醋生产技术研究》, 商丘职业技术学院合作自筹项目《河南省果蔬产业品牌及贸易研究》顺利通过河南省科学技术厅科学技术成果鉴定, 并荣获商丘市科学技术进步奖二等奖; 发明专利 1 项《一种多功能型食品检测用预处理装置》; 2024 年与商丘市市场监督管理局, 商丘牵手餐饮公司等制定的《商丘特色名吃烹饪技艺 垛子羊肉》已获得批准; 带领科室人员进行的课题《富硒乳酸菌的制备及富硒马铃薯益生菌饮料开发》研究, 已完成结题。结合本职检验工作和生产企业情况, 帮助企业起草企业标准, 同商丘珍尝食品有限公司共同编制了 4 个企业标准。

Frontiers and Development Trends of Rapid Food Safety Detection Technologies

食品安全快速检测技术前沿与发展趋势

李莉 著



British National Bibliography

Cataloguing-in-Publication(CIP) programme

Title: Frontiers and Development Trends of Rapid Food Safety Detection Technologies

Author: Li Li, author.

Publisher Details: Cambridge: UK Scientific Publishing, 202602.

Identifier: p25091781100575293

ISBN: 9781806411238

BNB: GBC6076584



Frontiers and Development Trends of Rapid Food Safety Detection Technologies 食品安全快速检测技术前沿与发展趋势



Address: Dollman Street, Birmingham, United Kingdom, B7 4RP

Tel: +441223603549

Email: contact@ukscip.com

Format: 170mm×240mm 1/16

Sheets: 16

Word Counts: 200,000

UK Scientific Publishing Limited

前言 PREFACE



《食品安全快速检测技术前沿与发展趋势》是一部全面、系统、深入探讨现代食品安全快速检测技术发展现状、核心原理、应用场景及未来走向的专业著作。本书立足于国家食品安全战略需求，结合全球科技进展与中国实践特色，旨在为政府监管、企业自控、科研创新和公众参与提供理论支撑与实践指南。

全书以“技术—应用—治理”为主线，首先从多维角度对快速检测技术进行科学分类：按检测原理分为免疫分析法、分子生物学法、生物传感技术、光谱成像等；按检测对象涵盖生物性危害（如致病菌、真菌毒素、过敏原）、化学性危害（如农兽药残留、非法添加物、重金属）以及食品掺假、转基因成分等；按应用场景则贯穿食品生产、流通、餐饮及消费者终端全过程。书中通过大量实例说明，快速检测已深度融入乳制品、肉制品、粮油、果蔬等行业的原料验收、过程监控与出厂检验环节，成为企业落实主体责任、防范风险的关键工具。

本书特别强调快速检测与传统确证方法的互补关系，提出“快筛慢确证”的协同机制——快速检测作为高通量筛查手段，实现风险早发现；实验室确证则以其高精度和法定效力，支撑执法决策。二者相辅相成，共同构建高效、科学、合法的现代食品安全监管体系。同时，作者系统梳理了国内外快速检测技术的发展脉络，从早期的化学比色法、酶抑制法，到免疫层析、PCR 技术的广泛应用，再到当前集成化、智能化、便携化的生物传感器与多模态检测平台，清晰展现了技术演进的逻辑与趋势。

尤为突出的是，本书不仅关注技术本身，更注重其在社会治理中的延伸价值。快速检测已成为风险预警的“前哨站”、精准监管的“导航仪”、企业自控的“催化剂”和社会共治的“黏合剂”。在大型商超、农贸市场、“明

厨亮灶”工程乃至家庭自检中，快速检测正推动食品安全从专业领域走向大众生活，促进信息透明、信任重建与责任共担。最后，本书展望了人工智能、物联网、大数据与快速检测深度融合的未来图景，为构建智慧化、网络化、全链条的食品安全治理体系提供前瞻性思考。

本书兼具学术性、实用性与前瞻性，适合食品安全监管人员、科研工作者、高校师生、食品企业质量管理人员及相关从业者阅读参考。

目录 CONTENTS >>>>

第一章 食品安全快速检测技术概述	1
第一节 食品安全快速检测技术定义与分类	1
第二节 食品安全快速检测技术发展历程	8
第三节 食品安全快速检测技术的应用现状	13
第四节 食品安全快速检测技术标准体系	18
第二章 分子生物学快速检测技术	25
第一节 聚合酶链式反应技术原理与应用	25
第二节 基因芯片检测技术进展	30
第三节 环介导等温扩增技术发展	36
第四节 生物传感器在分子检测中的应用	41
第三章 免疫学快速检测技术	49
第一节 酶联免疫吸附测定技术	49
第二节 免疫层析技术原理与改进	55
第三节 化学发光免疫分析技术	62
第四节 荧光免疫检测新技术	67
第四章 生物传感快速检测技术	75
第一节 电化学生物传感器	75
第二节 光学生物传感器	79
第三节 压电生物传感器	84
第四节 微生物传感器技术进展	90
第五章 光谱快速检测技术	97
第一节 近红外光谱分析技术	97
第二节 拉曼光谱检测技术	103
第三节 荧光光谱检测方法	109
第四节 紫外可见光谱应用	115

第六章 色谱快速检测技术	121
第一节 高效液相色谱技术	121
第二节 气相色谱技术进展	126
第三节 薄层色谱快速检测	133
第四节 离子色谱新技术	140
第七章 纳米材料在快速检测中的应用	147
第一节 纳米金标记技术	147
第二节 量子点检测技术	152
第三节 磁性纳米材料应用	157
第四节 碳纳米材料检测方法	163
第八章 微流控芯片快速检测技术	169
第一节 微流控芯片设计原理	169
第二节 样品前处理集成技术	175
第三节 检测单元微型化技术	181
第四节 微流控芯片产业化进展	187
第九章 食品安全快速检测数据处理	197
第一节 快速检测信号处理技术	197
第二节 大数据分析在食品安全中的应用	205
第三节 人工智能识别技术	211
第四节 检测结果可视化展示	216
第十章 食品安全快速检测技术展望	223
第一节 快速检测技术发展趋势	223
第二节 多技术联用发展方向	229
第三节 现场检测设备智能化	234
第四节 快速检测技术标准化进程	240
参考文献	249

第一章 食品安全快速检测技术概述

全球食品产业链越延伸、越复杂，食品安全就成了涉及国计民生的大事。为了应对不断出现的挑战，提高监管效率，食品安全快速检测技术随之而生并且发展迅速。本章主要对技术领域里的基本概念、分类及食品安全保障体系中战略性地位进行描述，为后文前沿技术发展奠定理论基础。

第一节 食品安全快速检测技术定义与分类

本节会详细论述食品安全快速检测技术的主要概念、明显特性，创建起一套科学的分类体系。对技术内涵进行细致的分析并加以分类整理之后，就能对各类技术的适用范围以及可能存在的局限性有更为清晰的认识，进而为食品安全风险的精确且高效的监测给予科学的指引，推动其在监管和生产中规范的应用。

一、快速检测技术的核心定义与内涵

食品安全快速检测技术，是指能在较短时间内，对食品样品中的危害物或品质指标进行现场或近现场分析的一系列方法的总称。它重视检测的速度，又注重方法的实用性和便捷性，是现代食品安全监控体系中不可缺少的前沿哨兵和重要部分。内涵主要由快速性、现场适用性、操作简便性这三块组成，使其与传统的实验室检测方法有显著的不同。

（一）快速性的时间界定

快速性是定义食品安全快速检测技术的最重要的一个标准。这里的“快速”是一个相对的概念，相对于传统实验室检测方法数小时甚至数天的分析周期来说，快速检测技术从样品接收到得出定性或者半定量的结果，总耗时一般在几分钟到两小时之间。胶体金免疫层析试纸条一般在 5 到 15 分钟内可以出结果，便携式酶联免疫吸附分析或者聚合酶链式反应设备，检测时间可以缩短到一到两个小时。



如此明显的时间优势，给快速检测技术及时监测、迅速反应提供了可能，在突发食品安全事件的紧急处置、生产线上产品质量的连续监控、流通环节大规模筛查等方面具有很大的价值。时间界定不单要包含分析反应时间，还要包括样品前处理时间。理想的快速检测方法应该是简单的或者不需要前处理，以便于整个过程快速完成。

（二）现场适用性的要求

现场适用性是食品安全快速检测技术与传统实验室方法的又一不同点，即不需要大型、精密、固定的实验室环境，就可以进行检测。它可以在生产车间、田间地头、农贸市场、海关口岸等复杂环境中运行，这就对所使用的仪器设备和试剂提出了小型化、便携化、坚固耐用的要求。设备一般需要电池供电或者功耗低，可以适应不同的温湿度环境，也有一定的抗干扰性。

现场适用性还指检测过程对环境的要求不高。传统的检测方法需要严格的无菌操作台、恒温恒湿环境以及专业的通风系统，而快速检测技术设计目标之一就是尽可能少地依靠外部条件。很多快速检测试剂盒都是密封的，可以在常温下储存、运输，在非标准场所直接使用，大大扩展了食品安全监督的地理范围。

走向现场的能力使监管人员和生产企业可以将风险发现的关口前移。从原料采购源头筛查，加工过程动态监控，市场流通环节的即时抽检，“移动的实验室”现场适用性可以覆盖食品供应链全过程并及时干预，大大提升监管的威慑力和主动性。

（三）操作简便性的特征

操作简便性对快速检测技术的广泛、快速地推广应用来说十分重要。检测程序应当简单明了，不需要检测人员有很深的专业知识和背景。理想的快速检测方法应该像家用血糖仪一样，经过简单的培训之后，非专业人士也可以自行操作。主要表现在样品前处理简化、试剂预制化、结果判读直观化这三个方面。

很多快速检测技术，例如试纸条或者测试卡，它们的样品前处理流程也许只是简单的稀释或者提取，这样一来，就省去了传统办法里那些繁琐的萃取，纯化以及浓缩的步骤。试剂一般以试剂盒的形式提供，所有必需的化学试剂和耗材都已预分装、标准化，使用者只需按说明操作，依次加入样品和试剂即可。这样“傻瓜式”的设计大大降低了由于人为操作失误造成结果偏差的情况，从而保证检测结果的稳定可靠。结果的展示形式也力求直观，大多以颜色变化、有无线条或者

数字读数来表示，不需要对复杂的谱图或者数据进行专业的解读。这些特点一起形成了操作简便性的核心，使技术可以下达到基层监管单位和企业一线，实现人人可用、处处可用。

二、快速检测技术的分类体系

为了系统地认识和应用庞杂多样的食品安全快速检测技术，建立科学的分类体系十分重要。不同的分类方式可以让我们更加全面的认识各种技术的特点、优势以及适用范围，从而给技术研发、方法选择和系统搭建提供清晰的思路。多维分类利于使用者按照自身需要，找到最合适的技术方案。

（一）按检测原理分类

按照快速检测技术的内在科学原理进行分类，是最快、最根本、最核心的分类方法。该种分类方法有利于深入认识技术的工作原理、灵敏度、特异性以及可能存在的干扰因素，给技术的改进与创新提供方向。目前主流的快速检测技术主要是以以下几种原理来构建的：

1. 免疫分析技术：利用抗原与抗体之间高度特异的结合反应来检测目标物。形式多样，有酶联免疫吸附分析、胶体金免疫层析法、化学发光免疫分析等。免疫分析法特异性强、灵敏度高，对兽药残留、生物毒素、致病菌、非法添加物等检测应用较多，其中胶体金试纸条成本低、操作简单，是目前现场筛查的主力。

2. 分子生物学技术：主要是以核酸（或）序列特异性识别为原理的检测技术。它的代表性检测手段就是聚合酶链式反应，通过体外大量扩增目标 DNA 片段来达到对病原微生物、转基因等高通量检测的目的。近些年来，等温扩增技术，诸如环介导等温扩增、重组酶聚合酶扩增等，由于不需要精密的温控设备，因此更适宜于在现场使用，引起了人们的注意。

3. 光谱与色谱技术：用物质对光、电、磁等物理信号的不同反应来进行分析。便携式光谱仪如近红外光谱仪、拉曼光谱仪可以无损、快速地对样品进行分析，常被用来鉴别食品掺假、测定成分含量。快速气相色谱、液相色谱技术简化了设备、优化了流程，缩短了传统色谱方法的分析时间，可以用于现场对农药残留等多组分进行快速筛查。

4. 生物传感器技术：生物传感器是生物识别元件（酶、抗体、核酸、细胞等）和物理或化学换能器组成的一种装置。它可以把生物识别事件转换成可以测量的



电信号、光信号或者质量变化信号。按换能方式的不同可分为电化学生物传感器、光学传感器、压电生物传感器等。生物传感器具有响应快、灵敏度高、微型化、实时在线监测等优点，是未来快速检测最有前途的手段之一。

（二）按检测对象分类

根据快速检测技术要发现和定量的目标物，将其分为不同的类别，这是一种面向应用的实用分类。此种分类方法同食品安全风险的来源存在直接关联，利于监管机构以及生产企业按照其所关心的主要危害物，快速找到对应的检测工具和解决办法。

最主要的分类就是按照生物性、化学性、物理性危害。生物性危害的检测对象主要是致病微生物（沙门氏菌、大肠杆菌）、生物毒素（黄曲霉毒素、呕吐毒素）和过敏原等。这些项目与急性食物中毒等公共卫生事件的发生直接相关，所以快速检测就显得十分重要。

化学性危害的检测范围更广，也是快速检测技术应用最集中的领域。农药残留（有机磷类、菊酯类农药），兽药残留（抗生素、激素类药物），非法添加物及滥用添加剂（三聚氰胺、苏丹红、瘦肉精、吊白块等），环境污染物（重金属铅、汞、镉，持久性有机污染物）。这些物质长期或者过量摄入会对人体健康造成慢性或者急性危害。

产品真伪性、品质检测，转基因成分检测、食品掺假（蜂蜜中掺糖浆、肉制品中掺非源性肉类）等。该种分类完全符合食品行业安全检测、质量控制的实际需求，技术应用场景可以无缝对接，从而精准防控各类风险并有效控制。

（三）按应用场景分类

按照具体应用环境和使用目的分类，可以更好地体现出快速检测技术在食品安全全链条中处于怎样的位置。该种分类方式有利于合理安排各种资源，使各种技术都在最能发挥作用的环节上发挥最大的作用。

常见的一种应用场景就是生产加工过程中的质量控制。工厂内部使用快速检测技术做原料验收、生产过程监督、产品出厂检验。乳制品企业用快速检测方法对原料奶中的抗生素、黄曲霉毒素进行检测，保证不合格的原料奶不进入生产线。加工过程中也可以使用荧光检测仪来快速判定生产设备的清洁度，防止交叉污染。

另外一个重要的场景就是流通和市场监管。即在农贸市场、超市、餐饮单位

等消费终端做现场抽检。执法人员可以利用便携式设备对蔬菜水果的农药残留、肉制品中的瘦肉精、水产品中的甲醛等做快速检测，从而及时发现问题产品，保证消费者的即时安全。即时性监管具有很强的威慑力，可以规范市场经营行为。

快速检测技术在进出口检验检疫中也起到国门卫士的作用。海关使用各种技术对于大量的进出口食品实施快速检测，来克服全球贸易给食品安全带来的挑战，加快口岸通关速度，防止不合格的食品进入我国市场，防止我国出口有缺陷的食品。根据应用场景分类，很好地体现了快速检测技术作为灵活工具，深入到食品安全体系的各个方面，为各个层面提供服务。

三、快速检测技术与传统确证方法的关系

确定食品安全快速检测技术和传统的实验室确证方法的关系，这是建立现代食品安全监督体系的科学基础。二者不是互相替代的竞争关系，而是功能定位、技术要求、应用层面相互配合、协同作战的伙伴关系。认识它们的关系，对合理分配检测资源、进行有效的风险控制、保证执法的科学性都有重大意义。

（一）快速筛查与实验室确证的互补性

快速检测技术的核心定位就是筛查，在大样本中快速找出有问题的“可疑”样本。速度快、成本低、操作简单，适合大样本量的快速筛查并起到预警作用。由于其设计初衷是追求效率，所以在灵敏度和特异性上有时比精密仪器差一些，有假阳性、假阴性率。因此，快速检测结果只能做初步筛查或者风险提示，不能直接作为最终的执法依据。

快速检测发现阳性或者可疑结果时就要启动实验室确认程序。传统实验室分析方法，如气相色谱质谱联用、液相色谱质谱联用等，被称为金标准。这些方法耗时长、花费大、操作复杂，但是准确度高、灵敏度高，具有法定的权威性。它们可以对可疑样品中的目标物进行准确的定量，排除假阳性干扰，出具的检测报告是实施召回、销毁、行政处罚等执法决定的法定证据。

“快筛慢确证”的步骤就形成了一张高效且严格把关的食品安全监督网。快速检测就像是巡逻的哨兵，遍布防线，及时发现异常；实验室确证就如同一支精准打击的特种部队，对哨兵发现的可疑之处予以核实并予以消除。二者相互配合一方面保证了监控的广度和速度，另一方面也保证了最后处理的准确性、合法性，实现了监控检测效率和检测结果可靠性的平衡。



（二）快速检测方法的验证与确认

为了保证快速检测作为筛查手段的可靠性，对其方法做科学、严格的验证和确认是不可缺少的。未经充分验证的快速检测方法，其结果是没有意义的，甚至会因为假阳性或者假阴性而误导决策，浪费监管资源或者引起不必要的恐慌。验证过程依靠实验数据来证明该方法在某一种应用条件下，它的性能指标（准确度、精密度、灵敏度、特异性、检测限等）符合要求。

验证一般要和公认的“金标准”验证方法进行系统性的对比。对标准样品、空白样品、实际基质的加标样品进行一系列浓度检测，来评价快速检测方法的性能。国际上存在有国际分析化学家协会、国际标准化组织等权威机构，发布有关快速检测方法验证指南和性能标准。在国内，相关监管部门对快速检测产品的评价与管理也越来越重视，采用实验室比对以及符合性评价的方式，保证市场上快速检测产品可控。

确认是在方法验证之后，具体的实验室根据自身人员、设备和环境条件对已经验证过的方法进行再检验，以证明该实验室能够稳定地获得可靠的结果。只有经过严格验证确认的快速检测方法才能被纳入食品安全监控体系，其筛查结果才有参考价值，可以为后续的风险管理以及确证检测提供可靠的指导。

（三）快速检测在食品安全监管体系中的定位

在现代食品安全监管体系当中，快速检测技术起着各种不同的重要作用，已经不再是单一的技术手段，而是提高整个食品安全监管体系效能的赋能者、倍增器。对它作出确切的定位，对于塑造起科学、有效、智慧的食品安全治理新图景有着重要意义。

1. 风险预警的前哨站。快速检测技术由于及时、覆盖面广的特点，在食品安全风险监测和早期预警体系中起到神经末梢的作用。在田间、市场、工厂等重要节点定期开展布点检测，可以比传统的抽查方式更早发现风险信号，实现从被动应对到主动防控的战略转变，把问题扼杀在萌芽之中。

2. 精准监管的导航仪，大量的快速筛查数据可以给监管部门提供风险地图，揭示出某个地区、品种、季节的高风险点。监管机构依据大数据分析结果可以优化抽检计划，把有限的执法资源和昂贵的实验室检测能力集中投向风险最高的地方，实现靶向监管，大幅度提高监管工作的投入产出比。

3. 企业自控的催化剂。在政府的推动下，食品生产经营企业逐渐自觉地将快

速检测作为自身内控的手段。企业用内部快速检测实验室或者简易检测工具对原料采购、生产过程以及出厂产品进行自检自控，有效地落实主体责任。既可降低企业自身的经营风险，又可从源头上构筑起食品安全的第一道防线。

4. 社会共治的黏合剂，公众可通过农贸市场里的“你送我检”服务站等渠道参与到食品安全监管工作中来，感受到自身享有的权利，进而提高消费者对政府部门工作的认可度。透明、开放的形式一方面可以减少信息不对称的情况，消除社会的疑虑，另一方面可以形成政府监管、企业担责、群众监督、社会共享的食品安全共治局面，营造良好的社会环境。

各种常见的食品安全危害物可以通过快速检测技术进行筛查，它们的分类与常见检测方法可见下表。

食品安全常见危害物分类及部分检测方法表

危害类型	常见危害物举例	快速检测技术举例	传统确证方法举例	应用场景
生物性危害	致病菌（沙门氏菌、大肠杆菌）	免疫层析试纸条、便携式聚合酶链式反应	细菌培养与鉴定、聚合酶链式反应 - 基因测序	生产环节、餐饮、农贸市场
	生物毒素（黄曲霉毒素、呕吐毒素）	胶体金免疫层析、荧光免疫分析	液相色谱 - 质谱联用	农产品收获、仓储、食品加工
	过敏原（花生、大豆、牛奶）	免疫层析试纸条、快速酶联免疫	酶联免疫吸附分析（实验室）、质谱	食品加工、餐饮、预包装食品
化学性危害	农药残留（有机磷、菊酯类）	速测卡、便携式光谱仪、生物传感器	气相色谱 - 质谱联用、液相色谱 - 质谱联用	农田、果蔬市场、进出口
	兽药残留（抗生素、激素）	胶体金试纸条、快速酶联免疫	液相色谱 - 质谱联用、免疫吸附分析（实验室）	养殖场、屠宰场、乳制品加工
	非法添加物（瘦肉精、苏丹红）	便携式光谱仪、化学试剂盒	气相色谱 - 质谱联用、液相色谱 - 质谱联用	肉制品加工、市场监管
	重金属（铅、汞、镉）	便携式原子荧光 / 吸收光谱仪	电感耦合等离子体质谱、原子吸收光谱	水产品、土壤、食品原料
物理性危害	异物（金属碎屑、玻璃）	磁性检测仪、视觉筛查	X 射线异物检测	食品加工线
品质 / 真伪	掺假（蜂蜜掺糖浆、肉类掺假）	近红外光谱仪、快速基因鉴别	稳定同位素比质谱、聚合酶链式反应测序	农产品、加工食品
	转基因成分	聚合酶链式反应试纸条	荧光定量聚合酶链式反应	农产品、加工食品



第二节 食品安全快速检测技术发展历程

食品安全快速检测技术的发展是由科技进步和社会需要所推动的。其清晰的脉络就体现了人类对食品安全保障能力不断提高的过程。从最初简单的化学法发展到今天高度集成化、智能化的系统，每一个技术上的飞跃都深深地改变了食品安全监管的方式和效率，给守护舌尖上的安全提供了越来越坚实的科技支撑。

一、国外快速检测技术发展回顾

从全球角度来讲，食品安全快速检测技术发展进程是一条由简单变繁杂、由粗放趋于量化、由单一变综合的道路。既体现了多学科交叉融合，又是面对全球化的食品供应链复杂性问题的必须做出的选择。欧美发达的资本主义国家依靠雄厚的科研实力、完善健全的法规体系一直站在该领域的技术创新和发展的最前沿。

（一）起步阶段：简易化学比色法与酶抑制法

快速检测技术刚出现的时候，化学方法是最早出现的简易类型。其中化学比色法是用于现场快速筛查的先驱之一。该方法利用目标物质和特定的化学试剂反应后产生的颜色变化，与标准比色卡对比，可以对食品中亚硝酸盐、二氧化硫等有害物质做出半定量的快速判断。虽然操作简单、成本低，但是灵敏度和特异性不高，在当时的条件下仍被用于一线的初步风险排查。

几乎在同一时期，为了解决农产品农药残留问题，酶抑制法诞生了。利用有机磷类、氨基甲酸酯类农药特异性抑制乙酰胆碱酯酶活性的原理，测量酶活性被抑制的程度来间接测定农药残留量。酶抑制法的出现，就是生物化学技术用于食品安全快速检测的最早成功案例。相比于单纯的化学方法，酶抑制法在果蔬农残筛查中表现出更好的特异性以及灵敏度，目前仍在基层检测中起到作用。但是此类方法也存在缺陷，容易受到样品中其他物质的干扰而出现假阳性结果，进而影响检测的准确性。

（二）发展阶段：免疫分析与分子生物学技术的兴起

伴随着生物技术的迅速发展，免疫分析技术以及分子生物学技术被引入到食品安全检测领域中，极大地推动了快速检测技术向着高灵敏度和高特异性方向发展。酶联免疫吸附测定和胶体金免疫层析技术，就是这一时期的主要成果。它们借助抗原与抗体高度特异的结合反应，可以针对食品基质中特定的目标物，比如

兽药残留、生物毒素、过敏原、致病菌等等实施精确的识别工作。酶联免疫吸附测定技术可以实现高通量半定量检测，胶体金试纸条操作简便、无需仪器、结果直观，是现场即时检测的理想选择，大大扩展了快速检测的应用范围。

分子生物学技术尤其是聚合酶链式反应技术出现以后，食源性致病微生物、转基因成分等可以被快速鉴定。聚合酶链式反应技术通过对特定 DNA 片段进行指数级扩增，将很少量的目标基因放大到可以被检测的程度，进而可以快速准确地鉴定出沙门氏菌、大肠杆菌等致病菌。实时荧光定量聚合酶链式反应等衍生技术的出现，使目标物可以更精确地进行测定，高准确度、高灵敏度的这些技术成为实验室进行确认、仲裁检测的有力补充手段，并且为快速检测试剂盒的开发提供技术支持。

（三）成熟阶段：生物传感、光谱等技术的集成化

21 世纪以后，食品安全快速检测技术开始步入成熟期，主要特点就是多学科技术相互融合，高度集成。生物传感器技术是这一时期的代表，把具有分子识别功能的生物元件（酶、抗体、核酸等）和物理或化学换能器结合在一起，可以将生物识别信号直接转化成可测量的电信号或者光信号。该类技术实现了样品处理到结果输出全过程自动化、微型化，反应速度快、灵敏度高、可以在线实时检测等优点，被广泛用于农药、重金属、抗生素等污染物的现场检测。

与此同时，近红外光谱、拉曼光谱、高光谱成像等光谱、成像技术由于无损、快速、不需要复杂的前处理等优点，在食品掺杂鉴别、成分分析、品质评价等方面有广阔的应用前景。这些技术用得到样品同光相互作用所形成的“指纹”光谱信息，迅速判定食品真伪及其内在质量。目前的发展趋势就是把多种技术结合起来，即光谱技术和生物传感技术结合、不同的成像技术结合等，形成多模态检测系统，对复杂的食品安全问题进行全方位、精准的监控，推动快速检测向智能化、便携化、网络化的方向发展。

二、国内快速检测技术发展脉络

中国食品安全快速检测技术的发展历程，是追逐、并跑、部分领域领跑的奋斗史。面对庞大的人口基数、复杂的食品供应链、人民健康意识的增强，快速检测技术在保障国家食品安全战略中起到越来越大的作用，它的轨迹清晰地印上时代的烙印和国情的痕迹。



（一）引进消化吸收阶段

我国食品安全快速检测技术的早期发展，主要是依靠引进、消化、吸收国外先进技术而实现的。改革开放之后，伴随着国际贸易的增多以及食品工业的初步发展，国外成熟的快速检测产品，例如酶抑制法农残速测试剂盒、胶体金免疫层析试纸条等进入了中国市场。该时期国内科研机构及企业主要任务为学习模仿，通过对引进产品原理的剖析与逆向工程来逐步掌握核心技术。

经由对国外酶联免疫试剂盒、聚合酶链式反应检测试剂盒等产品的消化吸收，我国逐步形成了相应的研发制造能力，部分技术难题也实现了从无到有的突破。这一阶段的自主创新能力不强，大部分产品都是仿制的，但是却为后期的自主研发打下了重要的技术基础和人才储备。同时这些引进技术、产品在我国基层监管机构初步筛查水平上的提高，对突发食品安全事件应对也起到了积极的作用。

（二）自主研发创新阶段

进入 21 世纪以后，国家对科技创新越来越重视，不断加大研发投入，我国食品安全快速检测技术也进入了自主研发和创新的黄金时期。众多高校、科研院所、企业针对国家重大需求，做了许多基础研究和应用开发。国内企业已经能够替代常规产品使用胶体金、酶联免疫吸附测定等技术，新型标记材料（量子点、上转换发光材料、时间分辨荧光微球等）在开发和应用方面取得了很大的进步，提高了免疫层析技术的灵敏度、定量能力。

国内分子生物学研究者研制出诸多拥有自主知识产权的聚合酶链式反应检测试剂盒，同时积极探索环介导等温扩增等新型核酸扩增技术，使检测变得更加迅速，更契合现场需求。在生物传感器、光谱分析等领域，我国紧跟国际步伐，取得了一些创新成果，如开发出检测某种污染物的电化学生物传感器、便携式光谱仪等。此时期内国内企业从技术使用者转变为技术创造者，易瑞生物这样的在某一细分领域内拥有核心竞争力的“小巨人”企业开始涌现出来。

（三）产业化与标准化推进阶段

随着科技成果不断积累，产业化和标准化就成了一种新的发展方向。国家在制定“十四五”规划等顶层设计的时候已经明确提出加强食品安全监管、发展应用检测技术。近些年来，我国食品安全快速检测市场的规模不断扩大，年复合增长率较高，表现出强烈的产业化趋势。我国已经具备了试剂、仪器、软件、信息化平台、实验室整体解决方案等多样化的产品和服务。

标准化工作前所未有的受到重视。国家市场监督管理总局等接连出台多项食品快速检测方法、操作规范，对快速检测产品使用、结果认以及后续相关工作提供依据。2021年修订的食品安全法赋予快速检测方法在监管抽查中的法律地位，使快速检测方法可以规范使用。深圳、广东等地已经发布了地方标准和管理规则，推行一街一车一室的监管模式来推进快速检测产业的发展，将其与基层监管相融合。

三、快速检测技术发展的驱动力分析

食品安全快速检测技术的每一次革新与普及，都不是孤立的技术发展，而是在社会、科技、政策等诸多因素的驱动下形成的必然结果。这些驱动力互相交织在一起，共同形成了目前快速检测技术的格局，也指出了它未来的发展方向，对全球食品供应链的透明度以及安全造成了深刻的影响。

（一）食品安全事件的推动

回顾历史可知，重大食品安全事件是促使检测技术发展最直接、最强大的动力。不论是国外的“疯牛病”事件，还是国内的“三聚氰胺”事件，每一次的危机都会暴露出现有的监管体系的漏洞，引发公众对于食品安全的广泛关注和政府对于加强监管的强烈愿望。这些事件使得针对某些有害物（朊病毒、三聚氰胺等）的检测方法研究在很短的时间内成为热点，也使得可以快速筛查、有效预警的新技术从实验室走向市场。

舆论压力、消费者信任危机促使政府、企业投入更多的资源去研发、配备先进的检测设备，从而重新获得消费者的信任。食品生产企业为了保住自己的品牌声誉和市场份额，也必然有将快速检测纳入到内部质量控制体系中，从源头上杜绝风险的更大动力。所以可以说每一次食品安全危机，都在客观上推动了检测技术的迭代更新和广泛应用，使得整个食品安全防护体系的响应能力一次次经受了考验。

（二）科技进步的支撑

科学技术的全面进步是食品安全快速检测技术发展最根本的动力。材料科学、生命科学、信息技术、微纳加工等领域的突破，不断给快速检测技术的创新提供“弹药”。纳米材料（金纳米颗粒、量子点等）的出现，使免疫分析用的标记物性能得到改善，灵敏度和稳定性大大提高。微流控技术日趋完善，在小小的芯片



上就可以完成样品处理、反应、分离、检测等诸多步骤,从而诞生了“芯片实验室”这一革命性技术,是设备小型化、集成化的关键。

人工智能、大数据出现以后,给快速检测带来了颠覆性的改变。大数据分析可以更加准确地预判食品安全风险发生的可能性,合理配置检测资源。应用人工智能算法,可以提高光谱、图像等复杂数据的解译能力,实现检测结果的智能判读,减少对操作人员专业技能的依赖。5G、物联网技术检测数据实时上传、远程监控、溯源管理智能化食品安全监管网络。

(三) 政策法规的引导

政策法规的建立和完善,给食品安全快速检测技术的健康发展提供制度保障,也给市场提供明确的导向。世界各国政府都制定出了越来越严格的标准和法规,规定食品中的数百种有害物质的最高残留限量,从而使得相关检测技术及产品需求量大增。特别是时效性要求高、检验结果需要很快才能做出的生鲜食品、进出口贸易商品等,快速检测已经成为满足合规性的重要环节。

近年来,我国政府对食品安全工作非常重视,并陆续发布了一系列的法律法规以及政策文件,给快速检测行业的发展指明了方向。食品安全法及后续出台的有关规范性文件,对快速检测的法律地位、使用、信息公布、结果处置等做了详细规定,规范了市场行为。国家重点研发计划等科技项目给关键核心技术攻关直接提供资金支持,促使产学研三方力量一起开展创新活动。地方政府推行的民生工程,农贸市场的快速检测室等,直接造就出一大批的市场应用空间,使政策引导、市场拉动和技术创新形成良性的良性循环。

在各类快速检测方法中,其技术原理、检测对象、优缺点等各有侧重,详见下表:

食品安全快速检测技术对比表

技术原理	检测对象	主要特点	优点	缺点	发展阶段
化学比色法	亚硝酸盐、二氧化硫等	基于颜色变化	直观、成本低	灵敏度 / 特异性不高、半定量	起步阶段
酶抑制法	有机磷、氨基甲酸酯类农药	基于酶活性抑制	早期生物化学应用、特异性好	易受干扰、假阳性	起步阶段
免疫分析法	兽药残留、生物毒素、致病菌、过敏原等	抗原抗体特异结合	高灵敏度、高特异性、可高通量或即时检测(胶体金)	成本相对较高、抗体易失活	发展阶段

续表

技术原理	检测对象	主要特点	优点	缺点	发展阶段
分子生物学法	致病微生物、转基因成分等	核酸扩增 / 识别	高准确性、高灵敏度、快速（PCR、LAMP）	需特定设备、易污染	发展阶段
生物传感器	农药、重金属、抗生素等污染物	生物元件 + 换能器	自动化、微型化、实时监测、高灵敏	稳定性待提高、寿命有限	成熟阶段
光谱 / 成像技术	食品掺杂、成分分析、品质评价	物质与光相互作用	无损、快速、无需复杂前处理、信息丰富	数据解读复杂、设备成本高	成熟阶段

第三节 食品安全快速检测技术的应用现状

伴随着科技的迅猛发展以及社会上人们对食品安全需求的日益增长，快速检测技术不再仅仅是实验室里的一种理论知识，而已经被应用到了实际生活中。以高效、便捷、成本低等特点为特点，它是传统检测手段的有效补充，深度融入到从农田到餐桌的食品安全全链条保障体系中，在政府监管、企业自控、市场流通等各个方面都起着不可替代的重要作用。

一、在政府监管中的实践

在政府主导的食品安全监管体系当中，快速检测技术属于提升食品安全监管效能、扩展食品安全监管覆盖面、推动食品安全监管由被动应对转向主动预防的关键要素。为监管部门提供更加灵活、及时的技术支持，明显提升了食品安全风险的动态控制能力，使监管工作更具针对性、威慑力。

（一）日常巡查与风险预警

在基层市场监管部门的日常巡查工作中，执法人员常面临监管对象繁杂、地域跨度广、潜在风险点分散等挑战。传统的实验室抽检模式往往耗时耗力，难以实现高频次、广覆盖的有效筛查。食品安全快速检测技术的引入，极大地改变了这一局面。执法人员可以携带便携式拉曼光谱仪、近红外光谱分析仪、手持式重金属检测仪等设备，或使用胶体金免疫层析试纸条、酶抑制率法试剂盒等快速检测产品。这些工具让他们能够在农贸市场、超市、小型食品作坊等一线场所，对



农产品中的农药残留、畜禽产品中的兽药残留、食品中的非法添加物、滥用添加剂等项目进行现场快速筛查。这些检测方法及其应用可参阅常见食品安全快速检测方法与应用表：

常见食品安全快速检测方法与应用表

检测方法 / 技术原理	典型设备 / 试剂	常见应用领域 / 检测对象
光谱分析法	便携式拉曼光谱仪、近红外光谱分析仪、手持式重金属检测仪	农药残留、兽药残留、重金属、非法添加物、成分识别
免疫学方法	胶体金免疫层析试纸条、酶联免疫吸附试剂盒	农药残留、兽药残留、真菌毒素、生物毒素、过敏原
酶学方法	酶抑制率法试剂盒、三磷酸腺苷荧光检测仪	有机磷及氨基甲酸酯类农药残留、微生物洁净度
化学显色法	pH 试纸、亚硝酸盐速测卡、甲醛检测试剂盒	pH 值、亚硝酸盐、甲醛、二氧化硫、吊白块
理化检测法	煎炸油品质快速检测仪、水产药物残留快速检测仪	煎炸油极性组分、水产品药物残留、瘦肉精

经过这样现场筛查模式，执法人员可以十几分钟甚至几分钟内得到初步的定性或者半定量结果，从而快速发现潜在的问题线索。对快速检测呈阳性的样品，执法人员可以立刻采取下架、封存等临时控制措施，有效阻止问题产品继续流入市场，把这些快检阳性样品作为重点送往实验室进行确证检验。不但大大提高了监管执法的时效性、准确性，而且在现场也形成了强大的威慑力。

快速检测产生的大量数据，也成了食品安全风险监测预警系统的重要信息来源。当前端快速检测的数据上传到云端大数据平台以后，监管部门就能针对某一个区域、某种农产品或者某一时间段的食品安全风险做详细的分析，精准找出高风险环节和重点监管对象。给科学、精准的监管计划和风险预警的发布提供强有力的数据支撑，从而把过去“大海捞针”式的抽检模式，转变成现在的“靶向狙击”式的精准监管。

（二）重大活动食品安全保障

奥运会、世博会、G20 峰会等重大的国际国内活动的时候，食品安全保障的要求非常严格，不能有丝毫的失误。快速检测技术在其中担当着重要的前沿哨兵和第一道防线的角色。一般保障团队会搭建起快速检测、移动实验室检测和后方实验室确认三者结合的三级保障体系。食品原料供应基地、物流中转仓库、运动员餐厅、媒体中心等所有重要的节点都会设置快速检测站。

重大活动的保障任务中快速检测技术的应用范围广、针对性很强，涵盖了人为破坏所用的生物毒素、化学毒物、常见致病菌、农兽药残留、重金属等数百种物质。检测人员一般会使用高通量的酶联免疫分析仪、多功能食品安全检测仪、便携式气质联用仪等设备，对每一批食材进行全方位、高速度的检测，保证所有供应的食品在进入核心区域之前都会受到严格的检查。通过“批批检验、全覆盖”的严密方式，大大缩短了检测时间，保障了食品供应的连续性和安全性，给重大活动的顺利进行构筑起一道坚实的食品安全防线。

（三）应急突发事件处置

当食物中毒等食品安全突发事件发生时，时间就是生命的原则更加明显。快速确定致病因子、污染源，是控制事态发展的重要环节。食品安全快速检测技术对于应急处置来说有无可替代的价值。应急处置人员接到突发事件报告后，立即携带装有各种快速检测试剂和便携设备的应急箱赶赴现场。

现场处置工作通常遵循以下步骤进行：

1. 快速排查，采用多功能检测仪或者不同种类快速检测试纸条，对患者呕吐物、排泄物、剩余可疑食品样本等进行检测，初步判定污染物种类，是亚硝酸盐中毒、细菌污染还是化学性毒物。
2. 根据初筛结果、流行病学调查的数据迅速锁定中毒食品、污染物质的范围，为后面的溯源、控制工作指明方向。
3. 指导救治和防控：快速获得的检测信息可以给医疗机构对症治疗提供重要的参考。并且它还能给相关部门提供有针对性的控制措施，例如发布消费警报、召回问题产品等，从而有效防止危害范围进一步扩大。

经过现场快速检测之后，应急反应时间明显变短，调查的盲目性也有了很大改善。这为之后实验室的精确定量分析节省了宝贵的时间，是突发事件应急处置技术支撑体系中不可缺少的一环，极大地提高了政府应对公共卫生事件的能力和效率。

二、在生产企业自控中的实践

食品安全就是食品企业的生命线。把快速检测技术深度融入到企业的质量管理体系之中，是实现企业主体责任落实，有效防范和化解风险，提高产品竞争力的必要之举。这项技术存在于从原料买进到最后产品出厂的整个生产流程之中，是企业内部食品安全“防火墙”不可分割的一部分。



（一）原料验收环节

原料是食品安全风险的源头之一，因此原料检验把关是企业预防控制的第一道重要防线。大型食品生产企业尤其是乳制品、肉制品、果蔬汁加工等行业的龙头企业，大多建立了企业自有检测中心，或者在收货环节设置了快速检测室。在原料入库之前，质控员要抽检供应商每次送来的原料。

乳制品企业会使用抗生素快速检测试纸或者专用仪器，检测生鲜乳中 β -内酰胺类、四环素类等抗生素残留，防止其影响后续的发酵工艺并危害消费者的健康；也会检测黄曲霉毒素 M1 等真菌毒素。肉制品加工企业对原料肉中瘦肉精、激素、多种兽药残留等进行筛查。粮油加工企业用快速检测法对玉米、花生等易霉变的原料中黄曲霉毒素 B1 进行检测。

在原料验收环节增加快速检测这道关卡，企业就能及时拦截不合格的原料，有效阻止其进入生产线，从而避免因为上游环节出现问题而造成整批产品报废的严重经济损失。这既保障了自身产品的安全，又对上游的供应商产生了一定的质量倒逼作用，从而带动整个供应链食品安全水平的提高，将风险消灭在摇篮之中。

（二）生产过程监控

食品在生产加工过程中同样存在着很多潜在的安全隐患，比如加工环境的微生物污染、加工参数控制不当、清洁消毒不彻底等。快速检测技术给生产过程动态监控、关键控制点的有效管理提供实时、便捷的技术手段。

其中最常用的是三磷酸腺苷荧光检测技术。生产线管理人员用 ATP 荧光检测仪对生产设备表面、操作人员手部、工器具等进行涂抹取样检测，只需要十几秒就可以得到清洁度的量化结果，客观评价清洗消毒效果，及时发现卫生死角，有效防止交叉污染。煎炸油品质快速检测仪也被广泛地用在快餐和食品加工行业，通过测定油脂的极性组分含量来判断煎炸油的老化程度，及时更换，避免有害物质的产生。对半成品的关键指标进行快速检测，可以保证工艺参数的稳定，保证最终产品的一致性。

（三）产品出厂检验

产品出厂前的检验是企业对消费者做出的最后一道质量保证。尽管许多产品的最终放行依靠的是符合国家标准的实验室检测报告，但是快速检测在出厂检验中仍然起到重要的补充作用。企业可以使用快速检测技术对所有的生产出的产品做全面的风险筛查，作为实验室检测的有效补充和批次放行的辅助依据。

出厂前的快速自检是企业产品离厂之前的最后一关，可以对成品中有没有未申报的过敏原、微生物指标是否在标准内以及其他污染物等进行确认。保质期较短的生鲜食品、熟食制品等，快速检测可以给予迅速放行的可能，大大缩减等待检验结果所耗费的时间，进而优化物流效率，加速市场反应速度。建立严格的出厂快速检测制度，企业可以最大限度地避免被市场监管部门抽查不合格的风险、保护品牌声誉，也可以向消费者表明企业对产品质量负有责任的态度，从而获得市场的信任。

三、在流通与消费领域的实践

食品产业链的末端是流通和消费环节，快速检测技术在这里得到了前所未有的广泛而深入的渗透。它不但是商家与消费者、市场透明度的重要纽带，而且推动食品安全管理工作由幕后走向台前、由专业走向大众生活、共同创建社会共治的良好环境。

（一）大型商超与农贸市场

大型连锁超市以及规范化的农贸市场作为食品流通的重要渠道，正越来越主动地引进食品安全快速检测技术。许多大型商超都设立了食品安全检测室，对每天上架销售的生鲜蔬菜、水果、水产品、肉类等进行农兽药残留、甲醛、二氧化硫等项目的抽检，并将检测结果通过电子屏幕或者公告栏进行公示。透明化操作既履行了销售者的主体责任，也是吸引、留住消费者的营销手段。

一些地方农贸市场实行的是市场自检、部门监督的管理模式。市场开办方为入场经营的商户提供快速检测服务，或者要求商户自行提供主要销售品种的快检合格证明。此模式把食品安全责任具体落实在每一个摊位之上，于是形成了市场内部的自我约束机制和优胜劣汰的竞争环境。消费者在购买时可以参照公示的快检信息，更加安心地选购商品。从而明显提高流通环节的食品安全保障水平并改善市场环境。

快速检测技术的使用也让供应链管理更细。按照快检结果商超和市场会对供应商做出动态的评价，选择质量较好的供应商，淘汰不合格供应商，从而改善供应链结构，从源头上降低采购风险。

（二）餐饮服务单位

餐饮业属于食源性疾病高发行业，其厨房卫生状况以及食材质量关系到消费



者的健康。近几年来,伴随着“明厨亮灶”工程的不断推进,食品安全快速检测技术也渐渐走进了餐厅后厨。大型餐饮连锁企业、集体用餐配送单位、中央厨房等机构都会有专人用快速检测设备验收采购食材。

通过检测蔬菜的农药残留、肉类注水、违禁药物、食用油酸价和过氧化值等来保证食材新鲜安全。ATP 荧光检测仪在餐饮后厨中也渐渐普及,常用来评判餐具,砧板,操作台的清洗消毒情况,保证后厨环境卫生达标。地方监管部门还会开展突击性快速检测,把检测结果纳入餐饮单位量化分级评定体系之中,以此促进餐饮单位加强自身的食品安全管理。

(三) 消费者个人自检

随着公众食品安全意识普遍提高,以及相关检测技术向便携化、低成本化发展,食品安全检测也逐渐从专业实验室、监管机构走向寻常百姓家庭。目前市场上已开始出现面向个人消费者的简易型食品安全快速检测试剂或小型设备,例如用于检测蔬菜水果表面农药残留的速测卡、检测腌制食品中亚硝酸盐含量的试纸、以及检测水产品中甲醛的试剂盒等。

尽管个人自检产品的精度和可靠性还不能与专业设备相媲美,检测结果一般也只供参考,不具有法律效力,但是它们的存在无疑具有积极的社会意义。一方面能够回应该类食品安全问题给消费者带来的顾虑,最直接和最简便的给出风险判断的依据,帮助消费者做出更加谨慎的选择。另一方面,消费者自检行为的日益普及,可以形成强大的社会监督力量,反向促进生产经营者更加重视食品安全,从而从更广阔的层面改善整体食品安全状况,是构建食品安全社会共治格局的有益探索。

第四节 食品安全快速检测技术标准体系

食品安全快速检测技术的发展要依靠科学、统一、完备的标准体系来支撑。标准体系是保证技术方法有效、可靠的根本,也是实现结果互认、规范市场、促进贸易便利化的基础。本节将分析国际和国内食品安全快速检测技术标准体系构成及现状,并对它的未来发展趋势进行预测,为我国的标准化建设提供一定的参考。

一、国际快速检测技术标准现状

全球化食品供应链里，统一的检测标准是保证国际贸易畅通无阻的技术性壁垒，也是保障消费者健康安全的重要技术性壁垒。在国际上已形成了 AOAC 国际、国际标准化组织等各自行事的标准体系。这些组织所发布标准方法都经过严格的科学验证，在全世界范围内得到广泛的采用和承认，成为世界各国食品安全监管以及企业质量控制的重要技术支撑。

（一）AOAC 国际标准

AOAC 国际（官方分析化学家协会）被认为具有很高的权威性，在食品安全检测领域里有着很大的影响力。该组织依靠它特有的官方分析方法以及性能测试方法两个认证体系，给快速检测技术的科学评价和推广应用打下了坚实的基础。官方分析方法认证为 AOAC 的最高等级认证，其方法必须经过多间实验室联合研究来证明它的准确性、精密度和耐用性，整个过程非常严格而且耗时较长。获得官方分析方法认证的方法被看作该分析领域的金标准，有法律效力，常被美国联邦法规和世界多国监管机构直接引用。

性能测试方法认证主要针对的是商业化快速检测试剂盒或者仪器，其评价过程比较灵活便捷。该认证体系主要是检验评估方法和参照方法是否一致，用独立的第三方实验室检验选择性和基质效应、稳定性和耐用性等主要技术指标。新兴的快速检测技术要想取得性能测试方法认证，获得市场准入、赢得监管机构和终端用户的信任，是十分重要的一步。很多以免疫分析、核酸扩增等为原理的商业化的试剂盒，例如检测沙门氏菌、李斯特菌等致病微生物以及各种化学污染物的试剂盒等等，均已通过性能测试方法认证。

AOAC 国际标准体系给技术开发者赋予了明确的验证途径与评判准则，也给监管机构以及食品企业挑选快速检测产品给予了可信的参照。使用 AOAC 认证的方法，可以用于原辅料验收、生产过程控制以及最终产品的放行，可以有效地降低食品安全风险。并且该公认的国际标准体系还会促进检测技术持续的创新，公平的竞争，促使整个行业健康发展，使检测结果的全球比较、互认成为可能。

（二）ISO 相关标准

国际标准化组织是世界最大的、最有影响力的国际标准制定机构，它所发布的标准几乎涉及社会经济的方方面面，食品安全就是其重点关注的领域之一。



ISO 依靠其下属的食品技术委员会等各个专业技术委员会，组织全球的专家共同制定了一系列食品检测的国际标准，为全球食品供应链的安全、透明提供核心技术规范。这些标准不但包括传统的理化和微生物检验方法，而且越来越重视并吸收快速检测技术。

主要国际与区域性食品安全标准组织对比表

标准组织	类型	核心标准 / 认证	主要特点
AOAC 国际	国际性、权威机构	官方分析方法、性能测试方法	侧重方法性能验证，在北美及全球影响力巨大，其最高认证被誉为“金标准”。
ISO	全球性、最大的国际标准机构	ISO/TC 34, ISO 16140 系列	遵循全球协商一致原则，覆盖面广，是国际贸易技术规则的基础。
CEN	区域性（欧洲）	CEN/TC 275	与 ISO 通过《维也纳协定》紧密合作，标准在欧盟范围内统一实施。
NordVal 国际	区域性（北欧）	NordVal 认证	主要针对微生物替代方法的认证，在北欧五国市场具有准入作用。
MicroVal	区域性（欧洲）	MicroVal 认证	依据 ISO 16140-2 进行微生物方法认证，与 AOAC 的部分认证结果可互认。

上表是对几个主要的国际以及区域性标准组织的对比。微生物检测领域的 ISO 16140 系列标准为替代方法(包括快速方法)的有效性提供纲领性的评价标准。该系列标准对微生物替代方法的验证过程做出具体规定，涉及方法比对研究、多实验室协同研究的设计、实施和数据统计分析要求。核心就是证明替代方法和参考方法的结果之间有可接受的一致性。ISO 16140-2 详细说明了替代方法的认证方案，包含选择性、相对检测限、准确度等许多性能指标的评价。该标准为聚合酶链式反应、酶联免疫吸附测定等快速微生物检测技术的标准化、商业化应用打下了基础，得到全世界的认可。

ISO 除了微生物检测以外，也制定了很多化学污染物检测的标准。虽然许多标准仍然以色谱 - 质谱联用等实验室确证方法为主，但是 ISO 正在逐步吸收和转化一些筛选性的快速检测方法。就真菌毒素的检测而言，一些 ISO 标准已经把免疫亲和柱净化、液相色谱或者酶联免疫吸附法等快速前处理、检测技术的要求和指导纳入其中。提出这样的标准说明 ISO 对食品安全风险控制中快速检测技术发挥着举足轻重的作用。

ISO 标准制定坚持全球协商一致的原则，科研机构、监管部门、生产商、消费者等各方面的意见都被考虑在内，使标准具有了科学性、实用性。依照 ISO 标准，

各个国家和地区之间的实验室可以得到相互比较的检测结果，这对消除国际贸易技术壁垒，推动全球食品安全治理体系的协调统一起到不可替代的作用。随着快速检测技术日趋成熟，ISO 标准体系也会不断把更多的可靠快速分析方法加入进来，以满足食品产业高效、实时风险监控的迫切需求。

（三）其他区域性组织标准

除 AOAC 国际和 ISO 这两个主要的国际标准组织外，还有一些重要的区域性或者国家性的标准化组织，它们在食品安全快速检测领域也起到很重要的作用，这些组织所制定的标准在本区域内具有强大的约束力和影响力。这些标准能快速反应出本地区食品安全问题以及技术的发展趋势，从而很好的补充了国际标准体系。

1. 欧洲标准化委员会属于欧洲主要的标准制定机构之一，它通过下设的食品技术委员会制定了许多食品分析方法标准。CEN 和 ISO 存在密切合作（《维也纳协定》），很多 CEN 标准都是跟 ISO 同步制定的或者互相转化成的。CEN 非常重视快速检测技术的发展，努力推动新方法经过检验并达到统一的技术标准，给欧盟各成员国提供一致的技术规范。以过敏原检测的酶联免疫吸附测定、聚合酶链式反应等快速方法为例，其标准化工作就得到了 CEN 的有力推动，以配合食品标签上强制性过敏原信息的标示。

2. NordVal 国际：这是一个由丹麦、芬兰、冰岛、挪威、瑞典五个北欧国家的政府机构联合创办的认证体系，主要对微生物分析的替代方法进行认证。NordVal 的认证流程与 AOAC 的性能测试方法认证及 ISO 16140 标准相似，均要求通过严格的实验室比对研究，以证明替代方法的性能不劣于参考方法。获得 NordVal 认证的方法在北欧地区被广泛接受，是相关产品进入该区域市场的“通行证”。

3. MicroVal：这是一个在欧洲范围内运作的微生物分析方法认证组织，其目标是依据 ISO 16140-2 等国际标准，对替代分析方法进行验证与认证。MicroVal 与 AOAC 国际建立了合作关系，部分认证结果可以互认，这大大降低了技术开发商为进入不同市场而重复认证的成本。经 MicroVal 认证的方法在欧洲乃至全球都获得了较高的认可度。

这些区域性组织的存在使食品安全检测标准生态更加丰富。它们一方面可以就本地区独有的食品安全问题，比如某地地理来源的污染物、某类地方性食源性疾病等等展开专门研究，另一方面也可以借助与全球性组织的合作交流，一起促



进检测方法的科学发展,推动检验结果的国际互认,从而为打造一个无缝对接的全球食品安全网络赋予了强大的推动力。

二、我国快速检测技术标准体系建设

我国政府高度重视食品安全问题,把标准化建设当成提高食品安全治理能力的有效途径。近几年来,伴随着快速检测技术的应用,我国也初步形成了以国家标准为主导、行业标准、地方标准、团体标准和企业标准并存、层次分明的食品安全快速检测技术标准体系。健全这样的体系可以给快速检测市场提供有力的制度支撑,也能提高基层监管部门监管效率,促使企业更好地承担起主体责任。

(一) 国家标准

国家标准在我国标准体系中处于最高层级,分为强制性和推荐性两种,是全国范围内统一执行的技术要求。食品安全快速检测领域的国家标准,是国家卫生健康委员会、国家市场监督管理总局等有关部门制定和发布的。涵盖了从方法通则、产品验证、具体检测对象等各方面的各种标准,形成我国快速检测技术法规体系的主体框架。

近些年来,我国接连出台诸多有关食品安全快速检测方法的国家标准,大多集中于农兽药残留、真菌毒素、非法添加物和致病微生物这些重点风险方面。如《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》属于一种限量标准,要保证该标准有效执行,需要相应的检测方法标准作为支持。为此,国家有关部门制定了很多针对某种农药残留的快速筛选方法,如胶体金免疫层析法、酶联免疫吸附测定法等,作为实验室确证方法的补充。这些快速检测方法的国家标准对方法的适用范围、原理、试剂材料、操作步骤、结果判定、精密度和回收率等作出了规定,为方法的规范使用和结果的正确解读提供了基础。

标准制定过程中我国积极借鉴国际先进的经验,大部分的国家标准框架和技术要求参考 ISO 和 AOAC 等国际组织的标准,保证我国标准的科学性以及国际可比性。同时标准制定也考虑到了我国国情和产业现状,特别是针对我国食品消费结构以及潜在风险点,开发并验证了一批适合基层监管和企业自控的快速检测方法。像瘦肉精、三聚氰胺这类曾导致重大食品安全事件的非法添加物,我国就立即安排人马开展研究工作,制定出相应的快速检测国家标准,给打击这些违法行为赋予了强有力的“技术武器”。

国家标准的发布和实施,使我国的食品安全快速检测技术实现了规范化、产业化发展。它给监管部门开展日常抽检和快速筛查提供法律支撑,也为相关试剂、设备生产企业的技术门槛和质量标准给出明确的指标,有利于市场的有序竞争。伴随着新技术的不断出现以及对食品安全风险认识的加深,我国食品安全快速检测国家标准体系将不断进行动态调整和完善,以应对新时期食品安全工作的新挑战。

(二) 行业标准

行业标准是在国家标准体系框架下,针对尚没有国家标准,但是在特定行业范围内需要统一的技术要求所制定的标准。农业农村部、工业和信息化部、海关总署等部门依据各自监管职责和行业发展需求,相继出台并公布了一大批与食品安全快速检测有关的行业标准,成为国家标准的有益补充和具体化。

农业农村部发布的农业行业标准对农产品质量安全有很重要的作用。这些标准主要对种植养殖环节中农药、兽药、饲料添加剂等投入品的使用及残留检测做出规定。针对畜禽产品中 β -兴奋剂(“瘦肉精”)、抗生素等滥用问题,农业农村部制定了不少基于酶联免疫吸附测定法、胶体金免疫层析法等快速筛选行业标准。这些方法简单易行,成本低,适合屠宰场、养殖基地等源头处做大规模初步筛查工作,可以阻止不合格产品流向市场。农业行业标准给基层农业技术推广部门、执法机构提供可以直接使用的操作规程,从而大大提高了源头监管的效率以及覆盖面。

工业和信息化部等部门则以食品加工设备、包装材料及生产过程中的具体环节为对象来制订相关标准。直接涉及快速检测方法的标准比较少,但是由于对生产过程控制的要求,间接促使企业对在线或者近线快速检测技术的需求。对生产线上关键控制点的微生物污染或者清洁效果进行快速监控,就需要相应的快速检测方法和标准作为支持。

海关总署(及其前身国家质量监督检验检疫总局)发布的出入境检验检疫行业标准,主要是针对进出口食品的检验检疫环节。由于贸易存在时效性,所以国际贸易中的快速检测技术在口岸查验中具有天然的优势。出入境检验检疫行业的标准中有很多关于进出口食品中致病微生物、有毒有害物质的快速筛选方法,如实时荧光聚合酶链式反应法检测沙门氏菌、环介导等温扩增法检测食源性病毒等。该标准的应用既可以保证国门安全,又可以大大加快了货物的通关速度,从而有



效地推动国际贸易便利化。行业标准的存在使我国食品安全标准体系更有针对性、层次感，可以更好地覆盖从农田到餐桌的全链条，对国家标准起到有效的补充和支撑作用。

（三）地方标准与企业标准

地方标准和企业标准是构成我国食品安全标准体系的两部分，分别在一定的行政区域内和企业内部起作用，体现出了标准体系的灵活性与针对性。两种标准是对国家标准和行业标准的补充和细化，可以快速响应区域特殊要求和企业个性化质量控制要求。

地方标准是省、自治区、直辖市标准化行政主管部门制定发布，对本行政区域内没有国家和行业标准、需要统一的特殊技术要求所制定的标准。食品安全快速检测的地方标准多与当地特色农产品、特色食品、区域性食品安全风险相关。以某些地区会针对当地特有的中草药材农药残留、重金属污染等问题而制定专门的快速检测地方标准为例。对于当地高发的食源性致病菌，地方监管部门可以制定比国家标准更灵敏、更快速的筛选方法标准来提高预警、响应的能力。地方标准的制定周期较短，可以比国家、行业标准更快的对突发食品安全事件以及新出现的风险做出反应，给地方政府的监管工作提供及时有效的技术支持。

企业标准是由企业自行制定的，用以指导企业内部生产经营活动的标准。根据我国《标准化法》的规定，企业的技术要求可以高于强制性的国家标准和行业标准。食品安全快速检测上，很多有远见的大型食品生产企业为了提高品牌信誉度、产品竞争力，会制定非常严格的内部控制标准。这些标准不仅对成品进行检测，而且对整个供应链和生产过程进行控制。企业根据自身的原料来源、生产工艺和产品特性，选择或者开发适宜的快速检测方法，将其固化为企业标准。大型乳品企业会按照自身的需要，在生鲜乳中抗生素残留量上比国家标准更加严格地制定内控限量，并且采用高灵敏度的快速检测技术进行日常监测。企业标准的实施，是企业落实食品安全主体责任最直接、最有效的体现，也是企业开展精细化质量管理、防范食品安全风险的重要举措。

地方标准和企业标准共同组成了我国食品安全标准体系的“毛细血管”，它们把国家及行业的宏观要求同地方的实际情况、企业的实际操作结合起来，使整个标准体系更加有活力和适应性。在法律框架下，地方和企业的标准创新不但可以提高本地区的食品安全保障水平，而且其成功的实践经验和技術方法还可以被吸收成行业或国家标准，从而不断推动全国食品安全标准体系的完善和发展。

第二章 分子生物学快速检测技术

分子生物学技术具有高灵敏度、强特异性、快速高效等特点，在食品安全检测领域的作用越来越突出。这些技术对病原微生物或者其特定物质实施遗传信息分析，彻底舍弃了传统检测办法当中有关微生物生长及理化特性的依赖，明显缩减了检测时延，优化了精确度，并且给食品安全监测和预警赋予了强大的技术支撑。

第一节 聚合酶链式反应技术原理与应用

聚合酶链式反应是项改变分子生物学的反应，在体外可以将目的 DNA 片段扩增数百万倍。自从 PCR 技术问世以后，凭借自身独有的特性，很快在食品安全检测的病原体鉴定、转基因成分检测以及物种溯源等环节中成为关键手段，对保障“舌尖上的安全”起到了不可替代的作用。

一、PCR 技术基本原理与类型

PCR 的基本原理就是模拟生物体内 DNA 复制的过程，经过高温变性、低温退火、中温延伸这三个步骤的反复循环，使目标基因片段得到指数级的放大。随着技术的发展，又衍生出许多新的 PCR 技术，这些新的 PCR 技术在定量、检测通量、自动化等方面都比传统的 PCR 技术有着更好的性能，大大扩展了 PCR 技术的应用范围和检测能力。

（一）常规 PCR、实时荧光 PCR 与数字 PCR

常规 PCR 为第一代 PCR 技术，主要用于目标 DNA 片段的体外扩增，最后通过琼脂糖凝胶电泳对扩增产物进行定性或者半定量分析。该方法操作简单，成本低，是实验室最基础的检测方法。常规 PCR 利用预先设定好的引物，经过变性、退火、延伸的循环之后，可以将微量的目标基因片段扩增到可以观测的程度，进而判断样品中是否含有某种序列。该技术主要被用在食品检测上，对食源性致病菌或者转基因成分进行初步筛查。

实时荧光 PCR 是 PCR 技术的发展，将荧光染料或者荧光探针加入到反应体



系中,从而可以对扩增过程进行实时的监测。荧光信号强度与扩增产物量成正比,可对起始模板进行定量。qPCR 不需要电泳等后处理步骤,避免了开盖污染,自动化程度高,灵敏度和特异性更好。这项技术已经成为了食品安全检测领域的主要手段,被广泛地用来做病原微生物的定量检测、转基因成分含量的测定等。

数字 PCR 属于第三代 PCR 技术,同时也是核酸绝对定量最前沿的发展方向。该技术把反应体系分成数万到数百万个独立的微反应单元,每个微反应单元里可能有或者没有目标分子。扩增结束后,根据阳性反应单元数量,用泊松分布原理进行统计,可以直接得出样本中目标分子的绝对拷贝数,不需要使用标准曲线。数字 PCR 具有灵敏度高、准确性好的优势,在低丰度靶标、复杂基质样品、标准物质定值等方面有良好的应用前景,可以做到转基因食品精准量化和微量病原体检测。

这三种 PCR 技术的特点与区别,具体可见下表。

PCR 技术比较表

特性	常规 PCR	实时荧光 PCR	数字 PCR
代次	第一代	第二代	第三代
定量能力	半定量 / 定性	相对定量 / 绝对定量	绝对定量
实时监测	否	是	否 (终点检测)
后处理	需电泳	无需	无需
灵敏度	较低	高	极高
自动化	低	高	中高
主要应用	初步筛查	定性、相对定量	精准绝对定量、痕量检测

(二) 多重 PCR 与巢式 PCR

多重 PCR 就是在一个反应体系中加入两对以上的引物,使多个不同的目的基因片段同时扩增。这项技术最大的优点就是高通量、高效率,可以同时获取多种病原体或者多个基因位点的信息,大大节省了时间、成本。食品安全检测里,多重 PCR 经常被用来同时检测沙门氏菌,金黄色葡萄球菌,单核细胞增生李斯特菌这些常见的食源性致病菌。采用特殊引物保证各个扩增产物的长度有明显的差异,最后一步利用凝胶电泳或者毛细管电泳就能对多种目标进行鉴定。

巢式 PCR 用两次扩增提高检测的灵敏度和特异性。第一轮 PCR 用外侧引物对目标区域进行初步扩增,然后用第一轮扩增产物作为模板,用位于扩增产物中间的一对内侧引物进行第二轮扩增。由于第二轮扩增的模板是经过筛选和富集的,

内侧引子对扩增区域的限定更加准确，所以巢式 PCR 可以有效地排除非特异性扩增的干扰，其检测灵敏度比常规 PCR 高几个数量级。超高的灵敏度使它在样品靶标含量极低的时候，如食品加工初期的痕量致病菌检测或者环境监测等情况下，起到不可替代的作用。

（三）等温扩增衍生技术简介

等温扩增技术是在恒定温度下就可以完成核酸扩增的一类技术，不需要精密温控循环仪，给现场快速检测提供可能。此类技术由于操作简单、反应快等特点，在食品安全快速检测中有较好的应用前景。

目前已发展的等温扩增技术种类多样，其中较为成熟和广泛应用的主要包括：

1. 环介导等温扩增：该技术用 4 到 6 条特制的引物和具有链置换活性的 DNA 聚合酶，在 60℃到 65℃的恒定温度下，通常 30 分钟到 1 小时之内就可以完成对目标基因的快速扩增。环介导等温扩增技术产物量大，用肉眼观察浊度或者荧光染料的颜色变化就能直接判断结果，因此特别适合现场快速检测。

2. 重组酶聚合酶扩增：重组酶聚合酶扩增技术模拟体内 DNA 重组修复过程，用重组酶、单链结合蛋白、链置换 DNA 聚合酶共同作用，在 37℃至 42℃常温下就可以实现靶序列的快速扩增，一般在 20 分钟内就可以得到结果。该技术对温度要求不高，反应快，适合在资源贫乏的环境下进行即时检测。

二、PCR 在食源性致病菌检测中的应用

食源性致病菌是造成食品安全问题的主要因素，传统的微生物培养鉴定方法耗时较长，不能满足现代食品工业快速流转和公共卫生应急响应的要求。PCR 技术以快速、灵敏、特异等特点，可以直接检测到致病菌的特异性核酸序列，对于致病菌的早期预警、迅速鉴定、有效溯源有着重要的作用。

（一）常见致病菌的快速鉴定

利用 PCR 技术来对食品中的主要致病菌进行快速的、准确的鉴定。按照沙门氏菌的 *invA* 基因、致病性大肠杆菌 O157: H7 的 *rfbE* 基因、单核细胞增生李斯特菌的 *hlyA* 基因等不同致病菌特有的基因序列来设计特异性引物进行扩增。只要样品中存在目标病原菌的 DNA，即使菌体数量很少或者处于活的非可培养状态，PCR 技术也能将它的特异基因片段扩增到可以检测的水平，从而实现对病原菌的快速检出。



不同于传统的分离培养方法需要数天时间,PCR法从样品处理到结果判断的全部过程一般只需要几个小时。现代的实时荧光PCR技术把检测的灵敏度和自动化水平提高到了新的高度。建立多重实时荧光PCR方法,可以一次检测和区分出牛奶、肉制品等复杂食品基质中多种致病菌,为食品生产过程中质量控制及流通环节的风险监控提供有效的方法。快速鉴定能力对于预防、控制食源性疾病的暴发有着十分重要的意义。

(二) 毒力基因的检测

食源性致病菌的致病能力主要取决于其携带的毒力基因,毒力基因编码各种毒素、侵袭素等,直接导致疾病的发生。鉴定出菌种的存在,也不能完全评价其对公共卫生的危险性。因此对毒力基因进行直接检测,是判断菌株是否具有实际致病性的金标准,也是病原菌风险评价的重要部分。PCR技术为此提供了一种直接有效的方法。

利用PCR技术设计特异性探针,可以快速鉴定分离得到的菌株有无某毒力基因,也可以直接对食品样品中的致病菌毒力基因进行检测。常用的检测靶标有产肠毒素大肠杆菌的肠毒素基因、金黄色葡萄球菌的肠毒素基因(sea、seb)、副溶血性弧菌的耐热直接溶血素基因(tdh)及相关溶血素基因(trh)等。多重PCR技术也可大展身手,一次可以检测多个毒力基因,能更全面地评估菌株的危害。基于基因水平的毒力检测比传统的动物实验或者细胞毒性试验更快、更方便,符合伦理要求,给食品安全风险的分级管理提供科学依据。

(三) 菌种分型与溯源

对致病菌做准确的分子分型来确定污染源和传播途径,对于控制疫情蔓延至关重要。PCR的分子分型技术,例如脉冲场凝胶电泳,以前一直被认为是行业的金标准,但是它的操作很繁琐。近些年来,以序列分析为基础的PCR分型方法由于更高的分辨率和良好的可比性而得到广泛应用。

多位点序列分型属于高分辨分型方法。它利用PCR方法扩增出各种菌株上的几个管家基因片段的序列,根据序列的不同来给每一个菌株指定一个唯一的序列型。该方法重复性好,数据便于不同实验室之间的网络化比较,对全球病原菌的监测和溯源意义重大。基于串联重复序列分析的分型方法、基于CRISPR序列分析的分型方法由于具有高分辨率、快速等特点也受到了人们的重视。基于PCR的这些先进分型技术可以区分不同来源的菌株,给追溯污染在食品加工链条中具

体发生在哪个环节、确定污染源头提供强有力的证据,是现代食品安全监管和流行病学调查不可缺少的工具。

三、PCR 在转基因食品检测中的应用

随着基因工程技术的发展,转基因作物在全球的种植和应用越来越广泛,食品安全性也成了公众关注的焦点。为了实行有效的标识管理,保证消费者的知情权,必须有可靠的转基因成分检测技术。PCR 技术具有高灵敏度、强特异性的特点,可以直接对外源基因序列进行检测,是目前国际上公认的转基因食品检测的“核心”和“确证”方法。

(一) 启动子与终止子序列检测

为了使外源基因在宿主细胞中高效表达,在构建转基因载体时,通常在目的基因两端连接一些调控元件,即启动子和终止子。花椰菜花叶病毒 35S 启动子和农杆菌胭脂碱合成酶终止子是使用最多的调控元件。因为这些元件在大多数已经商业化的转基因作物中都存在,所以它们是进行转基因成分筛选检测的理想靶标。

采用特异性引物设计对样品进行花椰菜花叶病毒 35S 启动子、农杆菌胭脂碱合成子的 PCR 筛选检测。如果扩增结果为阳性,则说明样品中含有的转基因成分可能性较大,这种检测方法叫做筛选法检测。优点在于覆盖面广,一次检测就可以筛查出多种潜在转基因品系,效率高,适合大范围的初步筛查以及进出口检验检疫。内源基因和通用调控元件的多重 PCR 体系也可以对整个检测过程进行监控,避免假阴性的出现,保证筛查结果正确无误。

(二) 外源目的基因检测

在初步通过启动子和终止子的筛选、判定样品含有转基因成分之后,还需要鉴定外源基因的种类来确定转基因品种及功能。外源目的基因就是给转基因生物赋予某种新性状(如抗虫、抗除草剂等)的关键功能序列。用 PCR 技术检测这些基因是转基因品系鉴定的一环。

每个转基因作物都有各自不同的外源目的基因,抗虫棉、抗虫玉米中常用的苏云金芽孢杆菌 Cry 系列基因、抗除草剂大豆中的 EPSPS 基因、赋予某些作物抗除草剂特性的 bar 或 pat 基因等。设计出针对这些基因的引物之后,就可以用 PCR 来对样品进行基因特异性检测了。此方法特异性强,可以确定样品中存在哪些转基因成分。实际应用时,常常将多个目的基因的检测合并,形成多重 PCR



体系，一次反应就可以检测多种转基因成分，检测效率和准确度都非常高，是转基因产品精确监管和标识管理的重要技术支撑。

（三）定量检测与标准品

对转基因食品进行监管，不仅要进行定性检测，还要进行定量分析，即测定转基因成分在食品中所占的百分比，这是实行转基因标识制度阈值管理的基础。比如有些国家或者地区会规定，食品当中某种转基因成分的含量要是达到或者超出某个阈值，比如说 0.9%，就必须要在标签上强制标明。实时荧光定量 PCR 技术为目前金标准。建立内源基因（内参）和外源基因（靶标）的 qPCR 检测体系，比较二者的扩增曲线或者 Ct 值，就可以得到转基因成分在总物种成分中的百分比含量。

为了保证定量检测的结果准确、可比、可溯源，必须使用标准物质或有证标准物质。标准物质是具有确定特性值、良好的均匀性和稳定性，用以校准仪器、评价测量方法或者给材料赋值。转基因定量检测一般用已知浓度或拷贝数比例的质粒 DNA 标准品，或者用转基因和非转基因原材料精确配制而成的基质标准品，例如标准玉米粉、大豆粉。这些标准品是建立标准曲线、实现准确定量的基础，也是实验室质量控制和能力验证的核心，对维护全球转基因产品贸易秩序、保证法规有效执行起着不可替代的作用。

第二节 基因芯片检测技术进展

基因芯片技术属于后基因组时代的产物，由于具有高通量、微型化、并行处理等优势，在食品安全检测领域有着很大的应用潜力。它把分子生物学同微电子技术结合了起来，给复杂食品样本里多个目标的同步快速检测给予了革命性的解决办法，明显改进了检测的速度和范围。

一、基因芯片原理与制备技术

基因芯片技术的核心就是固相载体表面上核酸分子之间特异性杂交。它把成千上万个核酸探针有条不紊地排列在很小的基片上，形成一个分子识别阵列，以此来准确检测目标核酸序列。其制备工艺的精细程度，直接决定着芯片的好坏，也就是整个技术发展的核心部分。

(一) 芯片类型与特点

基因芯片按照功能和制备方法的不同可以分为多种类型，其中应用最广、技术最成熟的是脱氧核糖核酸芯片。该类芯片多以玻璃、硅片、尼龙膜等为固相载体，利用微加工技术将成千上万的探针分子有规律地排列成阵列。最突出的特点就是高度集成化、微型化，可以在极小的芯片表面集成海量检测信息，实现样本的“多对多”并行检测。根据探针的制备方法不同，分为原位合成芯片和点样芯片，两者主要特点对比如下表所示。

基因芯片主要类型对比表

特点	原位合成芯片	点样芯片
探针制备	在芯片表面逐点直接合成	将预先合成的探针点样固定
探针长度	较短，长度均一（寡核苷酸）	可长可短，灵活（寡核苷酸或 PCR 产物）
特异性 / 均一性	高	中等
制备成本	较高	较低
灵活性	较低	高

原位合成芯片利用光刻或者喷墨技术，在芯片表面逐个合成寡核苷酸探针，探针长度一致，特异性高，但是成本较高。点样芯片就是将事先合成好的较长的核酸片段，如寡核苷酸或者扩增产物，用高速机器人点样到经过化学处理的基片上。该方法成本较低，制备方便，适合长探针序列的使用。各种芯片各有优势，一起构成满足不同检测需求的基因芯片技术体系。

不管是哪种类型，基因芯片都有高通量、快速、灵敏的共性。一次杂交实验可以同时检测成百上千个目标基因，大大缩短了传统方法一个一个检测所需要的时间。并行分析能力在食品中混合污染物筛选、多种成分共同识别等复杂的检测上有着无可比拟的优势，也是促进食品安全监管从被动应对转向主动防控的重要技术支撑。

(二) 探针设计与固定

探针是基因芯片识别目标分子的主体，探针的好坏直接决定检测的特异性和灵敏度。理想的探针设计需要满足一些原则，序列在目标基因组或者转录组中应是唯一的，这样才能防止交叉杂交带来的假阳性信号；探针的熔解温度也需要控制在一个范围内，在相同的杂交条件下所有探针都能有效结合；还要避免探针自身形成发夹、二聚体等二级结构，以免影响其与目标分子的结合。生物信息学工具的使用为大规模、高精度的探针设计提供了强有力的支持。



把探针牢牢地固定在芯片基片上,同样是制造高质量芯片的重要环节。固定技术就是使探针分子以均匀的密度、正确的空间构象和稳定的生物活性牢固地附着在基片上。常用的固定方法有物理吸附、静电吸附、共价键合。物理吸附操作简单,但是结合力较弱,探针容易脱落。共价键合利用化学反应把探针和基片表面牢固地连接起来,具有固定效率高、稳定性好等优点,可显著减少非特异性背景信号,是目前主要的固定方法。因此,一般需要对基片表面进行醛基、氨基或者环氧基等官能团的化学修饰,给共价键合创造合适的化学环境。

(三) 杂交信号检测与分析

基因芯片检测流程的开始是待测样本核酸的提取和标记。从食品样品中分离纯化的核酸,需要用聚合酶链式反应或者逆转录等技术进行扩增富集,在扩增富集的过程中加入荧光染料等标记物。这些被标记的靶标核酸分子称为目标核酸分子,滴加到芯片表面,在适宜的温度、缓冲液条件下进行杂交。这时靶标分子就会依据碱基互补配对原则,特异性地结合到芯片上相应的探针位点上。

杂交完成后用清洗步骤去除未结合的靶标分子,就可以进行信号检测了。目前应用最广泛的是激光共聚焦扫描技术。高强度激光束照射到探针位点上结合的荧光标记物,发出的荧光信号被高灵敏度的光电倍增管或者电荷耦合器件相机接收。扫描仪对整个芯片表面进行逐点扫描,得到一张高分辨率的数字图像,图像上的每一个亮点的强度代表这个点位上结合的靶标分子的数量。

得到杂交图像之后,就要用专门的图像分析软件来处理数据。图像定位与分割即准确找到每个探针点的位置和边界,背景校正即去除非特异性荧光干扰,信号强度提取与定量分析即提取信号强度并进行定量分析。通过归一化处理信号强度数据并进行统计学分析,和预设阈值或阳性对照比较,就可以判断样本中是否存在某种核酸序列,并估计出相对丰度,进而实现对样本的定性或者半定量检测。

二、基因芯片在病原微生物检测中的应用

快速、准确识别致病微生物,保证食品安全。基因芯片技术把许多病原体的特异性基因探针整合起来,从单独检测一个病原发展到可以同时筛查多种病原,给食源性疾病防控、溯源和控制带来前所未有的技术手段,极大提高了公共卫生应急响应的效率。

（一）高通量病原菌筛查

食源性致病菌是引起食品安全事件的主要因素。传统的微生物培养加生化鉴定方式需耗费数日方可得出结果，不能适应如今食品供应链高速运转的需求。基因芯片问世之后，彻底改变了这一状况。通过对一块芯片上针对沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、致病性大肠杆菌、弯曲杆菌、金黄色葡萄球菌等重要的食源性致病菌的特异性探针，就可以一次性同时检测。

这些探针一般会选择各菌种的保守基因来检测，比如 16S 核糖体 RNA 基因，或者用毒力基因来鉴定，比如志贺毒素基因、肠毒素基因等。处理食品样本的核酸提取物时，样本中存在的任意一种或者多种目标病原菌的基因，都会与芯片上的对应探针相结合并发出荧光信号。这个办法非常快，几小时内就能把从样本处理到结果分析的所有步骤做完，而且检测量特别大，大大增加了单次检测的筛查范围。

本技术在食品加工环境日常监控、原料检验、成品检验和食源性疾病爆发的调查等方面都有非常重要的意义。可以快速找到污染源，知道全貌，给风险评估及精准干预提供实时、全面的数据支撑，防止有问题的产品流通到市场或者疫情初期阶段遏制其扩散。

（二）病毒与寄生虫检测

除了细菌以外，食源性病毒和寄生虫也是不能忽视的食品安全隐患。诸如病毒、甲型肝炎病毒等病毒和隐孢子虫、蓝氏贾第鞭毛虫等寄生虫，由于感染剂量低、不能在常规培养基上生长，给传统的检测方法带来了很大的困难。基因芯片技术给这些难以检测的病原体开辟出了一条高灵敏、高特异的检测新途径。

对于食源性病毒，可以针对病毒基因组上高度保守的区域设计寡核苷酸探针，制成病毒检测芯片。该类芯片可以同时检测多种常见的病毒，对贝类、即食沙拉、浆果等高风险食品的病毒污染监测十分重要。因为食品中的病毒含量一般都非常低，检测之前需要结合病毒富集和核酸扩增技术来提高阳性率。利用基因芯片可以实现病毒污染的广谱筛查，对预防大规模食源性病毒病的暴发有重大意义。同样，以寄生虫特有的 18S 核糖体 RNA 基因等序列设计的探针可以检测水、蔬菜、肉制品中的寄生虫卵或卵囊。基于核酸检测的方法可以避免形态学鉴定的主观性，灵敏度和准确性比形态学鉴定更高。



（三）耐药基因检测

抗生素在畜牧养殖中大量使用，致使食源性致病菌耐药问题越来越严重，对公众健康构成威胁。对食品链中耐药菌和耐药基因的传播进行监测，对评价风险、制定控制措施十分必要。基因芯片在此处大放异彩，可以对细菌的耐药情况做到快速、全面的剖析。

专门设计的耐药基因芯片上集成了对各种已知耐药机制的基因探针，包括编码 β -内酰胺酶、氨基糖苷类修饰酶、四环素外排泵、磺胺类药物靶点突变等成百上千种耐药基因。从食品或养殖环境中分离出的菌株中提取脱氧核糖核酸，然后与耐药基因芯片进行杂交，就可以一次性获得该菌株携带的耐药基因全貌，快速画出其“耐药画像”。与传统的药敏试验相比，该方法检测通量高，可以同时分析大量的耐药基因，给出更全面的耐药信息；可以揭示细菌的耐药潜力，即检测到已经存在但是还没有表达的耐药基因，为早期预警提供依据；更有利追踪特定耐药基因在不同菌种、食品和环境之间的传播路径，为了解耐药性流行病学规律提供重要的数据支撑。

对食品供应链各环节开展系统的耐药基因监测，基因芯片技术为评判抗生素使用政策成效、警报新出现的耐药菌株并指导临床治疗赋予了很强的科学手段。

三、基因芯片在食品成分与真实性鉴别中的应用

由于全球食品贸易的兴盛以及食品加工越来越复杂，食品掺假、标签欺诈等问题屡有发生，不但侵犯了消费者的权利，而且不标明过敏原，给一些特殊人群带来了健康上的危险。基因芯片技术依靠它对食品内源性基因的精准识别能力，已经成为打击食品欺诈、保证消费者知情权的火眼金睛，它在物种鉴定、过敏原检测和转基因筛查方面有突出的作用。

（一）物种源性成分鉴定

用基因芯片做物种来源鉴定，是打击肉制品掺假的有效武器。在昂贵的牛肉羊肉里掺入便宜的猪肉、鸡肉、鸭肉属于商业欺诈行为。对深度加工后的产品来说，传统的感官或者理化检验方法很难准确辨别混杂的肉源。基因芯片用物种专有的脱氧核糖核酸序列来解决这个问题。这些序列大多来自线粒体基因组的细胞色素 b 基因或者控制区，因为它们在不同物种之间存在较大差异，在同一物种内部却十分保守，并且拷贝数量较多，容易检测。

芯片上固定猪、牛、羊、鸡、鸭、鱼等物种的特异性探针，就可以构建多物

种鉴定芯片。从肉糜、香肠、肉丸等混合肉制品中提取总脱氧核糖核酸，与芯片杂交，产生的信号模式便能清楚地判断出产品中所含的全部动物源成分，不仅能定性，还可以根据信号强弱对各个成分的相对含量做出半定量估计。

同样也可以用来鉴别高价鱼类（比如鳕鱼）的真伪，检验蜂蜜等产品中是否掺入了植物糖浆，分析植物油的纯度等。它给监管部门赋予了高效可靠的执法手段，也给企业创建透明可信的供应链管理体系赋予了技术支撑。

（二）过敏原成分检测

食品过敏会严重影响一部分人的生活品质甚至是生命安全。各国都要求食品标签要清楚地标出常见的过敏原。但是现代食品工业共用生产线十分普遍，交叉污染风险大，因此需要灵敏可靠的检测方法来检验过敏原控制措施的有效性。基因芯片正是一种可以同时检测多种过敏原的理想平台。

对于花生、大豆、牛奶、鸡蛋、坚果、甲壳类、鱼类和含麸质谷物等主要致敏食物，可以设计特异性的脱氧核糖核酸探针并集成到一张芯片上。从饼干、巧克力、酱料等复杂食品基质中把总脱氧核糖核酸提取出来，标注以后和过敏原芯片进行杂交。该方法可以一次性检测出十种以上的过敏原，比通常一次只能检测出一种过敏原的方法效率要高得多。其高灵敏度可以检测出微量的过敏原残留，用来评估生产过程中的交叉污染风险，为企业有效的实施过敏原管理计划、保证过敏消费者的生命安全提供准确的数据。

（三）转基因成分多靶标检测

转基因食品标识、管理问题是全世界都关注的问题。随着转基因作物的研发一日千里，商业化种植的品系越来越多，对检测技术也提出了多靶标、高通量的要求。基因芯片技术正好可以满足转基因成分检测鉴定的复杂需求，已经成为该领域重要的技术手段之一。

完整的转基因检测芯片上一般都包括三种探针，第一类为筛选探针，针对转基因作物中普遍出现的通用元件进行筛选，如花椰菜花叶病毒 35S 启动子、农杆菌胭脂碱合成酶终止子等等，第二类是特异性探针，可用来区分不同的外源基因，第三类则为参考探针，用作样品与对照的对比。第二类是基因特异性探针，对外源功能基因如抗虫的苏云金芽孢杆菌基因、抗除草剂基因等。第三类是转化体事件特异性探针，针对外源基因插入位点旁侧的宿主基因组序列，可以对具体的转基因品系进行鉴定。



使用多靶标芯片一次实验就能完成样品的筛选、鉴定甚至定量分析,既可以判定样品中是否含有转基因成分,又可以鉴定出具体的转基因品系并估计其含量。这对于执行复杂的转基因标识法规来说非常重要,欧盟就对已批准和未批准的转基因品系采取不同的管理方式。基因芯片技术具备高通量的特点,很好地匹配了越来越多增加起来的转基因事件,给全球范围内的转基因产品的贸易监管、保证消费者的知情权提供了可靠的技术保障。

第三节 环介导等温扩增技术发展

环介导等温扩增技术,简称 LAMP,是一种新型的体外核酸扩增技术,自从该技术出现以来,就因为具有独特的优点而在分子诊断领域迅速发展。它抛弃了传统聚合酶链式反应那种依靠精密温控设备、操作复杂的弊端,在恒定温度下就能快速扩增目标基因,给食品安全现场快速检测带来了强大的技术活力。

一、LAMP 技术原理与特点

LAMP 技术的核心是引物设计的巧妙和链置换 DNA 聚合酶的高效,两者一起形成 LAMP 技术特有的、快速、高效的扩增体系。深入理解其基本原理和内在特点,不但是掌握和应用该技术的基础,也是不断改进和发展该技术的关键所在。

(一) Bst DNA 聚合酶的特性

Bst DNA 聚合酶是 LAMP 技术恒温扩增的基础。该聚合酶最初是从嗜热菌 *Bacillus stearothermophilus* 中分离出来的,最适反应温度为 60°C ~ 65°C 。因此整个扩增过程都在恒温下完成,不需要像 PCR 那样进行反复的变性、退火、延伸温度循环。这大大降低了对实验设备的要求,普通的恒温水浴锅或者金属浴就可以满足反应条件。

聚合酶最突出的特性就是其超强的链置换活性。遇到下游已经合成的双链 DNA 时, Bst DNA 聚合酶可以像拉链一样解开前面的双链,并持续沿着模板链延伸,不需要高温变性来分离 DNA 双链。这种活性是形成 LAMP 技术特有的哑铃形结构以及完成循环扩增的动力学基础。Bst DNA 聚合酶具有很高的合成效率以及持续合成的能力,短时间内可以合成大量的 DNA 产物。值得注意的是它不

具有 5' → 3' 外切酶活性,保证了引物的完整性,保持了扩增的稳定性,保证扩增反应可以一直高效进行。

(二) 引物设计原则

LAMP 技术高特异性的根本原因是它巧妙的引物设计。一套典型的 LAMP 引物体系由正向内引物、反向内引物、正向外侧引物和反向外侧引物四部分组成,这四类引物叫做核心引物。这四条引物共同识别靶基因的六个不同区域,明显提高了检测的特异性,很好地防止了非特异性扩增。

内引物 FIP 和 BIP 是整个扩增反应的驱动力。FIP 是由靶序列正链互补的 F1c 区和靶序列正链相同的 F2 区组成; BIP 是由靶序列负链互补的 B1c 区和靶序列负链相同的 B2 区组成。扩增的早期是由外侧引物 F3、B3 开始的链置换合成产生模板。随后内引物 FIP 和 BIP 结合到模板上,在链置换聚合酶的作用下形成一个茎环结构的哑铃状中间产物。哑铃状结构是后续指数级扩增的起点,其两端环状结构可以自我引发,进行快速的链置换和延伸,最终形成大小不等、结构复杂的多种茎环结构 DNA 混合物。为了进一步提高扩增效率,又设计了两个环状引物即 LF、LB。它们可以结合到哑铃形结构中间的环状部分,给出新的扩增起始点,从而极大地缩减了反应时间,一般可以将反应时间缩短至 15 - 30 分钟。

(三) 恒温扩增的优势

LAMP 技术最突出的特点就是恒温扩增。整个反应过程只需要在 60℃ 至 65℃ 恒温条件下进行,不用使用昂贵精密的 PCR 仪。不但可以大幅度降低检测所需硬件的成本,而且使资源稀缺的基层实验室或者现场检测更容易进行推广使用,给即时检测带来便利。

由于恒温扩增的特性, LAMP 技术衍生出了许多突出的优点。第一是检测速度快,由于其特有的扩增机制以及高效率的聚合酶活性,一般在 15 分钟到 60 分钟内就可以完成扩增,比传统的 PCR 要快得多。扩增效率极高,在很短的时间内就可以使目标基因扩增 10^9 到 10^{10} 倍,得到大量的 DNA 产物。高产量使扩增产物可以直接用肉眼观察沉淀或者颜色变化来判定,无需做凝胶电泳等复杂的后续步骤。由于使用了四到六条引物识别靶基因的六到八个区域,因此它的特异性很高,不容易受到非靶序列的干扰。该方法对于样品中的抑制剂有很强的耐受性,对样品前处理的要求不高,进一步缩短了操作步骤。LAMP 技术比传统的



PCR 技术具有很多优点，具体比较如下表所示。

LAMP 与传统 PCR 技术对比表

特性	LAMP 技术	传统 PCR 技术
温度控制	恒定温度 (60-65℃)	循环变温 (变性、退火、延伸)
设备要求	简易恒温设备 (水浴锅、金属浴)	精密 PCR 仪
扩增速度	快 (15-60 分钟)	慢 (数小时)
引物数量	4-6 条	2 条
特异性	高 (识别 6-8 个区域)	相对较高 (识别 2 个区域)
抑制剂耐受性	强	弱
结果判读	可视化 (浊度、颜色、荧光)	通常需电泳或荧光曲线分析
成本	低	较高

二、LAMP 技术的优化与改进

虽然 LAMP 技术本身已经具备了很多优点，但是为了使灵敏度更高、特异性更强、检测速度更快、适用范围更广，研究人员不断在引物设计、反应体系、产物检测等方面进行更深入的研究。

(一) 引物设计策略的优化

引物是保证 LAMP 技术成功的决定性因素，引物的设计优化是提高 LAMP 技术性能的关键。早期的引物设计大多依靠人工经验加上一些简单的软件，效率低、成功率不高。随着生物信息学领域飞速发展，产生了很多专业的 LAMP 引物设计软件，比如 PrimerExplorer。这些软件可以对引物的熔解温度、GC 含量、二级结构 (发夹结构)、引物二聚体等各方面的因素进行全面考虑，并自动筛选、评价候选引物，大大提高了引物设计成功的概率和扩增效率。

除软件辅助外，研究人员也开发出了不少新的引物设计方法。用简并碱基或者次黄嘌呤核苷设计引物来解决微生物的易变性问题，使检测更具有广谱性。对于多重 LAMP 检测来说，在一个反应管内设计出多套互不干扰、又能各自高效的引物也是需要研究的方向。通过精确控制各个引物组的浓度比例、引物结合位点的空间分布等，可以实现对多种食源性致病菌或者不同转基因成分的同时检测，大大提高了检测通量和效率。

(二) 反应体系的改良

改良 LAMP 反应体系，提高改良 LAMP 反应体系的检测灵敏度和抗干扰性。

在反应缓冲液中加入甜菜碱、甲酰胺等增强剂，可以有效地降低 DNA 模板上 GC 含量高的区域形成的二级结构的稳定性，使引物和模板的结合更加顺畅，提高复杂模板的扩增效率。镁离子浓度对 Bst DNA 聚合酶的活性以及引物的退火有重要影响，不同的靶标、引物体系需要调节不同的镁离子浓度才能得到最好的扩增效果。

近几年来，Bst DNA 聚合酶也被进行了改造。利用基因工程方法改良得到的 Bst 2.0、Bst 3.0 等新一代聚合酶，扩增速度更快、热稳定性更好、耐受性更强，对食品样品中常见的多酚、脂肪、蛋白质等抑制剂的耐受性明显提高。这意味着可以直接对粗提或者未经过处理的样品进行检测，极大地简化了样品前处理的步骤。将酶、引物、dNTPs、染料等所有反应组分预先混合后进行冷冻干燥，制备成可在常温下储存和运输的干粉试剂，是 LAMP 技术走向现场应用的关键改良，使用者只需加入待测样本的核酸提取液或裂解液即可开始反应，操作非常简便。

（三）扩增产物的检测方法

LAMP 反应得到大量的 DNA 产物为各种检测方法提供了基础。传统的凝胶电泳法虽然准确可靠，但是操作麻烦、耗时长，不能用于现场快速检测。因此快速、直观、简便的产物检测方法的开发就成为 LAMP 技术优化的主要研究方向。目前已有多种成熟的检测手段

1. 浊度测定法，LAMP 反应产生副产物焦磷酸镁沉淀，导致反应液变浑。浊度的变化既可以用肉眼直接观察，也可以用简易浊度仪进行实时定量检测，是 LAMP 技术最早、最直接的一种检测方法。

2. 荧光染料法，在反应体系中加入 SYBR Green I 等 DNA 嵌入式荧光染料，扩增之后染料会嵌入双链 DNA 产物中并发出强烈的绿色荧光，阴性对照管保持原有的颜色。在便携式蓝光灯下就可以清楚地看出结果，实现了闭管检测，有效地防止了开盖操作造成的气溶胶污染。

3. 金属离子指示剂法，焦磷酸根离子和镁离子螯合反应，使反应体系中镁离子浓度下降。用对金属离子浓度敏感的指示剂（如钙黄绿素、羟基萘酚蓝等）观察到颜色的变化就可以判定结果。使用羟基萘酚蓝的时候，阳性反应管因为镁离子被消耗而由紫色变为了天蓝色，结果直观易读。

4. pH 值指示剂法。DNA 聚合反应过程中会释放出质子，导致反应体系的 pH 值下降。在反应前加入 pH 指示剂（如酚红），阳性反应管会因 pH 值降低而



发生明显的颜色改变（如由粉红色变为黄色）。这种方法成本低廉，结果判断非常方便。

三、LAMP 技术在现场快速检测中的应用

LAMP 技术凭借无需精密仪器、操作简单、结果判读直观等众多优点，与食品安全领域现场快速检测的需求高度契合，在可视化检测方法、便携式设备开发、基层监管实践等各方面的应用成果都非常丰硕。

（一）可视化检测方法

可视化检测是 LAMP 技术在现场应用中最为人们所关注的特点之一，它把复杂的分子检测结果转化为简单的颜色或者浑浊度的变化，让没有专业培训的人也能轻易地识别。基于以上金属离子指示剂法和 pH 指示剂法已经开发出许多一管式检测试剂盒。所有的反应组分，包括指示剂，都在反应管里预先分装好。只需要加入样品提取液，在便携式加热设备内保温一段时间后，根据颜色变化就可以得出结果。以检测沙门氏菌的 HNB-LAMP 试剂管为例，阳性样本管变成天蓝色，阴性样本管呈紫色，界限分明。

另一种广受欢迎的可视化方法就是横向层析试纸条。对 LAMP 引物进行生物素、异硫氰酸荧光素等标记，扩增产物就会带有这两种标签。反应结束后将试纸条插入反应管中，带有双标签的扩增产物会在检测线上被预包被的抗异硫氰酸荧光素抗体捕获，并通过链亲和素标记的纳米金颗粒显色，形成一条红色条带，其原理与早孕试纸相似。该方法结果直观，且特异性又通过了探针杂交的二次确认，所以更可靠。

（二）便携式 LAMP 检测设备的开发

为了使 LAMP 技术真正从实验室走向田间地头、走向生产车间、走向流通市场，开发出小型化、集成化、自动化便携式检测设备是十分迫切的。由于 LAMP 只需要恒温加热，所以其设备的核心部分可以只用一个电池驱动的微型加热器。最早的便携式设备也就是手持式的恒温金属浴，结果是靠肉眼或者简单的荧光观测仪来判断的。

随着微电子、智能手机技术的迅速发展，新一代便携式 LAMP 设备的功能也越来越强大。许多设备带有温控模块、实时荧光或者浊度检测的光学检测系统、数据处理与显示的微处理器。有些先进的设备甚至能和智能手机应用软件进行无

缝连接,用户可以通过手机应用程序控制反应的开始、停止,并即时看到扩增曲线,并且由 APP 自动分析结果、拍照保存,然后将数据上传到云端,加上 GPS 定位信息,实现了检测过程的自动化和检测数据的智能化管理。更有前瞻性的是开发出以微流控芯片为基础的“芯片实验室”,把样品前处理、LAMP 扩增以及结果检测全部集成在一张小小的芯片上,从而实现了“样品进,结果出”的全自动检测,将人为操作以及交叉污染的风险降到了最低。

(三) 在基层监管中的应用案例

LAMP 技术在基层食品安全监管中起到越来越重要的作用,成为执法人员开展快速筛查和现场执法的千里眼、顺风耳。农产品市场中,监管人员可以使用 LAMP 快速检测蔬菜水果中大肠杆菌 O157:H7 等致病菌,也可以检测禁用农药残留的生物标志物。禽蛋批发市场用便携式 LAMP 设备对鸡蛋表面或者蛋液进行沙门氏菌检测,半小时就能得到结果,传统的培养法需要几天时间,给及时发现并控制污染源提供了宝贵的机会。

海关检验检疫人员用 LAMP 技术检测进境肉制品的种类,防止商家将鸭肉冒充牛肉的商业欺诈行为以及混入未经报备的过敏源。打击非法添加,在乳制品中非法添加的三聚氰胺、皮革水解蛋白等物质上可以开发相应的 LAMP 检测方法,用特异性基因标记物做快速现场验证。

应用案例证明,LAMP 技术成功把以前必须在中心实验室才能完成的复杂的分子检测项目,前移至监管一线。给基层监管人员赋予前所未有的快速精准检测能力,大幅提高食品安全风险的早期预警和快速应对能力,守护人民群众“舌尖上的安全”,搭建起一道坚固的技术防线。

第四节 生物传感器在分子检测中的应用

生物传感器是一种新型分析仪器,它把高选择性的生物识别元件(生物膜或者酶)和高灵敏度的物理化学信号转换器结合起来,从而实现目标分子的快速、特异性检测。生物传感器在食品安全领域由于具有便携、快速、高通量的优点而受到广泛关注,食源性致病菌、转基因成分等现场快速检测中起着举足轻重的作用。



一、核酸生物传感器的基本构成

核酸生物传感器是一种利用核酸分子间特异性杂交或识别原理构建的分析装置。基本的结构一般是由生物识别元件、信号转换器和信号处理系统这三部分组成的。这三部分配合得越紧密，传感器的选择性、灵敏度、响应时间等主要性能指标就越好。

（一）生物识别元件

生物识别元件是核酸生物传感器的核心部分，生物识别元件的特异性直接影响核酸生物传感器的整体选择性。食品安全检测中用的生物识别元件是和目标核酸序列（致病菌的特征基因片段、转基因作物的特异性序列等）互补的单链脱氧核糖核酸探针。探针经过精心设计，可以准确识别并结合目标序列，最大程度上避免与样品中其它非目标核酸分子发生非特异性结合。

为了保证生物识别元件在传感器表面上的稳定性、可重用性，应该将生物识别元件牢固的固定在传感器基底上。固定化技术会影响到探针的生物活性以及空间可达性，还会对后面的信号转换效率造成重要的影响。除了传统的单链脱氧核糖核酸探针之外，现代技术也越来越广泛地使用肽核酸、锁核酸等修饰核酸，以及具有三维构象和特异性识别能力的核酸适配体作为生物识别元件。它们一般具有更好的稳定性、亲和力，明显地提高了传感器的分析性能。

（二）信号转换器

信号转换器的主要任务，就是要把生物识别元件和目标核酸分子结合这种微小的生物化学反应，有效地转换成仪器可以检测并量化的宏观物理信号，比如电信号、光信号或者质量变化信号。它是连接生物识别与仪器分析的桥梁，种类和性能在很大程度上决定传感器的灵敏度以及检测模式。根据转换原理的不同，信号转换器有不同的种类。

电化学转换器是通过检测核酸杂交事件所引起的电化学性质（电流、电位、阻抗等）的变化来进行检测的。该类转换器具有设备简单、成本低、微型化、集成化方便等特点，很适合做便携式快速检测仪。光学转换器则是检测杂交前后体系中荧光强度、吸光度、折射率或者拉曼散射光谱等光学参数变化来获取分析结果，一般灵敏度非常高。

压电晶体转换器则是根据核酸杂交引起晶体表面质量增大，进而改变晶体固

有振荡频率的原理来检测，可以无标记实时分析。除此之外，还有热转换器等种类，它们从不同的物理角度来捕捉核酸杂交的信号，为建立多样的食品安全检测平台提供了很多选择。选择何种信号转换器要根据检测目标、样品基质、灵敏度要求以及具体的应用场景等各方面情况来决定。核酸生物传感器的信号转换器类型及特点如表所示。

核酸生物传感器信号转换器类型与特点

转换器类型	基本原理	优点	缺点 / 适用场景
电化学转换器	检测核酸杂交引起的电流、电位、阻抗变化	设备简单、成本低、易微型化集成	易受样品基质干扰，灵敏度受限于电极表面
光学转换器	检测杂交前后体系荧光、吸光度、折射率、拉曼散射变化	灵敏度高、检测模式多样、可高通量分析	仪器成本较高、光漂白效应、背景荧光干扰
压电晶体转换器	检测核酸杂交引起的晶体质量增加及振荡频率变化	无需标记、实时分析	灵敏度相对较低，易受温度、湿度影响
热转换器	检测核酸杂交释放的热量变化	无需标记，直接检测	灵敏度一般，易受环境温度波动影响

（三）信号放大策略

食品安全检测中目标核酸分子的浓度一般较低，特别是早期污染或者残留量很少的时候。为了能够准确的检测出微量的目标物，必须采用有效的信号放大手段提高检测信号，使之达到仪器检测的极限。信号放大的策略是决定核酸生物传感器灵敏度的重要环节，大致可以分为目标扩增、信号扩增两种类型。

目标扩增技术是指在检测前对目标核酸序列本身进行大量复制，以显著提高其在样品中的绝对数量。

1. 聚合酶链式反应是现在最常用的一种目标基因扩增技术，能在很短的时间内把目标基因片段扩增到百万倍以上。但是其操作比较复杂，对温度控制要求很精确，在一定程度上影响了现场快速检测的应用。

2. 环介导等温扩增等新型等温扩增技术由于反应条件温和、操作简便，更适合作生物传感器的检测前端，用于现场快速检测。

信号放大技术是在目标分子数目不变的前提下，通过引入可以产生强信号的标记物或者巧妙地设计信号增强机制，来增大单次识别事件所产生信号。利用酶、纳米材料或者核酸自身作为信号标签，通过催化反应、电化学反应或者级联杂交



反应等方式来实现信号的指数级放大。这种策略的优点是减少扩增过程中交叉污染的可能性,操作步骤一般也比较简单。

二、电化学 DNA 传感器及其应用

电化学 DNA 传感器具有灵敏度高、响应迅速、成本低廉、便于小型化以及可以集成等优势,在食品安全分子检测领域有广泛的应用前景。它把 DNA 的特异性识别能力与电化学分析技术有机地结合在一起,给食源性致病菌、转基因成分等重要指标的现场快速检测提供了强有力的工具。

(一) 基于金纳米粒子的信号放大

金纳米粒子由于具有特殊的物理化学性质,在构建高效率电化学 DNA 传感器中起着至关重要的作用。它们有良好的导电性、很大的比表面积以及良好的生物相容性,是理想的信号放大平台和固定化载体。金纳米粒子可以作为探针的固定载体,由于金纳米粒子比表面积较大,所以能明显增加探针的负载量,提高与目标 DNA 结合的概率,实现信号增强的目的。

另一方面,金纳米粒子可以作为电话性物质或者催化剂的载体,从而实现信号的再次放大。典型的“三明治”检测模式是先把捕获探针固定在电极表面来捕获样品中目标 DNA。随后标记有金纳米粒子的信号探针会和目标 DNA 的另一端结合。金纳米粒子能够高效装载大量的电化学活性分子(二茂铁)或者有催化活性的酶(辣根过氧化物酶),在电化学或者酶催化反应中产生显著增大的电流信号。

金纳米粒子可以直接用作催化剂,催化过氧化氢的还原或者某些化学物质的氧化,进而产生可测量的电信号。当金纳米粒子与其他纳米材料(碳纳米管、石墨烯)复合时,其导电性以及催化活性都会得到改善,从而构建出灵敏度更高、响应速度更快的电化学 DNA 传感器,成功地应用于沙门氏菌、李斯特菌等多种食源性致病菌的痕量检测。

(二) 基于酶循环放大的检测策略

酶属于生物催化剂,其催化效率和专一性都非常高。将它引入到电化学 DNA 传感器的设计中可以形成高效的信号放大系统。酶循环放大的检测策略的核心思想是利用酶的催化循环反应,把单个 DNA 杂交事件转化为大量的、可以被电化学检测的产物分子,从而实现信号的指数级放大。该策略能大大提高检测的灵敏度,可以对皮摩尔或者飞摩尔级别的目标 DNA 进行检测。

常用的酶循环放大方式是用核酸外切酶或者内切酶。通过设计特殊的探针结构,当存在目标 DNA 并与探针杂交形成双链结构时,双链结构可以被特定的核酸酶识别和切割。切割之后,目标 DNA 就被释放出来,可以与新的探针再次杂交,并由此触发新一轮的切割反应,于是便形成了一个不断循环的过程。该循环中每一个目标 DNA 分子都会引起大量探针被循环切割。如果探针上带有电化学活性物质,那么探针的释放或者降解会导致明显的电信号变化。另一种方法是利用酶催化底物生成电活性产物,碱性磷酸酶作为标记物,催化底物(磷酸苯酯)水解成电活性产物(苯酚),通过检测产物氧化电流来实现信号放大。

(三)微小核糖核酸检测新方法

微小核糖核酸属于内源性非编码单链核糖核酸分子,平均长度约为 22 个核苷酸,在基因表达调控过程中起着非常重要的作用。近年来的研究表明,一些微小核糖核酸的表达水平与食品品质、新鲜度、真实性、病原体污染等有关,所以它们被认为在食品安全和质量控制方面有巨大的应用前景。像一些微小的核糖核酸,可以作为肉类产品新鲜度的指标,也可以用来鉴别植物油掺伪。

由于微小核糖核酸分子量小、序列短、在样品中含量低且与其他核糖核酸序列高度同源,因此对微小核糖核酸进行特异、灵敏的检测是很大的挑战。传统的检测方法如实时荧光定量聚合酶链式反应、基因芯片技术等操作复杂,耗时长,不能很好地满足现场快速检测的要求。因此,开发微小核糖核酸的快速、灵敏、简单的电化学检测新方法有重大的现实意义。

为了解决上述问题,研究人员提出了许多新的电化学传感方法。其中一种有效途径就是用锁核酸或者肽核酸探针取代传统的 DNA 探针。修饰核酸和目标微小核糖核酸结合的亲和力及特异性更高,能够很好地识别出序列上只差一个碱基的同源微小核糖核酸。

信号放大方面,研究人员常常涉及纳米材料技术和核酸酶帮忙的信号循环放大技术。以金纳米粒子和核酸外切酶 III 为材料,构建传感器。当存在目标微小核糖核酸时,就会引发核酸外切酶 III 对探针的循环切割,释放出大量的信号分子,产生放大的电化学信号。这些新方法一旦建立起来,就可以借助微小核糖核酸作为标志物,有效地对食品质量的隐患进行监测和预估,这对于保证食品供应链透明度,保护消费者利益有着十分广阔的应用前景。



三、光学 DNA 传感器及其应用

光学 DNA 传感器是利用核酸杂交前后的体系光学性质的变化来实现目标 DNA 检测的一种方法。由于其高灵敏度、多种检测模式、高通量分析潜力等，在食品安全方面有大量研究和应用。从表面等离子体共振到荧光、拉曼散射，光学技术给分子检测赋予了许多强大的手段。

（一）表面等离子体共振 DNA 传感器

表面等离子体共振属于一种依照物理光学现象而来的传感技术。基本原理为当一束偏振光以一定的角度入射到涂覆有金属薄膜（一般为金或者银）的棱镜上时，在金属膜和介质界面上的自由电子之间就会产生集体振荡，形成表面等离子体波，反射光的强度在某一角度处急剧减小，形成共振峰。这个共振角对于金属表面的介电常数发生改变非常敏感。当传感器芯片表面固定的 DNA 探针与样品中目标 DNA 分子发生杂交的时候，就会使芯片表面的折射率发生微小的改变，从而导致共振角发生偏移。通过精确测量共振角变化量，就可以实现对 DNA 杂交过程的实时、无标记监测，并可以定量分析目标 DNA 浓度。

表面等离子体共振技术最大的优点就是不需要对目标分子进行标记，可以实时的监测分子之间相互作用的动力学过程，得到结合速率、解离速率和亲和常数等重要动力学参数。食品安全检测中，该技术成功地被用来检测食源性致病菌（大肠杆菌 O157:H7、沙门氏菌）的特征基因片段，也可以做转基因成分的定量检测。但是其难点在于对复杂样品基质（食品匀浆液等）中的干扰物比较敏感，因此需要有效的样品前处理步骤去除非特异性吸附造成的干扰。目前研究人员正努力地研究纳米材料提高信号等方法，以提高检测的灵敏度。

（二）荧光共振能量转移 DNA 传感器

荧光共振能量转移就是两个荧光生色团之间发生的非辐射能量转移。当供体荧光分子的发射光谱与受体荧光分子的吸收光谱有足够的重叠，并且两者的空间距离足够近（一般 1 到 10 纳米）的时候，供体分子被激发以后得到的能量就会通过偶极 - 偶极相互作用传递给受体分子，从而使受体分子发出荧光，供体自身的荧光被有效淬灭。此过程的效率对供体和受体间距离很敏感，因此它常被形象地叫做分子尺度上的光谱量尺。

利用这一原理，可以设计出多种巧妙的荧光共振能量转移 DNA 传感器。

1. 其中分子信标就是一个很经典的例子。分子信标是茎环结构的单链 DNA

探针,一端带有供体荧光基团,另一端带有受体(淬灭)基团。当没有目标 DNA 时,探针成发夹状,供体和受体离得很近,从而发生荧光共振能量转移,使供体的荧光被有效抑制。当目标 DNA 出现并与分子信标的环区序列杂交后,茎环结构就打开了,供体和受体被物理分开,荧光共振能量转移过程被阻断,供体的荧光信号就恢复了。

2. 通过检测荧光信号的恢复或受体荧光信号的出现,即可对目标 DNA 进行定量分析。

该类传感器信噪比较高、特异性高,高信噪比、高特异性是因为只有与完美匹配的目标序列结合时才会产生有效信号。食品安全检测中荧光共振能量转移技术常用来创建均相检测体系,因为不需要分离步骤,操作简单,特别适合于高通量筛选食源性病毒核酸、致病菌毒力基因等。

(三) 表面增强拉曼散射 DNA 传感器

表面增强拉曼散射是能提供分子指纹信息的超灵敏光谱分析技术。当分子吸附到纳米尺寸的贵金属(金、银等)颗粒或者粗糙表面上时,其拉曼散射信号会被极大的增强,增强因子可以达到 10^{14} 次方,甚至可以实现单个分子的检测。巨大的信号增强是由电磁场增强和化学增强这两种机制共同造成的。

DNA 检测中基于表面增强拉曼散射的传感策略,大多采用将具有强拉曼活性的报告分子偶联到 DNA 探针上。“三明治”夹心检测模式一般是会采用一种捕获 DNA 探针来固定在磁珠或者芯片等载体上,进而实现对样品中目标 DNA 的特异性捕获。之后再加入带有拉曼报告分子和识别序列的信号 DNA 探针,该探针会与目标 DNA 另一端结合,形成捕获探针、目标 DNA、信号探针构成的三明治结构。将表面增强拉曼散射活性基底(金或者银纳米粒子聚集体)加入体系中,通过复合物和基底之间的相互作用,把拉曼报告分子置于电磁场“热点”区域,从而产生很强的表面增强拉曼散射信号。

该技术最大的优点就是灵敏度高、多重检测能力强。由于不同的拉曼报告分子有各自独特的、谱带尖锐的指纹光谱,因此可以利用多种不同的拉曼报告分子分别对不同的 DNA 探针进行标记,在一次测量中即可实现对多种不同目标 DNA 序列的同时检测,从而有效实现高通量的并行检测。该技术在食品安全方面具有广阔的开发应用前景,可以对多种食源性致病菌进行同时快速检测,也可以对多种转基因成分进行鉴定,可以为复杂的食品安全问题提供一站式服务。

第三章 免疫学快速检测技术

免疫学检测技术依靠抗原抗体特异性结合的原理，具有灵敏度高、特异性好等明显的优势。食品安全领域中它起着非常重要的作用，可以高效快速地检测出复杂基质中微量的目标物。

第一节 酶联免疫吸附测定技术

酶联免疫吸附测定技术简称 ELISA，是现代免疫学检测中一项重要的技术。它把抗原抗体反应的高特异性同酶促反应的高催化放大效果融合起来，成为食品安全快速检测里不可缺少的基本技术之一。

一、ELISA 基本原理与类型

ELISA 技术的核心是将可溶性抗原或者抗体固相化，用酶标记物来实现信号放大。根据固相载体上包被物、待测物、标记物的不同组合方式，又衍生出多种检测模式，以满足不同的分析需求。

（一）直接法、间接法、夹心法与竞争法

直接法 ELISA 是酶标记的特异性抗体与固相载体上包被的抗原结合。该方法的操作步骤简单、速度快，但是灵敏度低，每种待测物需要单独制备相应的标记抗体，成本高，因此应用范围受到限制。

间接法则是一抗不标记，先和固相抗原结合，再加入酶标二抗与一抗结合。由于一个一抗分子可以结合多个标记二抗，检测信号被放大了，灵敏度提高了。同时，通用型酶标二抗可以和同一物种内多种不同的一抗发生反应，大大提高方法的通用性以及经济性。

夹心法 ELISA 是用以检测大分子抗原的一种方法。其典型模式为：用特异性的捕获抗体包被固相载体，加入待测样品后，样品中的抗原就会与捕获抗体特异性结合。经过洗涤去除未结合的物质，然后加入另一种可以与抗原不同表位结



合的酶标检测抗体,形成独特的抗体-抗原-标记抗体的夹心复合物。由于待测物被两种抗体双重识别,可以排除非特异性干扰,因此具有很强的特异性、很高的灵敏度。作为目前商品化 ELISA 试剂盒中应用最广泛的类型之一,它主要用于病原微生物、大分子毒素等的检测。

竞争法 ELISA 是检测小分子半抗原(农兽药残留、小分子毒素等)的主要方法。其原理是样品中待测抗原和固相载体包被的有限量抗体(或酶标记的有限量抗原)发生竞争性结合。样品中待测物浓度越高,结合到固相载体上的酶标物就越少,最后产生的显色信号就越弱,所以信号强度和待测物浓度呈负相关。根据标记物和包被物不同,竞争法又可以分成多种类型。该方法巧妙的解决了小分子物质不能同时与两个抗体结合的问题,在食品安全小分子污染物的筛查中起着关键作用。

不同检测模式的特点、应用与局限性,可见以下 ELISA 检测模式对比表:

ELISA 检测模式对比表

特征 / 模式	直接法	间接法	夹心法	竞争法
待测物	抗原或抗体	抗体(血清抗体)	大分子抗原	小分子抗原(半抗原)
原理	酶标一抗直接结合固相抗原/抗体	一抗结合固相抗原,酶标二抗结合一抗	捕获抗体-抗原-酶标检测抗体	待测抗原与酶标抗原/抗体竞争结合有限的抗体/抗原
主要应用	抗原检测,免疫组化	感染诊断,自身免疫病	蛋白质、病原体、细胞因子	小分子药物、农兽药残留、毒素
灵敏度	较低	较高	极高	较高(信号与浓度负相关)
特异性	高	高	极高	高
操作步骤	相对简单,速度快	步骤较多,但通用性强	步骤较多,但灵敏度高	步骤较多,但适用于小分子检测
成本	需制备多种酶标一抗,成本高	通用二抗,成本较低	成本较高	需制备特异性抗体或酶标抗原,成本较高
信号关系	正相关	正相关	正相关	负相关

(二) 酶标二抗与底物系统

酶标二抗-底物系统,是 ELISA 技术当中完成信号转换及放大的关键部分。常用的标记酶有辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等,一般具有催化效率高、性质稳定、来源广泛、容易与抗体偶联等特点。酶标二抗是指对一抗免疫球蛋白的抗体,并与酶分子通过化学方法结合。间接法和夹心法中,选择高质量的酶标二抗对保

证检测的灵敏度、特异性十分重要。

底物系统的选择直接影响到检测信号的好坏。辣根过氧化物酶最常和四甲基联苯胺一起使用，四甲基联苯胺在过氧化氢的作用下被催化生成蓝色产物，加入终止液后转变为黄色，然后通过酶标仪在特定波长处读取吸光度值进行定量。碱性磷酸酶常用对硝基苯磷酸盐为底物，水解产物为黄色对硝基苯酚。除了传统的显色底物，化学发光底物和荧光底物也被广泛使用，以提高灵敏度。以鲁米诺为代表的化学发光底物，在酶的催化下可以产生光子，检测灵敏度比传统的比色法提高数个数量级。荧光底物经酶催化后会产生能发出荧光的产物，具有很高的检测灵敏度。

（三）定量与定性检测

ELISA 技术既可以定性检测，也可以准确定量，可以满足不同层次的检测要求。定性检测主要用在大量样品的初筛上，其主要目的就是判断样品中待测物含量是否超过设定的阈值，从而快速得出阳性或者阴性的结论。一般将样品信号值与预设临界值或阴性对照的信号值比较来判断。定性检测操作简单、成本低，是初筛工作的好工具，在现场快速检测、海关口岸检验检疫等场景中发挥着重要的作用。

定量检测的目的在于得到样品中待测物的准确浓度。实现定量的关键就是建立标准曲线。利用一系列已知浓度的标准品做 ELISA 测定，得到相应的信号值，以浓度为横坐标，信号值为纵坐标绘制标准曲线。把未知样品的信号值代入回归方程，就可以准确地计算出样品中待测物的含量。定量检测对操作的精密度和准确性要求非常高，必须严格控制反应的温度、时间、试剂用量等各项条件，以保证结果的准确可靠、重复性好。为实验室开展风险评价以及合规判定给予了重要的科学支撑。

二、ELISA 在食品中残留物检测的应用

凭借其成熟的体系和较低的成本，ELISA 被广泛地应用于食品中各种有害残留物的现场或者实验室快速检测上，为构建“从农田到餐桌”全链条食品安全屏障提供强有力的技术支持。

（一）农药残留检测

农药在农业生产中发挥着不可替代的作用，但是由于不合理的施用造成的残



留问题,正严重威胁着食品安全和生态环境。ELISA 技术尤其是竞争法 ELISA 已经成为农产品中农药残留检测的主要方法。由于农药大多为小分子物质,不能构建双抗体夹心系统,所以竞争法 ELISA 是检测小分子物质的首选方法。通过制备针对某种特定农药的特异性抗体,进而开发出相应的 ELISA 试剂盒,用于检测水果、蔬菜、谷物、茶叶等各类食品基质中有机磷类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类、三嗪类等众多农药。

对于农药种类繁杂的情形,ELISA 技术也发展出了多残留检测的方案。另一种方法就是开发广谱抗体,这种抗体可以识别具有相似官能团或者相同结构的一类农药,进而实现对某一类农药的总量筛查,如有机磷农药通用结构的对氧磷抗体。另一种方法就是采用微孔板或者阵列技术,将不同的抗体包被在不同的孔或者点上,对多种农药进行同时检测,一份样品可以检测出多种农药,大大提高了检测效率。虽然 ELISA 在农残检测中存在基质效应、交叉反应等局限,但是它仍然是高效的高通量筛选方法,其地位无法取代。经过它筛选出的阳性样品,一般还要再用色谱-质谱等高精度的方法进行最终确认。

(二) 兽药残留检测

兽药被广泛地用在畜牧业和水产养殖疾病防治及促生长上。尤其是抗生素、激素、瘦肉精等,一旦进入人体,就会引发过敏、细菌耐药性增强、内分泌紊乱等健康问题。由于 ELISA 技术具有快速、灵敏等特点,在动物源性食品(肉、蛋、奶、水产品、蜂蜜等)的兽药残留检测上起着重要的作用。

针对不同的兽药已经开发出了大量的商品化的 ELISA 试剂盒。像检测 β -内酰胺类、四环素类、磺胺类、氟喹诺酮类等抗生素的试剂盒,就被普遍应用到对牛奶、肉制品的日常检测当中,以保证它们的含量不会超过最大残留限量。对于社会十分关注的“瘦肉精”问题,像克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇等,竞争 ELISA 法也给出了快速有效的筛查办法,甚至可以在动物被杀之前,对它们的尿液或者组织样本实施迅速检测。快速检测技术的运用给市场监管部门开展市场准入、监督检查和抽检工作提供强有力的科技支撑,对于打击非法使用兽药行为有重大的现实意义。

(三) 生物毒素检测

生物毒素是生物体产生的具有毒性的天然化合物,其中,由真菌产生的霉菌毒素在食品中最常见且危害最大。毒素可以污染谷物、坚果、水果、饲料等各种

食品和农产品，具有很强的致癌、致畸、免疫抑制作用。ELISA 技术是目前应用最广泛、最成熟的技术之一，也是免疫学检测霉菌毒素的方法。

1. 黄曲霉毒素：黄曲霉毒素是迄今为止已知的最强的天然致癌物之一，它的检测具有非常重大的意义。对于黄曲霉毒素 B1、M1 等，已经开发出竞争 ELISA 试剂盒，并广泛用于玉米、花生、牛奶等食品的快速检测，其检测限可达到十亿分之一 (ppb) 级别，完全符合各国相关法规要求。

2. 呕吐毒素又称脱氧雪腐镰刀菌烯醇，常污染小麦、大麦等谷物，会引起人和动物呕吐、腹泻等症状。ELISA 法成为筛查的最佳途径。

3. 玉米赤霉烯酮：具有雌激素活性的霉菌毒素，常和呕吐毒素一起污染玉米等作物。对其开发的 ELISA 试剂盒，可以对食品、饲料进行快速检测与评价。

4.4、赭曲霉毒素 A：具有明显的肾毒性，多在谷物、咖啡豆、葡萄及其制品中出现。ELISA 检测技术给这些商品的品质把控赋予了便当有效的办法。

三、ELISA 技术的改进与发展

虽然传统的 ELISA 技术已经很成熟，但为了满足高通量、高灵敏度、自动化的检测要求，研究人员一直在改进和创新 ELISA 技术，从而产生了性能更好的新型 ELISA 技术。

(一) 高通量 ELISA 与自动化

传统 96 孔板 ELISA 操作虽然已经标准化，但是对于大量样品的检测仍然存在通量和效率上的不足。为了克服这一限制，高通量化成了 ELISA 技术发展的一个方向。一方面微孔板的规格由原来的 96 孔升级到 384 孔甚至 1536 孔，在同样的时间和空间内可以处理更多的样品，大幅度提高了检测通量。另一方面，微阵列技术的出现，把 ELISA 反应平台从原来的宏观的微孔板上，转移到了芯片或者玻片的微观表面上。单个基片上高密度点阵包被多种抗体或抗原，可以同时检测一份样品中几十种甚至上百种目标物，这就是俗称的“芯片上的 ELISA”，在多农残、多兽残和多毒素的联合筛查中有着巨大的应用潜力。

高通量化，必然伴随着自动化水平的大幅度提高。全自动 ELISA 工作站出现以后，加样、温育、洗板、显色、读数、数据处理等全部步骤都被纳入到一个自动化系统当中。自动化系统里的机械臂替代了繁琐的人工操作，既把检测人员从重复性的工作里解放出来，又极大地减小了人为误差，使得检测结果具有很高



的重复性、一致性和可比性。自动化系统可以不间断连续地工作，大大缩短了检测周期，对于突发性食品安全事件的应急检测也变得可行起来，这是大型检测实验室发展的必然趋势。

（二）增强型 ELISA 技术

由于传统 ELISA 技术检测微量物质灵敏度不高，因此产生了增强型 ELISA。核心思想就是使用新的信号放大方法，把微弱的生物识别信号变成更强的、更容易检测的物理或者化学信号。纳米材料的应用就是其中主要的一个方向。利用金纳米颗粒、量子点、碳纳米管、磁性纳米粒子等作为标记物或载体，发挥它们特有的物理化学性质（表面效应、光学性质、电化学活性等）来达到比传统酶标记更明显的信号放大的效果。金纳米颗粒可以用来提高显色，量子点也可以作为很好的荧光标记物，它们的光稳定性好、发射光谱可调，为建立超灵敏的 ELISA 体系提供新工具。

另一类重要的增强方式就是基于酶促反应本身的放大。催化信号放大技术就是利用酶促反应产生的沉淀物，沉淀物可以进一步捕获更多的酶或者信号分子，从而产生级联放大效应。生物素亲和素系统也是一种经典信号放大方法，一个抗体分子可以结合多个生物素，一个亲和素分子（一般与酶连接）可以结合多个生物素，实现多级信号放大。把抗体和脱氧核糖核酸片段相连，将免疫反应的信号转变成核酸扩增信号，利用聚合酶链式反应对核酸分子进行指数级扩增的能力，将 ELISA 和聚合酶链式反应相结合的免疫技术。其理论灵敏度甚至可以到达单个分子的水平，是 ELISA 灵敏度提升的极致方向。各种增强技术的不断涌现使 ELISA 检测技术在激素、过敏原、早期病原体污染等微量物质的检测方面有了质的飞跃。

（三）均相 ELISA 技术

传统 ELISA 属于非均相免疫分析，它最突出的特点就是必须经过多次洗涤过程，从而区分已结合与游离的标记物。但是这些洗涤步骤既费时又麻烦，容易产生人的误差，不适合在施工现场进行快速检测。为克服以上弊端，均相 ELISA 技术应运而生。均相分析最大的优势就是所有的反应组分都在液相中发生，无需固相分离、洗涤，真正实现了“混合即读”的便捷操作模式。

均相 ELISA 的实现要依靠巧妙的信号调控。当抗原和抗体结合事件发生时，会改变体系内信号分子的空间距离或者微环境，从而引起可测量的信号（荧光、

化学发光)的开启或者关闭。常用的有荧光共振能量转移、荧光偏振、酶通道效应、发光氧通道免疫分析等。以荧光共振能量转移为例,只有抗体和抗原上标记的能量供体和受体结合在一起,距离足够近时才会发生能量转移,产生可检测的信号变化。均相 ELISA 大大简化了检测过程,缩短了反应时间,一般几分钟就可以完成检测。该技术可以和微流控等自动化平台很好的结合,正在成为便携式、即时检测设备发展的重要技术之一。

第二节 免疫层析技术原理与改进

免疫层析技术已经发展成为一种成熟的即时检测平台,它具有操作简便、反应快、成本低、不需要特殊仪器等众多优势,因此在食品安全监督中占有重要的地位。本节会对工作原理以及经典结构进行系统的阐述,着重对改进检测性能的最新策略以及多样化、智能化的发展趋势展开重点分析,从而呈现出其从定性筛选走向定量精准,从单目标检测迈向多重联检技术的广阔发展局面。

一、免疫层析试纸条基本原理与组成

免疫层析试纸条之所以能够正常工作,就是由于它精巧的结构设计以及各个部件之间的相互配合。要掌握并改进这项技术,必须从基本原理入手,即样品处理、免疫反应和信号呈现这三个主要环节。只有理解清楚它的组成和原理之后,才能进一步进行技术上的改进以及应用范围的扩大。

(一) 样品垫、结合垫、NC 膜、吸收垫

免疫层析试纸条通常由四个串联的部分组成,共同完成检测过程。

样品垫是试纸条的起始段,也是液体样品首先接触到的部分。它一般用玻璃纤维或者纤维素等吸水性、透水性好的材料制成,主要功能是承载待测样品溶液并做初步过滤和预处理。可以有效去除样品中红细胞、大颗粒杂质,调节样品的酸碱度和离子强度,给后续的免疫反应提供一个稳定的微环境,减少基质效应所引起的干扰,保证检测的准确性。

紧挨样品垫的是结合垫,是储存免疫反应物的地方。该区域一般采用玻璃纤维等惰性多孔材料,其表面预先喷涂并干燥固定有标记物抗体或抗原,即免疫探针。当样品溶液流经该区域的时候,干燥的免疫探针就会被迅速溶解,然后随着



液流向前移动。如果样品中存在目标分析物,就会与免疫探针发生特异性结合,形成分析物和标记探针的复合物。根据垫的材质选择和处理工艺来决定标记物的稳定性、复溶效率,从而影响试纸条的灵敏度、重复性。

硝酸纤维素膜,简称 NC 膜,是免疫层析反应的核心载体,也是检测结果最终显示的区域。它有很强的蛋白质吸附能力,毛细迁移速度可调。膜上有检测线 T 线和质控线 C 线。带免疫复合物的液体在毛细作用下匀速地通过 NC 膜向前层析。

吸收垫位于试纸条的末端,一般用高吸水性较好的棉纸或者纤维素来制造。其主要功能就是依靠强大的毛细吸力,将整个液相持续地在试纸条上沿一个方向移动,就像一个“泵”或者“引擎”。它既可以保证样品和反应物全部通过检测区,又可以吸收多余的液体,防止回流,保证反应充分、结果清晰。吸收垫的吸水容量要大于整个反应体系的液体总量。

(二) 检测线与质控线原理

检测线和质控线是免疫层析试纸条上出现可视化结果的两个主要部分,其设计原理直接影响到检测模式及结果是否有效。

检测线(T 线)用于判断样品中是否含有目标分析物。其原理上主要分为双抗体夹心法和竞争法两种。

双抗体夹心法多用于检测大分子物质,如蛋白质、病原体等。T 线上固定了另一种能特异性捕获目标分析物的抗体。样品中的分析物与结合垫上的标记抗体结合后,形成的复合物迁移到 T 线时,被 T 线上的捕获抗体再次捕获,形成捕获抗体、分析物、标记抗体三者夹心的结构,从而富集标记物,并表现出颜色。样品中分析物浓度越大,T 线颜色越深。

竞争法适合用于小分子物质,兽药残留、真菌毒素等。T 线上固定的是目标分析物的类似物,即半抗原偶联物。样品中分析物会和 T 线上的半抗原偶联物争夺有限的标记抗体。样品中分析物含量高时,大量的标记抗体被消耗,不能在 T 线处富集,所以 T 线颜色变浅或者消失。相反,如果没有分析物,标记抗体就会和 T 线结合,显色较明显。

质控线(C 线)是用来判断试纸条是否有效的内部控制线。不管样品中是否存在待测物,C 线都应该正常显色,否则本次检测无效。C 线的设计原理就是捕获多余标记的抗体,使其不能与抗原结合。C 线上固定的是标记抗体来源物种的第二抗体,即如果标记抗体为鼠源单克隆抗体,则 C 线上固定的是羊抗鼠二抗。

当液体流过时,无论标记抗体是否结合分析了分析物,只要它有生物活性并且液流正常,就会被C线上的二抗捕获并显色。C线出现说明:试纸条层析系统正常,液体流动顺畅;结合垫上标记抗体有良好的生物活性以及复溶性。因此C线可以起到整个检测过程中有效性的内参作用,避免试纸条失效或者操作失误所造成的假阴性误判。

(三) 胶体金、乳胶、荧光微球标记

选择合适的标志物,对于免疫层析技术来说是非常重要的一个环节,直接影响免疫层析的灵敏度、稳定性以及表达的情况。

胶体金是最早使用,也最广泛的一种标记物。由氯金酸还原得到的纳米金颗粒,粒径一般为10~100nm。胶体金颗粒表面带有负电荷,可以借助静电吸附或者共价键与抗体等蛋白质稳定结合。其最大的优点就是制备工艺成熟、成本低、性质非常稳定,富集后可产生肉眼可见的紫红色信号,不需要仪器就可以判读,非常适合现场快速筛查。胶体金的摩尔消光系数小,灵敏性不高,一般只能达到纳克每毫升级别,不能满足痕量检测的要求;而且其颜色强度与浓度之间的线性关系范围也比较窄,不利于精确定量。

乳胶微球是又一种常用的标记物,它是在胶体金之后发展起来的。它是通过乳液聚合法制备的高分子聚合物微球,表面带有丰富的官能团(羧基、氨基等),可以与抗体进行更牢固的共价偶联。乳胶微球本身是白色的,但是可以通过内部染色或者表面吸附染料呈现蓝色、红色等各种鲜艳的颜色,相对于胶体金来说具有更强的视觉对比度和信号强度。颜色可定制的特性使得它也可以用来做多重检测。乳胶微球标记的灵敏度比胶体金稍高,不过其分散性以及批间稳定性控制仍是技术难题。

为了克服传统比色法的灵敏度限制,荧光微球标记技术出现了。该类标记物是用具有高荧光量子产率的荧光染料(如镧等稀土元素螯合物)或者量子点包埋在聚合物微球内制备而成。荧光微球在特定波长激发光照射下可以发出高强度、长寿命、大斯托克斯位移的荧光信号。由于荧光检测背景干扰很小,其检测灵敏度比胶体金高几个数量级,可以达到皮克每毫升或者更低的水平,极大地扩展了免疫层析技术在痕量污染物检测领域的应用范围。荧光信号强度与分析物浓度在很宽范围内都呈良好的线性关系,结合便携式荧光读数仪可以进行准确的定量测定,是目前免疫层析技术向高灵敏度、量化方向发展的主要趋势。



二、提高免疫层析灵敏度的策略

虽然免疫层析技术操作简单、快速，但是其固有的灵敏度不够，在食品安全越来越严格的情况下，食品中微生物的限量标准不断提高，免疫层析技术有时会感到无能为力。因此，怎样冲破灵敏度瓶颈成了这一领域研究的重点和前沿。科研人员在信号标记、信号放大、材料结构等多方面提出了许多新的想法。

（一）新型纳米标记材料的应用

传统的胶体金标记物由于光学性质的限制，提高灵敏度的空间不大。开发具有更好信号特性、更灵敏的新型纳米标记材料，是提高免疫层析灵敏度最直接的方法。

量子点是一种半导体纳米晶体，荧光强度高、光谱可调、抗光漂白性好是它的优点。用其作为标记物，不仅可以大大提高信号，达到高灵敏度的检测目的，而且由于其窄发射峰、宽激发谱的特点，可以很好地满足多组分同时检测的需要。

时间分辨荧光纳米微球是另一种有潜力作为标记物的材料，其利用镧系元素螯合物长荧光寿命的特性，在时间分辨模式下可以有效地抑制样品基质以及 NC 膜等产生瞬时的背景荧光，使得信噪比较高，从而大大提高检测的灵敏度。

除了荧光材料，其他种类的纳米材料也展现出巨大的应用前景。

上转换发光材料在近红外光激发下可以发出可见光，生物样品在近红外区几乎不产生自发荧光，所以可以实现零背景的超高灵敏度检测。

碳纳米材料，如碳纳米管、石墨烯量子点等，由于其独特的电学、光学性质，大的比表面积，良好的生物相容性，也被用作新型标记物。

一些纳米材料本身就具有类酶催化活性，例如金纳米簇、普鲁士蓝纳米颗粒等，在底物存在下可以催化显色反应，实现信号的酶促放大，集标记和催化于一身的设计为构建超灵敏免疫层析方法提供了新思路。新型纳米材料从根本上打破了免疫层析技术的性能边界。

（二）信号放大技术的引入

当标记物本身的信号强度较低的时候，增加额外的信号放大步骤，也是提高检测灵敏度的一种有效方法。该策略的基本思想是在初始的免疫识别事件之后，通过生化反应级联放大，即“一个分析物分子产生千万个信号分子”。

1. 酶催化放大是经典且高效的。将辣根过氧化物酶或者碱性磷酸酶这些高效

的催化剂当作标记物，或者是将第二抗体连结到初始的免疫复合物上。免疫反应以及洗涤之后，加入酶底物（TMB 或者 BCIP 与 NBT），酶催化底物产生深色、强荧光或者化学发光产物，将单个结合事件转化为大量信号分子，灵敏度可以提高 10 到 100 倍。

2. 生物素 - 亲和素系统是另外一种常用的放大系统。它依靠生物素与亲和素之间非常高的亲和力（解离常数 K_a 约为 10^{15} M^{-1} ）来创建多级放大体系。用生物素化检测抗体，然后加入链霉亲和素标记的酶或者荧光物质。由于一个链霉亲和素分子可以结合四个生物素分子，所以桥联作用可以大大富集信号分子，实现信号的指数级放大。

3. 基于核酸的扩增方法，例如滚环扩增法、聚合酶链式反应等也被巧妙地整合到免疫层析分析平台中，但是这样会提高系统复杂度。这些方法为免疫层析技术提供了锐利的武器，使检测下限大大提高，在某些应用上可以达到传统实验室方法的效果。

（三）试纸条结构与材料的优化

除了标记物和信号放大的技术，对试纸条本身的物理结构和材料进行优化，也可以显著提高试纸条的分析性能，特别是灵敏度。

在传统的二维平面层析模式中，样品和反应物接触的时间短，反应效率低。为此研究人员提出了三维纸基微流控芯片的概念，利用立体、复杂的流道结构延长反应物相互作用路径和时间来提高免疫结合效率，使 T 线信号富集量增大。设计蛇形或者折叠式的流道，利用蜡印等方法在纸上形成亲水、疏水区域，可精确控制液体的流速、流向，以达到更好的混合、反应效果。

NC 膜为反应中心载体，它的孔径大小、孔隙率以及表面性质均会影响到层析速度和蛋白的吸附能力。选择孔径小、孔隙度大的 NC 膜，降低液体流速，延长抗原抗体在 T 线区孵育时间，使免疫复合物生成得更多，信号增强。对 NC 膜表面进行修饰，加入亲水性聚合物或功能基团等可以改善润湿性、减少非特异性吸附、降低背景信号从而提高信噪比。

另外对样品垫、结合垫的改良也不能忽视。样品垫配方优化可以降低基质的干扰，新型结合垫材料保证标记探针全部溶解放出。这些看似很小的改善都会对整体灵敏度的提高起积极作用。



三、免疫层析技术的多元化发展

伴随着市场需求以及相关技术的发展，免疫层析技术已经不局限于定性检测这一种形式了，正向多重化、定量化和智能化方向迅速发展。多元化的演进大大拓宽了它的应用范围，在现代食品安全快速响应体系中发挥着越来越重要的作用，具有很大的发展潜力。

（一）多重联检技术

传统的免疫层析试纸条一般只能检测一种目标物，面对食品中污染物种类繁多、成分复杂的现状，单目标检测效率较低。多重联检技术出现以后，在一张试纸条上检测多种分析物变得可行，检测通量得到很大提升，节省了时间和费用。多重联检有两条主要的技术途径，具体对比如下表所示：

多重联检技术对比表

技术类型	空间分辨阵列法	标记物区分法
原理	在 NC 膜上不同位置固定不同分析物的捕获抗体或抗原，形成多条平行的检测线。不同分析物在对应的 T 线上被捕获并显色。	利用不同标记物产生的可区分信号（如不同颜色乳胶微球、不同发射波长量子点）来区分分析物。不同标记物与各自抗体结合后混合于结合垫，在同一检测线上通过信号差异识别和定量。
优点	容易理解，判读直观。	集成度高，理论上在同一检测线上可同时识别和定量多种分析物，不受试纸条宽度限制。
缺点	可集成的通道数量受试纸条宽度限制。	技术复杂性较高，需要精密的标记物设计和信号分离技术。
应用场景示例	在一条试纸条上检测多种农药残留，每种农药对应一条 T 线。	使用红、蓝、绿三种颜色的微球标记三种不同的抗体，在同一条 T 线上通过颜色的混合与分离检测三种病原体。

第一种是空间分辨阵列法，即在 NC 膜上不同的位置固定不同的分析物的捕获抗体或者抗原，形成多条平行的检测线。样品流过时，不同的分析物在对应的 T 线上被捕获并显色，观察不同位置 T 线的显色情况就能实现多种目标物的同时检测。此法易于理解，但是可以集成的通道数量受试纸条宽度所限。

第二种方式是用标记物来区分。该法用不同标记物产生的可区分信号来实现多重检测。使用不同颜色的乳胶微球或者发射不同波长荧光的量子点作为标记物，它们与各种分析物的抗体结合之后混合在结合垫上。同一条检测线上，利用颜色

差异或者荧光谱分离来同时识别、定量多种分析物，从而提高检测的集成度。将空间分辨和标记分辨结合起来，搭建 T 线阵列 × 颜色矩阵这种二维模式，就可以成倍地增加同步检测的通道数，给复杂的食品安全问题提供强有力的高通量筛选手段。

（二）定量检测技术

从定性“有或无”的判断，向定量“有多少”的精确测定转变，是免疫层析技术发展不可避免的趋势，也是满足法规标准和风险评价的客观要求。实现定量检测的关键就是建立可靠的关系，用信号强度来表示分析物的浓度。基于比色法的胶体金试纸条虽然可以利用灰度值进行半定量分析，但是由于颜色饱和度的瓶颈和批次间的差别，导致定量不准确。因此定量化的发展更多依靠荧光等新的标记方法。荧光信号与浓度呈良好的线性关系，灵敏度高，有利于精确定量。

为了达到准确的定量检测目的，除了需要性能优良的标记物以外，还需要一台能准确读取和解析信号的仪器。便携式读数仪，如荧光阅读器或者智能手机适配器，带有光源来激发荧光标记物，之后用光电探测器（CMOS 传感器等）接收发出的荧光信号。仪器内置的算法可以自动识别 T 线、C 线区域，计算信号强度值（一般为 T/C 比值），再根据事先存于仪器或者试纸条二维码中的校准曲线，把信号强度值转换成待测物的准确浓度。通过试纸条加读数仪的方式，把免疫层析技术从主观判断带入到客观、精确的定量时代，大大提高了检测结果的准确性、可靠性，可以满足执法监督、质量控制等要求较高的应用场景。

（三）数字化与智能化读数设备

伴随着物联网、大数据、人工智能技术的进步，免疫层析技术相应的读取装置也向数字化、智能化发展。传统的读数仪只能完成单一的功能，数据处理水平较低。新一代的读数设备带有更多的先进功能。

基于智能手机的读数平台是目前的热点。利用智能手机强大的计算能力、高清摄像头、便捷的网络连接，只需要一个简单的适配器（暗盒或光学附件），手机应用就可以完成对试纸条图像的采集、处理和定量分析。大大降低硬件成本，使精准定量检测可以普及到基层检测人员和普通消费者身上。

智能化读数设备成了物联网生态系统中的一个成员。检测数据可自动附带 GPS 定位、时间戳等信息，经由 4G/5G 或者 Wi-Fi 网络立刻传送到云端数据库之中。这就使监管部门可以创建起动态的、可视化的食品安全风险地图，对污染事件可



以及时发出预警并进行溯源。云端可以用大数据分析技术对大量的检测数据做深层次的挖掘,发现潜在的区域性的或者系统性的风险。

人工智能算法,特别是机器学习、深度学习等模型在图像识别、数据分析方面得到了广泛的应用,可以更准确地纠正由于光照不均、位置偏移等原因造成的误差,根据不同的基质背景进行学习,智能去除干扰,使分析结果的准确率、稳定性更高。数字化与智能化相融合,把免疫层析技术由单一的检测手段,变成食品安全生产管理系统里彼此联系的数据节点。

第三节 化学发光免疫分析技术

化学发光免疫分析技术,巧妙地把化学发光的高灵敏度和免疫反应的高特异性结合起来,形成了一种新的分析方法,它在食品安全方面有着广阔的应用前景。它给快速、准确地检测食品中的各种有害物质给予了强有力的技术支撑。

一、化学发光原理与发光体系

对化学发光基本原理及其构成的发光体系有深刻的认识,是掌握和应用该技术的基础。决定检测灵敏度、稳定性以及适用范围,同时又是分析方法的主体,直接影响检测结果是否可靠、准确。

(一) 直接化学发光与间接化学发光

直接化学发光免疫分析指的是把具备化学发光活性的小分子物质,直接连接到抗原或者抗体上。这些标记物在一定的氧化剂和催化剂的作用下,分子结构会发生改变,从激发态跃迁回基态的过程中,直接放出光子。该方法优点是反应步骤少,不用另外添加发光底物,反应速度快,一般在几秒内就可以完成发光过程,使检测时间大为缩短。常用的直接发光标记物为吖啶酯类和异鲁米诺及其衍生物等。由于反应体系中的组分比较少,因此背景信号低,有利于提高检测的信噪比。

间接化学发光免疫分析是以酶为标记物,将酶标记于抗原或抗体上。免疫反应结束时加入含有一定发光底物的溶液。标记酶会催化底物发生化学反应,从而产生发光物质或者激发中间体,最终辐射出光子。在这个过程中,一个酶分子可以催化成千上万个底物分子发生反应,从而产生明显的信号放大效应,因此该方法的灵敏度通常比直接化学发光法高得多。辣根过氧化物酶和碱性磷酸酶是最常

用的标记酶。虽然间接法步骤较多,但是由于其灵敏度高,在痕量物质的检测中广泛应用。

(二) 常用发光剂与增强剂

发光剂是化学发光体系的核心,它的好坏直接决定发光信号的强度和持续时间。目前应用最广泛的发光体系有鲁米诺体系和吖啶酯体系。

鲁米诺及其衍生物、异鲁米诺等都属于典型的发光剂。它在碱性环境下需要氧化剂(过氧化氢等)和催化剂(辣根过氧化物酶、铁氰化钾等)共同作用才能发光。该体系发光时间长,为辉光型,有利于信号的采集与测量,但发光量子产率较低。

吖啶酯类化合物是另一种性能优秀的发光剂,其发光机理与鲁米诺体系不一样。在酸性或碱性条件下,只要加入氧化剂(过氧化氢),就可以瞬间产生闪光型的发光,不需要酶的催化。吖啶酯体系反应速度非常快,发光强度高,量子产率远高于鲁米诺体系。闪光特性需要检测仪器有很好的性能,加样后马上开始信号采集。吖啶酯体系反应背景低、灵敏度高,在全自动化学发光免疫分析中有广泛的应用。

为了提高发光效率、提高检测的灵敏度,发光增强剂出现了。增强剂本身不参加发光反应,但是它的存在可以明显提高发光信号强度或者延长发光时间。在辣根过氧化物酶催化鲁米诺体系中加入对碘苯酚、对香豆酸等酚类化合物作为增强剂,可以使发光强度提高几百甚至几千倍,发光信号更加稳定,这就是所谓的增强化学发光技术。增强剂的加入使化学发光分析应用范围大为拓宽,可以检测低浓度的目标分析物。

(三) 发光信号的检测

化学发光所产生的信号非常微弱,人眼无法直接看到,需要使用高灵敏度的光电检测仪器测量。光电倍增管是最传统,也是使用最广泛的检测器。其工作原理是基于光电效应和二次电子倍增效应,微弱的光子撞击到光电阴极上,产生出光电子,光电子在一系列倍增电极形成的电场中被逐级加速、倍增,最后在阳极上形成可以被测量的宏观电流信号。光电倍增管具有很高的增益和很低的噪声,可以实现单个光子的计数,是实现化学发光高灵敏度检测的关键部件。

近些年来,半导体技术不断发展,新型的固态光电探测器,例如电荷耦合器件和互补金属氧化物半导体图像传感器,也被应用到化学发光检测当中。与光电



倍增管相比，它们体积小、成本低、功耗低、抗冲击性好，并可实现二维成像检测。因此它们适合用来制作便携式、微型化、高通量的化学发光分析仪器，例如微孔板化学发光仪和化学发光免疫分析阵列。新型检测器的加入，使化学发光技术由大型实验室仪器向现场快速检测设备的方向前进。

化学发光检测器性能对比

特征 / 检测器	光电倍增管	电荷耦合器件	互补金属氧化物半导体
增益	极高	中等	中等
噪声	极低	低	低
体积	较大	较小	小
成本	较高	中等	较低
功耗	较高	中等	较低
抗冲击性	较差	较好	优异
成像能力	无（点检测）	优异（二维成像）	优异（二维成像）
应用场景	大型实验室仪器	微孔板分析，高通量	便携式、微型化设备

如上表所示，不同检测器各有优势，共同推动了化学发光技术的发展。

二、CLIA 在食品安全检测中的应用

化学发光免疫分析技术由于灵敏度高、特异性好，被广泛用于食品中微量、痕量有害物质的精准检测，对保障公众健康起到了重要的技术支撑作用，在食品安全监管体系中起着不可替代的作用。

（一）高灵敏度兽药残留检测

兽药在畜禽养殖业中广泛地用于疾病防治和促进生长，但是不当使用造成的残留问题严重危害食品安全和人类健康。化学发光免疫分析技术具有很高的灵敏度，可以满足各国越来越严格的兽药残留限量法规的要求。克伦特罗（俗称瘦肉精）、莱克多巴胺等 β 兴奋剂类药物在动物组织中的残留浓度很低，传统的筛选方法很难达到检测要求。基于竞争性免疫反应原理的化学发光免疫分析方法可以实现兽药残留 ppb 甚至 ppt 级别的快速、准确的定量或者半定量检测。

已经建立了多种针对不同兽药的化学发光免疫分析方法，可以检测磺胺类、喹诺酮类、四环素类抗生素及其他禁用药物。相对于色谱质谱联用等鉴定的方法来说，化学发光免疫分析法操作简便、检测速度快、成本低，最适合于大量样品的筛选。能在短时间内完成大量样品的处理，可以迅速地找出怀疑的阳性样品，

再用确证方法加以复核, 进而提高监管效率。该技术对于进出口检验检疫、市场监督抽查、养殖环节监控等都有重要的作用。

（二）食源性致病菌及其毒素检测

食源性致病菌污染会造成食物中毒, 食源性疾病。传统的微生物培养鉴定方法耗时较长, 一般要几天才能得到结果, 不能满足现代食品工业快速响应的要求。化学发光免疫分析技术给快速检测致病菌和毒素赋予了高效方案, 能把检测时间缩减到几小时内。

1. 食源性致病菌检测: 用特异抗体来制备针对某种致病菌表面抗原(菌体、鞭毛或者菌毛蛋白)的模型, 建立夹心法化学发光免疫分析模型。此法可以直接检测食品样品中的沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、大肠杆菌 O157:H7 等目标菌, 省去了复杂的增菌、分离纯化步骤。使用磁珠分离富集技术可以提高检测的灵敏度、抗干扰性。

2. 细菌毒素、真菌毒素的检测: 许多致病菌之所以危险, 是因为它们会产生毒素。化学发光免疫分析方法可以对毒素分子进行准确的检测。对金黄色葡萄球菌肠毒素、蜡样芽孢杆菌呕吐毒素等细菌外毒素, 以及谷物、坚果中常见的黄曲霉毒素、呕吐毒素等真菌毒素已经开发出成熟的化学发光免疫分析试剂盒。由于毒素分子量一般较小, 所以这类检测大多采用竞争抑制法, 灵敏度完全可以满足食品安全限量的要求。

快速检测能力可以及时发现污染源, 并且可以迅速采取产品召回或者生产线消毒等控制措施, 从而防止不合格产品流入市场, 有效防止食源性疾病的爆发。

（三）激素残留检测

在畜牧业、水产养殖过程中, 为了获得经济利益, 一些经营者会非法使用合成类固醇、雌激素等激素类物质来促进动物生长、提高瘦肉率或者改变性别。如果激素类物质残留在食品里, 就会通过食物链进入人体, 干扰内分泌系统的正常功能, 对青少年、孕妇等敏感人群的健康造成潜在危害。化学发光免疫分析技术已经成为检测这些非法添加物最灵敏、最有效的方法之一。

对于己烯雌酚、群勃龙、玉米赤霉醇等合成或者天然的激素, 研究人员已经研制出高灵敏度的化学发光免疫分析法。这些方法一般利用竞争法原理, 即用激素小分子去和有限的特异性的抗体进行竞争。该技术灵敏度高, 可对动物源性食品(肉、奶、肝脏)和水产品中的痕量激素残留进行有效的检测, 样品前处理简



单,检测通量大。因此它适合用作大规模筛查的方法,在屠宰检疫及流通环节对激素滥用进行有效监控,为肉蛋奶等动物源产品的安全提供可靠的技术支持。

三、化学发光免疫分析技术的进展

为了满足食品安全检测领域对高通量、高灵敏度、低成本、现场快速检测的需求,化学发光免疫分析技术正在不断发展,向着不同的方向前进。新的技术形式与应用模式不断出现,发展前景也越来越广阔。

(一) 纳米材料增强化学发光

纳米材料由于具有尺寸效应、表面效应、量子效应等特性,给化学发光免疫分析技术性能的提高注入了新的活力。功能化纳米材料加入到化学发光体系中,可以明显提高检测的灵敏度,在多个方面发挥作用。金纳米颗粒、碳纳米管、石墨烯等比表面积很大,可作为载体固定大量的抗体或者酶分子,实现信号的物理放大,它们本身还具有很好的类过氧化物酶活性,可以直接催化鲁米诺等底物发光,简化反应体系,提高发光效率。

量子点是半导体纳米晶体,对于化学发光共振能量转移体系有非常大的作用。在这个体系里,化学发光反应所产生的能量以非辐射的方式传递给临近的量子点,于是量子点发光的波长变长,稳定性得到改善。能量转移机制可以降低背景干扰,提高信噪比,利用不同发射波长的量子点可以实现多种目标物的同时检测,为开发高通量多指标联检技术打下了基础。

上转换纳米颗粒等新型发光材料的应用给化学发光带来了新的思路。该类材料在近红外光的激发下会发出可见光,用它们构建的免疫分析方法可以完全消除样品自发荧光等背景干扰,从而得到极高的检测灵敏度。纳米材料与化学发光相结合,使分析技术更加灵敏、稳定,功能也更丰富。

(二) 磁微粒化学发光免疫分析

磁微粒化学发光免疫分析技术就是化学发光和磁分离技术的有机结合。它采用表面包被有功能基团超顺磁性微球作为免疫反应的固相载体。抗体或者抗原固定在磁微粒表面,免疫反应在液相中进行,相比传统的固相板载体,其反应动力学更快、反应效率更高。反应完成以后,只需施加外部磁场,磁微粒就可以很容易地从复杂的基质中分离出来,未结合的物质通过简单的洗涤过程就可以去除。

这种均相反应、异相分离的模式有很多好处,操作步骤少,尤其是繁琐的洗

涤步骤，人为误差小，重复性好。高效磁分离可以有效地去除样品基质中的干扰物质，降低非特异性吸附，提高信噪比，得到更低的背景信号。最重要的就是整个分析过程非常容易实现自动化。目前全自动磁微粒化学发光免疫分析仪已经成为临床诊断的主流仪器，并且正在逐步推广到食品安全检测中，实现了样品进、结果出的全自动、高通量检测，为大规模食品安全监控提供了一个强大的技术平台。

（三）便携式化学发光检测仪

传统的化学发光分析仪体积大、价格高、需要专门的实验室环境和专业人员才能操作，这就使得它无法在基层单位或者现场使用。打破这个限制，发展小型化、便携式的化学发光检测仪已经成了目前研究的热点。便携式仪器的关键就是检测系统和流路系统的微型化。一方面用小型光电二极管、电荷耦合器件、互补金属氧化物半导体图像传感器代替体积大的光电倍增管，减小了仪器的体积，降低了成本，也为多通道检测打下了基础。

微流控芯片技术又称为芯片实验室技术，可以将样品前处理、免疫反应、分离洗涤、信号检测等所有步骤集成在一个几平方厘米大小的芯片上，并且可以实现自动化完成。试剂一般以预封的形式保存在芯片或配套的试剂卡里，使用者只需加入样品就可以开始检测，操作极为简便。结合智能手机作为数据处理和显示终端，还可以进一步研究出更轻便、低成本的检测设备。便携式化学发光检测仪可以在农产品生产基地、食品生产加工车间、食品流通市场、基层执法单位等场所进行现场快速筛查，对可疑食品进行即时检测，快速反应，把食品安全的第一道防线向前推进。

第四节 荧光免疫检测新技术

荧光免疫法把荧光分析的高灵敏度和免疫分析的高特异性结合起来，在食品安全方面起着举足轻重的作用。近些年来，伴随着新型荧光标记物以及检测手段的不断出现，这项技术正朝着更快、更灵敏、更稳定的方向发展，以满足日益严格的食品安全监管要求以及消费者的期望。



一、时间分辨荧光免疫分析

时间分辨荧光免疫分析是利用信号荧光与背景荧光在时间上的差异,实现高信噪比的一种新的分析方法。其主要采用具有长寿命荧光的特殊标记物,使检测灵敏度和可靠性大大提高,在痕量物质检测方面有很好的效果。

(一) 镧系元素螯合物标记

时间分辨荧光免疫分析技术所依赖的标记物选择,镧系元素螯合物是具有非常代表性的一类。镧系元素如铈、铽、钐、镝等,离子本身的荧光量子产率极低,不能直接用作标记物。但是当它们与某些有机配体形成稳定的螯合物时,就可以制备出性能良好的荧光探针。在这个特殊结构中,有机配体好比一个“天线”,可以很好地吸收激发光能量,然后经过分子内部能量的传递过程,把能量准确无误地传给中心的镧系离子,使镧系离子发出强烈的发光。

天线效应克服了镧系离子摩尔吸光系数低的固有缺点,荧光强度可以放大数百万倍。同时有机配体结构经过精心设计,可保证螯合物具有较好的稳定性、水溶性和生物相容性,从而保证其能够稳定地作为标记物与抗体或者抗原结合。形成的螯合物荧光强度非常高,其激发光谱和发射光谱是由配体和中心离子共同决定的,为后面的检测提供了一种特殊的信号特征。

(二) 斯托克斯位移与寿命分辨

时间分辨荧光免疫分析之所以能实现超灵敏,主要是由于它特有的信号分辨机制,具体表现为两个明显的特点:巨大的斯托克斯位移和超长的荧光寿命。斯托克斯位移就是荧光发射光谱的峰波长和激发光谱的峰波长的差值。此类螯合物的斯托克斯位移一般大于 200 纳米,铈螯合物在大约 340 纳米处被激发,在大约 615 纳米处发出红光。如此大的位移可以有效地减少激发光的散射给发射信号造成的干扰,大大降低光学背景噪声。

镧系元素螯合物还有一个特性就是荧光寿命非常长。普通的有机荧光素加上生物样品里的各类杂质(蛋白质,色素之类),它们所形成的背景荧光,寿命都是纳秒级别。镧系元素螯合物的荧光寿命很长,可以达到几微秒到几毫秒,是背景荧光的几万倍。利用巨大的时间尺度差异,时间分辨荧光分析仪用脉冲光源来激发样品,在延迟了一段时间(通常几十到几百微秒)之后才开始采集信号。在这段时间内,寿命较短的背景荧光已经完全衰减殆尽,而寿命较长的镧系元素信

号仍然很强烈。该时间门控技术可以完全消除背景干扰，得到极高的信噪比和检测灵敏度，检测限可以达到皮克级乃至飞克级。时间分辨荧光免疫分析与传统荧光技术主要特性对比如表所示。

时间分辨荧光与传统荧光特性对比

特性	传统荧光 (有机荧光素 / 背景)	时间分辨荧光 (镧系螯合物)
荧光寿命	纳秒级 (10^{-9} 秒)	微秒至毫秒级 (10^{-6} - 10^{-3} 秒)
斯托克斯位移	通常较小	巨大 (一般 > 200 纳米)
背景干扰	易受生物基质自发荧光干扰	通过时间门控技术有效消除
信噪比	较低	极高
检测灵敏度	相对较低	极高 (皮克级甚至飞克级)

（三）在残留物检测中的应用

凭借灵敏度高、特异性较高的特点，时间分辨荧光免疫分析在食品中多种微量、痕量有害物质残留检测中得到了广泛的应用，成为法定检测方法有力的补充、高效快速的筛查手段。在兽药残留检测上可以检测出畜禽产品中的瘦肉精（克伦特罗、沙丁胺醇）、磺胺类药物、喹诺酮类抗生素等。这些物质在动物体内残留量很低，常规方法很难快速检测，时间分辨荧光免疫分析可以满足低检测限的要求。

真菌毒素污染监控方面，时间分辨荧光免疫分析也非常好。以谷物、坚果、乳制品中黄曲霉毒素 B1 的检测为例，可检测出比国家标准限量更低的含量。针对有机磷类、菊酯类农药的快速筛查以及生物毒素如河豚毒素、贝类毒素的检测等，已经开发出了相应的基于时间分辨荧光免疫分析的检测试剂盒和方法。高通量加上自动化设备的利用，可对大量样品进行快速、准确的检测，给食品安全风险的预警和源头控制提供强有力的技术保障。

二、荧光偏振免疫分析

荧光偏振免疫分析是利用分子旋转运动与荧光偏振之间的相关性，发展起来的一种均相免疫分析方法。不需要分离洗涤步骤，操作简单快速，特别适合于食品中分子量较小的污染物的现场或者高通量的筛选,对食品安全起到重要的作用。

（一）基本原理与特点

荧光偏振免疫分析的基本原理就是利用荧光分子发出的光具有偏振性，以此



来检测免疫反应过程。当一束偏振光照射到荧光分子上的时候，被吸收的光子使荧光分子跃迁到激发态。如果该荧光分子在荧光寿命期间发生旋转，那么它发出的荧光的偏振方向就与入射的偏振光方向不一样，即发生所谓“去偏振”的现象。分子的旋转速度同分子的大小和溶液的粘度有关系。小分子在介质中旋转快，去偏振效应明显，测得的荧光偏振度低；大分子在介质中旋转慢，去偏振效应小，测得的荧光偏振度高。分子大小对于荧光偏振特性的影响见下表。

分子大小与荧光偏振特性对比

分子大小	旋转速度	去偏振效应	荧光偏振值
小分子	快	明显	低
大分子	慢	小	高

在典型的竞争性荧光偏振免疫分析中，用小分子荧光标记物来标记目标分析物或它的类似物。在没有待测物时，小分子标记物与过量的特异性抗体结合形成大分子量的复合物。由于复合物转动慢，所以荧光偏振度很高。当样品中含有待测目标物时，待测目标物会与标记物竞争性地与抗体结合。待测物浓度越大，被置换出的游离标记物就越多。游离标记物分子小、转动快，使整个体系的荧光偏振度下降。通过测量荧光偏振度的变化来准确测定样品中待测物的含量。该技术主要特点有均相、速度快、灵敏度高、仪器结构简单。

（二）均相快速检测优势

荧光偏振免疫分析最突出的优点就是均相检测模式，这也是实现快速分析的重要因素。所谓均相就是整个免疫反应和信号检测都在一个液相中进行，不用像传统的免疫分析那样，费时费力地进行分离、洗涤。在酶联免疫吸附分析等非均相法中，必须经过多次洗涤以去除未结合的标记物来消除背景信号，这会增加检测时间，也容易造成操作误差。

荧光偏振免疫分析很好地解决了这个问题。因为信号（荧光偏振度）直接反映了标记物结合和游离的比例，体系中未结合的荧光标记物不会对结果产生干扰，它本身的存在就是信号变化得以实现的基础。免洗带来了以下几点优点：

1. 操作简单：只需要把样品、荧光标记物、抗体按顺序加入混合后进行短暂孵育就可以得出结果，使实验流程更简化。
2. 检测速度快：整个分析过程通常只需要几分钟到十几分钟，非常适合需要即时结果的场合，如现场快速筛查。

3. 易于自动化, 其简单的流程可以很容易地和自动化移液工作站、微孔板读数仪相结合, 从而实现高通量筛选, 在短时间内处理成百上千份样品。

(三) 在小分子污染物检测中的应用

按照荧光偏振免疫分析的基本原理来看, 该技术比较适合用于小分子物质的检测。因为只有当标记物(小分子)与抗体(大分子)结合或者解离时, 体系分子体积才会发生明显的相对变化, 从而引起荧光偏振度发生明显变化。食品安全领域内很多重要的风险物质, 兽药残留、真菌毒素、农药、非法添加物等, 都是小分子化合物, 因此荧光偏振免疫分析在该领域有广阔的应用前景。

已成功应用于许多种小分子污染物的定量分析。真菌毒素检测上已建立玉米赤霉烯酮、呕吐毒素和赭曲霉毒素 A 的检测方法。并且可以检验出氯霉素、磺胺类药物、 β 受体激动剂等兽药残留。三聚氰胺事件引发社会的广泛关注之后, 荧光偏振免疫分析迅速开发出乳制品中三聚氰胺的快速筛选方法。由于其速度快、通量大, 该技术被广泛运用于食品进出口检验、食品生产过程的质量控制、市场流通环节日常抽检等环节的初筛工作, 能够迅速找到疑似样品, 再用色谱质谱联用等验证方法来进行进一步确认。

三、上转换发光免疫分析

上转换发光免疫分析属于新型荧光免疫技术, 用具有上转换发光特性的纳米材料作标记物。由于该技术具有近红外激发、可见光发射、反斯托克斯位移的特点, 可以很好地克服生物基质自发荧光的干扰, 为复杂样品中痕量物质的超灵敏检测提供了一种新的方法。

(一) 上转换纳米材料特性

上转换发光指的是材料吸收两个或两个以上低能量的光子之后, 经过能量的积累和传递, 会发出一个高能量的光子, 这属于一种典型的反斯托克斯发光现象。免疫分析中常用的上转换纳米材料大多是以氟化钇钠为基质、掺杂稀土离子的无机纳米晶体。在晶格中一般共掺杂两种稀土离子, 一种是敏化剂(镱离子), 另一种是激活剂(铒离子、铥离子)。

这些纳米材料有许多优良的性能。敏化剂镱离子在近红外区(980 纳米左右)有较大的吸收截面, 可以有效地吸收激发光能量。随后它通过连续的能量传递, 把能量传递给附近的激活剂铒离子或者铥离子, 使后者逐步跃迁到更高的激发能



级,最终以可见光或者紫外光的形式发射出来。上转换发光的背景信号非常低,因为自然界中几乎没有能被近红外光激发并发出上转换发光的物质。该类纳米材料具有光化学稳定性好、发光峰窄而尖锐、荧光寿命长、毒性小等优点。通过改变激活剂种类或者掺杂比例,可以准确控制发光的颜色,为多目标免疫分析打下了基础。

(二) 近红外激发优势

上转换发光免疫分析最大的优点就是独有的近红外光激发模式。传统的荧光分析技术大多使用紫外光或者可见光作为激发光源,但是食品样品的基质成分十分复杂,其中含有蛋白质、脂肪、叶绿素、核黄素等内源性物质,在紫外光或者可见光的照射下会产生强烈的自发荧光。自发荧光造成背景噪声很大,严重遮蔽了目标物的微弱信号,从而严重影响检测的灵敏度和准确度,一般需要复杂的样品前处理来清除基质干扰。

但是使用近红外光作激发光源,就可以避开这个难题。生物组织以及大部分的食品基质对于近红外光的吸收和散射都很小,处于所谓的生物光学窗口之内,所以不会产生自发荧光的干扰。激发光与可见光发射信号波长相差巨大,因此滤除激发杂散光变得非常容易。由于该技术具有零背景或者准零背景的特性,因此上转换发光技术具有非常高的信噪比。即使目标信号非常微弱,也能在几乎不受干扰的背景下被清楚地识别出来,从而达到前所未有的检测灵敏度。近红外光有很强的穿透能力,因此在对不透明或者有色的样品进行检测的时候,更具有优势。

(三) 在复杂基质检测中的应用前景

依靠近红外激发获得的超高信噪比和抗干扰特性,上转换发光免疫分析在复杂食品基质样品检测方面有广阔的应用前景,被认为是实现样品免处理或者简化处理后直接检测的一种未来技术。对传统方法难以测定的样品(全血、生鲜奶、植物组织匀浆、酱油、果汁等),采用上转换技术可直接测定,大大缩短了分析时间,降低了分析成本。

此项技术对于食品安全检测各方面都具有广阔的应用前景。病原微生物检测可以对沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7 等食源性致病菌做快速、灵敏的检测。兽药残留、真菌毒素检测,超高的灵敏度完全能满足最严的限量要求。尤其是通

过发射不同颜色光的上转换纳米粒子标记不同的抗体，可以简便地搭建多重检测平台，从而实现对同一份样品中多种目标物的同时检测，大大提高检测效率。随着上转换纳米材料合成技术的发展以及便携式检测设备的研发，这项技术有可能会由实验室走向食品的生产、加工、流通现场，给食品安全提供即时、准确、灵敏的“哨兵”监测能力。

第四章 生物传感快速检测技术

生物传感技术是现代食品安全检测的重要的支撑。它把生物识别元件和物理化学换能器巧妙地融合起来,要做到对有害物质进行快速、灵敏并具有特异性的检测,给保障从农田到餐桌的全过程食品安全赋予了前沿的技术支持。

第一节 电化学生物传感器

电化学生物传感器作为生物传感领域中发展最迅速、技术最成熟的一个分支,能够将生物识别事件(化学反应或者亲和作用)快速转化为容易测量的电信号。由于它具有高灵敏度、低成本和便携化的大好前景,在食品安全快速检测方面处于中心位置。

一、电化学生物传感器基本原理与分类

深刻认识电化学生物传感器的基本工作原理、多样的信号转换机制和核心部件的构成方式,是开发高效稳定的检测工具的前提,也是推动其在食品安全领域广泛应用和不断创新的基石。

(一) 电流型、电位型与阻抗型

电化学生物传感器按信号转换机制的不同可分为电流型、电位型和阻抗型三类。

电流型传感器在设定电位下,利用检测生物识别事件(如酶催化反应)引起的法拉第电流变化来定量分析,是目前研究最为成熟、应用最广的一类。其基本原理是待测物浓度与产生的电流信号成良好的比例关系,所以具有响应快、灵敏度高特点。

电位型传感器是通过检测生物识别元件与目标分析物结合之后,电极界面电位或者膜电位发生改变而实现传感的。此类传感器的工作电极一般处在零电流状况下,输出信号与待测物浓度的对数成正比,符合能斯特方程,常用于离子选择性电极和免疫传感器的研制当中。



阻抗型传感器是通过向生物识别层施加一个微小的正弦交流电压，测量生物识别层与待测物结合后电极界面阻抗的变化来完成检测。可以对分子间的相互作用进行实时无标记的监测，在细胞、蛋白质、核酸检测等领域具有独特优势。

各类电化学生物传感器的主要特点和应用场景，可参考下表：

电化学生物传感器类型比较表

类型	检测原理	信号输出特性	典型应用
电流型	在固定电位下检测法拉第电流变化	信号强度与待测物浓度成正比	酶传感器、葡萄糖传感器
电位型	检测电极界面电位或膜电位变化	信号强度与待测物浓度对数成正比（能斯特方程）	离子选择性电极、免疫传感器
阻抗型	检测电极界面阻抗变化	反映分子间相互作用，可实时、无标记	细胞、蛋白质、核酸检测

（二）生物识别元件的固定化方法

生物识别元件在电极表面的固定化，是制作高性能电化学生物传感器的重要环节，直接影响着传感器的灵敏度、稳定性、重现性、使用寿命。理想的固定化技术应该保证生物分子能牢固地附着在换能器表面上，不破坏生物分子的生物活性，并且不影响待测物自由扩散并与生物分子发生反应。

常用的固定化方法有物理吸附法、共价键合法、包埋法、交联法等。其中物理吸附法操作最简单，利用范德华力、氢键、静电作用把生物分子吸附在电极表面。但是它的结合力比较弱，容易受到环境 pH 值、离子强度等因素的影响而发生脱附。共价键合法把生物分子牢固地连接到经过处理、功能化的电极表面。此法结合力强、不易脱落，但是操作过程比较复杂，存在影响生物分子活性中心的潜在风险。

包埋法则利用高分子聚合物凝胶或者电聚合膜的三维网状结构，把生物识别分子包裹并限制在电极表面。该方法对生物分子的活性影响小，不易发生泄漏，但是存在一定的传质阻力，会减慢传感器的响应速度。交联法利用戊二醛等双功能试剂，使生物分子之间或者生物分子与惰性蛋白质（牛血清白蛋白）之间发生交联，形成一层多孔膜并固定在电极表面。为了进一步提高固定效率以及分子排列的有序性，研究者常常将几种固定化方法结合起来使用，以求得到最好的传感器性能。

（三）电极材料与修饰

电极作为电化学生物传感器的核心换能元件，电极材料的选择以及电极表面

的修饰技术直接关系到传感器灵敏度、选择性、信噪比、稳定性等性能的好坏。理想的电极材料应该具有良好的导电性、宽电位窗口、稳定的物理化学性质、良好的生物相容性、易于加工和修饰等特点。

传统的电极材料，金、铂等贵金属由于稳定的化学性质以及良好的导电性被广泛使用。近年来，碳基材料如玻碳、石墨、碳糊以及新兴的碳纳米管、石墨烯等因成本低、易表面功能化、电催化活性好而备受关注。丝网印刷技术的发展，使制作一致性好、可以大批量生产的一次性电极成为可能，极大地推动了电化学生物传感器的商业化进程。电极表面的修饰可以改善传感器的性能。在电极表面形成功能化界面后，有利于生物识别元件的定向固定，有助于提高电子传递速率，有助于提高检测信号，有助于降低非特异性吸附。采用普鲁士蓝、金属氧化物等作为电子媒介体，有利于酶促反应产物的氧化还原，降低反应电位，使检测灵敏度和抗干扰能力大幅度提高。

二、酶生物传感器及其应用

酶生物传感器的生物识别元件是酶，酶具有自身的高催化特异性以及高催化效率，所以在食品安全中酶发挥着不可替代的重要作用。它为多种目标物的快速检测提供了一个可靠的手段，从而保证消费者的健康。

（一）有机磷农药检测

有机磷农药是广泛使用的杀虫剂，在农产品中的残留会对人类健康造成严重的危害。酶生物传感器给这类化合物的快速现场检测提供了一条有效途径。该技术主要利用有机磷农药对乙酰胆碱酯酶或丁酰胆碱酯酶的不可逆抑制作用。正常情况下胆碱酯酶能催化底物乙酰硫代胆碱水解，产生具有电活性的产物硫代胆碱。

监测硫代胆碱在电极上氧化的电流信号可反映酶的活力。样品中含有有机磷农药时，酶的活性中心会被抑制，催化反应速率明显下降，造成电流信号变小。信号降低的程度同样品中有机磷农药含量成正比关系，从而实现农药残留的定量检测。

为了提高检测的灵敏度以及抗干扰能力，研究人员提出了很多增敏的方法。例如用石墨烯、金纳米粒子等纳米材料修饰电极，增大酶的固定量，加快电子转移速度；不断寻找对农药抑制作用更敏感的新酶源，或结合流动注射分析等技术提高传感器整体性能。



该类传感器由于响应速度快、成本低、体积小等优势，在农产品生产基地、流通市场、进出口检验检疫等现场快速检测中得到了广泛的应用，给食品安全提供了有力的技术保障。

（二）重金属检测

重金属污染是食品安全问题中不能忽视的一部分，重金属在生物体内富集会对人体健康造成长期、严重的危害。以酶抑制原理为基础的生物传感器，给重金属离子的快速检测提供了一种新的思路。部分重金属离子（汞、铅、铜、镉等）能与酶蛋白的巯基或者其他活性基团发生结合，使酶的空间构象发生改变，从而抑制酶的催化作用。

根据该特性可以选用对某种重金属离子敏感的酶，如脲酶、葡萄糖氧化酶、碱性磷酸酶等来构建电化学生物传感器。检测时先测酶在无重金属离子时的正常催化电流，再加入含待测样品的溶液，重金属离子会抑制酶的活性，使电流信号降低。电流变化大小与重金属离子浓度有关，根据此可以建立定量分析方法。此法的好处是它把难以直接电化学检测的重金属离子，通过其影响酶活性，转化为容易测量的电信号。为了提高选择性、灵敏度，研究者采用基因工程改造酶的结构或者使用多种酶联反应体系，期望达到对某种重金属离子的特异性响应和信号放大。

（三）食品新鲜度检测

食品新鲜度属于评判食品品质及安全的综合指标。储存期间，动植物组织会有一连串的生物化学变化，进而形成一些可体现其新鲜程度的代谢产物。酶生物传感器可以特异性检测这些关键指标物，给食品新鲜度的客观、快速评价提供可能。

1. 鱼类和肉类的新鲜程度同蛋白质、核苷酸的降解程度有关。三磷酸腺苷会逐渐分解为一磷酸肌苷、肌苷、次黄嘌呤。次黄嘌呤的积聚被视作腐败的标志。通过在电极上固定黄嘌呤氧化酶，可以催化次黄嘌呤氧化产生电信号，定量检测次黄嘌呤氧化的含量，进而计算出 K 值等新鲜度指数。生物胺（组胺、尸胺等）是蛋白质腐败产生的产物，用相应的胺氧化酶构建传感器，也可以有效检测食品的腐败程度。

2. 基于特定代谢产物的酶传感器，比传统的感官评价或者复杂的理化分析方法更客观、高效。随着多酶体系和多电极阵列技术的发展，未来有望开发出可以

同时检测多个新鲜度指标的集成化传感器，给食品供应链提供更全面高效的质量控制手段。

第二节 光学生物传感器

光学生物传感器属于新型的分析仪器，把生物识别元件同光学换能器有机结合，经由检测光信号的改变来完成对目标分析物的高灵敏度检测。快速、无标记、高通量、抗电磁干扰等优势使其在食品安全快速检测方面有巨大的应用前景。

一、光学生物传感器原理与类型

光学生物传感器的核心就是把生物分子间特异性的识别事件（比如抗原和抗体、酶和底物、核酸分子之间的结合）转变成可以准确测量的光学信号（如光的强度、波长、相位或偏振态变化）。根据其换能原理的不同，主要分为表面等离子体共振、表面增强拉曼散射、荧光、化学发光等几种。

（一）表面等离子体共振传感器

表面等离子体共振传感器是一种基于物理光学现象的无标记实时检测技术。基本原理就是：当一束偏振光以一定的角度射到涂覆有金属薄膜（金或银）的棱镜表面时，就会激发出金属和介质界面上自由电子的集体振动，产生表面等离子体波。入射光的能量被吸收，反射光强度急剧降低，该入射角称为 SPR 角。这个角度对于金属表面介质折射率的变化非常敏感。

生物识别分子（抗体等）固定到金属薄膜上作传感器基底材料。样品流中含有目标分析物（蛋白质或者细菌），当它流过芯片表面的时候，分析物同识别分子结合之后，会使传感器芯片表面的质量增大，从而造成局部折射率发生变化。微小的折射率变化就会造成 SPR 角偏移。通过检测器来实时跟踪共振角度或者反射光强度的变化，可以动态观测生物分子之间结合、解离的过程，进而对分析物进行定性定量分析。

SPR 技术最显著的优点就是不需要对分析物进行标记，分子可以保持天然的生物活性，而且可以实时得到动力学和亲和力数据。SPR 传感器由于具有灵敏度高、特异性强、样品消耗少、自动化和高通量检测等优点，已成为分子相互作用研究、药物筛选、食品安全监测等方面的重要工具。



（二）表面增强拉曼散射传感器

表面增强拉曼散射是一种可以给出分子结构指纹信息的超灵敏度光谱分析技术。原理是以常规拉曼散射为基本。常规拉曼散射即光子与分子发生非弹性碰撞，使得散射光的频率发生改变。但由于信号强度非常弱，不能用来做痕量物质的检测。

SERS 技术利用待测分子吸附在贵金属（主要是金、银）纳米结构的粗糙表面或者纳米颗粒附近，使得拉曼散射信号被极大增强，增强因子可以达到 10^6 甚至更高。巨大的信号增强效应，是由于电磁增强和化学增强这两种机制共同起作用造成的。其中电磁增强是主要的贡献机制，当入射光激发金属纳米结构产生局域表面等离子体共振时，会在纳米颗粒间隙或者尖端形成强大的局域电磁场“热点”，从而极大地放大吸附在该区域分子的拉曼信号。化学增强是由金属和吸附分子之间的电荷转移而产生的共振态，从而引起一定程度的信号增强。

SERS 传感器的构建，取决于性能良好的 SERS 活性基底。随着纳米技术的发展，金纳米棒、银纳米溶胶、核壳结构纳米粒子等被用于制备高增强效果、高均匀性、高稳定的 SERS 基底。SERS 技术由于能够给出物质结构特异性的信息、非常高的灵敏度以及快速简便的检测过程，在化学、材料科学及生物医学分析等方面具有独特的优势。

（三）荧光与化学发光生物传感器

荧光生物传感器是利用荧光物质作为信号探针来进行检测的传感器。它的工作原理就是利用生物识别反应前后体系中荧光分子（荧光染料、量子点等）的荧光强度、波长、偏振或者寿命的变化。利用荧光共振能量转移效应，当识别分子与目标物结合时，供体和受体荧光基团距离发生变化，引起荧光信号的衰减或者恢复，从而实现目标物的定量检测。

化学发光生物传感器利用化学反应中产生的光子进行检测。在酶促反应或某种化学物质的催化下，反应物由激发态回到基态时以光子的形式释放能量，这就是化学发光。此类传感器把生物识别部分同化学发光反应体系融合起来，当目标分析物存在时，就会引发或者抑制某个化学发光反应，通过光电倍增管等设备检测发光强度，就能对被测物实施定量分析。化学发光分析具有灵敏度高、背景信号低、不需要外部激发光源等优点，所以被广泛地应用到痕量物质的检测中。

二、SPR 生物传感器在食品安全中的应用

SPR 生物传感器凭借无标记、实时监测和高灵敏度等优点，在食品安全领域的应用越来越广泛，可以对农兽药残留、食源性致病菌、生物毒素等多种危害物进行快速、准确的监测，给从农田到餐桌的全链条食品安全提供有力的技术保障。

（一）食源性致病菌快速检测

食源性致病菌是造成食源性疾病暴发的主要原因。但传统的培养法耗时太长，不能及时预警。SPR 生物传感器给致病菌的快速检测给予了有效的解决办法。在传感器芯片表面固定有针对沙门氏菌、大肠杆菌 O157: H7 等特定致病菌的特异性抗体或者适配体，当样品中含有目标细菌时，细菌会特异性的被捕获，传感器表面的质量就会增加，从而引起 SPR 信号的明显改变。

该方法可以对细菌进行快速识别和定量，检测时间可以缩短到数小时或数十分钟。研究表明，结合免疫磁珠分离等前处理技术，可以富集样品中目标菌，排除基质干扰，大大提高检测的灵敏度和特异性，检测限可以降低到 CFU/mL 以下。多通道 SPR 传感器系统的发展使同时检测多种致病菌成为可能，大大提高了筛查效率，对预防食源性疾病的发生有着重要的意义。

（二）抗生素残留检测

畜牧业中抗生素的滥用造成动物源性食品中抗生素残留越来越严重，对人类健康造成潜在的危害。SPR 生物传感器在检测小分子物质（如抗生素）方面也有很好的表现，一般采用竞争抑制免疫分析模式。由于小分子自身质量较小，直接结合产生的信号变化很小，因此竞争法用信号的反向变化来实现高灵敏度检测。其检测步骤大体上如下：

1. 将抗生素的人工抗原（如抗生素与牛血清白蛋白的偶联物）固定在传感器芯片表面。
2. 将含有未知浓度抗生素的样品与定量的特异性抗体预先混合孵育。
3. 随后将混合溶液注入 SPR 传感器中，样品中游离的抗生素会和芯片上固定的抗原竞争有限的抗体结合位点。

样品中抗生素浓度越大，与抗体结合越多，流经芯片时能和固定抗原结合的游离抗体就越少，因此产生的 SPR 信号变化就越小。反之样品中抗生素浓度越低，产生的 SPR 信号变化就越大。用信号变化与抗生素浓度建立标准曲线就可以准



确定量分析样品。如果使用信号放大策略，例如二抗或者纳米颗粒标记，可以将检测限再降低一些，达到或者低于欧盟等的最大残留限量。

（三）蛋白质相互作用研究

蛋白质之间相互作用是生命活动的基本形式。在食品科学领域研究蛋白质相互作用，对认识食物过敏原的致敏机理、生物毒素的靶向机制、酶的功能等都具有重要意义。SPR 技术被认为研究蛋白质相互作用的“金标准”，可以不使用标记物的情况下实时监测相互作用的过程，并且可以准确得到重要的动力学和亲和力参数。

食品安全领域中 SPR 技术可以用来研究食品过敏原蛋白和人体内 IgE 抗体的结合特性，也可以评价它的致敏能力。将过敏原蛋白固定到芯片上，注入患者的血清，可以实时观察结合和解离曲线，从而得到结合速率常数、解离速率常数、亲和力常数等一系列重要的动力学数据。这有益于说明过敏反应的分子机理，可以评价食品加工流程对过敏原活性的影响，给研制低致敏性食品赋予理论支撑。SPR 也被用来研究毒素蛋白和细胞表面受体的相互作用，从而阐明毒素的毒理机制。

SPR 传感器在食品安全中的应用概览可见下表。

SPR 传感器在食品安全中的应用概览

应用领域	具体目标	SPR 检测优势	示例
食源性致病菌	沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7 等	快速识别与定量，实时监测，高灵敏度	芯片固定特异性抗体 / 适配体，捕获细菌引起信号变化
抗生素残留	青霉素、磺胺类等小分子抗生素	竞争抑制免疫分析，高灵敏度检测痕量小分子	固定抗原竞争抗体，信号反向变化指示浓度
蛋白质相互作用	食物过敏原致敏机理，生物毒素靶向	无标记实时监测，获取动力学和亲和力参数	研究过敏原蛋白与 IgE 抗体结合，评估致敏性

三、SERS 生物传感器在食品安全中的应用

SERS 技术有着分子指纹识别的独特之处，并且检测灵敏度极高，这就给食品中痕量有害物质的快速筛查与准确量化供应了新的途径。尤其适合于用传统方法很难快速检测的小分子化合物，对食品安全具有很大的应用潜力。

（一）农药兽药残留超灵敏检测

农药和兽药残留为食品安全监管的核心内容。传统的色谱法虽然检测准确，但是前处理比较复杂，耗时较长。SERS 技术能够克服以上缺点，实现农残兽药的快速现场检测。每种药物分子都有自己独特的 SERS 指纹图谱，通过和标准谱图库比对可以快速实现对残留药物的定性分析。

为了达到超灵敏检测的目的，研究者提出了许多方法。其一就是设计高效的 SERS 基底，核壳纳米粒子或者三维阵列结构，产生更大的电磁场增强效应。另一种就是用功能化材料对目标分子进行高浓度富集。比如用磁性 SERS 基底，就能容易地从复杂的食品基质（如果汁，牛奶）里把目标农药分离并浓缩，去除背景干扰，把 SERS 检测的检测限降到 ppb 甚至更低。对于拉曼信号较弱的农药，还可以使用酶抑制或者适配体识别等间接检测方法，通过检测与农药浓度有关的报告分子的 SERS 信号变化来实现高灵敏度分析。

（二）生物毒素检测

生物毒素包括真菌在谷物上生长产生的霉菌毒素、细菌产生的毒素等，毒性极大，在极低的浓度下，对人体健康造成严重的危害。依靠 SERS 技术的超高灵敏度，它十分适合于痕量毒素的检测。在直接检测中，使用优化的 SERS 基底可以直接得到毒素分子的特征拉曼信号。

为了进一步提高检测的特异性与选择性，SERS 技术一般会 and 免疫分析技术结合起来使用。将特异性识别生物毒素的抗体或者适配体修饰到 SERS 基底上可以构建免疫 SERS 传感器。样品中的毒素分子被捕获到基底表面后，可以直接对毒素分子进行 SERS 信号检测，也可以采用夹心免疫分析法，加入带有拉曼报告分子的第二探针，通过检测报告分子的强 SERS 信号来间接检测毒素浓度。此种把生物识别特异性同 SERS 信号放大相融合的办法，明显改善了检测的灵敏度和可信度，给食品中生物毒素的早期警报供应了很强的技术支撑。

（三）非法添加物筛查

在食品中非法添加非食用物质或者滥用食品添加剂，属于严重的食品安全问题。乳制品中三聚氰胺、水产品中孔雀石绿、保健食品中西地那非等。SERS 技术对于快速检测这些非法添加物来说，有着非常广阔的应用前景。

这些非法添加物一般拉曼活性较强，会形成特征明显的 SERS 谱图。便携式拉曼光谱仪联合事先制备好的 SERS 基底（胶体金、试纸条等），检测人员现场



直接对样品进行快速检测,一般只需简单的提取或稀释,不需要复杂的前处理。少量液体样品可以滴在 SERS 试纸上,或者用 SERS 基底擦拭固体样品表面,即可在短时间内得到检测结果。样品进,结果出的检测方式大大提高了监管效率。建立常见的非法添加物 SERS 标准谱图库,再配合使用化学计量学算法,就可以实现未知样品的快速智能筛选和识别。

第三节 压电生物传感器

压电生物传感器属于先进的质量敏感型分析仪器,在食品安全快速检测方面有广阔的应用前景。它可以把微小的质量变化转变成可以精确测量的频率信号,实现对目标物高灵敏度、实时、无标记的检测,给现场快速筛查提供有力的技术支持。

一、压电生物传感器原理与特点

压电生物传感器的工作原理就是利用压电晶体的物理特性,把生物识别分子的特异性作用结合起来。通过监测晶体谐振频率的变化,就可以直接得到晶体表面发生的分子结合事件,从而构建高效的传感分析平台。

(一) 石英晶体微天平工作原理

石英晶体微天平的核心部分就是一片经过精密切割的 AT 切型石英晶片,其两侧面镀有金属电极。这块晶片有个特别的压电效应,给它加交变电场,晶体里就会产生高频机械振动,形成稳定的驻波。当交变电场的频率和晶体的固有谐振频率一致的时候,振动幅度最大,系统阻抗最小。该稳定的谐振状态对晶体表面上任何附加质量都很敏感,它的功能相当于可以称量纳克甚至皮克的“微型天平”。

石英晶体微天平的运行依靠一个精确的振荡电路,该电路不断地推动晶体在基频上振动并实时检测频率输出。晶体本身是振荡回路中重要的频率控制器件,其高品质因数使频率十分稳定、测量非常准确。传感应用时,晶体的一个电极表面会进行化学修饰,固定生物识别分子,比如抗体或者核酸探针,从而形成传感界面。待测样品流过这个界面的时候,目标分析物就会和识别分子产生特异性的结合,并且附着在晶体上,这就形成了整个传感过程的物理基础。

（二）质量敏感与频率响应

压电生物传感器的检测核心就是质量敏感性和频率响应的线性关系。根据 Sauerbrey 方程可知,如果给石英晶体谐振器表面加上一层薄而刚性的均匀物质,其谐振频率降低的数值与所附加的质量成正比。简单的关系式就是压电传感器进行质量测量的理论基础。频率微小的变化都能被精确地测量出来,因此该技术具有很高的质量分辨能力,可以检测出极低浓度的目标分析物。

实际食品样品检测中传感器一般工作于液相。液体的存在会给晶体振荡增加额外的负载,液体的黏度、密度等会使情况更为复杂。生物分子在液相中结合到晶体表面时,除了单纯的质的增加之外,所形成的生物膜层还可能具有黏弹性,从而造成能量耗散或者阻尼。这会使得频率变小,也会改变振荡品质因数。现代的压电传感器如耗散型石英晶体微天平 QCM-D 可以测量频率和耗散的变化。频率变化主要体现水合质量的增加,耗散变化可以给出结合层结构、构象以及刚度的信息。因此分析不再只是质量检测,而是深入到分子间相互作用动力学、生物膜物理性质的研究。多参数分析能力可以提高传感器信息的丰富程度,也可以提高检测的可靠度和准确性。

（三）实时、无标记检测优势

压电生物传感器最突出的优势之一就是可以实现对目标的实时、无标记检测。实时监测是指从待测样品与传感芯片接触的那一刻起,传感器就开始持续记录频率信号的变化,完整地表现出生物分子结合和解离的过程。研究者不仅可以得到反应终点的定量结果,还可以对反应动力学参数如结合速率常数、解离速率常数等进行分析。这对认识分子间相互作用的亲和力、特异性以及反应机理很有帮助,是传统终点法检测技术所不具备的。

无标记检测也是它的一个亮点。传统的免疫分析或者核酸分析方法,比如酶联免疫吸附测定、荧光定量聚合酶链式反应等,一般需要对目标分子或者探针分子进行荧光、同位素或者酶标记。增加实验的复杂性、成本、时间,标记物本身也可能改变分子的自然构象和生物活性,干扰正常作用,造成结果不准确。压电传感器直接测量分子结合引起的质量变化,完全省去了标记过程。不但简化了操作、缩短了检测时间,还能在接近生理真实的情况下做检测,获得更可靠、真实的生物分子间的相互作用数据。压电生物传感器在食品安全现场快速筛查、药物筛选、基础生命科学研究等方面有重要的应用价值。



二、压电免疫传感器及其应用

压电免疫传感器是利用抗原和抗体之间高度特异的免疫反应,以及压电晶体高灵敏度的质量检测特性而构成的。它用抗体或者抗原固定在晶体表面作为识别元件,可以快速、准确地捕捉食品中目标识别物,对多种危害物进行检测。

(一) 致病菌检测

食品中致病菌的快速识别、准确量度对于防止食源性疾病来说非常重要。压电免疫传感器为它提供了解决方案。检测原理是把单克隆或多克隆抗体固定在石英晶体传感器芯片表面上,这些抗体可以与特定的致病菌表面抗原特异性地结合。含有目标致病菌的样品溶液流过传感器表面的时候,细菌细胞通过表面抗原被固定在传感器表面的抗体特异性捕获。由于单个细菌细胞的质量较大,结合到传感器表面后频率会有较大的降低,因此可以对细菌进行直接检测。该方法已经被用于沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7、单核细胞增生李斯特菌、空肠弯曲菌等食源性致病菌的检测。

为了提高检测的灵敏度和选择性,研究者们提出了各种信号放大的方法。常见的一种策略就是采用三明治模式:细菌被表面抗体捕获之后再加入标记有酶或纳米颗粒的第二抗体,通过催化显色反应或者纳米颗粒的质量放大效应来加强信号。另一种有效的方法就是把磁性免疫分离技术融合进去。检测前,用包被有特异性抗体的磁珠从复杂的食品基质中预富集目标致病菌,洗去杂质后,再把富集的细菌-磁珠复合物引入压电传感器进行检测。一方面提高了检测的灵敏度,可以很好地克服食品基质的干扰,另一方面也大大缩短了检测时间,更适合现场快速检测。整个过程不需要培养细菌,一般在 1~2 小时内完成,比传统的微生物培养法要快得多。

(二) 病毒检测

食源性病毒,特别是诺如病毒、甲型肝炎病毒等,是造成大规模食源性疾病暴发的主要病原体,因此对它们的快速检测也成为食品安全监测的重点。压电免疫传感器在病毒检测中具有较好的应用前景。压电病毒免疫传感器的建立原理和细菌检测相似,都在晶体电极表面固定能特异性识别病毒衣壳蛋白的抗体。含有病毒颗粒的样品经过传感界面时,被捕获的病毒质量增加,谐振频率随之变化。由于病毒颗粒的尺寸和质量远远小于细菌,所以对传感器的灵敏度要求也更高。

尽管存在挑战,研究人员还是开发出了可以检测多种病毒的压电免疫传感器。通过改良抗体固定法、传感器表面的化学环境以及信号放大技术,使传感器的检测限不断降低。使用金纳米颗粒、量子点等纳米材料标记二抗,可以大大放大质量信号,使检测的灵敏度达到临床及环境监测所要求的水平。QCM-D 技术给病毒检测提供了新的方法。除了对质量变化进行监测之外,通过对耗散信号变化的分析,还可以获得病毒颗粒与抗体结合之后形成的复合物的结构信息,以此来区分特异性结合和非特异性吸附,从而提升检测的准确性。压电免疫传感器为水产品、即食果蔬等高风险食品中病毒的快速检测提供了一种有潜力的、可以替代传统分子生物学方法的快速分析手段。

（三）蛋白质与毒素检测

除了微生物以外,食品中蛋白质过敏原、各种生物毒素等也会给消费者健康造成严重的危害。压电免疫传感器可以高效地检测小分子或者大分子的毒素。分子量较大的葡萄球菌肠毒素、花生蛋白、乳蛋白等食品过敏原蛋白,可采用直接检测或者三明治夹心式免疫分析法。在传感器表面固定特异性的抗体直接捕获样品中目标蛋白,或者先捕获后结合标记抗体来放大信号,均可以达到灵敏检测的目的。该方法操作简单,反应快。

分子量非常小的目标物,如真菌毒素(黄曲霉毒素、赭曲霉毒素)、海洋生物毒素(贝类毒素)以及农药兽药残留等,它们直接与传感器表面结合后所导致的质量变化非常小,不能直接检测。小分子物质一般用竞争性免疫分析法测定,具体检测方法如下表所示。

蛋白质与毒素检测方法对比

检测目标类型	分子量特点	常用检测方法	传感器信号原理
蛋白质过敏原(如葡萄球菌肠毒素、花生蛋白)	较大分子量	直接检测法或三明治夹心免疫分析法	目标物直接结合,引起质量增加,频率下降
小分子毒素(如真菌毒素、海洋生物毒素、农药兽药残留)	极小分子量	竞争性免疫分析法	小分子与抗体竞争结合,抗体结合量与频率变化负相关

1. 在传感器芯片表面预先固定目标毒素的类似物或其蛋白质偶联物。
2. 检测时,将含有待测毒素的样品与定量的特异性抗体预先混合孵育。
3. 然后将混合液注入传感器。样品中的毒素会和芯片上固定的毒素类似物争夺有限的抗体。



样品中毒素浓度越高,与抗体结合的抗体就越少,传感器表面可结合的抗体数量就越少,引起的频率变化就越小。反之,样品中毒素浓度越低,结合到传感器表面的抗体就越多,频率变化就越大。根据频率的变化程度可以反推出样品中小分子毒素的含量。用竞争法策略把小分子检测转化成大分子(抗体)结合的测量,大大提高了检测灵敏度,可以满足食品安全法规对于多种毒素残留限量的要求。

三、压电基因传感器及其应用

压电基因传感器是把核酸分子杂交的特异性识别原理,与压电传感技术结合起来所形成的新型生物传感器。它把单链脱氧核糖核酸 DNA 探针固定在晶体上,让探针和样品里互补的核酸序列发生杂交反应,从而引起质量改变,以此来检测,给食品安全领域的基因层面分析赋予了一种快速又灵敏的新方法。

(一) 核酸杂交检测

压电基因传感器主要的检测机制是核酸分子杂交。工作过程一般是:把一段已知序列的单链脱氧核糖核酸 DNA 探针用化学方法固定在石英晶体的金电极上,形成传感器识别界面。将提取并变性的样品核酸溶液导入检测池中,让它流过传感器的表面。当样品中存在与探针序列互补的目标核酸链时,在适宜的温度和离子强度下就会发生特异性碱基配对,从而形成稳定的双螺旋结构,即发生杂交反应。

杂交过程把目标核酸链“捕获”到晶体表面,使传感器表面质量明显增大。根据 Sauerbrey 原理可知,质量增加会使得晶体谐振频率线性下降。通过对频率变化的监测,可以确定样品中是否存在目标基因序列,也可以通过频率变化的幅度和速率对目标核酸进行半定量或定量分析。与传统的标记核酸杂交技术(Southern blot 或者 Northern blot)相比,压电基因传感器不需要使用放射性同位素或者荧光标记,简化了实验步骤,降低了检测成本,而且能够提供实时的动力学信息。该技术被广泛用于食源性致病菌特定基因片段、病毒核酸和转基因成分的快速鉴定。

(二) 基因突变分析

基因突变分析,特别是单核苷酸多态性 SNP 检测,对区分致病菌耐药菌株、确定某种病毒亚型、监控转基因生物的遗传稳定性等都有着极其重要的作用。由

于压电基因传感器对表面质量和结构变化十分敏感,所以可以很快无标记地检测到基因突变。其原理是利用完全匹配的脱氧核糖核酸 DNA 双链与有单个碱基错配的脱氧核糖核酸 DNA 双链在热力学稳定性以及结构构象上的差别。

当固定的脱氧核糖核酸 DNA 探针和样品中的目标序列发生杂交时,如果完全互补就会形成一个结构规整、结合紧密的脱氧核糖核酸 DNA 双螺旋,从而产生明显的、稳定的频率降低。但是当目标序列中有 1 个或者更多的碱基错配的时候,在形成的双链结构上就会出现凸起或者扭结的情况,这样杂交效率以及热力学性质都会变差。不完全匹配的双链在相同条件下结合到传感器表面的量会更少,或结合得不牢固,有时可通过稍微提高温度或改变缓冲液条件使其解离。差异会直接反映在压电传感器的响应信号上,错配杂交通常表现为频率变化小或者耗散型石英晶体微天平 QCM-D 模式下能量耗散值高。通过控制杂交条件,仔细分析频率以及耗散信号的细微差别,研究人员可以较好地地区分目标序列中是否存在基因突变,给食品安全溯源和风险评估提供准确的分子诊断方法。

(三) 聚合酶链式反应产物的快速鉴定

聚合酶链式反应 PCR 技术可以高效扩增目标基因片段,但是其产物的进一步鉴定一般需要采用凝胶电泳等耗时较长的方法。把压电基因传感器与聚合酶链式反应 PCR 技术结合起来,可以实现对聚合酶链式反应 PCR 产物的快速、无标记、特异性鉴定,大大提高了整个基因分析流程的效率。聚合酶链式反应 PCR 继续使用来大量扩增样品中目标基因。反应结束后不需要进行凝胶电泳分离,只需要将聚合酶链式反应 PCR 产物溶液简单变性处理后,再引入已固定特异性探针的压电基因传感器上。

探针的序列和聚合酶链式反应 PCR 扩增产物内部某一段特异序列互补。如果聚合酶链式反应 PCR 可以成功扩增出预期的目标片段,那么变性后得到的单链产物就会与传感器上的探针杂交,导致频率降低,从而确认聚合酶链式反应 PCR 产物的身份。如果聚合酶链式反应 PCR 失败或者扩增出非特异性片段,那么就不会发生有效的杂交,传感器信号无明显变化。聚合酶链式反应 PCR 与 QCM 联用技术将聚合酶链式反应 PCR 的高扩增效率与 QCM 的快速、无标记检测优势结合在一起,在聚合酶链式反应 PCR 结束后几分钟内就能得到鉴定结果,大大缩短了传统方法一到两个小时的鉴定时间。更具前瞻性的研究方向就是发展集成化的微流控芯片系统,将微型聚合酶链式反应 PCR 反应器和压电传感器阵



列集成在同一块芯片上,实现从样品处理、基因扩增、产物检测全过程的自动化,构建真正的样品入、结果出的微型全分析系统,这对食品安全现场即时基因检测有革命性的突破。

第四节 微生物传感器技术进展

微生物传感器是新型生物分析装置,它具有独特的优点,在食品安全快速检测领域有广阔的应用前景。它把微生物的特异性识别能力同现代传感技术融合起来,可以对复杂的样品基质实施快速、灵敏、低成本的分析。本节将从微生物传感器的基本工作原理、关键技术、典型应用以及最新的发展状况入手,从而给微生物传感器在食品安全领域的应用提供理论上的参考。

一、微生物传感器基本原理与类型

微生物传感器是将微生物作为核心识别元件,和物理或者化学换能器紧密结合后构成的分析装置。当待测物质与微生物接触时,微生物的新陈代谢活动就会发生改变,这些变化通过换能器转换成可以测量的电、光等信号,从而实现了对目标物的定性或者定量检测。其核心就是利用微生物生命活动的专一性或者广谱性,以及信号转换的高效性。

(一) 呼吸活性型与代谢产物型

按照工作原理的不同,微生物传感器大致可以分为呼吸活性型和代谢产物型。呼吸活性型传感器通过微生物呼吸作用强度变化来检测。微生物接触到可以被其利用的底物时,呼吸作用增强,周围环境中的溶解氧浓度降低或二氧化碳浓度升高。检测这些气体浓度的变化就可以推测出待测物的含量。氧电极是常用的一种换能器,可以准确测量微生物的耗氧速率,在一定浓度范围内,该速率与待测有机污染物的浓度成正比。此类传感器反应快,使用方便,适合检测可以被微生物迅速降解的物质。

代谢产物型传感器专门检测微生物代谢特定底物时产生的化学物质,这些物质可以是酸、碱、醇、氨、各种离子甚至电子。由于某种底物分解后会产生相应的代谢产物,产物浓度与底物浓度成正比,因此可以利用这一点进行定量分析。比如用 pH 电极测发酵过程中产生的酸,或者用离子选择性电极测铵离子的生成。

此方法特异性较高，因为它是基于特定的代谢途径及其最终产物来进行的，可以对某一类或者某一种物质做更为准确的分析。

这两类传感器适用的场合及优点、缺点。呼吸活性型传感器一般底物谱较宽，适合测定生化需氧量等综合性指标，但是特异性较差。代谢产物型传感器由于检测对象明确所以选择性更好，但是可能会受到培养基中其它物质的干扰，响应时间也会比较长。随着对微生物代谢途径的了解，这二者的界限也变得越来越模糊，一些新型的传感器不仅可以检测到呼吸的变化，还能检测到产物的生成，即进行复合检测，这样可以提高检测的准确度。

（二）微生物固定化技术

微生物固定化是制备高性能、可重复使用微生物传感器的重要步骤。其目的就是微生物细胞限制或者固着在一定的空间范围内，同时保持微生物细胞的生物活性，从而提高传感器的操作稳定性，延长传感器的使用寿命，简化样品处理过程。理想的固定化技术应该保证微生物与待测物之间高效的物质交换，同时能保护微生物不受外界环境的突然变化（如 pH 值突然改变、有毒物质、机械剪切力等）所造成的损害。下表对各种常用的固定化方法进行比较。

常用微生物固定化方法对比表

固定化方法	原理	优点	缺点
包埋法	将微生物包裹于多孔凝胶或聚合物网络中，如海藻酸盐、琼脂糖等。	对细胞损伤小，能有效防止细胞流失，提供稳定的微环境。	传质阻力较大，可能影响传感器的响应速度和灵敏度。
物理吸附法	依靠范德华力、氢键或静电引力等将微生物吸附于载体表面。	操作简便，对细胞活性影响小，载体可再生。	结合力较弱，微生物容易从载体表面脱落，导致信号不稳定。
共价结合法	通过化学键将微生物的官能团与载体表面的活性基团相连接。	结合牢固，不易脱落，传感器稳定性好。	化学试剂可能对微生物活性造成不可逆的损伤。
交联法	利用双功能或多功能试剂在微生物细胞之间或细胞与载体间形成化学交联。	结合力强，固定化效率高，稳定性好。	试剂易引起细胞损伤，且可能产生较大的空间位阻。

从上表可知包埋法由于对细胞损伤小，所以使用较多，但是传质阻力大导致传感器响应慢。物理吸附法操作简单，但是微生物容易脱落。共价结合法和交联法结合牢固、稳定，但所用的化学试剂会对微生物的活性造成一定程度的损伤，因此使用时要慎重。



（三）信号转换方式

信号转换器属于微生物传感器的关键部件之一，它担当着把微生物生命活动所形成的生物学信号，转换成可以被仪器识别并加以处理的物理或者化学信号，比如电信号、光信号、热信号等等的任务。换能器性能的好坏直接影响传感器的灵敏度、响应速度和信噪比。根据信号转换原理的不同，可以分为以下几类：

1. 电化学转换属于应用最广的一类转换方式，具体可以分为电流型、电位型、电导型。电流型传感器通过测量微生物代谢过程中电子转移产生的电流变化来进行定量分析，例如氧电极便是通过检测耗氧量引起的电流变化来工作。电位型传感器是测量由于离子浓度的变化（如 H^+ ）所导致的电极电位的变化，场效应晶体管传感器也属于这一类，对于电荷的变化非常敏感。

2. 光学转换：通过微生物代谢活动引起的光学性质的变化，例如荧光、生物发光或者吸光度的变化来进行检测。一些发光细菌在有毒物质存在的时候，其发光强度会明显变弱，根据光强变化就可以评价样品的生物毒性。用荧光共振能量转移等先进的光学原理来制造灵敏的光学传感器。

3. 热学转换：微生物代谢反应一般伴随着热量的产生或者吸收。用高灵敏度热敏电阻可以测定反应体系中微小的温度变化，温度变化与待测物浓度有关。该方法通用性强，因为几乎所有生化反应都有热效应，但是灵敏度较低，容易受到环境温度波动的影响。

4. 其他方式，还有压电晶体传感器，通过微生物与基板结合所引起的质量变化，使晶体发生振荡频率变化来检测。声表面波传感器等也属于该类，给信号转换提供了更多样的选择。

二、微生物传感器在 BOD 与毒性检测中的应用

微生物传感器可以反映样品对生物系统的影响，在环境监测、食品安全等方面，主要用在生化需氧量、综合毒性检测等。与传统的化学分析相比，检测结果更快，也更接近生物学效应。

（一）水质 BOD 快速检测

生化需氧量是反映水体有机污染程度的综合指标。传统的 BOD₅ 法检测周期长，不能满足污染实时预警、快速监测的要求。微生物传感器为它提供了很好的解决办法，可以在数分钟到半小时内完成检测。BOD 微生物传感器一般采用能

够降解多种有机物的混合菌群或者优势菌株，并固定在氧电极表面。当含有机物的水样经过微生物膜的时候，微生物就会迅速分解这些有机物并且消耗溶解氧，造成氧电极输出电流减小。电流下降值在一定浓度范围内和水样的 BOD 值呈良好的线性关系。

从 1977 年 Karube 等人首次报道 BOD 微生物传感器以来，该技术已经取得了很大的进步。研究者利用筛选高效降解菌株，改良固定化材料（使用纳米材料增大比表面积）、改善传感器结构等办法来提高 BOD 传感器的稳定性、灵敏度和寿命。用磁性纳米颗粒来修饰微生物可以构成无膜传感器，大大降低传质阻力。目前基于微生物传感器的 BOD 快速测定法已经作为国家环保标准方法，多种商业化 BOD 快速分析仪也在环境监测站和企业排污口的在线监测中被使用。

（二）环境污染物毒性评价

环境中存在的重金属、农药、酚类化合物等有毒污染物，在极低的浓度下就会对生态系统和人类健康造成严重的危害。微生物传感器可以对污染物的综合生物毒性做快速的评估。有毒物质会抑制或者破坏微生物正常的代谢活动（如呼吸作用、发光等），使微生物的生理活性降低。根据活性改变的程度来监测，可以快速判断样品中是否有毒物质以及毒性有多强。利用发光细菌（费氏弧菌）等构建的毒性传感器应用最为普遍，接触到有毒物质时，生物发光就会受到抑制，发光强度的下降率与毒性大小成正比。

该种检测手段体现的是污染物对微生物的急性毒性影响，是综合性生物学指标。相比传统的单一化合物仪器分析，本方法可以更好地体现混合污染物的联合毒性效应（协同或者拮抗作用）。微生物电化学毒性传感器，检测毒物对微生物产电能力或者呼吸速率的影响，也可以用来对环境中的毒性物质进行快速预警。伴随着技术的发展，科研人员努力研究出可以识别不同毒害机理的传感网络，从而给环境污染风险评价和控制措施给予更为细致的数据支撑。

（三）食品急性毒性筛选

食品安全领域也存在对未知或者非目的有害物质快速筛查的难题。微生物传感器是理想的初筛工具，短时间内就可以判断食品样品提取液是否含有急性毒性。食品生产加工过程中会混入未知的化学污染物、生物毒素或者由于滥用添加剂而产生的有害物质。传统的检测方法多是对已知化合物的检测，对于未知风险识别能力比较弱。



利用微生物传感器进行毒性筛选的流程一般为：用经过适当前处理的食物样品提取液接触微生物传感器，观察微生物生理活性变化。活性降低严重的话就说明样品有潜在毒性，需要用色谱质谱联用等精密仪器进行定性和溯源。此法大大提高了检测效率，降低了检测成本，很适于大样本的快速初筛。可利用发光细菌传感器快速筛选水产品中的贝类毒素、蔬菜中农药残留的综合毒性或者检测乳制品中非法添加物。

此项技术还可以用来评价食品加工工艺（辐照、高温处理）以及新型包装材料的生物安全性。比较处理前后的样品毒性，可以给工艺优化、材料选择提供科学依据。微生物传感器虽然不如某些特异性传感器那样专一，但是作为一种广谱的“生物预警”系统，在构筑食品安全的第一道防线中起着不可替代的作用，是实现从“被动应对”到“主动预防”转变的重要技术手段。

三、新型微生物传感器的发展

合成生物学、基因工程、纳米材料、微电子技术等前沿学科飞速发展，微生物传感器技术也向着高灵敏度、强特异性、多功能、智能化的方向发展。一系列新型微生物传感器涌现出来，大大拓展了它们在食品安全等领域的应用范围，预示着更为广阔的发展前景。

（一）基因工程菌传感器

传统的微生物传感器大多使用自然筛选得到的菌株，特异性及灵敏度较低。基因工程菌传感器使用合成生物学等手段，对微生物进行目的性设计和改造，让微生物专一识别目标物并且产生可以检测的报告信号，极大地提高传感性能。其基本思想就是构建一个“感知-响应”基因线路：把能够和待测物（重金属离子、抗生素、毒素分子）发生相互作用的调控蛋白编码基因与能产生颜色、荧光或者生物发光等信号的报告基因（*lacZ*、*GFP*、*lux*）相连。当待测物存在时，它就会与调控蛋白结合，进而激活或者抑制下游报告基因的表达，通过检测信号的出现或者强度的变化，就可以实现对目标物的精准检测。

定制传感器具有非常高的设计自由度以及特异性。研究人员已经成功构建出可以检测环境中的砷、汞等重金属，以及食品中抗生素残留、塑化剂等众多污染物的基因工程菌传感器。这些传感器的检测限可以达到纳克甚至皮克级别，并且可以抵抗复杂的样品基质干扰。借助合成生物学的工具箱，可以构建起可以执行

“与”、“或”、“非”等逻辑运算的复杂基因回路，使得传感器可以识别多种污染物并且做出风险等级判断，给智能化检测打下基础。

基因工程菌传感器未来的发展方向是提高其在实际环境中稳定性，降低基因逃逸的生物安全风险（如建立自毁开关），开发出不需要精密仪器就可以现场判读的便携式检测装置。把工程菌同纸基芯片、微流控技术结合起来，也许能创造出适合资源匮乏地区和现场使用的廉价版、可视化食品快速检测产品，在保障全世界食品安全方面起着越发重要的作用。

（二）细胞传感器

细胞传感器把识别元件由微生物发展为酵母菌、藻类以及动物细胞这样的结构和功能更加复杂的真核细胞。真核细胞具有更完备的信号传导网络和应激反应机制，对外界刺激的反应模式更接近高等生物乃至人体生理病理过程，所以在毒理学评价和药物筛选等领域具有独特的优势。利用动物细胞构建的传感器可以直接评价食品污染物对细胞增殖、分化、凋亡等生命过程的影响，评价结果与动物实验更一致，可以更好地评价食品的健康风险。

酵母菌是模式真核生物，由于其遗传背景清楚、易培养、易操作，在细胞传感器的构建中得到了广泛的使用。利用基因工程改造，使它对环境激素、真菌毒素等某类污染物作出特定反应。动物细胞传感器对于细胞毒素（肉毒杆菌毒素、河豚毒素）有高灵敏度和强相关性，可以通过测量细胞形态变化、细胞阻抗或者特定生物标志物的释放来实现剧毒物质的快速检测。用完整的细胞做感应元件的传感器，近些年来在食品安全检测领域得到广泛关注。伴随单细胞分析、3D 细胞培养、器官芯片等技术的发展，细胞传感器也向着更加仿生、精确、高通量的方向发展，未来可能会在食品安全风险评估中给出更为接近人体的毒理学信息，从而降低对动物实验的依赖。

（三）微生物燃料电池传感器

微生物燃料电池是将有机物的化学能直接转化为电能的装置，以该原理为基础构建的 MFC 传感器是具有巨大潜力的一种新型自供能传感技术。基本工作模式为：阳极上，产电微生物分解样品中的有机底物，生成电子和质子；电子通过外电路流向阴极形成电流，电流的大小和微生物的代谢活性以及底物的浓度有关。自供能的特点使它适合用来构建不需要外部电源、可以长期在线工作的监测系统。



BOD 测定方面 MFC 传感器用有机物浓度和输出电流成比例的原理,可以实现对水体 BOD 的连续监测,具有宽的动态范围、好的稳定性、抗环境干扰的能力强。毒性检测中其原理相反,当有毒物质进入反应器之后,会抑制产电微生物的代谢活性,造成输出电流或者电压急剧下降,下降的程度可以用来表征样品的毒性水平。该传感器对广谱性毒物很敏感,并且反应迅速,可以用于突发污染事件的提前警报。

目前研究人员正从改进反应器构型、开发新型高效电极材料、筛选高产电菌株、调控阳极生物膜等几个方面着手,不断改善 MFC 传感器的灵敏度、响应速度、稳定性。MFC 技术与无线通讯、物联网技术相结合之后可以建立分布式、智能化的环境及食品安全监测网络。集污染物降解、能量产生和信号传感于一身的多功能技术,完全符合可持续发展的理念,在未来的智慧农业、食品加工废水处理及监控等众多领域有着广阔的应用前景。

第五章 光谱快速检测技术

光谱分析技术就是利用物质与电磁辐射相互作用时产生的吸收、发射或者散射光谱，来获取物质组成、结构以及含量信息的一种分析方法。具有快速、灵敏、信息丰富等显著优点的光谱分析技术，有广阔的应用前景和重大的应用价值，在食品安全快速检测中起着举足轻重的作用，成为保证人们食品安全的重要技术支撑。本章主要对光谱技术在食品快检中的最新应用进行研究。

第一节 近红外光谱分析技术

近红外光谱分析被称作是现代分析技术领域的巨人，由于自身独有的优势，在食品工业的品质控制以及安全保障当中起到了不可替代的重要作用。该技术一般不需要复杂的样品前处理，可以直接对固体、液体等各种状态的样品进行快速无损检测，大大缩短了分析时间、降低了检测成本，也给食品全产业链的实时监控打开了大门。

一、近红外光谱原理与特点

近红外光谱是分子振动光谱的重要组成，其光谱信息来自于分子中 C - H、O - H、N - H 等含氢基团振动的倍频和合频吸收。这些复杂多样的光谱数据就好比分子的“身份证”一样，蕴藏有物质组成的丰富信息以及结构上的信息，为物质的定性与定量分析奠定了扎实的基础。

（一）分子振动的倍频与合频吸收

近红外光谱的产生是由于分子的振动。当一束近红外光照射到样品上时，如果光的频率与分子中某个基团的振动频率呈整数倍关系（倍频），或者呈多个振动频率的组合关系（合频），分子就会吸收这部分能量，从基态能级跃迁到较高振动能级。由此产生的吸收光谱，其强度远小于中红外区基频吸收，但是这些微弱的信号，就是近红外光谱分析的基础。



食品中蛋白质、脂肪、水分、碳水化合物等主要的有机物都含有 C-H、O-H、N-H 等化学键，在近红外区都有其特征吸收。吸收峰带互相重叠，使谱峰变宽，重叠严重，不能像中红外光谱那样进行官能团归类。但是通过使用先进的化学计量学方法来进行深层次的数据挖掘，仍然可以从样品的化学组成以及物理性质中获得有价值的信息。

（二）信息丰富与无损检测优势

近红外光谱技术的核心优势是无损、快速。近红外光可以穿透样品一定的深度，得到样品内部整体信息而不仅仅是表面特征，这对于谷物、肉块等非均质样品来说尤其重要。检测过程不破坏样品，不需要化学试剂，避免样品的完整性被破坏以及化学污染，实现了真正的绿色分析。在整个分析过程中，样品扫描到数据处理只需要几十秒到几分钟的时间就可以完成，能很好地适应工业在线监测和现场快速检测对时效性的严格要求。

近红外光谱包含的信息非常丰富。一张看上去很简单的光谱图，实际上就是样品中含有许多成分信息的综合反映。通过一次扫描，就可以得到样品中水分、蛋白质、脂肪、纤维等多种化学成分的含量信息，真正做到了“一次扫描，多项结果”。多组分同时分析的能力使检测效率提高、综合成本降低，在食品生产过程控制、原料验收、成品检验等环节比传统化学分析方法有明显优势。

近红外光谱技术可以和光纤技术完美的结合在一起。利用便携的光纤探头就可以方便地进行大型、难以移动或密闭容器内样品的原位、远距离测量。极大地拓宽了其应用范围，从实验室的质量控制、生产线的实时监控到仓库里原料的贮存监测，近红外光谱技术都能大显身手，为食品质量安全保障提供灵活强大的技术手段。

（三）建模技术

原始的近红外光谱数据一般会存在谱峰严重重叠、基线漂移等状况，信息繁杂，不能直接用来进行定量分析。因此必须使用化学计量学的方法，建立光谱数据和待测组分浓度或者性质之间的数学关系模型。建模是近红外光谱分析技术的关键和核心，建模的好坏直接决定着预测结果是否准确、可靠。

建立稳定的、精确的校正模型要经过严格的步骤。收集大量的有代表性的样品，并使用国标或者行业标准的方法（如烘箱法测定水分、凯氏定氮法测定蛋白质）测定样品的化学值，这些化学值作为模型的“标准答案”。然后对上述样品

进行近红外光谱采集。利用化学计量学算法把光谱数据与相应的化学值进行关联，从而建立预测模型。常用的建模方法有：

1. 线性回归法：偏最小二乘法是近红外光谱分析中应用最广、最经典的一种建模算法。它可以很好地处理变量之间存在严重共线性的情形，即便是面对小样本、高维度的数据，它也能保持非常好的稳健性。主成分回归也是一种常用的线性方法。

2. 非线性回归法：光谱与待测组分浓度之间存在复杂的非线性关系时，需要使用非线性建模的方法。使用人工神经网络、支持向量机等机器学习算法可以更好地拟合复杂的系统，可以提高模型的预测精度。

模型建立之后不是一劳永逸的，需要经过严格的验证来判断其预测能力以及稳定性。一般会使用独立样本集来对模型做外验，用预测标准偏差、决定系数等指标来综合评价模型的性能。建立一个性能优良的校正模型，是近红外技术得以成功使用的必要保证也是根本前提。

二、近红外光谱在食品成分分析中的应用

近红外光谱作为一种高效的、普遍的过程分析技术，在食品行业被广泛地用来对常规组分进行快速的测定，从而实现食品质量的实时控制。其高效、方便的特点为生产工艺的改进、产品质量的一致性提供数据支持。

（一）水分、蛋白质、脂肪等常规成分

水分、蛋白质和脂肪是评价食品营养价值和加工品质最基本的指标。传统的化学分析方法虽然准确可靠，但是耗时长、操作复杂，不能满足现代化食品工业大规模、快节奏生产的要求。近红外光谱技术为该问题的解决提供了一个较好的途径，可在很短的时间内对这些主要组分同时进行定量分析。

乳制品行业对于该技术的应用就更加普遍。从原料奶收购、生产过程中对成分标准化的调整一直到最终产品奶粉、酸奶等的质量控制，近红外光谱都可以快速准确地测定脂肪、蛋白质、乳糖和总固形物。这就使生产商可以随时对生产过程进行监控，根据需要及时对配方做出调整，保证产品质量的稳定一致，并且可以优化原料的使用，降低生产成本。

近红外光谱在肉类加工中也起着非常重要的作用。可以快速测定鲜肉、肉糜、香肠等肉制品中脂肪、蛋白质及水分的含量，能立即给出配方标准及成本控制的



相关参考。烘焙食品、饮料、食用油等产业中，该技术也已经成为质量把控中不可缺少的一环，可以对原料以及成品中关键的成分指标进行快速检测。

近红外光谱技术的应用，一方面加快了检测速度，另一方面也促使食品工业质量管理模式发生改变。企业通过在线或者旁线分析，可以实现对企业生产过程的动态监控和数据化管理，由原来的对成品的抽样检验，变为对生产过程的主动控制，从而更有效地保证产品质量，提高企业的市场竞争力。

（二）谷物与油料品质分析

谷物、油料是人类主要的食物来源，品质的好坏影响食品加工的产出率以及最终产品的质量。近红外光谱技术在这块儿应用历史悠久，成绩斐然，许多国际组织把近红外光谱技术当作标准检测办法来采用。

在小麦、玉米、大米等粮食作物的收购、仓储、加工等环节，近红外光谱分析仪可以快速地评定出粮食的水分、蛋白质、淀粉、脂肪、灰分等品质指标。小麦的蛋白质含量决定它的加工用途，高蛋白小麦适合做面包，低蛋白小麦适合做糕点。收购时用近红外技术快速分级，有利于实现粮食的优价优购、专粮专用，充分发挥粮食的价值。面粉加工时，在线近红外分析可随时检测面粉各项指标，保证产品质量稳定。

近红外光谱技术对大豆、油菜籽、花生等油料作物的含油率、水分含量可以快速无损的测定，给油脂加工企业原料采购时快速定价提供科学依据，也为压榨工艺的优化提供数据支持。通过饼粕的残油率来实时监测，并及时对生产参数进行调整，可以提高出油率，减少能耗、降低生产成本。

（三）肉制品品质评价

消费者对于肉制品的偏好的形成，不单是由肉制品的营养成分所决定的，更多的是受到肉制品的嫩度、多汁性、色泽、风味等感官品质的影响。传统的感官评价方法主观性强，传统的物理化学方法不仅破坏性大，而且耗时较长。近红外光谱技术给客观、快速、无损地评价肉类品质提供了一种新的途径。

嫩度是评价肉品食用品质最重要的一个指标，影响消费者的购买意愿。研究表明，用近红外光谱技术可以和嫩度的物理指标（沃纳-布拉茨勒剪切力值）建立起较好的相关模型，从而实现牛肉、猪肉等肉品嫩度的快速预测。该技术使肉类加工企业在分割、加工前就能对原料肉进行嫩度分级，把不同嫩度的肉用在最合适的加工用途上，提高产品的附加值。

肉的持水力、颜色等也属于重要的品质指标。持水力影响肉在储藏和烹饪过程中重量损失以及多汁性，肉色是消费者判断肉品新鲜度的主要视觉标准。近红外光谱也可以预测这些指标，例如建立光谱和蒸煮损失率、滴水损失率、色差值之间的关联模型来快速评价肉品的保水性、颜色。用检测肉品中的挥发性盐基氮等化学指标的变化也可以评价其新鲜度。

三、近红外光谱在食品安全属性检测中的应用

随着食品安全问题越来越受到全世界的关注，近红外光谱技术由于具有快速检测的特点，其在食品安全风险监测领域的应用也日趋广泛。除了常规成分的检测以外，它在农药残留检验、掺假鉴别等食品安全敏感领域有特殊的应用价值。

（一）农药残留筛查

农药在农业生产中对防治病虫害、提高作物产量有着至关重要的作用，但是过量残留的农药会直接危害到人体健康。传统的色谱质谱联用等检测方法虽然准确，但是操作麻烦，费用高，不能满足大规模快速筛查的要求。近红外光谱属于一种高通量筛查手段，给农残监控带来新的思路。

使用近红外光谱技术对农药残留进行筛查的基本原理是，当农药分子附着或者渗入果蔬组织之后，农药分子的存在会引起样品整体光谱特征的微小变化。通过采集大量的已知农药浓度的样品近红外光谱，再用判别分析、定量建模等化学计量学方法来建立快速识别模型，可以用来判断未知样品中农药残留是否超标或者粗略估计农药残留量。

虽然近红外光谱对于低浓度农药的直接检测灵敏度不高，因为近红外光谱检测的是一个混合体系中多种物质的综合光谱信息，并不是直接检测农药分子。但是仍然有些情况，该技术还是有它独特的价值。可将其用于田间地头或者农产品批发市场，对大批量样品进行现场快速初筛，几分钟内就能完成检测，快速锁定高风险样品。之后只需要将这些可疑样品送到实验室进行精确定量，就形成了快速筛查、精准确证的双轨联动机制。提高了检测效率，并且使有限的检测资源可以集中处理有问题的样品。

（二）掺假鉴别与产地溯源

食品掺假、伪造属于商业欺诈行为，对消费者利益有损害，也对食品安全造成隐患。近红外光谱就像一面“照妖镜”，可以很快看出表里不一的伪劣产品。



同时，它有指纹图谱的特点，对农产品产地溯源也有一定的支持作用。

近红外光谱在鉴别掺假方面应用较多，在液态和粉状的高价值食品中应用效果较好，具体应用示例如下表所示。

近红外光谱在常见食品掺假鉴别中的应用示例表

食品类别	常见掺假物	检测原理
食用油 (橄榄油、芝麻油)	廉价植物油(菜籽油、大豆油)	不同油脂的脂肪酸组成差异导致光谱特征不同
乳制品 (牛奶、奶粉)	三聚氰胺、尿素、植物蛋白	掺假物改变了样品的整体化学成分，引起光谱变化
蜂蜜	廉价糖浆(大米糖浆、玉米糖浆)	不同糖源物质的光谱特征存在显著差异

上表为近红外光谱在食用油、乳制品和蜂蜜等常见食品掺假鉴别中应用。在价格昂贵的橄榄油、芝麻油里掺入便宜的菜籽油或大豆油，属于常见的掺假手法。由于不同的植物油的脂肪酸组成存在差异，这些细微的差别在近红外光谱上就会表现出来，使用纯正油品的光谱数据库和判别模型，就可以快速地识别出掺伪样品。同样，在牛奶或者奶粉中掺入三聚氰胺、尿素来虚增蛋白质含量，或者掺入植物蛋白、水解皮革蛋白等，在蜂蜜中掺入廉价糖浆，都可以利用近红外光谱技术进行快速筛查。

产地溯源对于食品安全和品质来说非常重要。同一品种的农产品由于生长环境(气候、土壤、水分等)不同，其内部化学组成会存在微小差别，这些差别形成了它特有的近红外“光谱指纹”。采集不同产区的真品样品，建立标准指纹图谱库和判别模型，就可以对未知来源的产品进行产地判定。该项技术已经应用于茶叶、大米、酒类、羊肉等产品的产地溯源中，并且成为地理标志产品保护的重要手段，有效地打击了假冒产品，保护了地方特色产业的发展。

(三) 转基因食品识别

转基因技术可以提高作物产量、改善作物抗逆性，但是转基因食品的安全性一直存在争议。因此对转基因产品进行有效的标识和检测，是保障消费者的知情权和选择权的必要之举。传统的基于基因或者蛋白质的检测方法，例如聚合酶链式反应和酶联免疫吸附测定，是该领域的金标准，但是操作复杂，不能满足现场快速检测的要求。近红外光谱技术给无损、快速筛查提供了一条新的途径。

转基因操作只是改变了生物体很小部分的基因片段，但是会引发一系列代谢

的连锁反应,使生物体内某些化学成分(蛋白质、脂肪、氨基酸、生物碱等)含量产生微小的改变。近红外光谱技术正是通过检测这种由基因改变所导致的宏观化学成分体系的综合变化,从而实现对转基因产品的间接识别。检测的不是外源基因或蛋白质本身,而是由转基因操作所引起的整个“生化效应”在光谱上的综合表现。近红外光谱技术与偏最小二乘判别分析等算法相结合,可以区分转基因大豆、玉米、油菜籽等作物和相应的非转基因亲本。

尽管此方法的准确率受到品种、年份、生长环境等多种因素的影响,但是作为一种高通量的初步筛查手段,它可以迅速地将大量的样品分为“疑似转基因”和“非转基因”两大类,从而大幅度地减少后续精确检测的样本量,在进出口口岸、粮食收储等需要快速筛查大批量样品的地方具有非常大的应用价值。

第二节 拉曼光谱检测技术

拉曼光谱技术是非弹性散射光谱分析的一种,利用的是分子的振动和转动的信息。作为一种快速、无损、无需标记的检测方法,它在食品安全领域有广阔的应用前景,能对食品中的各种危害物进行准确识别、定量分析,从而提高食品安全监管水平、效率。

一、拉曼光谱原理与特点

拉曼光谱技术的核心是能够得到某些分子的振动信息,而这种信息就像是分子指纹一样,可以准确地辨识物质。该原理可以用来对复杂的体系做定性和定量分析。其对于水分子不敏感的特点,在检测含水食品样品时就具有天然的优势。

(一) 拉曼散射效应

拉曼光谱的基础就是拉曼散射效应。当单色激光照射到样品分子上的时候,大部分光子发生弹性碰撞,散射光的频率与入射光相同,这就是瑞利散射。但是有极小一部分光子(大约百万分之一)会与分子发生非弹性碰撞,在散射光的过程中与分子交换能量,使散射光的频率发生改变,这就是拉曼散射。

分子从光子那里得到能量,由基态跃迁到振动激发态,散射光子的能量随之减少,频率降低,这就是斯托克斯散射;相反,如果处于振动激发态的分子把能量传递给光子,然后回到基态,散射光子的能量就会增加,频率升高,这就是反



斯托克斯散射。入射光和散射光的频率之差称为拉曼位移。拉曼位移的大小只和分子本身的振动、转动能级有关，和入射光的频率无关。测量拉曼位移和强度就可以获得分子结构、组成等详细信息。

（二）分子指纹信息

每一个分子都是由原子通过化学键连接起来的，它的化学键类型、原子质量以及空间构型决定着分子特有的振动方式。振动模式对应着一系列不同的振动能级，所以分子发生拉曼散射时，拉曼位移也是独一无二的。这组由拉曼位移和相对强度构成的、代表分子内部所有振动模式信息的谱图，就是该分子的拉曼光谱。

正因为两种结构不同的分子具有完全不同的拉曼光谱，所以拉曼光谱才被称作分子的指纹。通过对待测样品的拉曼光谱与标准物质的光谱数据库进行比较，就可以对样品的化学组成进行快速准确的鉴定。拉曼光谱技术的根本依据就是它的指纹特性，使得它在区分结构相似的同分异构体、鉴定未知化合物时具有极高的特异性。

在一定的浓度范围内，拉曼光谱的谱峰强度与样品中这种物质的含量成正比。利用该关系建立标准曲线，对样品中的目标组分进行定量分析。混合体系中多组分在复杂食品基质中采用化学计量学方法（偏最小二乘法、主成分分析等）对光谱信息进行处理，可达到同时定性定量分析的目的，提高分析的准确度和可信度。

（三）水干扰小的优势

在食品安全检测中，很多分析方法都会受到样品中水分的严重干扰。以红外光谱技术为例，水分子中羟基的伸缩振动和弯曲振动会产生强烈的红外吸收峰，宽而强的吸收带很容易掩盖样品中目标分析物的特征信号，使检测的灵敏度和准确性大大降低。因此，红外光谱分析时，一般需要对样品做干燥或者萃取等前处理，耗时费力。

与之相比，拉曼光谱技术就具有很大的优势。水分子的拉曼散射截面很小，产生的信号非常微弱。这主要是因为拉曼散射的强度与分子振动时的极化率变化有关，而水分子的极化率变化很小。因此，在拉曼光谱中，水信号峰窄而弱，对样品其他组分信号的干扰很小。因此拉曼光谱技术可以对液体样品或者高含水量的食品（水果、蔬菜、肉类、乳制品等）进行原位、无损的检测，大大简化了样品前处理的过程，缩短了检测的时间，非常适合于现场快速筛查。

二、常规拉曼光谱与表面增强拉曼光谱技术

常规拉曼光谱虽然原理独特，但是由于信号弱，所以灵敏度低。因此就产生了克服上述困难的方法，表面增强拉曼光谱技术。它依靠贵金属纳米结构对拉曼信号的极大放大效果，极大地扩展了拉曼技术的使用领域，可以检测低浓度甚至是痕量的样品。

（一）常规拉曼光谱的局限性

常规拉曼光谱技术虽然有很多优点，但是应用中很大程度上受到两个固有的缺点的限制。首先受到限制的是拉曼散射效应本身就很微弱。拉曼散射是非弹性散射的一种，信号强度比瑞利散射弱 6 到 10 个数量级。这就意味着入射光子中能产生有效的拉曼信号的只有少数，因此造成该技术本征灵敏度低，一般只能检测浓度较高的主体成分。食品中普遍存在的痕量或者超痕量的危害物（农药残留、非法添加物等）检测限很难达到监管的要求。

荧光干扰会限制常规拉曼光谱的应用。很多天然或者人工合成的有机化合物，以及复杂食品基质中存在的色素、蛋白质、芳香族化合物等在激光激发下都会产生很强的荧光。荧光信号强度一般要比拉曼信号高几个数量级，荧光信号宽泛的谱带会完全覆盖微弱的拉曼特征峰，造成信噪比急剧下降，甚至无法获得有效的拉曼光谱信息。虽然可以采用不同波长的激发光（近红外激光）来部分消除荧光干扰，但是会进一步降低本已微弱的拉曼信号强度，并不能消除样品的所有荧光问题。

这两大局限，即由于信号微弱而产生的低灵敏度以及无处不在的荧光干扰，一起给常规拉曼光谱在食品安全痕量检测中应用造成了巨大难题。为了冲破瓶颈，研究者把目光投向了可以产生强信号增强的表面增强拉曼光谱技术。

（二）SERS 原理与基底制备

表面增强拉曼光谱是将待测分子吸附在某种金属纳米结构上，使待测分子的拉曼信号得到数百万倍甚至更多（可达 10^{14} 倍）的增强的一种分析方法。巨大的增强效应使拉曼光谱的灵敏度获得革命性的突破，甚至可以达到单分子水平的检测，完美解决了常规拉曼光谱灵敏度低的难题。SERS 现象的发现给拉曼光谱技术的应用打开了在痕量分析领域的使用大门。

SERS 技术的核心就是能够产生信号增强效应的纳米结构载体，也就是



SERS 基底。最常用且效果最好的 SERS 基底材料为金、银等贵金属的纳米颗粒或者纳米结构。基底的形貌、尺寸、材质以及纳米颗粒之间的距离等物理参数，直接影响到其增强效果的好坏以及稳定性。理想的 SERS 基底应具有高的增强因子、好的信号均匀性和重现性、易制备、成本低等特性。

SERS 基底的制备方法多种多样，主要可分为两大类：

1. 胶体法：是使用最多且最简便的方法之一，采用化学还原法在溶液中制备金溶胶或银溶胶。使用时只需将待测物溶液和胶体溶液混合，目标分子吸附到纳米颗粒表面就会产生 SERS 效应。该方法成本低、操作简便，但是胶体颗粒容易发生不可控的团聚，造成信号重现性差。

2. 固载基底法：用物理或者化学的方法将贵金属纳米结构固定到固体支撑物（如硅片、玻璃、石英、滤纸等）表面上。常用的有电子束光刻、纳米球刻蚀、化学镀、自组装等。固载基底具有结构规整、信号均匀性好、稳定性高、易于集成和商业化等优点，是当前 SERS 基底研究的热点方向。

近些年来，伴随着纳米科技的迅猛发展，新型 SERS 基底层出不穷，核壳结构、纳米棒、纳米星形、三维多孔结构等。这些研究都是通过精确控制基底的热点（即电磁场增强最厉害的区域）来获得更好的检测性能，并且对某些分析物实现选择性富集，从而进一步提高 SERS 技术在复杂样品分析中的实用性。

（三）SERS 增强机制

SERS 巨大的信号增强效果，目前普遍认为是由电磁场增强和化学增强两种机制共同作用引起的。这两大类在作用原理、作出的贡献和选择性方面存在差异，如下表所示。

SERS 增强机制对比表

特性	电磁场增强机制	化学增强机制
作用原理	局域表面等离子激元共振，产生巨大电磁场	分子与基底间发生电荷转移或化学键合
增强贡献	主要贡献者，可达 $10^6 \sim 10^{11}$	次要贡献者，通常为 $10^1 \sim 10^3$
作用距离	长程作用，随距离衰减	短程作用，仅限紧密吸附的第一层分子
选择性	无普适选择性，对“热点”附近分子均有效	具一定选择性，仅对发生特定作用的分子有效
基底要求	需具备能产生“热点”的纳米结构	需分子与金属表面存在化学相互作用

两种机制当中，电磁场增强机制被当作主要贡献者，它带来了大部分的信

号放大。电磁场增强是由于入射光激发贵金属纳米结构时，产生了局域表面等离子共振而导致的。当入射激光频率和金属纳米颗粒表面自由电子集体振荡频率相匹配时，就会发生强烈的共振吸收，在纳米颗粒表面以及颗粒之间的狭小缝隙（即“热点”）处产生比入射光强度高得多的高能电磁场。吸附在这些“热点”处的待测分子，其受到的激发光场强度被极大地提高了，而且分子发出的拉曼散射光也会被这个局域电磁场再次增强。理论上，电磁增强因子大约等于局域场增强因子的四次方，即使局域场只增强了 100 倍，最终的拉曼信号也会被放大一亿倍（ 10^8 ），这就是 SERS 可以获得巨大信号放大的根本原因。

化学增强属于短程作用，它的贡献比较小，一般认为它的增强系数在 10 到 1000 之间。吸附在金属表面的分子与金属基底之间产生化学反应，就是该机理。分子与金属表面形成化学键或者发生电荷转移的时候，就会形成“分子-金属”表面络合物。相互作用使分子的电子云分布和极化率张量发生变化，进而增大了拉曼散射截面。通过电荷转移共振，即入射光子能量正好能引发金属与分子间的电荷转移跃迁，也可以大大提高某些特定振动模式的拉曼信号。虽然化学增强小于电磁增强，但它给 SERS 赋予了一定的选择性，只有和基底有特定化学作用的分子才能得到这部分增强。

三、拉曼光谱在食品安全检测中的应用

利用高灵敏度、高特异性、快速简便等优点，尤其是表面增强拉曼光谱技术的广泛应用，拉曼光谱在食品安全快速检测中大放异彩。此技术可以很好地解决农兽药残留、非法添加物、致病微生物、生物毒素等众多危害物的检测问题，为“舌尖上的安全”提供有力的保障。

（一）农药兽药残留检测

农药、兽药不规范使用造成残留，一直是食品安全方面一直存在的问题。传统的色谱质谱联用技术虽然结果精确，但是设备昂贵、操作复杂、耗时长，不能满足大规模现场快速筛查的要求。SERS 技术由于具有超高灵敏度、快速响应等特点，成为检测痕量农兽药残留的最好方法。很多常见的农药，比如有机磷类的敌敌畏、马拉硫磷，氨基甲酸酯类的克百威，杀菌剂福美双、百菌清等，都已经实现了 SERS 快速检测。

检测流程一般比较简便。对于水果蔬菜表面的农药残留，可以直接用带有



SERS 基底（如金银溶胶）的棉签擦拭样品表面，进行擦拭检测；或者用少量有机溶剂对样品表面进行简单淋洗，收集淋洗液后滴加到 SERS 基底上进行测量。目标农药分子吸附到贵金属纳米颗粒表面之后，由于其特有的分子振动信息被 SERS 效应急剧放大，所以会产生特征性的拉曼信号。通过对谱图中特征峰位置、强度进行分析，数分钟内完成农药的定性鉴定及半定量或定量评估。

为了进一步提高检测性能，研究人员不断改进检测方案，制备出具有特异性识别功能的 SERS 基底。在纳米颗粒表面上修饰上能特异地捕获某个农药分子抗体的适配体，可以有效地降低食品基质中其它物质对检测的干扰，提高检测的选择性及准确性。便携式拉曼光谱仪和 SERS 技术相结合，正在把该技术从实验室推向田间地头、农贸市场、进出口岸，为农产品质量安全提供即时监控。

（二）非法添加物检测

食品生产加工过程中，一些不法商家为了降低成本或者改善产品的品相、口感，非法添加非食用物质或者超范围、超限量使用食品添加剂，如乳制品中添加三聚氰胺、辣椒制品中添加苏丹红、水产品中添加孔雀石绿等。这些非法添加物一般具有致癌性或者严重的健康风险。小分子化合物的现场快速检测可以由 SERS 技术实现。

三聚氰胺分子结构中含有三嗪环，具有很强的拉曼活性，在 SERS 基底上能产生非常显著的特征信号。研究表明，采用 SERS 技术测定液态奶或者奶粉中三聚氰胺时，检测限可以低至 ppb 级别，远低于国家标准限量，检测时间在数分钟之内。含有共轭生色基团的染料分子如苏丹红、孔雀石绿等都是理想 SERS 分析的对象。一般只需要对样品进行简单的萃取，将萃取液与 SERS 基底混合后即可快速得到结果，为监管部门提供了一种强有力的现场执法工具，有效打击了食品掺假行为。

（三）致病菌与生物毒素检测

食源性致病菌（沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7、李斯特菌等）和生物毒素（黄曲霉毒素、呕吐毒素等）都会引起食物中毒。传统的微生物培养和生化鉴定法要几天才能得出结果，不能满足快速预警的要求。SERS 技术给这些生物性危害的快速检测赋予了新想法。直接的方法就是用 SERS 技术获得致病菌细胞壁成分（肽聚糖、脂多糖、蛋白质等）的“指纹”光谱。不同种属甚至不同菌株的致病菌，其细胞壁的化学组成存在差异，因此它们的 SERS 光谱具有可区分性。将化学计

量学与机器学习算法相结合可以创建光谱数据库和识别模型,实现未知菌种的快速鉴定。

为了提高检测的特异性、灵敏度,研究者们开发了基于免疫反应或者核酸适配体识别的 SERS 检测方法。此类方法被统称为免疫 SERS 或者适配体 SERS 生物传感器。其主要思想是

1. 将特异性识别分子(抗体或者适配体)固定在 SERS 基底上,用来捕获样品中的目标致病菌或者毒素。

2. 同时,将具有强烈 SERS 信号的拉曼报告分子标记在另一种识别探针(如第二抗体)上。

当目标物存在时,它会和基底上的捕获探针以及带报告分子的识别探针相结合,从而形成“基底-目标物-报告分子”的三明治结构,这时便可以在基底上检测到来自报告分子的强烈 SERS 信号。信号的有无或者强弱直接反映了目标物的存在以及浓度,从而实现了目标物的超灵敏、高特异性检测。

利用间接检测方法将免疫或核酸识别的高特异性同 SERS 技术的高灵敏度结合起来,已经成功用于各种致病菌和真菌毒素的微量检测。用免疫 SERS 传感器检测谷物样品中的黄曲霉毒素 B1,检测限可以达到皮克(pg,即万亿分之一克)级别。

多重检测是 SERS 技术在生物分析领域里的主要发展方向。利用具有不同的 SERS 光谱特征的拉曼报告分子来标记不同的识别探针,就可以建立多重 SERS 传感器,在一次检测中同时识别和定量多种致病菌或者毒素。大大提高了检测效率,对解决复杂的复合型食品污染问题有重大的意义,SERS 技术在未来食品安全综合监测体系中将具有很大的发展潜力。

第三节 荧光光谱检测方法

荧光光谱分析法是利用物质吸收特定波长的光后发射出自身荧光的特性,来进行物质鉴定与含量测定的一种现代分析技术。由于该法灵敏度高、选择性好、适用浓度范围广、操作简便等优点,该方法在食品安全快速检测领域得到了广泛的应用和深入的研究,已经成为检测食品中痕量有害物质的一个重要技术。



一、荧光光谱基本原理与类型

荧光光谱技术的本质就是分子对特定能量光子的吸收以及再发射，而该过程与分子的电子能级结构密切相关。要掌握这项技术首先要了解分子荧光和磷光的区别，激发光谱和发射光谱的含义，荧光强度、量子产率这些基本概念。

（一）分子荧光与磷光

分子吸收光辐射以后，电子由基态跃迁到能量较高的激发单重态。处于激发态的电子非常不稳定，会迅速以多种途径回到基态。如果激发态电子以光子辐射的形式，直接从第一激发单重态的最低振动能级跃迁到基态的不同振动能级，发出的光就是分子荧光。这一过程发生得很快，一般在纳秒量级。

不是所有的分子吸收光能后都会产生荧光。分子的激发单重态电子也可以通过系间窜越进入激发三重态，再由激发三重态以辐射跃迁的方式回到基态，此时产生的光叫做磷光。由于从三重态到单重态的跃迁是禁戒跃迁，发生的概率比荧光过程小得多，所以磷光的寿命长很多，可以持续几微秒到几秒。分子荧光和磷光的主要区别，即电子跃迁路径、自旋多重性和发光持续时间等均不一样，具体的对比见表。两者共同构成分子发光光谱的基础。

分子荧光与磷光特性对比表

特性	分子荧光	分子磷光
电子跃迁	第一激发单重态 → 基态	第一激发三重态 → 基态
自旋多重性	保持不变（单重态 ↔ 单重态）	发生改变（三重态 → 单重态）
跃迁类型	允许跃迁	禁戒跃迁
发光寿命	极短（通常为 $10^{-9} \sim 10^{-7}$ 秒）	较长（通常为 $10^{-4} \sim 10$ 秒）
发生过程	吸收 → S1 → 荧光发射	吸收 → S1 → 系间窜越 → T1 → 磷光发射

（二）激发光谱与发射光谱

所有的荧光物质都具有两种特征光谱，即激发光谱和发射光谱，这两种光谱是荧光分析定性和定量分析的依据。激发光谱是固定的发射波长，改变激发光的波长而得到的荧光强度变化曲线。扫描激发波长，峰值对应的波长就是最大激发波长，表示物质在此波长下吸收能量的能力最强。

发射光谱也叫荧光光谱，是用最大激发波长或其他固定波长的光去激发样品，然后测量样品发射的荧光在不同波长下的强度分布。发射光谱的形状一般与激发光波长无关，但是强度和激发波长有关。发射光谱的波长总是比相应激发光谱的

波长要大一些，二者波长之差叫做斯托克斯位移。激发光谱和发射光谱就像是物质的指纹，给定性鉴定提供重要的依据。

（三）荧光强度与量子产率

荧光强度是表征荧光物质的荧光能力的。在低浓度下，它和荧光物质的浓度成正比，这就是荧光定量分析的理论基础。但是荧光强度与浓度有关，也与激发光源强度、物质的摩尔吸光系数、荧光量子产率等有关。溶液的 pH 值、温度、溶剂极性、共存物质等环境因素，都会对荧光物质的分子结构或者能量传递过程产生影响，进而引起荧光强度发生改变，甚至出现猝灭现象。

荧光量子产率，又称荧光效率，是物质发射的荧光光子数与吸收的激发光光子数之比，用来表征物质将吸收的光能转化为荧光辐射的能力。量子产率是介于 0-1 之间的值，量子产率越大，分子的荧光能力就越强，荧光信号也越强。量子产率的大小是由分子的化学结构和所处的化学环境共同决定的。任何可以加快荧光发射速率或者降低非辐射跃迁速率的因素，都可以增大量子产率和荧光强度。

二、荧光光谱在食品安全检测中的应用

依靠高灵敏度、高选择性，荧光光谱技术在食品安全方面发挥着越来越重要的作用。不管是天然生物毒素还是生产加工过程中引入的化学污染物，荧光光谱法都可以给出快速有效的筛查和定量检测方法，为“舌尖上的安全”提供技术支持。

（一）黄曲霉毒素等生物毒素检测

黄曲霉毒素是曲霉菌属真菌产生的次级代谢产物，有很强的毒性及致癌性，主要存在于玉米、花生、坚果等粮油食品中。荧光光谱法是检测黄曲霉毒素的常用且有效的方法，因为黄曲霉毒素分子本身就具有很强的天然荧光特性，在一定的波长紫外光激发下会发出特征荧光。

1. 直接荧光法：利用黄曲霉毒素 B1 在 360nm 附近有最大激发、在 440nm 附近有最大发射的荧光特性，通过测定样品提取液的荧光强度来完成定量。此法简单快速，但是易受样品基质中其他荧光物质的干扰。

2. 结合免疫层析技术，以提高选择性、抗干扰能力，常将荧光分析与免疫亲和层析技术相结合。样品提取液先经过含有黄曲霉毒素特异性抗体的免疫亲和柱，目标毒素被选择性捕获，洗去杂质后，再用洗脱液将其洗脱出来进行荧光检测。



此方法集免疫反应的专一性高、荧光检测的灵敏度高为特点,准确度高,是黄曲霉毒素检测中常用的一种确认方法。

3. 荧光增强或猝灭法,加入某种金属离子或者纳米材料,与黄曲霉毒素作用后使其荧光信号明显增强或者猝灭,从而建立新的定量分析方法。利用汞离子能够有效地抑制黄曲霉毒素 B1 荧光,开发出基于荧光被抑制原理的新方法。这些新的方法出现之后,又使荧光光谱法在复杂基质中毒素的检测上有了更宽的应用范围。

(二) 农药残留检测

农药在现代农业生产中对保证作物产量起着重要作用,但是农药的不合理使用造成的农产品残留问题,直接关系到消费者的健康。传统的色谱-质谱联用技术虽准确,但是前处理复杂、耗时长,不能满足现场快速筛查的要求。荧光光谱法因为快速、灵敏等特点在农药残留检测上有着广阔的应用前景。

许多农药分子本身不具有荧光或者荧光很弱,从而制约了直接荧光法的使用。因此研究人员提出了许多间接检测的方法。常用的一种方法基于酶抑制原理,有机磷和氨基甲酸酯类农药会抑制乙酰胆碱酯酶的活性,设计一种能够在该酶催化下产生荧光信号的探针,当农药存在时,酶活性被抑制,荧光信号减弱或者消失,从而达到农药的间接定量。

另外一种方法是使用荧光探针。设计合成能和特定的农药分子发生特异性反应,引起荧光信号变化的分子探针,就可以实现对目标农药的高选择性检测。近些年,由于纳米材料科学的发展,量子点、碳点、金纳米簇等新型荧光纳米材料被用来构建农药残留检测的荧光传感器。这些纳米探针有着良好的光学性质、极大的比表面积以及不错的生物相容性,可以大幅提升检测的灵敏度和稳定性。

对本身有荧光性的农药,多菌灵、百菌清等,可以直接用其内源荧光进行检测。利用化学计量的方法可以克服由于复杂样品基质造成的光谱重叠、背景干扰等问题,从而达到快速检测多种农药残留的目的。各种各样的基于不同原理的荧光检测法不断出现,极大地丰富了农药残留的快速检测方法。

(三) 多环芳烃检测

多环芳烃是由两个或者两个以上苯环组成的持久性有机污染物,广泛存在于环境中,主要来源于有机物的不完全燃烧。它们可以通过熏烤、烘焙等加工方式污染食品,也可以从被污染的环境(空气、水、土壤)中迁移到食品里。因为多

种多环芳烃化合物有强烈的致癌、致畸、致突变毒性，所以食品中的含量受到严格的控制。

荧光光谱法是检测多环芳烃的常用方法，因为大多数多环芳烃分子具有刚性平面结构和大的共轭体系，所以它们有很强的特征荧光。灵敏度比紫外吸收光谱法高 2 到 3 个数量级，适合痕量多环芳烃的分析。

单一组分多环芳烃测定比较简单，但是食品样品中往往是多种多环芳烃共存的复杂混合物，其荧光光谱容易发生严重重叠，直接定性定量会遇到困难。为了克服这一问题，研究者们常常会把荧光检测器和高液相色谱联用，即先用色谱柱把混合物中的各个组分分开，然后一个个地送到荧光检测器那里。通过设置程序化的激发波长和发射波长，可以对每一个洗脱组分进行高灵敏度、高选择性的检测，也是目前多环芳烃的常规检测方法之一。同步荧光光谱等新技术的应用，也给无需色谱分离、直接分析多环芳烃混合物提供可能。

三、荧光光谱新技术进展

为了克服传统荧光光谱分析复杂体系时出现的光谱重叠、背景干扰、信息维度单一的问题，出现了许多新的荧光光谱技术。同步荧光光谱、三维荧光光谱以及基于荧光猝灭机理的分析方法等，它们凭借革新扫描方式和数据处理手段，明显改善了荧光分析的选择性、灵敏度和信息维度。

（一）同步荧光光谱

同步荧光光谱技术是同时扫描激发单色器和发射单色器，并且保持两者的波长差（ $\Delta\lambda$ ）或者能量差不变的一种测量方法。与只扫描一个单色器的常规荧光光谱不同，同步扫描可以得到一种特殊的同步荧光光谱图。该技术最突出的优点就是可以简化光谱、窄化谱带，提高光谱的分辨率和选择性。

当混合物中各组分的激发和发射光谱重叠严重的时候，常规荧光法就无法区分了。选取合适的波长差 $\Delta\lambda$ ，将原来的宽谱带分解成几个尖锐的、分离良好的峰，从而实现对多组分的同时测定，而不需要事先化学分离。例如在食品中检测多环芳烃混合物时，同步荧光法优势更为明显，可以很好地区分结构相似的同系物。

同步荧光技术的优点之一就是能有效减少或者消除瑞利散射、拉曼散射光的干扰。对于稀溶液或者散射较强的样品来说，这一优点使得信噪比明显提高。该技术的应用范围从最初的环境分析发展到了食品科学、药物分析、生物医学等诸



多领域,成为分析复杂荧光体系的一种有力手段。

(二) 三维荧光光谱

三维荧光光谱又叫激发发射矩阵荧光光谱,可以全面捕捉样品的荧光信息。该技术会在宽波长范围内系统地改变激发波长,然后记录每个激发波长对应的整个发射光谱,最后把荧光强度表示成激发波长和发射波长的函数,形成三维立体图或者等高线图。图谱包含样品在所有激发发射波长对上荧光强度的信息,称为物质的荧光指纹,具有很高的特异性。

因为具有独特的荧光指纹特性,三维荧光光谱在食品品质鉴定、产地溯源和掺假检测等各方面具有很大优势。不同种类、等级或者加工工艺的食用油所含有的维生素、叶绿素、氧化产物等微量荧光物质的种类和含量都不同,因此它们的三维荧光光谱也存在差异,可以根据这些差异来建立快速鉴别模型。同样的技术已经用于酒类、茶叶、乳制品等食品品质的评价和真伪鉴别。

三维荧光光谱含有大量的数据,用肉眼观察很难完全分析出来。因此它通常要和强有力的化学计量学软件(如平行因子分析等)结合起来,从复杂的三维数据矩阵中提取出不同的荧光组分以及它们的浓度信息。不仅可以对未知混合物中荧光组分进行定性识别,还可以实现多组分的同时定量分析,大大扩展了荧光光谱分析的应用范围,使其成为食品科学研究中强有力的分析手段。

(三) 荧光猝灭法在重金属检测中的应用

荧光猝灭法是利用荧光强度的变化来分析的一种方法。荧光物质的荧光强度会因为与体系中某些物质(猝灭剂)发生物理或者化学作用而大大降低。在一定的范围下,荧光强度减弱和被测试剂浓度成定量关系,可以用来测定被测试剂的含量。重金属离子属于食品中一类重要的污染物质,具有明显的生物毒性。用重金属离子对某些荧光探针的淬灭效应来创建快速、灵敏的重金属检测的新方法。

实现重金属检测的关键就是选择或者设计合适的荧光探针。理想的探针自身应该具有很强且稳定的荧光,能够与目标重金属离子发生高效、专一的相互作用,导致荧光猝灭。近年来,伴随着材料科学的发展,量子点、碳点、金属有机框架和有机荧光染料等被大量开发成检测重金属的荧光探针。这些探针用配位、电子转移、能量转移等不同的机理和重金属离子发生作用,从而调控荧光信号。

例如某些荧光探针的荧光可以被铜离子、汞离子、铅离子等所淬灭,测量荧光强度下降值就可以得出样品中相应重金属离子的浓度。相比原子吸收光谱或者

电感耦合等离子体质谱这些传统办法, 荧光猝灭法仪器简单、成本低、操作方便、反应快, 特别适合现场的初步筛查和预警监测。用高选择性的荧光探针阵列, 也许可以做到对多种重金属离子同时区分检测, 这给食品安全快速检测开拓了广泛的应用前景。

第四节 紫外可见光谱应用

紫外可见分光光度法属于经典的色谱分析方法, 具备设备简单, 操作方便, 成本低, 快速分析等特点, 在食品快速检测中发挥着重要作用。可以对食品中各种有害物质进行现场筛查和实验室常规检测, 提供成熟的、可靠的方案。

一、紫外可见光谱基本原理

该技术的核心就是研究物质分子与某一波段电磁辐射的相互作用, 通过分析由此产生的光谱信息, 达到对物质进行定性和定量分析的目的。深入认识它的物理化学基础, 这是正确应用这一技术开展食品安全检测的先决条件。

(一) 电子跃迁与吸收光谱

紫外可见光谱法的理论依据是分子中的价电子能级跃迁。当一束连续的紫外或者可见光照射到物质分子上的时候, 分子的价电子就会选择性地吸收某些特定波长光子的能量, 从能量较低的基态轨道跃迁到能量较高的激发态轨道。参与跃迁的电子主要有三类, 分别是单键的 σ 电子、不饱和键的 π 电子和带孤对电子原子的 n 电子。跃迁所需要的能量越大, 所吸收的光波长就越短, 不同类型的电子跃迁对应着不同的波长范围的吸收。又如, $\pi \rightarrow \pi$ 跃迁和 $n \rightarrow \pi$ 跃迁所需能量较小, 其吸收峰一般在 200-800 纳米的紫外可见光区。

能引起紫外可见光吸收的特定官能团叫做发色团, 常见的有碳碳双键、羰基、偶氮基等。当发色团上连接有“助色团”(羟基、氨基、卤素等)时, 会改变发色团的吸收波长和吸收强度。将不同波长下的吸光度值对波长作图, 即可得到该物质的吸收光谱图。光谱图整体形状、最大吸收波长($\lambda_{\max}$)位置、吸收峰相对强度一起形成物质特有的光谱指纹, 为物质定性鉴定和结构分析提供重要依据。

(二) 朗伯-比尔定律

朗伯定律是紫外可见分光光度法定量分析的依据, 在一定条件下, 物质的吸



光度同它的浓度成正比。该定律的数学表达式为 $A=\epsilon bc$ ， A 为吸光度，是一个无量纲的物理量； ϵ 为摩尔吸光系数，代表物质对于某一波长光的吸收能力，是物质在一定波长和溶剂中的一种特征常数； b 为液层厚度，即光程，一般由比色皿的规格决定，单位为厘米； c 为吸光物质的摩尔浓度。这一定律说明，当入射光波长以及液层厚度不变的时候，物质的吸光度与其浓度成正比。

但是朗伯 - 比尔定律的成立是有一定前提的，本质上是稀溶液定律。当溶液浓度过高时，分子间的作用力增大，会使摩尔吸光系数发生变化，造成吸光度与浓度的线性关系出现偏差。溶液中发生的化学反应，比如溶质的解离、缔合、配位等，都会改变吸光物质的实际浓度或性质，造成偏离。仪器因素如杂散光、入射光的非单色性、样品本身的散射或者荧光现象都会对测量结果造成干扰。因此在实际使用中一定要控制测量条件，保证分析体系在线性范围内适用定律，才能得到准确的定量结果。

（三）定性与定量分析基础

根据紫外可见吸收光谱的特征可以对物质进行定性、定量分析。定性分析主要是将未知物与纯物质标准品的光谱图进行比较。具体的操作就是测定待测样品的紫外可见光谱，与标准物质的光谱图进行对比。如果两者吸收峰的形状、最大吸收波长的位置、各吸收峰之间的相对强度都一致，则可以初步判断待测物与标准品为同一种物质。虽然该方法直观，但是当食品基质较为复杂的时候，不同物质的光谱峰很容易发生重叠，致使该方法的专属性不强，因此一般仅用作初步鉴定或者辅助定性。

定量分析是紫外可见光谱最广泛应用的一个领域，核心就是用朗伯 - 比尔定律所描述的吸光度与浓度的正比关系。标准曲线法是应用最广的定量方法。该方法先配制一系列浓度已知的标准溶液，在最大吸收波长处分别测得吸光度，以吸光度为纵坐标、浓度为横坐标绘制标准曲线，理想的曲线应为通过原点的直线。在同样的条件下测定待测样品的吸光度，通过查阅标准曲线或者利用线性回归方程（ $A=kC+b$ ），就可以计算出待测样品中目标组分的浓度。该技术已经成熟，结果可靠，是目前食品安全检测中常用的紫外可见光谱定量方法之一。

二、紫外可见光谱法在食品安全检测中的应用

因为紫外可见光谱法具有快速、灵敏、成本低的特点，所以它在食品添加剂、

污染物和部分有害残留物的检测中起着非常重要的作用。直接测定或者通过化学衍生化反应间接测定，它都给公众的“舌尖上的安全”提供有效的技术支持。

（一）亚硝酸盐、二氧化硫等添加剂检测

很多食品添加剂自身结构中的发色团，或者可以与食品添加剂发生简单的化学反应生成有色物质，因此非常适合用紫外可见光谱法来检测。亚硝酸盐经常用作肉制品的护色剂和防腐剂，但是过量摄入会对人体健康造成潜在危害。检测一般用经典的盐酸萘乙二胺法，是一个典型的显色反应。原理是在酸性介质中，亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生重氮化反应生成重氮盐，重氮盐立即与 N-(1-萘基)乙二胺偶联，生成稳定的紫红色偶氮染料。染料在 540nm 处有很强的最大吸收峰，它的颜色深浅在一定范围内与亚硝酸盐含量成正比。通过测量吸光度就可以得到样品中亚硝酸盐的含量。该方法成熟、灵敏度高、重现性好，是国家标准检测方法。

二氧化硫及其亚硫酸盐为果蔬、葡萄酒等食品常用的漂白剂和防腐剂，残留量要受到严格控制。经典的盐酸副玫瑰苯胺法是其检测的法定方法。该法首先用蒸馏或者通氮气的方法将样品中的二氧化硫吹出，并用四氯汞钠溶液吸收，形成稳定的二氯亚硫酸盐汞络合物。然后加入甲醛和盐酸副玫瑰苯胺溶液，络合物中的亚硫酸根与试剂反应生成紫红色化合物。该化合物在 550 纳米处有特征吸收，测定其吸光度就可以对二氧化硫进行定量。虽然该方法操作步骤略显繁琐，但是准确度和灵敏度都很高，是法定仲裁检验的重要方法。下面给出几种常见的食品添加剂紫外可见光谱检测信息汇总表。

常见食品添加剂紫外可见光谱检测参数表

分析物	检测方法 / 原理	特征波长 ($\lambda_{\max}$)
亚硝酸盐	盐酸萘乙二胺法 (Griess 反应)	约 540 nm
二氧化硫	盐酸副玫瑰苯胺法	约 550 nm
苯甲酸	苯环紫外直接吸收	约 230 nm
山梨酸	共轭双键紫外直接吸收	约 250 nm

苯甲酸、山梨酸等防腐剂由于分子中含有苯环或共轭双键，在紫外区有特征吸收，可以直接测量紫外吸收光谱进行定量。苯甲酸和山梨酸分别在 230 纳米、250 纳米处有特征吸收。当样品基质比较简单时，经过提取净化后可以直接测定。直接测定法省去了繁琐的化学衍生过程，大大缩短了分析时间，体现了紫外可见光谱法快速筛查的巨大潜力。



（二）重金属检测

铅、镉、汞、铬等重金属污染是食品安全监控的项目。由于大多数金属离子本身在紫外可见光区无明显吸收或吸收不具特异性，因此难以直接检测。紫外可见光谱法测定重金属一般用间接法，加入特定的有机配位体（即显色剂），使它和目标金属离子发生络合反应，生成颜色鲜明、稳定的络合物。该类络合物在可见光区有特征吸收峰，吸光度与金属离子浓度成正比，巧妙地把对无色金属离子的分析转化为对有色络合物的测量。

选择适合的显色剂是这个方法的关键。理想的显色剂应该具备以下几点：1、对目标金属离子具有高选择性，能够最大程度减少共存离子的干扰；2、反应灵敏度高，能够和痕量金属离子形成摩尔吸光系数很大的有色络合物；3、生成的络合物颜色稳定，在测量时间内吸光度不发生明显变化。双硫腙为常用的显色剂，在一定的 pH 值下，与铅、锌、镉等金属离子生成不同颜色的络合物，用掩蔽剂控制反应条件，可对某一种金属离子进行选择性的测定。同样，若丹明 B 可以检测镉，二苯碳酰二肼可以高选择性地检测六价铬。这些方法的建立，使紫外可见光谱法成为重金属快速筛查和初步定量的一种经济、有效的手段。

（三）部分农药残留的快速筛查

食品中的农药残留会对消费者的身体健康造成直接的危害。紫外可见光谱法在农药残留检测中有两个主要的应用方向。一方面对于分子中含有苯环、共轭体系等发色团的农药，例如部分菊酯类、三嗪类除草剂，在紫外区有特征吸收。样品经过必要的提取、净化以减少基质干扰后，可以直接用样品的紫外吸收进行半定量或定量分析。此法速度快，操作简单，适合大量样品的初筛。

另一方面，对于应用广泛、毒性较高的有机磷和氨基甲酸酯类农药来说，它们自身虽然没有很强的紫外吸收，但是却有一个共同的生化毒理特性，即抑制乙酰胆碱酯酶的活性。根据以上原理发展起来的是酶抑制法。该方法的关键就是检测乙酰胆碱酯酶活性的变化。具体流程如下：将乙酰胆碱酯酶与底物（硫代乙酰胆碱）混合，酶催化底物水解生成硫代胆碱，硫代胆碱可以和显色剂（二硫代二硝基苯甲酸）反应，产生在 412nm 处有强吸收的黄色物质。如果样品中含有有机磷或者氨基甲酸酯类农药，这些农药会抑制酶的活性，使底物水解速率变慢，黄色物质的生成也变慢，表现为吸光度增加值变小。测量酶活性抑制率就可以间接反映样品中该类农药总量。该方法灵敏度高，操作方便，适合做现场快速筛查

方法，用来判断果蔬等农产品中此种农药是否超标。

三、紫外可见光谱法与其他技术联用

尽管紫外可见光谱法优点多，但是它选择性不强、易受复杂基质干扰的固有缺点也限制了它在一些领域的应用。为了克服上述缺点，将紫外可见光谱与分离技术、自动化技术以及数据处理技术相结合，已经成为提高分析性能、拓宽应用范围的重要发展方向。

（一）与流动注射分析联用

流动注射分析属于基于非平衡化学反应过程的自动化分析技术。核心是把微量样品注入连续流动的载体液中，样品带在管路中行进的过程中与接连注入的试剂流混合、反应，最后进入检测器。用紫外可见分光光度计做流动注射分析系统检测器，构成流动注射-紫外可见光谱联用系统，可以大大提高分析效率和自动化程度。

所有的湿化学步骤，即样品稀释、试剂添加、混合、温控和最终吸光度测量，都在封闭的管路中由仪器自动完成。高度程序化、可重复的操作可以减少人为误差，从而使得分析结果具有很高的精密度。对于亚硝酸盐、二氧化硫等要复杂的显色反应的项目，流动注射分析系统能精确控制反应时间、反应条件，整个分析过程由原来的几十分钟缩短为几分钟或者几十秒，真正实现了快速分析。该联用技术不仅可以提高样品处理的通量，还可以大大减少试剂的消耗和废液的产生，符合现代分析化学绿色化的趋势。

（二）与色谱技术联用

高效液相色谱是现在分离复杂混合物最有效的技术之一。将紫外可见光谱检测器和高效液相色谱仪联用，就是现代分析实验室里最经典、最有力的组合之一。在这个联用系统里，高效液相色谱按照各组分在固定相与流动相之间分配能力的不同，对食品样品里的复杂成分实施高效分离，紫外可见检测器就像是“眼睛”，它会在线对从色谱柱流出的每一个组分展开实时监测。

待测组分随流动相流出色谱柱进入检测器的流通池，如果此组分在所设检测波长下有吸收，则检测器会产生一个信号峰。峰的出现时间（即保留时间）可以用来定性，而峰的面积或者高度则和组分浓度成正比，可以用来定量。联用技术的核心优势是，高效液相色谱具有很强的分离能力，把原来的光谱重叠、互相干



扰的混合物分离成单一组分,从而极大地提高了分析的选择性、准确性。如果配备二极管阵列检测器,还可以得到每个组分在整个紫外可见波段的光谱数据,对物质进行定性确证和纯度判断提供了更多的数据,将紫外可见光谱法推向一个新的高度。

(三) 结合化学计量学提高选择性

由于食品基质的复杂性,即使样品经过简单的预处理后,目标物和背景干扰物的光谱信号也会严重重叠,因此传统的单波长定量方法很难奏效。采用化学计量学的方法给这一难题的解决提供了一条新的途径。化学计量学是利用数学、统计学、计算机科学的方法,从多维化学数据中提取有用信息的一门交叉学科。可以利用数学方法把互相重叠的光谱信号分开,从而实现混合体系中多种组分的同时测定。

当紫外可见光谱与化学计量学相结合的时候,分析就不再依靠单一的特征波长,而是使用全光谱信息,也就是在多个波长点测得的一系列吸光度数据。对一组已知浓度样品进行全光谱测量,采用偏最小二乘法、主成分回归等多元校正算法,建立光谱矩阵与浓度矩阵之间复杂关系的数学模型。该模型内含着背景干扰的信息,在预测未知样品的时候能够有效地把背景干扰去掉。

这种方法最大的优点是不需要物理分离,就能对复杂体系中的多组分同时进行定量分析,因此可以简化样品的前处理过程,缩短分析时间。全光谱扫描搭配偏最小二乘法,可以同时测定混合果汁里各种色素的含量,也可以快速分辨食用油的种类以及是否掺假。化学计量学把紫外可见光谱法由一种单通道分析手段,变成了一个强大的多通道信息获取平台,解决了复杂食品体系的快速无损检测问题,展现出前所未有的活力。

第六章 色谱快速检测技术

色谱技术，尤其是高效液相色谱等液相色谱族中的成员分离能力很强、应用广泛，它在食品安全检测中起到不可替代的作用。本章主要阐述色谱技术在食品安全快速检测中所用的基本原理，关键技术的进步，以及它的未来发展趋势。

第一节 高效液相色谱技术

高效液相色谱简称 HPLC，它是现代分离科学的基石。它利用高压输送系统把流动相推入装有固定相的色谱柱内，从而对复杂样品里的各个组分进行细致的分离和准确的量化。HPLC 因分离效果好、灵敏度高等特点而被广泛用来保证食品安全。

一、HPLC 基本原理与快速化策略

为了迎合不断上升的食品安全快速筛查和确证的需求，高效液相色谱技术一直都在革新之中，努力做到在维持良好分离效果的前提下，提高分析速度和效率。科研人员对色谱分离各个环节的深刻认识以及不断的改进，使得色谱分离越来越完善。

（一）分离原理与固定相、流动相

高效液相色谱分离的奥秘，是混合物中各组分在固定相与流动相之间存在着分配系数的差别。样品随流动相穿过色谱柱时，不同组分与两相相互作用力大小不同，使得各组分在柱内的迁移速度不同，就如赛跑一样先后到达终点，依次被分开。食品安全检测中应用最广的是反相色谱模式，固定相一般为非极性材料，流动相为极性溶剂。

固定相是色谱柱的灵魂，它的好坏直接决定着分离的选择性以及效率。目前最主流的反相固定相为十八烷基硅烷键合硅胶，俗称 C18 柱。它利用化学键合的方法，把非极性的十八烷基长链连在硅胶基质上，对于非极性到中等极性的化



合物有着很好的保留效果。C8、苯基等等不同键合相也提供了多样的选择性，可以满足不同分析物的分离需求。流动相一般是水与甲醇、乙腈等有机溶剂按一定比例配制的。通过改变有机溶剂的比例来改变流动相的极性（洗脱强度），从而改变化合物的保留时间，得到理想的分离效果。

分析人员根据样品的复杂程度来选择等度洗脱或者梯度洗脱。等度洗脱在分析的整个过程中保持流动相组成不变，适合组分较简单的样品。梯度洗脱是在分析过程中，按照预先设定的程序连续改变流动相的组成，一般是逐渐提高有机溶剂的比例来增强洗脱能力。可以有效地分离极性跨度大、组分复杂的样品，缩短分析时间、改善峰形，是实现快速分析的一种主要方式。

（二）超高效液相色谱技术

超高效液相色谱技术，简称 UHPLC，是高效液相色谱发展的又一个重要的里程碑。采用粒径小于 2 微米的色谱柱填料，UHPLC 在分离效率、分析速度、检测灵敏度方面都取得了质的飞跃。这项技术的关键就是填料颗粒越小，传质阻力就越小，色谱柱的柱效就越高，在很短的柱长上也能得到很好的分离度。但小粒径填料柱压急剧上升，必须使用能承受超高压（一般 1000bar 以上）的专用输液泵和进样器。

UHPLC 比传统 HPLC 的优势是全面的。分析速度明显提高，把传统方法下几十分钟的分析时间缩短到几分钟内，大大提高了检测通量。分离度提高明显，传统 HPLC 不能完全分离的复杂组分，UHPLC 可以有更好的峰形、更好的分辨率。另外由于色谱峰更窄、峰更高，所以检测灵敏度也随之提高。UHPLC 的技术特点，使 UHPLC 技术在食品中痕量、超痕量污染物的快速筛查和准确测定上有着不可比拟的优势，而与质谱等高灵敏度检测器联用的话，更具有优势。

（三）快速色谱柱与梯度洗脱优化

为了达到更快的分析速度，除了发展 UHPLC，开发新型快速色谱柱也成为了一个研究方向。其中核壳柱技术是近几年来新出现并受到人们普遍关注的技术。该色谱柱的填料颗粒与众不同，它有一个坚实的内核，外面包裹一层多孔活性层。相比于传统的全多孔颗粒，样品组分在多孔层内的传质路径更短，因此传质效率大大提高，色谱柱可以在较低的压力下，接近亚 2 微米全多孔颗粒所能达到的高柱效。这就说明在常规的 HPLC 系统上使用核壳柱可以实现更快的分析速度、更好的分离效果。不同的液相色谱技术的关键参数见下表。

不同液相色谱技术关键参数对比表

技术类型	填料粒径 (μm)	典型系统压力 (bar)	分析速度	分离效率
常规高效液相色谱	3 - 5	< 400	较慢	标准
超高效液相色谱	< 2	> 600 (可达 1000 以上)	极快	非常高
核壳柱技术	2.x - 5	< 600	快速	高

梯度洗脱可以提高分离效率。一个科学的梯度程序，可以在最短的时间内把所有的目标化合物分得清清楚楚。优化过程一般从一次快速的梯度扫描实验开始，大体上确定出洗脱目标物所需求的溶剂浓度范围。根据初步分离的结果来细微调节梯度的起始组成、梯度持续时间、梯度形状（例如线性梯度或者阶梯梯度）等参数。一个较好的梯度程序，既可以保证早期洗脱的色谱峰有足够高的分离度，又可以使强保留组分在一定时间内以尖锐的峰形被洗脱，从而在保证分离度的前提下，尽可能缩短分析时间。

二、HPLC 在食品残留物检测中的应用

高效液相色谱技术凭借着极强的分离能力以及广泛的适用范围，已经成为检测食品中各种化学性有害物残留的主要技术。无论是兽药、霉菌毒素还是食品添加剂，HPLC 都可以给出可靠的定性定量分析方案，给食品安全监管提供强有力的科技支撑。

（一）兽药残留多组分同时检测

兽药在畜牧业中不恰当使用，会使得动物性食品里残留兽药，给消费者的健康造成潜在的危害。高效液相色谱技术，尤其是与质谱联用的时候，可以实现对多种兽药残留的同时快速检测。兽药种类繁多、化学性质各异，分为抗生素（四环素类、磺胺类、喹诺酮类）、激素、驱虫药等。开发出能够同时分析多种药物的多残留检测方法就显得十分重要。

构建多组分兽药残留检测方法一般选用 C18 等反相色谱柱，并配用梯度洗脱程序。经过精心优化过的色谱条件，一次分析就可以分离几十种、甚至上百种的不同的兽药。这类多残留分析方法明显改善了检测效率，缩减了样品的检测时限，很适合大规模的筛查和监控任务。通过设置强极性和弱极性大范围的梯度变化，可以一次性检测出性质差别很大的药物，如水溶性较好的磺胺类药物和脂溶性较强的某些大环内酯类药物。



对于灵敏度要求非常高并且需要最终确证的场合,液相色谱-串联质谱法(简称 LC-MS/MS)是不二之选。该技术不仅可以给出化合物的保留时间信息,还可以给出化合物精确的分子量和碎片离子信息,从而实现对待测物的高特异性识别和高灵敏度定量,完全可以满足各国法规对兽药残留日益严格的限量要求。借助建立一个包含几百种兽药的数据库,实验室可在一次进样之后,对样品中所含有的多种兽药实施快速筛查并予以准确测定。

(二) 霉菌毒素检测

霉菌毒素是真菌在谷物、坚果、水果等农产品及其制品上生长代谢产生的有毒次级代谢产物,具有强烈的毒性及致癌性,常见的有黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、呕吐毒素等。由于它们在食品中含量很低(一般在微克/公斤级别),基质复杂,因此开发高灵敏度、高选择性的检测方法十分重要。高效液相色谱法是目前使用最多的霉菌毒素定量分析方法。

1. 根据待测霉菌毒素的化学特性来选择不同的检测策略。对于自身有天然荧光的霉菌毒素,如黄曲霉毒素 B₁、G₁ 等,可以选择荧光检测器,它的灵敏度和选择性都很高。对于没有荧光但是有紫外吸收的毒素,如呕吐毒素、玉米赤霉烯酮等,可以采用紫外检测器或者二极管阵列检测器。为了进一步提高检测灵敏度、选择性,有的时候还应对目标毒素进行柱前或柱后衍生化处理,将其转化成荧光强或者紫外吸收强。

2. 反相高效液相色谱是分离霉菌毒素的常用方法,一般用 C₁₈ 色谱柱,流动相为甲醇或乙腈与水的混合液。调节流动相比比例和酸碱度,可对多种霉菌毒素进行较好的分离。对含有羧基的赭曲霉毒素 A 进行分析时,在流动相中加入少量酸抑制其解离,从而得到对称的峰形和稳定的保留时间。将 HPLC 与免疫亲和柱等特异性净化技术联用,可以去除基质干扰,对痕量霉菌毒素进行准确测定。

(三) 食品添加剂检测

食品添加剂是现代食品工业不可缺少的部分,但超范围、超限量使用就会引起食品安全问题。高效液相色谱法可以用来检测食品中多种添加剂,例如防腐剂苯甲酸、山梨酸、甜味剂糖精钠、阿斯巴甜、安赛蜜以及合成色素等。该方法可以同时分离并定量化学性质相近的多种添加剂,具有快速和准确的优点。

检测防腐剂、甜味剂等极性较大的物质时,一般选择 C₁₈ 反相色谱柱,用含有缓冲盐(乙酸铵或磷酸盐)的流动相来调节 pH,从而得到良好的峰形和分

离度。用梯度洗脱，一次分析就可以在 20 分钟内把多种酸性防腐剂和离子型甜味剂有效分离并定量。此种多组分同步检测的方法大大简化了操作程序，提高了工作效率，在饮料、果酱、糕点等各种食品的添加剂常规检测中得到了广泛的应用。

三、HPLC 快速检测联用技术

为解决食品样品基质复杂、待测物浓度低、种类繁多的困难，将高效液相色谱和其他先进技术联用已经成了行业的主流。这既大大提高了检测的灵敏度和特异性，又大大加快了检测的自动化和快速化。

（一）HPLC-MS/MS 联用技术

高效液相色谱 - 串联质谱联用技术，简称 HPLC-MS/MS，是目前食品安全领域功能最强、结果最权威的定性定量分析方法。该技术把 HPLC 极佳的在线分离能力和串联质谱无与伦比的选择性、灵敏度完美地结合在一起。经过色谱柱分离后的组分依次进入质谱仪，在电喷雾离子源等部件的作用下转化为带电离子。这些离子随后进入串联的四极杆质量分析器，第一级四极杆 Q1 选择出一定质荷比的母离子，在碰撞室内用惰性气体撞击碎裂产生一系列特征碎片离子，第三级四极杆 Q3 选择性地通过特定的碎片离子检测。

使用监测特定的“母离子 - 碎片离子对”的模式，即多反应监测，具有很高的特异性，可以有效地排除复杂食品基质的干扰，即使在痕量水平上也可以对目标物进行准确的定性定量。此法几乎已经成了兽药残留、霉菌毒素、农药残留等领域法定确证分析的首选。其灵敏度非常高，可以达到皮克甚至飞克级别，可以应对法规中非常低的限量。随着仪器性能的不断提高，一次进样可以分析几百种化合物已经成为可能，这大大促进了高通量快速筛查技术的发展。

（二）HPLC-DAD 联用技术

高效液相色谱 - 二极管阵列检测器联用技术，简称 HPLC-DAD，是紫外 - 可见光检测技术的一个大进步。DAD 检测器与传统的单波长紫外检测器不同的是，化合物流出色谱柱的瞬间，DAD 检测器可以同时得到该化合物在整个波长范围（一般为 190-800 纳米）内的全部光谱信息。分析人员不仅可以获得每个色谱峰的保留时间，还可以得到该色谱峰完整的紫外 - 可见吸收光谱图。

这种时间 - 波长 - 吸光度的三维信息有诸多好处。使分析人员可以方便地选择最佳检测波长，从而得到最高的检测灵敏度。利用峰纯度检验的功能，可以判



断一个色谱峰是由几个不完全分离的组分叠加而成的,给方法开发以及结果可靠性评估提供了重要的参考。最核心的优势就是可以将实时测得的光谱图和标准品光谱库进行比对,从而实现对未知物的初步定性鉴定。虽然灵敏度不如质谱,但是 HPLC-DAD 由于具有很强的定性辅助作用、非常稳定耐用的特点以及比较低的成本,在食品添加剂、部分天然毒素以及药物的筛查和鉴定中,至今仍然广受欢迎。

(三) 在线样品前处理技术

传统的食品样品前处理步骤,比如液液萃取、固相萃取等,大部分还是依靠人工完成,费时费力,效率低且容易产生人为误差,常常成为整个分析过程的瓶颈。在线样品前处理技术把净化、富集等环节同 HPLC 分析系统直接结合起来,从开始的原始样品一直做到最后的数据输出都实现了自动化。其中,应用最广的是在线固相萃取。

在线固相萃取系统一般采用阀切换的方式,在 HPLC 系统的流路中接入一个小型的 SPE 柱。样品溶液注入系统之后先流过 SPE 柱,目标分析物吸附在柱上,大部分基质干扰物被直接冲洗掉。接下来就换用另外一个阀门改变流动相的走向,用强洗脱溶剂把 SPE 柱中富集的分析物反向冲下来,然后直接送进分析色谱柱里进行分离检测。全过程都是由软件控制的,样品净化、富集与色谱分析三者之间没有断开处。这项技术大大缩短了样品处理时间、减少了化学溶剂的消耗,提高了分析重现性及准确性,是实现高通量、自动化快速检测的重要发展方向。

第二节 气相色谱技术进展

气相色谱技术由于具备分离性能高、灵敏度高的优点,在食品安全检测方面占据十分重要的位置。本节主要对最新的技术发展进行详细的分析,主要集中在高通量、快速化的分析上,对食品安全监管提供强有力的技术支持。

一、气相色谱基本原理与快速化方法

气相色谱的基本原理决定它的应用范围以及分析效率。深入了解分离机制,探索快速化策略,对于提高食品安全检测水平,应对日趋严峻的挑战来说是至关重要的。

（一）分离原理与固定相选择

气相色谱的分离核心是利用混合物中各组分在两相间分配系数的不同。这两相分别是流动的载气（即移动相）和涂覆在色谱柱内壁或者填充在柱内的液体或者固体（即固定相）。待测物质随着载气进入色谱柱之后，就会根据自身的沸点、极性以及与固定相相互作用力的强弱，在两相之间不断地进行反复多次的分配。沸点低、作用于固定相的力小组分优先被载气带走，沸点高、作用于固定相的力大的组分更多保留下来，达到混合物的分离。

固定相的选择是气相色谱方法开发中非常关键的一环，它直接决定了分离的选择性。基本原则就是相似相溶，极性相近的组分和固定相之间会产生更强的相互作用力。非极性化合物的分离一般采用非极性固定相，如聚二甲基硅氧烷；对于极性化合物，应该选用中等极性或者强极性的固定相，如聚乙二醇、氰丙基聚硅氧烷。考虑到食品基质的多样复杂，待测农药残留或者污染物的极性相差很大，正确选择与目标物性质相匹配的固定相，是实现目标物和基质干扰物有效分离的前提。现代色谱柱技术发展出的键合交联固定相，柱效高、热稳定性好、寿命长，对复杂样品的分析有了更多的选择。

色谱柱的几何参数，长度、内径、固定相膜厚等都会影响分离效率。毛细管柱因为柱效高、分离效果好而成为主流选择。通常长柱能提供更高的理论塔板数，适合分离复杂组分，但是会延长分析时间；短柱分析速度快，但是分离能力比较弱。窄径柱可提高柱效，但样品容量小。膜厚的选择也要考虑保留时间与峰形，厚膜对低沸点的化合物保留较好，薄膜对高沸点的化合物可以快速洗脱。所以食品安全快速检测的关键是实现分离度、分析速度和灵敏度三者的最佳协调，通过对固定相和色谱柱参数的优化，建立可靠的分析方法。

（二）快速气相色谱

快速气相色谱技术的核心目的，是在保证足够分离度的情况下，将样品分析时间从传统的三四十分钟或者更长，减少到几分钟甚至几十秒，从而完成对样品的高通量筛选和快速响应。对突发食品安全事件进行应急处理，对大批量样品进行常规监测时，该技术价值更明显。快速化的实现不是某一项技术的功劳，是整个气相色谱系统在进样、分离、检测、数据处理等各个过程的综合结果。

实现快速分离的主要技术途径包括：

1. 窄径短柱采用内径小于 0.20 毫米、长 5~15 米的色谱柱，可以缩短分析物



在柱内传质路径和停留时间,从而直接缩短分析时间。

2. 快速程序升温:采用每分钟几十度甚至上百度的升温速度,使中高沸点化合物快速洗脱,从而压缩整个色谱图的时间轴。对于仪器的温度控制精度以及热响应速度的要求也会更高。

3. 优化载气流速:用氢气作载气,在较高的线速度下仍能保持较高的柱效,因此可以采用较高的流速来加快组分洗脱,而不会严重牺牲分离度。

4. 低压气相色谱技术,该技术是独特的快速化方法,它是在分析柱出口端接上一根短而内径大的限流管,在分析柱主体上保持真空或者低压,从而大大增加载气流速和组分迁移速度,缩短分析时间。

快速气相色谱对仪器硬件的要求更高。由于峰宽变得非常窄(一般小于1秒),检测器以及数据采集系统必须具有非常快的响应速度和采集频率,否则就无法及时捕捉并积分色谱峰。同时进样也需要快速、精确,以获得窄的初始谱带。虽然快速气相色谱速度较快,但是其峰容量较小,容易造成复杂样品中部分组分共流出。因此,在方法开发过程中,需要对方法的适用性进行充分的考虑,保证需要检测的目标分析物可以被有效分离并准确测定。

(三)全二维气相色谱

全二维气相色谱是近几年气相色谱领域最重大的技术革新之一。串联两个分离机制不同的色谱柱,极大的增加了分离维度和峰容量,给分析超复杂样品提供了一种前所未有的强大工具。核心部件就是放置在两根色谱柱中间的调制器。调制器在非常短的时间(一般几秒为一个周期)内对第一根色谱柱(一维柱)的流出物进行连续捕集、聚焦,再经过一连串窄脉冲的方式注入第二根色谱柱(二维柱)做快速的分离。

这样一种独特的二维分离方式就构成了一个立体的色谱空间。一维柱较长,用非极性固定相,按组分沸点分离;二维柱极短,用极性或中等极性固定相,按组分极性分离。最终得到的二维色谱图上,化合物按照沸点、极性排列成有规律的图案。同系物或者结构相似的化合物,会排列成有规律的条带,即“结构化色谱图”,给化合物的定性识别增加了新的信息维度。全二维气相色谱的峰容量比传统的一维气相色谱高数十倍,分离度也提高了很多,可以有效地将一维色谱里完全重叠的色谱峰分离开来,从而大大降低基质干扰,提高定性定量分析的准确性。食品安全领域里极端复杂的食物体系,食用油中的脂肪酸异构体,茶叶中

的香气成分，白酒中的风味物质，环境样品中的持久性有机污染物等等，均体现了这项技术优秀的解析能力以及发现未知物的能力。

二、气相色谱在农药残留检测中的应用

农药残留属于食品安全检测的重点。气相色谱由于可以对多种农药达到良好的分离和检测效果，所以得到了广泛的使用。它在检测各种农药、保证“舌尖上的安全”方面起着举足轻重的作用。

（一）有机氯、有机磷农药检测

有机氯和有机磷农药属于由于毒性或者持久性而受到关注的杀虫剂。气相色谱是检测这两种农药微量残留的经典高效方法。有机磷农药分子中含有磷，而且对热比较稳定，适合气相色谱法测定。根据其元素特征，分别发展出火焰光度检测器和氮磷检测器。火焰光度检测器在富氢火焰中使含磷或者含硫化合物产生特征谱线，通过检测特定波长的光强度来实现高选择性的检测。氮磷检测器则是利用铷珠在一定的电场、温度条件下，对含氮、磷化合物所产生的特异性响应。这两种选择性检测器的使用可以有效地排除食品基质中大量不含磷、氮元素的共存物质干扰，使分析的灵敏度大大提高。

有机氯农药如六六六、滴滴涕等虽然大多已经被禁用，但是由于它们在环境和食物链中的持久性，对它们的残留进行监测仍然是一项重要的工作。该类农药分子具有很强的亲电性氯原子，电子俘获检测器就是根据这个原理设计的。该检测器内有一个放射源（一般为 ^{63}Ni ），它发出的 β 粒子产生稳定的基流。当带有电负性基团的化合物进入检测器时，就会捕获电子，使基流减小，产生信号。电子俘获检测器对卤代化合物具有极高的灵敏度（可达皮克乃至飞克级别）和很好的选择性，堪称检测痕量有机氯农药残留的“利器”，在蔬菜、水果、水产品、脂肪性样品等各种食品检测中已经成熟地得到应用。

（二）拟除虫菊酯类农药的检测

拟除虫菊酯类农药属于仿生合成的高效低毒杀虫剂，在农业生产中应用很广，因此它的残留检测也是食品安全的重要部分。此类农药化学结构多种类，很多品种含有手性中心，所以存在多种旋光异构体以及几何异构体。这些异构体间的生物活性及毒性相差很大。气相色谱高效毛细管柱能够很好分离部分拟除虫菊酯类农药的异构体，为准确评价其风险打下了技术基础。



由于大多数拟除虫菊酯类农药分子中含有卤素原子（氯、溴）或者氰基等电负性基团，因此高灵敏度的电子俘获检测器仍然是检测它们的首选。不含强电负性基团或者需要更高专属性确认的，可以使用通用型火焰离子化检测器或者功能更强大的质谱检测器。尤其是气相色谱 - 质谱联用技术，不仅可以得到准确的定量结果，还可以通过质谱图得到结构信息，对某些拟除虫菊酯农药进行可靠的确认，有效地避免了由于基质干扰造成的假阳性结果。由于食品基质比较复杂，检测之前还要用凝胶渗透色谱或者固相萃取等技术对样品进行净化，除去脂肪、色素等物质对分析结果造成的干扰。

（三）农药残留确证与定量

农药残留分析中，单靠一个色谱柱的保留时间来定性是不正确的，因为不同的化合物在一定条件下会有相同的保留时间，造成色谱峰重叠。为了保证检测结果准确无误，必须进行确证。气相色谱 - 质谱联用是目前国际公认的最权威的鉴定方法。质谱能给出化合物的分子量和碎片离子信息，相当于化合物的化学“指纹”，结合保留时间做双重验证，可以对目标农药做出精准的身份鉴定。法规严格场合一般要检测到 2~3 个特征离子，它们的丰度比同标准品比较要在容许误差之内。

除了气相色谱—质谱联用，双柱双检测器系统也是一种经济而有效的确证方式。该方法用一进样口分流，样品分别进入两根不同极性的色谱柱（一根非极性柱和一根中等极性柱），然后各自接上各自的检测器。如果某未知物在两根色谱柱上保留时间都与目标农药标准品完全相同，则该未知物就是目标农药，大大降低了偶然重合的可能性，定性更加准确。

农药残留的定量分析一般用外标法或者内标法。外标法操作简单，测定一系列已知浓度的标准溶液的响应信号，绘制标准曲线，然后根据样品信号在曲线上求得浓度。内标法就是在样品和标准溶液中加入定量、性质与待测物相似但样品中没有的化合物作为内标物，用待测物和内标物的信号响应比来定量。内标法能很好地校正样品前处理过程中损失和进样体积的误差，特别适合于基质复杂、前处理步骤繁多的样品，可以获得更准确的、重现性更好的定量结果。基质匹配标准曲线法也是常用的策略之一，它通过在空白食品基质中加入标准溶液来绘制标准曲线，从而消除基质效应对仪器响应的抑制或者增强作用。

三、气相色谱快速检测联用技术

食品安全的挑战变得越发繁杂，气相色谱同其它技术联用成了主流。联用技术明显改善了分析的选择性、灵敏度和确证度，成为现代实验室的必备利器，促使食品检测由单一目标物分析向多目标乃至非目标筛查发展。

（一）气相色谱 - 质谱联用技术

气相色谱 - 质谱联用技术是把气相色谱的高效分离能力、质谱的强大定性定量功能完美结合起来的产物，被誉为有机污染物分析的“金标准”。联用系统里，气相色谱柱先对复杂混合物中的各种组分进行分离，然后纯净的组分依次进入质谱仪。在质谱仪的离子源里，组分分子被电离，然后在质量分析器中按照质荷比分离，最后由检测器记录下不同质荷比离子的信号强度，得到质谱图。

这项技术最强大的地方就是它的定性能力，没有别的能比得上。每种化合物都有独特并且可以重复的质谱图，就像人的指纹一样。用样品中未知峰的质谱图和庞大的标准质谱库进行计算机检索比对，可以迅速、准确地鉴定出化合物的身份。该种能力对于筛查和确认食品中未知污染物、非法添加物以及代谢产物来说是十分重要的。

定量分析上气相色谱 - 质谱联用也很好。全扫描模式下可以获得完整的质谱图来完成定性和筛查，在选择离子监测模式下，质谱仪只对目标化合物的几个特征碎片离子进行选择性监测。可以消除背景噪声以及基质干扰，灵敏度和信噪比提高数倍到数十倍，特别适合食品中痕量或者超痕量农药残留、兽药残留以及环境污染物的精确定量分析。

随着技术的发展，三重四极杆质谱、高分辨质谱应用越来越广泛。三重四极杆质谱使用多级反应监测模式，对母离子和特征子离子进行双重筛选，选择性达到极致，即使在非常复杂的基质中也可以实现超痕量物质的准确定量。高分辨质谱（飞行时间质谱或者静电场轨道阱质谱）可以测定化合物的准确质量数，其精确度能达到小数点后四位，由此可以直接计算出化合物的元素组成，为鉴定标准品库中没有的“新”污染物提供了可能，将食品安全检测带入了非靶向分析的新时代。

（二）火焰离子化与电子俘获检测器选择

火焰离子化检测器与电子俘获检测器是气相色谱两种典型的配置，由于它们



的突出特点及广泛的运用范围而广受喜爱。通用型和高选择性两种检测器可以互相补充,应用于食品安全检测。火焰离子化检测器是一种质量型、高灵敏度的通用型检测器,它的工作原理是利用氢气-空气火焰使绝大多数有机物电离产生微弱的离子流,电流信号的大小与进入火焰的有机物质量成正比。对几乎所有的含碳氢键的化合物都有响应,线性范围宽、性能稳定可靠、操作简便。在食品分析中常用来测定含量较高的组分,例如脂肪酸甲酯组成分析、总石油烃测定等,或者作为一种普适性的筛查手段。它的缺点就是选择性差,在分析复杂基质中的痕量目标物时,易受大量共存有机物的干扰。

与火焰离子化检测器的广谱性相反,电子俘获检测器是极其灵敏而且选择性很高的检测器,它对含有卤素、硝基等电负性原子或者基团的化合物有异常强烈的响应。其内部的放射源(一般为 ^{63}Ni)发出稳定的电子流(基线电流),含有电负性官能团的分析物分子进入检测池,捕获电子,基线电流下降,产生色谱信号。由于电子俘获检测器具有很高的选择性,可以从复杂的食品基质中准确地“揪出”特定的污染物,如有机氯农药、多氯联苯、拟除虫菊酯类农药等,检测限可以达到皮克级。根据分析目标物的化学性质以及检测要求来选择检测器。对于样品中有机物整体轮廓分析或者目标物没有负电性官能团的情况,火焰离子化检测器是最合适的;如果目标是卤代烃等特殊的污染物,电子俘获检测器则是无可替代的高灵敏和高选择性的检测方法

(三) 顶空进样与固相微萃取技术

顶空进样、固相微萃取这两种方法都可以和气相色谱直接对接,是现代化样品前处理及进样技术。它们简化繁琐的传统样品制备过程,降低有机溶剂的消耗,提高分析的自动化程度和速度,完全符合快速检测的发展趋势。这两种技术的主要思路是在分析之前对目标物进行选择性的富集和净化。顶空进样技术一般用来分析固体或者液体样品中的挥发性、半挥发性有机物。其原理是将样品放入密闭的样品瓶中加热,使样品中挥发性的组分在气相和样品相之间达到平衡,然后抽取顶部的气体注入气相色谱仪进行分析。可以隔离蛋白质、盐类、糖类等复杂非挥发性基质,起到净化和保护色谱系统的作用,常被用来检测食品包装材料的溶剂残留、酒类的风味物质和有害醇类,以及食品在储存过程中产生的异味。

固相微萃取技术是一种集样品采集、萃取、浓缩和进样于一身的微型化前处理技术。它用一根带有可伸缩涂层的萃取头,萃取的时候把萃取头直接放进液体

样品里或者放到样品顶空中，目标分析物就会凭借分配平衡被吸附到涂层上。萃取结束后，把萃取头插入高温气相色谱进样口，被吸附的分析物瞬间解吸，由载气带入色谱柱分离。固相微萃取的优点是没有溶剂、操作方便、富集效率高、灵敏度高。使用不同极性的涂层可以实现对某些化合物的萃取选择性。它在食品中农药残留、香精香料、环境雌激素、水产品中腥味物质等痕量、超痕量分析方面具有很大的潜力，是现场快速采样和实验室分析之间的桥梁。两种技术的差异如下表所示。

顶空进样与固相微萃取技术对比表

技术类型	基本原理	适用分析物
顶空进样	气 - 液 / 固相平衡，取气相进样	挥发性、半挥发性化合物
固相微萃取	液 - 固 / 气 - 固相平衡，萃取头吸附 - 热解吸	挥发性、半挥发性及部分非挥发性化合物

第三节 薄层色谱快速检测

薄层色谱法是门经典的分离分析技术，在食品安全快速检测领域里发挥着十分重要的作用。依靠自身独有的优势，伴随着不断的科技创新，这门传统技艺又有了新的活力，成为现场筛查与初步鉴定的有力武器，为保障人民群众饮食安全提供了便捷有效的技术手段。

一、薄层色谱原理与特点

正确地使用薄层色谱法进行食品安全检测，首先要知道其基本原理和特点。就是它独特的分离机制和操作的简便性，两者共同构成了它的核心竞争力，使它在众多的快速检测方法中始终占有重要位置，并不断的发展变化。

（一）分离原理与固定相、展开剂

薄层色谱的分离本质是液固吸附色谱或分配色谱，其基本原理就是利用混合物中各组分在固定相和流动相（即展开剂）间存在着不同的分配或者吸附能力来实现分离。展开剂在毛细作用下沿涂布有固定相的薄层板向上移动时，样品点中的各组分也同时开始运动。与固定相作用力大的组分移动慢，与固定相作用力小、更易溶于展开剂的组分则移动得快。经过一段时间的展开，各个组分由于移动的



距离不同,在板上就形成了一个分离的斑点。这就像是微观世界里的“赛跑”,不同的“选手”(待测组分)因为自身的特点(比如极性、分子大小)与“跑道”(固定相)和“风力”(展开剂)的相互作用不同,最后就被分开了。

固定相是薄层色谱分离的基础,传统常用固定相为硅胶和氧化铝,它们的表面含有大量的羟基,主要依靠吸附作用来分离。根据相似相溶原理,极性越大,被吸附的速度越慢。现代薄层色谱技术已经发展出多种改性的固定相,例如化学键合相(如十八烷基硅烷键合硅胶,即C18反相板),表面呈非极性,分离机理由原来的吸附作用转变为分配作用,更适合分离非极性或者弱极性化合物。展开剂选择的好坏直接影响到分离效果的好坏。展开剂一般由一种或几种溶剂混合而成,通过调节溶剂的种类和比例可以明显提高目标物的分离度。为了得到理想的分离效果,选择合适的展开剂体系十分重要,目标物的比移值(R_f 值)应该在0.2到0.8之间。

薄层色谱的分离过程受很多因素的综合影响,固定相的活性、展开剂的组成和纯度、环境的温度和湿度、展开缸的饱和程度等都会对分离结果产生影响。这些因素一起决定组分在板上的最终位置,也就是比移值。比移值是某化合物在一定的色谱条件下所具有的特征常数,是定性分析的主要依据。在相同的条件下将标准品的比移值与样品的比移值进行比较,就可以对样品中未知物质进行初步的鉴定。

(二) 操作简便与成本低廉

薄层色谱技术最大的优点就是操作简便,对技术人员要求不高,容易上手。基本操作过程主要是样品制备、点样、展开、显色和观察。样品经过简单的提取、浓缩之后,用毛细管或者微量注射器将其滴在薄层板的起始线上。然后,把薄层板放在装有少量展开剂的密闭展开缸中进行展开。待溶剂前沿到达所需高度时,取下薄层板晾干。有色物质直接观察斑点,无色物质用紫外灯观察荧光或荧光猝灭现象,或喷涂显色剂使其发生颜色反应来显现。整个过程不需要复杂精密的仪器,只需一个展开缸、几块薄层板和几种常用溶剂就可以搭建一个基础的检测平台。

相比起高效液相色谱、气相色谱等大型仪器分析的方法来说,薄层色谱的设备投资和运行费用都很低。主要耗材为薄板、试剂,价格便宜,分析时耗电少,不需要高纯度的气体,不需要昂贵的色谱柱,维护成本几乎可以忽略不计。因此

成本较低,适合在基层检测单位、企业自检实验室、发展中国家的食品安全监控体系中使用。它可以用较低的经济成本实现最广泛的覆盖,将检测能力下沉到生产、流通的第一线,真正践行预防为主、源头控制的理念。

(三) 半定量与筛查优势

薄层色谱法不仅可以作定性分析,还可以作半定量分析。半定量的基本依据是,在一定浓度范围内,样品斑点的大小和颜色深浅与组分含量成正比。将样品斑点和一系列的标准品斑点作直观比较,就可以粗略估计样品中目标物的含量范围。比如样品斑点的大小和颜色介于 10 微克/毫升和 20 微克/毫升两个标准品斑点之间,就可判断样品含量大概处在这一区间。若需要半定量结果更加精确,可以使用薄层色谱扫描仪(又称光密度计)对斑点进行扫描,通过测量其吸收或者荧光强度来获得数据,其精密度虽然不及液相色谱,但是对于许多限量标准的初步判断来说已经足够。

薄层色谱法最大的应用价值就是它的高通量筛查能力。一块标准的薄层板可以同时点上十几个甚至二十几个样品,包括对照品和标准品,一次展开操作就可以完成多个样品的平行分析。这种并行处理能力是许多串行分析的仪器色谱法所不具备的。在处理大量待检样品的时候,例如市场抽检、进出口检验检疫等情况下,薄层色谱可以作为第一道防线,快速剔除不含目标污染物的阴性样品,筛选出可疑的阳性样品。该种检测方法大大提高检测效率,节约人力物力,也使后面精确鉴定(质谱联用)更有针对性,避免对所有样品做昂贵费时确认分析,进而优化整个检测流程。筛查价值主要体现在以下几点:

1. 高通量特性:单次运行即可分析多个样品,显著提升筛查效率。
2. 低假阴性率:通过优化实验条件,可确保对目标物有良好的检出能力,有效避免漏检。
3. 成本效益显著:以低廉的成本快速缩小可疑样品的范围,为后续的精准确检测提供明确指导。

二、TLC 在食品安全快速筛查中的应用

由于具有独特的原理以及明显的优势,薄层色谱法在食品安全领域中的多个重要方面得到了广泛的应用,特别是在污染物的初步筛查上起到不可替代的作用,给食品安全监管提供重要的技术支持。



(一) 农药残留初步筛查

农药残留属于食品安全的重大隐患,尤其对农产品来说,其安全性受到农药残留的威胁。薄层色谱法因其快速简便,在农药残留的现场和基层实验室筛查中使用较多。对有机磷、氨基甲酸酯等具有神经毒性的农药,基于酶抑制原理的薄层色谱法是最有效、最成熟的一种检测方法。该方法的原理是,此类农药能特异性地抑制胆碱酯酶的活性。检测时先在薄层板上展开样品提取物,使可能存在的农药成分分离出来。接着向板上均匀地喷洒胆碱酯酶溶液,保温一段时间,保证农药(抑制剂)和胆碱酯酶充分反应。

喷洒乙酸酞酚酯+快蓝B盐底物显色剂混合液。没有农药抑制的区域,胆碱酯酶保持其活性,可以水解底物,但是水解产物不能和显色剂反应或者反应后被破坏,使背景呈特定颜色(白色)。而含有机磷或者氨基甲酸酯类农药的斑点,酶活性被抑制,底物不能水解,进而和显色剂反应,产生与背景色形成鲜明反差的斑点(蓝色或者紫色)。观察板上是否有特征性的抑制斑点就可以判断样品里是否含有此农药。

酶抑制法灵敏度高,可以同时检测出一大类作用机理相同的农药,具有很强的普适性,是理想的广谱筛查工具。在蔬菜、水果、茶叶等农产品的生产基地或者批发市场,检测人员可以借助配套的薄层色谱快速检测试剂盒,在很短的时间内完成对大批量样品的检测工作,从而及时发现农药超标的风险。尽管此方法不能确定具体的农药种类,但是其作为“警戒线”的作用十分明确:一旦出现阳性结果,就表示预警成功,相关批次的样品可以立即采取控制措施,并送至中心实验室做质谱等进一步的确认分析,从而有效地阻止问题产品流入市场。该技术对样品的前处理要求不高,一般只需简单的溶剂提取和过滤就可以进行分析,这就进一步突出了它的快速性。

(二) 霉菌毒素快速检测

霉菌毒素是一些真菌在食品、饲料中产生的有毒的次级代谢产物,比如黄曲霉毒素、赭曲霉毒素和玉米赤霉烯酮等。它们具有很强的致癌、致畸、致突变毒性,严重危害着人和动物的健康。薄层色谱法属于检测霉菌毒素,尤其是黄曲霉毒素的传统方法。黄曲霉毒素B1、B2、G1、G2等在长波紫外光(365纳米)照射下会发出特征性的蓝绿色荧光,这给薄层色谱检测提供了一种天然的方便。

检测流程一般为,用甲醇-水或者乙腈-水等溶剂从样品(玉米,花生,大米等)

中提取霉菌毒素，然后提取液通过免疫亲和柱或者固相萃取小柱进行净化富集，去除大部分基质干扰物，提高检测灵敏度和准确性。净化后的溶液浓缩之后，被准确地点样于硅胶薄层板上，同时点上相应的黄曲霉毒素标准品。在展开剂体系（氯仿-丙酮）中展开后，取出板晾干，放在紫外分析仪中观察。样品中如果含有黄曲霉毒素，则会在和标准品斑点相同的高度上产生颜色和特征一致的荧光。比较样品斑点的荧光强度和一系列不同浓度标准品斑点的荧光强度，可以半定量地估计样品中毒素的含量是否超过国家限量标准。

虽然该方法的定量精度不如液相色谱-荧光检测法或液相色谱-质谱联用法，但是设备简单、成本低廉、操作直观等优点，使其特别适合于粮库、饲料厂和食品加工企业等单位，用作原料验收及生产过程中质量控制。可以短时间内完成大批量样品的检测，及时发现霉菌毒素污染的原料，阻止其进入生产过程，对防止重大食品安全事故的发生有重大的现实意义。

（三）部分添加剂与色素检测

食品添加剂超范围、超限量使用 and 非法添加物的滥用一直都是食品安全监管的重点和难点。薄层色谱法在这里也起着“哨兵”的作用。许多非法添加的工业色素，苏丹红、罗丹明 B、碱性橙等，由于本身带有鲜艳的颜色，所以它们的薄层色谱检测变得非常简单。在检测辣椒粉中苏丹红时，只需要用有机溶剂把色素提取出来，点样展开后，苏丹红就会以橘红色斑点的形式出现在色谱板上，与标准品比对就可以确定，整个过程一目了然，甚至不需要额外的显色步骤。

对于无色的添加剂如防腐剂中苯甲酸、山梨酸，甜味剂中的糖精钠、甜蜜素，抗氧化剂中的 BHA、BHT 等，就只能通过薄层色谱的显色反应来进行辅助判断了。色谱展开分离之后，根据待测物的化学性质选择合适的显色剂喷洒。利用酸碱指示剂颜色的变化来检测酸性防腐剂，而一些物质在紫外光下有荧光衰减的现象也可以用来观察。虽然这些方法可能会受到基质的干扰，但是通过选择合适的净化手段和展开体系，仍然可以达到筛查的目的。

薄层色谱法多通道、高通量的特性再次在检测这些物质的时候得到体现。通过展开体系的精心设计，可以实现样品中多种甜味剂或者多种防腐剂的同时分离，达到一次分析，多重筛查的目的。该方法对打击非法添加行为、规范食品添加剂使用具有重大意义，特别适合于市场监督管理部门进行快速巡查和现场执法，可以迅速找到可疑产品，为后续的执法和送检提供强有力的初步证据。



三、薄层色谱技术的改进与联用

为了克服传统薄层色谱分离效能、灵敏度低、定性能力差等缺点,研究人员从技术改进和多手段联用两个方面入手,大大提高了其在现代食品安全分析中的适用范围及深度,使薄层色谱由传统的定性分析工具逐步发展成为一种高效、灵敏、准确的多手段联用的现代分析技术。

(一) 高效薄层色谱

高效薄层色谱属于传统薄层色谱技术的革新和升华。其核心是使用了性能更好的固定相板。HPTLC 板涂层颗粒更小(一般 3 到 5 微米),颗粒分布更加均匀,层厚更薄、更均匀。这些物理特性明显改善,分离性能也实现了质的飞跃,颗粒变小,比表面积增大,传质距离减小,色谱的分离效能和分辨率得到极大提升,结构相似的组分可以被有效分离,展开后的斑点更紧凑、更清晰。

与传统的 TLC 相比,HPTLC 的优势非常明显。分析速度更快,由于板效更高,只需要很短的展开距离(一般为 5 到 7 厘米)就可以达到有效分离的目的,大大缩短了分析时间。灵敏度更高,斑点越小单位面积内的样品浓度就越高,检测灵敏度可以提高一个数量级以上。重现性更好,HPTLC 一般与自动化、标准化的仪器操作相结合,即自动点样仪、自动展开腔、自动显色喷雾器、精确定量的薄层扫描仪等。自动化设备最大限度地减小了由于手动操作造成的误差,使实验结果稳定可靠。下表为传统薄层色谱和高效薄层色谱的性能对比。

传统薄层色谱与高效薄层色谱性能对比表

性能指标	传统薄层色谱	高效薄层色谱
固定相粒径	10-20 微米	3-5 微米
薄层厚度	200-250 微米	100-200 微米
分离距离	10-15 厘米	5-7 厘米
展开时间	20-200 分钟	3-20 分钟
分离效能(塔板数)	约 2,000	约 5,000
检测灵敏度	纳克(ng) 级别	皮克(pg) 级别
点样体积	1-5 微升	0.1-0.5 微升

因此 HPTLC 不但可以胜任筛查工作,还可以做比较准确的定量分析,其结果的可靠性接近高效液相色谱。在药品质量控制等要求严格的领域中,它已经成为法定的分析方法之一,在食品安全分析中的应用也越来越广泛,尤其适合于复杂基质中多种组分的联用分析。

（二）薄层色谱 - 生物自显影法

薄层色谱 - 生物自显影法是一种极具创新性的联用技术，把薄层色谱的分离能力与生物检测的选择性、高灵敏度结合起来，用于样品中生物活性物质的靶向筛选和定性。该方法的基本思想是，在薄层色谱分离之后，不用化学显色剂，而是把整个薄层板当作效应物的来源，直接与一个生物系统（如细菌、真菌、酶、受体）接触，通过观察这个生物系统的反应来定位具有活性的成分。

已分离样品组分的薄层板被覆盖在有特定生物指示剂的琼脂培养基上。经过一段时间的培养，板上有生物活性的化合物斑点会扩散到琼脂里，从而产生相应的生物学效应。筛选农产品中的抗菌药物残留，可以选用该类药物敏感的细菌来制备琼脂培养基。抗菌药物斑点周围的细菌生长会受到抑制，形成透明抑菌圈，清楚地指示出活性物质所在的位置。利用酶抑制原理可以筛选农药或者毒素等抑制剂，利用受体结合试验可以筛选具有特定生理活性的物质。

这项技术最令人称道的地方就是它的“效应导向”分析方式。它不需要事先知道待测物的化学结构，也不需要依赖纯品标准物质，只要目标物质具有一定的生物活性，就可以被检测出来。因此，它在从复杂的天然产物或食品基质中发现新的、未知的活性污染物，以及评价食品综合生物毒性等方面有无可比拟的优势。它所给的信息不单是“有什么”，更重要的是回答了“有什么作用”，这对于食品安全风险评价来说，有着更加深远的意义，是功能导向型筛选的强大工具。

（三）薄层色谱 - 质谱联用

薄层色谱 - 质谱联用技术出现以后，从根本上解决了传统薄层色谱法定性能力不足的瓶颈问题。质谱可以给出化合物准确的分子量以及碎片离子的信息，是进行结构鉴定最权威的手段之一。把 TLC 的分离能力同 MS 的鉴定能力结合起来，做到了优势互补，由此形成了一种新的高通量筛查和快速确认的工作流程。核心问题是怎样将薄层板分离出的目标斑点有效引入质谱仪的离子源。

早期的联用方式比较繁琐，需要人工将目标斑点从板上刮下，用溶剂洗脱后，再将洗脱液注入质谱仪。此法操作繁杂，而且容易造成样品的损失和污染。现代 TLC-MS 接口技术有了很大发展，可以进行直接、原位的分析。主流方式之一是“薄层色谱 - 洗脱 - 质谱”接口，使用一个特制的萃取头紧压在目标斑点上，用溶剂将化合物从斑点区域冲出来，直接导入质谱仪。更为前沿的技术就是与敞开式电离质谱技术相结合，比如常压固体分析探针、基质辅助激光解吸电离、实时



直接分析、解吸电喷雾电离等等。可以对薄层板表面直接进行扫描、实现原位电离、质谱分析、不需要样品转移，无缝连接、快速度、高度自动化。

联用技术工作模式非常高效，首先用 HPTLC 对大量样品进行并行分离和初步筛选，发现可疑斑点后，立即用 TLC-MS 接口进行原位质谱分析，几秒钟内就能得到分子量和结构碎片信息，从而完成定性确证。该流程把 TLC 高通量筛选的优势和 MS 精准鉴定的优势完美地结合在一起，成为薄层色谱技术未来发展的一个趋势，在食品中未知物和非目标物的快速发现和鉴定上具有很大的应用潜力。

第四节 离子色谱新技术

离子色谱是高效液相色谱的一个分支，由于它具有速度快、灵敏度高、选择性好的优点，所以它在食品安全检测中占有重要的位置。随着对食品中痕量离子化合物的分析需求不断增长，传统离子色谱技术也遇到了新问题，从而催生了许多新技术，食品安全检测能力得到显著提高。

一、离子色谱基本原理与特点

离子色谱法主要依靠离子交换原理来分离样品中各种离子，再利用高灵敏度的检测器进行定量分析。这套技术体系的创建，特别是抑制器技术的引进和不断更新，给离子色谱带来了独特的优点，可以很好地解决复杂食品基质中各种离子的检测问题。

（一）分离原理与抑制器技术

离子色谱的分离原理主要是依靠离子交换理论。样品溶液由输液泵进入分离系统，流过装有一定量离子交换树脂的色谱柱。样品中的待测离子会与树脂上可解离的离子发生可逆交换。由于各种离子与交换树脂的亲合力不同，在色谱柱中保留时间也不同，从而被淋洗液依次洗脱出来，达到分离的目的。根据固定相及分离机制的不同，离子色谱可分为离子交换色谱、离子排斥色谱、离子对色谱等，其中以离子交换色谱应用最广，主要用于分离无机和有机的阴、阳离子。

抑制器是现代离子色谱，尤其是抑制型离子色谱的核心部件，它的主要功能就是降低淋洗液高背景电导，提高待测离子信号响应，大大提高检测灵敏度。阴

离子分析中抑制器一般用阳离子交换膜，把淋洗液中的阳离子（钠离子、钾离子等）置换为电导率很低的氢离子。氢离子与淋洗液中的阴离子（碳酸根、氢氧根等）反应生成水或者弱酸，大大降低背景信号。同时待测阴离子的反离子被置换为氢离子，由于氢离子的极限摩尔电导远大于其它阳离子，所以待测组分的电导响应明显增大。阳离子分析的原理与此相同，只是用阴离子交换膜把淋洗液中阴离子置换为氢氧根离子。从早期的填充柱式抑制器发展到现在的连续再生微膜抑制器、电解自再生膜抑制器等，抑制技术不断改进，实现高容量、低噪声、无外加再生液的在线再生，为离子色谱的稳定高效运行提供有力保障。

（二）阴离子与阳离子同时检测

传统的离子色谱分析中阴、阳离子的测定一般要采用两个独立的系统或者不同的色谱条件来完成。由于阴、阳离子交换柱的填料、所用淋洗液体系及抑制模式均不同。阴离子分析大多使用氢氧化物或者碳酸盐体系的淋洗液，阳离子分析大多使用甲烷磺酸等酸性淋洗液。虽然分离检测法成熟可靠，但是需要同时获取样品中阴、阳离子全面信息时，耗时较长，成本较高。

为了克服这个局限，一次进样同时分析阴、阳离子的技术便应运而生。该类技术的核心就是开发新型混合模式固定相，并配以相应的淋洗液和检测方法。其中一种创新的色谱柱设计是用阴离子交换功能基团的纳米粒子，用静电吸附的方式固定在阳离子交换树脂表面，形成所谓的“包覆型”固定相。另一种方法是制备具有两性离子特性的固定相，即在同一个基质上键合阴离子交换官能团和阳离子交换官能团。

该类新型色谱柱在单一淋洗液中利用离子交换、离子排斥以及疏水作用等分离方式同时作用，从而实现阴阳离子的分离。已有研究使用具有反相、阴离子交换、阳离子交换三种性质的色谱柱，用乙酸钠和乙腈的混合溶液作为淋洗液，成功分离了多种常见的阴离子和阳离子。尽管阴、阳离子同时检测技术分离选择性和灵敏性还存在一定的提高空间，但是它分析效率提高的巨大潜力，使它在水质分析、食品成分快速筛查等领域有广阔的应用前景。

（三）高灵敏度与高选择性

高灵敏度是离子色谱技术最突出的优点。依靠高效的抑制技术和灵敏的电导检测器，离子色谱能很容易地达到微克每升甚至更低的水平。若与在线浓缩柱等样品前处理技术联合使用，富集待测离子，检测灵敏度可以达到纳克每升（ppt），



完全可以满足食品中痕量污染物的检测要求。除电导检测器外,离子色谱也可以和安培检测器、紫外-可见光检测器联用以满足对不同化合物的检测需要。其中脉冲安培检测器对糖类、氨基酸等易在电极表面被氧化的化合物具有极高的灵敏度和专一性,不需要衍生化就可以直接检测。

高选择性是保证分析结果准确可靠的保证。离子色谱的选择性主要表现在分离柱和检测方法这两方面。根据不同的分析对象,可以选用不同种类、不同交换容量的离子交换树脂作固定相。高容量的离子交换柱适合分离强保留的离子,低容量色谱柱有利于快速分离。通过控制淋洗液的组成、浓度、pH值、流速等参数来控制各种离子的保留行为,从而达到目标物和基质中干扰物的良好分离。不同的检测器也提供额外的选择性,电导检测器对所有的离子化合物都有响应,而安培检测器只对具有电化学活性的物质产生信号,这种差异可以用于共流出峰的识别和定性。综上所述,离子色谱技术的核心魅力就是可以高效同时分析多组分,并且具有很强的基质耐受性。一次进样可在数分钟内完成多种离子的同步测定,而它的聚合物基质填料化学性质稳定,能承受宽pH范围的淋洗液,使它的应用范围得到极大的扩展。

二、离子色谱在食品安全检测中的应用

依靠出色的分离能力以及较高的检测敏感性,离子色谱法成了食品安全检测体系里不可缺少的分析手段。该技术被应用于食品添加剂合规性鉴定、有害物质残留检测、营养成分质量评判等诸多领域,给保证“从农场到餐桌”的食品安全给予了很强的科学支撑。

(一) 亚硝酸盐、硝酸盐检测

亚硝酸盐和硝酸盐经常用作发色剂和防腐剂,在加工肉制品、泡菜等食品时也广泛使用。但是过量食用亚硝酸盐对人体健康有危害,亚硝酸盐会引起高铁血红蛋白血症,还会在体内转化为强致癌物亚硝胺类物质。因此严格控制食品中这两种物质的含量就十分重要。离子色谱法是国家标准中规定的方法之一,食品中亚硝酸盐、硝酸盐的测定,离子色谱法因其简便、快速、准确而被广泛使用。

样品分析前处理的过程一般包括提取,蛋白质沉淀,净化。对乳制品、肉制品等基质复杂的样品,采用水或乙酸溶液提取,再加入乙腈或者通过离心去除蛋白质、脂肪等大分子干扰物。经过净化的提取液用过滤膜过滤后再倒入离子色谱

仪。阴离子交换柱在碳酸盐或氢氧化物体系淋洗液的作用下，亚硝酸根和硝酸根离子能较好地与氯离子、硫酸根等其他阴离子分离。

采用抑制型电导检测器或者紫外检测器都可以准确定量这两种离子。紫外检测器在一定的波长（例如 225nm）下对亚硝酸根、硝酸根有特征吸收，检出限有时比电导检测更优，更适合于低含量样品的分析。离子色谱法灵敏度高，能达到法规限量的要求，可以同时测定性质相似的亚硝酸根、硝酸根，使检测效率大大提高，适合监管机构大样本量样品的快速筛查。

（二）无机阴离子检测

食品中无机阴离子的种类很多，其含量和食品品质、风味、加工工艺、安全性等有密切关系。卤化物离子（氟、氯、溴）含量要严格控制，磷酸盐作为品质改良剂在肉制品和水产品中添加量也需要加以限制。离子色谱法是分析无机阴离子的标准和首选方法，可以快速、准确地对多种阴离子进行定量分析。

该方法可以用于水、饮料、乳制品、肉制品等各种食品基质。样品前处理一般比较简单，液体样品（饮用水、饮料）只需要适当稀释和过滤后就可以进样。固体或者半固体的样品要经过均质、提取（一般用去离子水或稀酸），再通过离心或过滤除去不溶物。在某些情况下，还要用固相萃取柱来去除基质中的干扰性强的有机物等，以保护分析柱并提高分析的准确性。一套离子色谱系统一般能在 10 分钟之内完成对 F⁻、Cl⁻、Br⁻、NO₂⁻、NO₃⁻、PO₄³⁻、SO₄²⁻ 这七种常见无机阴离子的分离检测，具有很高的分析效率。

（三）有机酸与部分糖类检测

有机酸是决定食品风味和品质的关键因素，同时也是评判食品有无腐败变质的指标。果汁、酒类、食醋等发酵食品中有机酸的种类、含量直接决定产品的感官性质，也是真伪鉴定的依据。离子色谱采用离子交换或者离子排斥的分离模式，搭配电导检测，给有机酸分析供应了一种高灵敏度的解决办法。尤其是离子排斥色谱法，采用高交换容量的阳离子交换树脂为固定相，以稀酸为淋洗液，可以分离乳酸、乙酸、甲酸、柠檬酸、苹果酸等多种有机酸，并能排除许多无机阴离子的干扰。

糖类是食品基本营养素，也是食品重要功能性成分。传统分析方法一般都要经过繁杂的衍生化过程。离子色谱法以及脉冲安培检测器的联用系统，给糖类的分析提供了一个直接、高灵敏的检测方法。专用糖分析柱 CarboPac 等在强碱性



淋洗液下能够很好地分离出单糖、双糖、糖醇和低聚糖。脉冲安培检测器用金电极上的一系列电位脉冲,使糖类物质在电极表面氧化生成电流信号,因此可以实现高选择性、高灵敏度的检测。

此项技术已经成功应用于食品中各种糖类的分析,国家标准中也包含了用离子色谱法测定果聚糖、棉子糖等项目。不管是婴幼儿配方奶粉中低聚半乳糖的分析,还是蜂蜜中单糖、双糖的检测来鉴别真伪,离子色谱都具有无法取代的优势。还可以测定饮料中的甜味剂(甜蜜素、安赛蜜)和防腐剂(苯甲酸钠),通过优化色谱条件,甚至可以实现多种添加剂的同时测定,给食品质量控制提供完整的解决方案。

三、离子色谱快速检测新技术

为了满足食品安全领域更高的通量、更低的灵敏度、更强的证实能力,离子色谱技术正向更快、更小、更强的方向发展。离子色谱领域里有三种前沿技术,它们的特征对比如下表所示。快速离子色谱柱、毛细管离子色谱以及质谱的联用技术,是目前该领域最引人注目的技术前沿,它们一起促使离子色谱在食品安全快速检测中的应用范围得以拓展。

离子色谱新技术对比表

技术	核心特点	主要优势	典型应用场景
快速离子色谱	小粒径填料($\leq 4\mu\text{m}$)的色谱柱	分析速度快(3-5分钟),通量高	大批量样品常规筛查,应急检测
毛细管离子色谱	系统微型化(如0.4mm色谱柱),微升/分钟级流速	淋洗液消耗极低,质量灵敏度高,系统稳定	痕量/超痕量分析,珍贵/限量样品检测
离子色谱-质谱联用	以质谱作为检测器	定性确证能力强,选择性极高,可鉴定未知物	复杂基质中污染物确证,非靶向筛查

(一)快速离子色谱柱

分析速度的提高是色谱技术一直在追求的目标。快速离子色谱柱的设计目的是为了缩短分析时间,实现高通量的样品筛查。主要是通过减小色谱柱填料的粒径来实现的。传统离子色谱柱填料粒径一般都在7至10微米左右,快速柱的填料粒径更小,已经发展到4微米甚至亚2微米的颗粒。根据色谱理论,填料粒径越小柱效越高,在较短的柱长上就可以达到同样的甚至更好的分离效果,或者相

同的柱长下用更高的流速而不降低分离度。

使用 4 微米粒径的填料色谱柱，可以对多种常见的阴离子进行基线分离，在 3 到 5 分钟内完成，相比传统的分析方法，分析时间缩短了 50% 以上。分析速度的飞跃对应急检测和大量常规样品处理有重大意义。更短的分析周期一方面可以提高单位时间里样品处理量，另一方面又可以降低单个样品分析的成本，包括淋洗液消耗和仪器运行时间。快速离子色谱柱的出现，加上自动进样器和高效的数据处理软件，形成了一套真正的高通量离子分析平台，大大提高了实验室对突发食品安全事件的快速应对能力。

（二）毛细管离子色谱

毛细管离子色谱是将整个离子色谱系统，包括进样阀、色谱柱、抑制器、检测池等部件进行微型化的一种创新技术。其核心是内径很细的毛细管分离柱，整个系统的流速也降到了微升每分钟的水平。微型化带来诸多明显的好处。极低的淋洗液消耗量，毛细管离子色谱系统一年的运行耗水量只有几升，配合在线淋洗液自动生成技术，实现了近似于“只加水运行”的理想模式，极大地降低了运行成本和废液产生量，是绿色环保的分析技术。

毛细管系统具有更高的质量灵敏度。由于待测组分在极细的色谱柱中被高度浓缩，到达检测器时的浓度更高，因此即使进样量只有传统系统的十分之一（如 0.4 微升），也能得到很好的信噪比和更低的检出限。因此在分析珍贵样品、限量样品以及需要极高灵敏度的痕量分析（冰川雪样、生物体液）的时候，具有无可比拟的优势。系统可以长期连续运行，不需要频繁的开关机、平衡，使分析随时处于待命状态，结果的稳定性、重现性更好。采用二维离子色谱技术，毛细管离子色谱可解决复杂基质中共流出问题，提高分离能力及检测灵敏度，超痕量亚磷酸根的检测中检出限能达到 ppb 级以下。

（三）离子色谱 - 质谱联用

虽然离子色谱和电导、安培检测的组合已经能够解决绝大多数离子化合物的分析问题，但是对于成分非常复杂的样品基质，或者需要对未知物进行结构鉴定和确证的时候，其定性能力就显得不足了。离子色谱和质谱联用技术正好可以弥补它的不足。质谱是一种质量选择性检测器，可以给出待测物的准确分子量以及碎片离子的信息，给化合物的定性确证提供最可靠的证据。

IC-MS 联用中离子色谱把复杂的离子混合物高效地分离，然后依次进入质谱



检测器。为了保证两者兼容，必须解决淋洗液和质谱离子源的匹配问题。采用挥发性的淋洗液（甲酸、乙酸铵体系），或者在色谱柱后端加上抑制器去除不挥发的盐类，是实现联用的关键。IC-MS 技术极大地提高了分析的选择性、灵敏度，在嘈杂的背景信号中准确地识别出目标化合物，并且能很好地分辨同分异构体。在食品安全领域中该技术的应用越来越广泛，对高风险污染物高氯酸盐、毒死蜱代谢物、除草剂草甘膦及其代谢物等痕量检测更为重要。如果联用高分辨质谱，还可以进行非靶向筛查，从而发现潜在的未知风险物质，对食品安全风险进行预警和溯源，起到举足轻重的作用。

第七章 纳米材料在快速检测中的应用

纳米材料由于具有特殊的物理化学性质，给分析科学领域带来了深刻的技术变革，在食品安全快速检测方面有着广阔的应用前景。本章主要围绕其中最具代表性的纳米金材料展开，对它在各种快速检测技术中的最新应用以及未来的发展进行阐述。

第一节 纳米金标记技术

纳米金颗粒是性质优良的标记物，颜色鲜艳、性质稳定、容易与生物分子结合等特点使其在体外诊断、食品安全检测等领域有广泛的应用。本节主要对纳米金的物理化学性质、制备方法和标记技术中纳米金的核心作用进行研究。

一、纳米金的特性与制备

要充分利用纳米金构建高效的快速检测体系，首先要对它的基本性质以及可控制备方法进行充分的理解。纳米金有独特的光学效应、良好的生物相容性以及表面容易进行功能化处理的特点，因此在生物传感领域中起着不可替代的作用。

（一）光学特性

纳米金最引人注目的特性就是它的局域表面等离子体共振效应。当某种特定波长的光照射在纳米金颗粒上时，就会引起该颗粒表面自由电子的集体振荡，进而对这束光的波长进行强烈的吸收和散射，形成一个明显的吸收峰。对于尺寸约为 20 纳米的球形纳米金颗粒，其共振吸收峰一般在可见光的绿光区，因此其胶体溶液具有特征性的酒红色。鲜艳稳定的颜色是纳米金可以作为可视化探针的物理基础。

纳米金的光学性质与其尺寸、形状、聚集状态以及所处的介质环境有关。随着颗粒尺寸的改变，共振峰位发生移动，溶液颜色也随之改变。更重要的是，当纳米金颗粒彼此靠近发生聚集的时候，颗粒间的等离子体共振就会发生耦合，吸



收峰向长波方向移动（即红移），宏观上表现为溶液颜色由红色变为蓝紫色。对距离非常敏感的光学变化，为发展以聚集 / 分散状态调控为基础的比色分析方法打下了核心原理。

（二）易功能化与生物相容性

纳米金颗粒表面活性很强，很容易进行表面修饰和功能化。金的表面能与含硫醇基或氨基的分子形成稳定的化学键。由于蛋白质、抗体、核酸等生物大分子表面普遍存在这些官能团，因此可以很容易地将它们稳定地偶联到纳米金表面，制备出功能化的纳米探针。该种连接方式牢固，能较好地保持生物分子原有的活性，保证检测系统具有良好的特异性、有效性。

金纳米颗粒作为化学性质稳定的贵金属，有较好的生物相容性以及较低的细胞毒性。这就使得纳米金探针可以直接用于食品基质等复杂的生物样品中，不会对样品中原有的组分造成显著的非特异性干扰或破坏。好的生物相容性是纳米金标记技术在生命科学、食品安全等方面取得成功的基本保证，检测结果才可靠、安全。

（三）常见制备方法

胶体金通常在水溶液中制备，用还原剂把金的前体（主要是氯金酸）还原成零价金原子，金原子再成核、生长成纳米颗粒。通过调节反应条件，例如还原剂的种类和浓度、反应温度、稳定剂等，可以实现纳米金尺寸、形貌、分散性的好坏。

目前，最经典且应用广泛的几种制备方法可见下表：

纳米金常见制备方法对比表

制备方法	主要试剂	主要特点	产物形貌 / 尺寸
柠檬酸钠还原法	氯金酸、柠檬酸钠	操作简便，成本低，重复性好，产物粒径分布窄。	10-100 nm 球形颗粒
种子生长法	晶种、金盐、弱还原剂、结构导向剂	可精确控制尺寸，可制备各向异性结构。	尺寸均一的球形或棒、星等特殊形貌颗粒

1. 柠檬酸钠还原法是由 Turkevich、Frens 等人逐步完善的一种使用柠檬酸钠作为还原剂和稳定剂，采用“一锅煮沸”法制备胶体金的方法。该方法操作简便、成本低、重现性好，可以制备粒径在 10-100nm 的球形纳米金颗粒。通过调节柠檬酸钠与氯金酸的摩尔比可以方便地控制颗粒大小，是免疫层析试纸条生产中用得最多的制备方法。

2. 种子生长法可以用来制备尺寸高度均一或者具有特殊形貌（金纳米棒、纳米星等）的颗粒。其过程就是先制备出小尺寸的纳米金晶种，然后将晶种加入到

含有金盐、弱还原剂和结构导向剂的生长液中，使金原子在晶种表面继续外延生长。该法给精细调控纳米金的光学性质，以增强检测信号留有更多的余地。

二、纳米金在免疫层析中的应用

由于免疫层析技术具有操作简单、反应速度快、成本低等优势，已经成为食品安全现场检测的主力军。纳米金是使用最广泛的一种标记物，极大地推动了该技术的普及与发展，由于它极好的显色效果，使得免疫层析技术可以直接得到可视化的检测结果。

（一）胶体金免疫层析试纸条

胶体金免疫层析试纸条，也称“金标卡”，是侧向流动分析中一种典型的固相免疫分析技术。经典结构一般是由样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸收垫依次层叠而成。核心就是利用垫上预先包被干燥的纳米金标记抗体（或者其他识别分子）复合物，在硝酸纤维素膜的特定位置上固定检测线（T线）和质控线（C线）。

其检测原理非常直观，将待测样品溶液滴加在样品垫上，液体在毛细作用的驱动下向前迁移。当样品流经结合垫时，样品中的目标分析物会和纳米金标记的抗体发生特异性结合，形成“分析物-金标抗体”复合物。该复合物继续在膜上移动，到达T线时会被事先固定在上方的捕获抗体截留，形成一个双抗体夹心结构即，捕获抗体、分析物、金标抗体。当大量的金标复合物在T线区域富集的时候，因为纳米金的显色作用，会出现一条肉眼可见的红色条带。未与分析物结合的多余金标抗体继续移动，最后被C线上的二抗捕获，产生一条红色C线，作为试纸条是否有效的一个内部控制。

（二）提高灵敏度的策略

虽然传统的胶体金免疫层析法快速简便，但是灵敏度有时不能满足食品中痕量或者超痕量污染物的检测要求。因此发展各种增敏策略成为该领域研究的热点。一种直接的方法就是增强标记物的信号强度。比如用更大的纳米金能得更深的颜色，但是颗粒太大可能会妨碍它在膜上移动的速度和结合的效率。用消光系数更高、各向异性更强的金纳米棒或者金纳米星作为标记物，在不显著影响迁移性的情况下，也能提供更强一些的光学信号。

另一种有效的途径就是加入信号放大环节。如采用酶催化信号放大技术，将辣根过氧化物酶等高效的催化酶与抗体一起连接到纳米金上。免疫反应结束后加



入相应的底物,利用酶的催化作用,产生显色反应,在 T 线处使信号被放大。还可以采用化学方法增强信号,在 T 线捕获到纳米金之后,利用银或者金的催化生长原理,在原本的纳米金表面包裹一层金属外壳,使纳米金的尺寸变大,颜色变深,从而大幅度提高检测的灵敏度。运用这些策略之后,就可以检测出微量的目标物。

(三) 可视化与定量检测

胶体金免疫层析技术最突出的优点之一就是结果的可视化。检测线上出现的红色条带可以给操作者提供一个简单的、明了的“有”或者“无”的定性判断,整个过程不需要任何昂贵复杂的仪器设备。即时、直观的特点使其很适合在基层单位、田间地头或者生产加工一线进行大范围初步筛查,极大地提高食品安全监控的效率和覆盖面。

随着风险评估以及质量控制的要求变得越发细致,仅仅依靠定性结果已经不能满足所有的需求,定量或者半定量检测变得越发重要。用便携式试纸条读卡仪或者智能手机摄像头采集并数字化分析 T 线和 C 线颜色的深浅。读卡仪内置光源和检测器可以准确测量 T 线的光密度或者反射信号强度,信号强度与样品中分析物的浓度在一定范围内存在一定的正相关关系。利用事先制作的标准曲线就可以计算出未知样品中目标物的浓度,从而完成从定性筛查到定量确证的跨越,给法规执行、溯源管理提供可靠的数据支持。

三、纳米金在其他快速检测中的应用

纳米金除了在免疫层析技术中起到核心的作用之外,由于它特有的光学、电学、催化性质,在很多其他的快速检测方法中也大放异彩。这些方法的建立又进一步拓宽了纳米金的应用范围,给食品安全检测提供更多的技术途径,具有多元化的、更高性能的技术。

(一) 比色检测

纳米金比色检测属于均相溶液中的快速检测方法。其原理就是通过目标分析物引起功能化的纳米金颗粒的聚集或者解聚,使纳米金胶体溶液宏观颜色发生变化。正常分散状态下纳米金溶液呈红色,一旦聚集颗粒间距减小,表面等离子体共振发生耦合,吸收峰红移,溶液颜色就会变成蓝色或者紫色。颜色的变化十分明显,既可以用肉眼直接读出,也可以用分光光度计来精确地测量。

实现此类检测的关键就是对纳米金进行特异性表面修饰。可以用核酸适配体

作为识别分子。在没有任何目标物（比如某种毒素或者抗生素）的情况下，纳米金保持分散状态，而当有目标物存在时，纳米金就会发生聚集。当目标物出现的时候，就会和适配体结合，使适配体的构象发生变化，进而引起纳米金颗粒的聚集。同样，利用抗体与抗原的相互作用，或者 DNA 双链的杂交反应，也可以设计出类似的比色传感系统。省去了繁琐的洗涤和分离过程，整个检测时间一般在数分钟内可以完成，很适合高通量筛选。

（二）SERS 基底

表面增强拉曼散射是一种能给出分子指纹图谱信息的超灵敏光谱分析方法。当分子吸附在纳米级的贵金属（金、银）表面上的时候，它的拉曼散射信号可以被放大上百万倍甚至更高。纳米金颗粒，尤其是其聚集体或者有序阵列，在颗粒间隙处会产生电磁场被极度增强的“热点”，这是产生巨大 SERS 增强效应的主要原因。

食品安全检测方面，纳米金能成为不错的 SERS 基底，可以检测农药残留，兽药残留，非法添加剂以及真菌毒素这类小分子污染物。常见的应用方式就是 SERS 探针，将胶体金溶液和样品提取液混合，待目标分子吸附在纳米金表面后进行拉曼光谱的测定。另一种方法是制造固态 SERS 芯片，用自组装等技术把纳米金颗粒固定在硅片、滤纸等载体上，从而创建出可以重复使用的检测平台。SERS 技术把纳米金的信号放大效果和拉曼光谱的结构识别能力融合起来，实现了对目标物的高灵敏度、高特异性检测，一般样品前处理简单，分析速度快。

（三）电化学传感器修饰

纳米金具有优良的导电性、巨大的比表面积和良好的催化活性，是修饰电化学传感器的理想材料。将纳米金固定于电极表面，一方面可大幅增加电极的有效反应面积，另一方面又能加快电极与溶液中电活性物质的电子传递速率，从而放大电化学信号。同时，纳米金的稳定物理化学性质也为之后固定酶、抗体、核酸等生物识别分子提供了一个非常好的载体。

在电化学免疫传感器和核酸适配体传感器中，纳米金应用广泛。把抗体固定在纳米金修饰的电极上，当它与目标抗原结合后，会改变界面电子传递电阻，通过电化学阻抗谱等技术就可以检测到。纳米金还可以用作信号探针的载体，在其表面同时标记上抗体和有电催化活性的物质（如酶）。探针通过夹心免疫反应被捕获到电极表面后，可以利用酶催化的底物反应产生明显的电流信号，从而达到



信号的二级放大，建立出灵敏度极高的电化学分析方法，用来检测食品中的病原菌、毒素等各种危害因子。

第二节 量子点检测技术

量子点是一类新型的半导体纳米晶体，由于它有特殊的量子限域效应和尺寸效应，表现出传统荧光材料所没有的光学特性。它的出现给食品安全快速检测领域带来新的活力，正在使检测技术向高灵敏度、高通量和高稳定性方向发展。

一、量子点的特性与优势

量子点在食品安全检测中能够得到广泛的应用，根本原因在于它有优秀的性能。由于纳米晶体所具有的特殊的光物理和化学性质，因而它适合用来开发新的传感分析技术，在污染物的低浓度检测中有着巨大的应用潜力。

（一）宽激发、窄发射与可调谐荧光

量子点最吸引人的一点就是其宽光谱吸收和窄带对称发射。这“宽激发、窄发射”特点，使得可以用同一波长的激发光去激发多种不同发射颜色的量子点，大大简化了多重分析系统的光学部分。发射光谱的半峰宽一般只有几十纳米，远小于传统的有机荧光染料，不但保证了高信噪比、高色彩纯度，也减小了光谱重叠所引起的干扰，为高灵敏度、高通量并行检测打下了基础。

更重要的是，量子点的荧光发射波长可以通过改变量子点的尺寸和组分来精确控制。根据量子限域效应，量子点尺寸越小，吸收能量后所发射光的波长就越短；反之，尺寸越大，发射光的波长就越大。如上表所示，尺寸微小的变化就会导致发射颜色产生很大的变化。

量子点尺寸与发射光色对照表

量子点核尺寸	发射波长范围	对应颜色
~2 nm	~450 nm	蓝色
~3 nm	~520 nm	绿色
~4 nm	~580 nm	黄色
~5-6 nm	~620-650 nm	橙色至红色
> 7 nm	> 700 nm	近红外

尺寸有关的荧光可调性能够覆盖从紫外到近红外广泛的波段, 可以按照实际检测需要定制合成出具有特定发射波长的量子点探针, 为构建多色编码、多靶标并列的检测平台提供了一种新的灵活方式。

(二) 高荧光量子产率与光稳定性

量子点的荧光量子产率很高。很多经过核壳结构优化、表面钝化处理的量子点, 量子产率可以达到 90% 以上。高量子产率就是指在同样的激发条件下, 量子点可以将更多的吸收能量转化为荧光发射出来, 从而得到更强的信号强度。这对于检测食品中痕量乃至超痕量的有害物质十分关键, 因为强烈的信号可以大大降低方法的检出限, 提高分析的灵敏度。

量子点的光稳定性比传统有机荧光染料要强很多。有机染料在持续光照下很容易发生光漂白, 造成荧光信号快速下降, 影响检测的准确性以及重复性。而量子点是由无机半导体材料构成的, 晶体结构比较稳定, 可以承受长时间、高强度的光激发, 不容易出现光降解。优良的抗光漂白性保证信号长时间稳定, 既可满足长时间动态过程监测的需要, 又使量子点检测试剂盒有更长的有效期和更好的批次稳定性, 完全符合食品检验快速检测系统对试剂稳定可靠性的基本要求。

量子点的化学稳定性也很好, 无机内核可以有效抵抗化学环境 (pH 值变化、氧化剂存在) 的干扰, 保证量子点在复杂的食品基质中依然能保持稳定的荧光性能。光学与化学上的多重稳定性结合在一起, 使得量子点成为一种非常理想而可靠的荧光标记物, 为开发出稳健、耐用的食品安全检测新方法打下了基础。

(三) 生物功能化与标记

为了将量子点优异的光学性能应用到生物传感中, 必须对量子点表面进行修饰, 也就是生物功能化, 使之能够特异性地识别和结合目标分析物。通常情况下, 直接合成的量子点是疏水性的, 不能直接用于水相生物体系中, 因此对量子点表面进行功能化修饰是量子点走向生物应用的关键一步。

实现量子点生物相容性与功能化的策略丰富多样, 主要包括以下几种:

1. 配体交换: 用巯基乙酸、半胱氨酸等亲水性小分子配体替换量子点表面疏水性有机配体。不但可以提高量子点在水溶液中的分散性, 也可以暴露出可用于后续连接的官能团 (羧基、氨基等)。

2. 聚合物包覆法: 用两性聚合物或者功能化聚合物包裹量子点, 形成一个亲水外壳。该方法一方面可以改善量子点的水分散性, 另一方面可以引入大量的官



能团用来连接生物分子，并且还可以提高量子点的生物相容性。

3. 二氧化硅包覆：使量子点的表面长出一层厚度可以控制的二氧化硅壳层。二氧化硅化学性质稳定、生物相容性好，其表面有大量的硅羟基可以与生物识别分子结合。

通过上述方法，量子点表面被引入了活性基团，然后可以利用成熟的化学偶联反应（碳二亚胺法、活性酯法等），将抗体、抗原、核酸探针、酶等生物分子共价连接上去，制备出功能化的纳米荧光探针，用于后续的特异性检测。

二、量子点在荧光免疫分析中的应用

荧光免疫分析属于食品安全检测的主要技术。利用量子点作为新型荧光标记物融入到该体系中，极大地提高了传统免疫分析方法的性能，也产生了许多高灵敏、高通量的新检测方式，在农兽药残留、生物毒素等领域有着广泛的应用前景。

（一）量子点标记免疫层析

量子点标记免疫层析技术，是在传统胶体金免疫层析技术基础上进行改良的一种新的方法。它用量子点代替胶体金纳米颗粒当标记物，再把经典的侧向层析技术融合起来，就实现了对食品中目标物的高灵敏度检测。量子点荧光亮度远高于胶体金的红色，信号强度比胶体金高出几个数量级，直接带来检测灵敏度的巨大飞跃，使以前胶体金方法难以检测出的低浓度污染物也无处藏身。

该技术带来的优势绝不是仅仅提高灵敏度。基于量子点的免疫层析试纸条在紫外灯下会发出明亮的荧光条带，利用便携式荧光读数仪或者带有图像分析软件的智能手机，可以对荧光信号强度进行精确定量。这样，检测结果就不只是定性的判断了，而且能给出目标物的浓度信息，使风险评估和之后的监管有了更加可靠的数据。目前该技术已经被广泛的应用于黄曲霉毒素、瘦肉精、抗生素残留、致病菌等食品安全因子的快速检测中，因其操作简便、反应迅速、结果直观、灵敏度高而受到人们的喜爱。

利用量子点荧光颜色可调的特点来改进这一技术，这就是未来的一个重要研究方向。在同一张试纸条上用不同的检测线包被不同的抗体，并用相应颜色的量子点进行标记，理论上可以实现多个指标的同时检测。这为开发可以“一站式”筛查多种兽药残留或者多种真菌毒素的快速检测试纸条铺平了道路，可以进一步提高检测效率、降低单次检测成本，很适合大规模的现场初步筛查工作。

（二）时间分辨荧光免疫分析

时间分辨荧光免疫分析是依靠信号与背景荧光在时间尺度上存在差异，从而达到减除背景干扰目的的一种技术手段，具有极高的信噪比以及分析灵敏度。传统的技术多用镧系元素螯合物作为标记物，操作比较麻烦。用长荧光寿命的量子点改良这项技术，为创建新型、高效的时间分辨检测系统开拓了新的途径。

掺杂了锰等过渡金属元素的量子点或者具有特殊结构的核壳量子点，会表现出从微秒到毫秒级长荧光衰减寿命。这与生物样品中普遍存在的纳秒级背景荧光的寿命存在巨大差异。检测时先以脉冲光源对样品进行激发，然后在激发结束后延迟一段时间后才开始采集信号。此时背景荧光早已衰减殆尽，采集到的信号主要来自长寿命量子点标记物，从而实现了背景信号的有效抑制。这种时间门控的检测策略，使量子点时间分辨荧光免疫分析技术在成分复杂的食品样品提取液（如牛奶、蜂蜜、谷物提取物）中也能得到非常低的检出限，灵敏度可以与一些大型仪器分析方法媲美。

（三）多重检测应用

量子点具有独特的光学性质，因此它在多目标的同时检测上有着无可比拟的优势。单一激发光源即可同时激发不同的量子点，而这些量子点所发射的荧光又是窄带、对称的，这就形成了实现高通量、多靶标同步检测的物理基础。食品安全领域中多种污染物常常共存于同一个基质当中，谷物中会同时受到多种真菌毒素的污染，畜禽产品当中也会残留多种抗生素。传统的单一目标检测方式效率低并且耗费时间。

基于量子点的多重检测技术正好可以克服这个难关。利用不同发射波长（即不同的颜色）的量子点分别与黄曲霉毒素 B1、玉米赤霉烯酮、呕吐毒素等不同目标物特异性抗体结合，可以得到一系列颜色编码的荧光探针。将探针混合以后和样品一起孵育，就可以一次分析中同时识别并结合多个目标物。无论是用微孔板、微流控芯片还是悬浮编码微球作为反应平台，最后都可以利用多色荧光成像系统或者流式细胞仪等设备，根据荧光的颜色和强度，同时对样品中存在的多种有害物质进行定性、定量分析。形成了“一次进样，多重检测”的检测模式，极大地提高检测效率，降低样品和试剂用量，为建立全面、快速、安全的食品风险监测网打下基础。



三、量子点在其他快速检测中的应用

量子点除了在免疫分析中作为荧光标记物大放异彩之外,其本身所具有的物理化学性质也可以直接用于传感过程,构建出各种各样的新型快速检测传感器。这些方法设计上更灵活,使量子点技术在食品安全检测领域的应用范围更广。

(一) 量子点作为荧光探针

在一些检测体系中,量子点既是信号报告单元,又是传感单元。该类应用主要是利用目标分析物与量子点之间的直接相互作用,使量子点的荧光信号发生规律性的变化,即荧光猝灭(关)或荧光增强(开)。直接传感省去了复杂的生物分子标记步骤,检测方法更加简单快捷。

一个典型的应用就是用量子点检测重金属离子。许多重金属离子(汞、铜、铅离子)可以和量子点表面的配体发生作用,或者通过电子转移、能量转移等方式,高效地把量子点的荧光熄灭掉。荧光强度降低的程度和重金属离子浓度之间存在良好的线性关系,据此可以建立简单的重金属污染检测方法。另一种办法就是设计“荧光开启”型的探针。先将某种分子固定在量子点上,使其荧光被抑制,当目标物出现并与这个分子作用时,这个分子就会从量子点上脱离,量子点的荧光就恢复了。由暗到亮的转变会产生很高的信噪比。根据量子点的自身荧光特性来检测农药残留、非法添加物等小分子物质,也有着很大的应用前景。

(二) 量子点-FRET 传感器

荧光共振能量转移,也称为荧光共振能量传递,指的是两个荧光生色团之间的一种非辐射能量转移过程。在基于量子点形成的 FRET 传感器当中,量子点一般担当能量供体,它具备宽激发光谱并且拥有窄发射光谱,所以可以称其为近乎完美的供体。当能量受体(有机染料、金纳米颗粒等)和量子点距离在 1 到 10 纳米之间的时候,量子点吸收激发光后产生的能量,就可通过 FRET 效应有效地传递给受体,使得量子点的荧光被衰减,而受体的荧光得到增强。

在食品安全检测中,可以把生物识别事件设计成调节量子点和受体之间距离的过程。可以设计一种基于适配体构象变化的 FRET 传感器来检测毒素。用一种适配体的一端连接量子点,另一端连接金纳米颗粒作为淬灭剂。在没有目标毒素的时候,适配体呈柔性的卷曲状态,量子点靠近淬灭剂, FRET 发生,荧光被猝灭。当目标毒素出现并与适配体特异性结合时,会引起适配体构象发生变化,变得刚性伸展,量子点和淬灭剂之间的距离增大, FRET 过程被阻断,量子点的荧光信

号恢复。这种“信号开启”式的传感器设计具有背景信号低、特异性高、灵敏度高的优点，已经成功地应用于生物毒素、抗生素、病原体核酸的检测。

量子点 FRET 传感器的设计方式非常灵活，除了用核酸适配体之外，还可以用抗原抗体结合、酶切反应等许多生物过程来作为距离变化的触发器。在检测蛋白酶活性时，可以设计出两端分别连接量子点和猝灭剂的多肽底物，当蛋白酶存在的时候，多肽链被切断，量子点荧光恢复。因此量子点 -FRET 传感器凭借强大的可设计性，已经发展成一个功能强大的分析平台。

（三）量子点电化学发光传感器

电化学发光是由于电化学反应而产生的发光现象，它既有电化学分析的易控性，又有化学发光分析的高灵敏度。量子点作为性能优异的 ECL 发光体，由于发光效率高、稳定性好，在水相中可以与三丙胺等共反应剂高效地发生 ECL 反应，因此受到研究者的广泛关注。

量子点电化学发光传感器基本模式是将量子点固定在电极表面。当施加一定电位时，量子点和溶液中的共反应剂同时发生电氧化或电还原反应，生成不稳定的高能中间体，中间体通过电子转移反应将量子点激发到激发态，然后跃迁到基态，辐射出光子。在此期间，凡是能对电极表面反应或者量子点发光效率产生影响的事件，都可以被用来创建传感分析方法。在捕获抗体表面修饰上涂覆上量子点的电极，待样品中目标抗原被捕获以后，由于空间位阻效应阻碍共反应剂靠近电极面，ECL 信号就会变弱。信号降低的程度和抗原浓度有关，可以用来定量检测抗原。这种把免疫识别同量子点 ECL 信号结合起来的方法，给致病菌，病毒，蛋白质毒素这些大分子污染物的检测供应了超灵敏的分析手段，它的检出限一般能到达皮克或者飞克级别。

第三节 磁性纳米材料应用

磁性纳米材料因为自身特有的物理化学性质，在食品安全快速检测方面有着广阔的应用前景。除了纳米材料普遍具有的表面效应、体积效应之外，更重要的是它在磁场下有快速响应的特点。因此它成为了一种很好的分离富集手段，为复杂食品基质中痕量污染物的快速、高灵敏度检测提供了一种新的技术途径，有力地促进了检测技术的革新和发展。



一、磁性纳米材料的特性与功能化

磁性纳米材料的核心优势就是磁场可调控性,加上容易功能化的表面,可以实现对目标分析物的特异性识别和高效捕获。充分认识材料本身的特性,对材料表面进行精确的化学修饰,是制造出满足不同检测需求的多功能纳米探针的前提,也为高效、专一的检测方法的建立打下了坚实的基础。

(一) 超顺磁性 with 磁响应性

超顺磁性是磁性纳米材料在食品安全检测中起到关键作用的物理性质。当磁性材料的尺寸缩小到纳米级别时(一般小于某临界尺寸),其内部就变成单磁畴结构。在没有外加磁场的时候,由于室温下的热扰动能量足以克服纳米颗粒的磁各向异性,所以纳米颗粒的磁矩方向会快速随机翻转,整体上不表现出磁性。因此可以以稳定的胶体状态均匀分散于溶液之中,避免由于磁性吸引所造成的团聚现象,有利于在液相体系中与目标物充分接触、反应。

一旦加上外磁场,这些超顺磁性纳米颗粒就会立即响应,产生很大的磁化强度,然后沿着磁场方向快速移动并聚集在一起。因此载有目标物的纳米颗粒能够从复杂的样品基质中高效分离出来。去除外加磁场以后,颗粒的磁性也就消失了,可以再次均匀地分布在溶液里,利于下一步的洗脱与分析。在外磁场的控制下实现可逆的聚散,极大简化了分离的过程,省去了传统的离心、过滤等步骤,也给自动化、高通量检测创造了条件。

(二) 表面修饰与生物分子偶联

裸露的磁性纳米颗粒一般表面能较高,在溶液中容易发生团聚,生物相容性不好,不能直接用于生物体系。因此表面修饰是发挥其功能、拓展其应用的不可缺少的一环。对纳米颗粒进行表面包覆或者接枝不同的化学物质,可以有效提高纳米颗粒在复杂环境中分散和稳定的能力,同时也可以赋予纳米颗粒特定的生物识别能力。

表面修饰的策略丰富多样,常见的修饰物包括无机材料与有机高分子两大类。

1. 无机材料包覆:主要是采用二氧化硅、金、碳等作为包覆材料对磁核进行包覆。其中二氧化硅包覆技术最成熟、最常用。它能在磁核表面形成一层化学性质稳定、生物惰性的壳层,有效地阻止磁核的氧化或者泄漏。二氧化硅壳层表面有大量的羟基官能团,可以作为生物分子的连接位点。

2. 有机高分子修饰,采用葡聚糖、壳聚糖、聚乙二醇等天然或者合成高分子

对纳米颗粒进行修饰，可以明显提高纳米颗粒的生物相容性以及在水相中的分散稳定性。在 高分子链上引入羧基、氨基等官能团，为后面连接抗体、核酸适配体、酶等生物识别分子做好了铺垫。

经过这些表面修饰之后，磁性纳米颗粒就完成了功能化，变成了可以特异性捕获目标物的“纳米探针”。将可以特异性识别黄曲霉毒素 B1 的抗体偶联到二氧化硅包覆的磁性纳米颗粒表面，就可以制备出能够高效富集谷物样品中微量毒素的免疫磁珠。这种把磁响应性同生物特异性识别融合起来的 做法，就是磁性纳米材料在食品安全快速检测里起关键作用的基本原理。

（三）常见磁性纳米材料

在众多磁性纳米材料中，四氧化三铁 (Fe₃O₄) 纳米颗粒由于其制备方法简单、成本低、生物相容性好、超顺磁性好等优点，被研究得最多，应用最广。共沉淀法是制备四氧化三铁纳米颗粒最经典和最常用的方法之一，该方法在碱性条件下亚铁盐和铁盐共同沉淀合成纳米颗粒，操作简便、易于实现规模化生产。溶剂热法、微乳液法和高温热解法等都是制备高品质磁性纳米颗粒的重要方法。

常见磁性纳米材料及其特性对比表

材料类型	主要特性	主要应用领域
四氧化三铁 (Fe ₃ O ₄)	生物相容性好，超顺磁性强，制备成本低	生物分离、磁共振成像、催化剂载体、样品前处理
尖晶石铁氧体 (如 MnFe ₂ O ₄ , CoFe ₂ O ₄)	磁各向异性可调，磁化率高，稳定性良好	磁热疗、高频器件、数据存储、生物医学成像
磁性核壳复合材料 (如 Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ , Fe ₃ O ₄ @MOFs)	功能多样化，比表面积大，稳定性增强，可控性高	靶向药物递送、高选择性富集、多功能诊疗平台、催化

为了更直观地比较这些材料的特点，上表给出了这些材料的一些关键数据。除了单一组分的四氧化三铁之外，其它类型的铁氧体磁性纳米颗粒，例如锰铁氧体、钴铁氧体等，也因为具有优良的磁学性质而受到人们的关注。近些年来，为了达到更高的灵敏度以及选择性，以磁性纳米颗粒为基材的复合材料成了新的研究方向。用磁性核为基体，把具有高比表面积和丰富功能位点的金属有机框架材料、碳纳米管、石墨烯等作为外壳，可以构建出吸附能力更强、催化活性更高的核壳结构纳米复合材料。这些复合材料把磁核的快速分离特性同壳层材料的优良性能结合起来，明显改善了对目标污染物的富集效率以及检测灵敏度，在农药残留快速检测等方面有着很大的应用潜力。



二、磁性纳米材料在样品前处理中的应用

食品样品基质非常复杂,有大量蛋白质、脂肪、色素等干扰物。因此,样品前处理是否得当,直接影响到后面仪器分析结果是否准确可靠。磁性纳米材料由于快速分离的特性,发展出了以磁固相萃取为代表的新型前处理技术,使操作更加简单,工作效率更高。

(一) 磁固相萃取

磁固相萃取是利用磁性纳米材料作吸附剂的一种新的样品前处理技术。该技术把功能化的磁性纳米颗粒当作分散的固相萃取剂,直接加入到待测液体样品当中。经过充分的振荡混合后,磁性纳米颗粒由于具有巨大的比表面积和表面修饰的特异性官能团,可以很快并且高效地吸附并捕获样品中的目标分析物。吸附完成之后,不需要传统的过滤或者离心步骤,只需要在容器外面施加一个强磁场,磁性纳米颗粒就会很快聚集到容器壁上,从而实现样品溶液的快速分离。弃去上清液,加入适量的洗脱溶剂,在移去磁场后使颗粒重新分散,即可得到从磁珠上洗脱下来的目标物,得到的净化液可以直接用于后续仪器分析。

磁固相萃取相比于传统的固相萃取操作更简便,省去了填料装柱、活化平衡、样品过柱等繁琐耗时的步骤,大大缩短了前处理时间。同时,由于磁性吸附剂以分散状态存在于样品溶液中,传质阻力小,吸附平衡建立快,萃取效率高。该方法已被用在食品中的重金属离子、农药残留、兽药残留、真菌毒素等各种污染物的检测上,具有较强的基质净化能力,有着很广阔的应用前景。已经有研究人员利用磁性纳米材料表面进行特定的配体修饰,实现了对金枪鱼、大米样品中痕量铅和镉的选择性富集。

(二) 目标物富集与纯化

食品中有害物质残留浓度一般都很低,低于常规分析仪器的检测限。因此,在检测前对目标物进行有效的富集,是实现痕量甚至超痕量分析的关键。磁性纳米材料比表面积大,能在小体积里提供大量活性位点,实现低浓度目标物的高倍率富集。通过设计并合成对某种污染物有高亲和力的功能化磁性纳米材料,就可以从复杂的基质中选择性地捕获和浓缩污染物。

利用分子印迹技术可以在磁性纳米颗粒表面形成一层聚合物,在聚合物内部构造与目标分子形状、尺寸和官能团排布完全吻合的三维空腔。该空腔像特制的

锁一样,可以特异性识别结合作为钥匙的目标分子,从而实现高选择性富集。利用抗原和抗体之间高度特异性的免疫反应,将单克隆抗体固定在磁珠上制备成免疫磁珠,已经成为了富集特定细菌、病毒或者毒素的经典方法。利用免疫磁珠对谷物样品中的黄曲霉毒素进行富集时,前处理的时间可以缩短到30分钟以内,使检测效率大大提高。将磁分离技术与高效的富集手段结合使用,既能有效地去除基质的干扰又能提高目标物浓度几十倍到几百倍,进而大幅度地提高之后分析方法灵敏性。

(三) 自动化与高通量前处理

由于食品安全监管对检测通量要求越来越高,传统的手动、低通量的样品前处理方法已经不能满足大规模筛查的需要。磁性纳米材料容易被磁场操控的特点,使其可以与自动化设备很好地结合,实现样品前处理过程的自动化和高通量。基于磁固相萃取的自动化前处理系统一般由磁棒处理器、多孔板、移液工作站等几个主要模块组成。

样品与功能化的磁珠被预先放置在96孔深孔板中,磁棒在孔内做旋转和上下移动,从而达到快速混匀液体、提高目标物吸附效率的目的。吸附完成以后,磁棒吸附住磁珠,把磁珠整体从样品孔移到清洗孔,再移到洗脱孔,自动完成淋洗和洗脱过程。无需人工干预,一台机器可以处理几十个样品,提高处理通量,由于标准化的程序减小了人为操作带来的误差,结果更稳定、重复性更好。这样的自动化前处理平台极大减轻了实验人员的劳动负担,把以前很耗时的样品处理缩短到十几分钟以内,给突发性食品安全事故的快速应急处置、大范围日常检测提供了强有力的技术保障。

三、磁性纳米材料在生物传感器中的应用

磁性纳米材料不但是优秀的前处理工具,也是制造新型生物传感器的理想平台,它独特的磁学性质给传感技术带来了新的机遇。利用磁性纳米材料作信号标签或者信号转换单元,可以开发出许多高灵敏度、低成本的快速检测新方法,有力地推进了现场快速检测技术的发展。

(一) 磁性免疫传感器

磁性免疫传感器是一种基于抗原抗体特异性结合反应的生物传感器,它巧妙地把磁性纳米颗粒用作信号载体或者分离工具。在典型的应用模式中,用免疫磁



珠从样品中快速分离、富集目标病原菌或者毒素。接着加入能与目标物不同位点结合、并标记有酶（如辣根过氧化物酶）或荧光分子的第二抗体，形成“磁珠-目标物-标记抗体”的三明治夹心结构复合物。用磁分离法去除未结合的标记物，然后加入相应的显色或荧光底物，就可以根据颜色变化或者荧光强度来对目标物进行定性或者定量检测。

将磁分离富集和酶联免疫吸附或者荧光免疫分析结合起来的技术，被称为磁性酶联免疫吸附测定或者磁性荧光免疫测定。它既有传统免疫分析方法高特异性、高灵敏度的优点，又有磁分离步骤简化操作、缩短检测时间、降低复杂样品基质背景干扰的优点，在食源性致病菌、真菌毒素等大分子污染物的检测中应用广泛，具有很好的现场快速筛查潜力。

（二）磁性分离与检测一体化

传统的多步检测法不但步骤繁杂，而且容易产生累积误差。为了达到样品入、结果出的目的，研究人员正致力于研发集分离、富集、检测为一体的集成化传感平台。磁性纳米材料在这类一体化设计中起着关键的作用，利用结构上的设计，可以将磁分离过程和信号产生过程结合起来。

1. 纳米酶活性传感器：一些磁性纳米材料（如四氧化三铁）本身具有类似过氧化物酶的催化活性，称为纳米酶。利用它的特性可以构造新型比色传感器。检测有机磷农药时，可以利用该类农药对乙酰胆碱酯酶的抑制作用。农药存在时酶的活性受到抑制，催化产物减少，这种变化可以进一步调节磁性纳米酶的催化活性，最终使显色底物颜色变化的程度与农药浓度相关联，实现可视化检测。

2.2、微流控芯片上的集成：将磁性纳米颗粒和微流控芯片技术结合，可以在芯片上构建出集成型的微型分析系统，即“芯片实验室”。样品和磁珠在微米级的通道中混合反应，在特定区域使用微型磁体精确控制磁珠的捕获、清洗和移动，在下游的检测区进行信号读取。整个分析过程在封闭的芯片内完成，具有试剂消耗少、分析速度快的特点，是未来实现现场即时检测的重要发展方向。

第四节 碳纳米材料检测方法

伴随着纳米科技的蓬勃发展，由于碳纳米材料具有独特的物理化学性质，所以在分析科学、特别是食品安全快速检测技术方面展现出巨大的应用潜力。这类材料主要有碳纳米管、石墨烯及其衍生物、碳量子点等，它们一方面可以大大提高检测方法的灵敏度、选择性以及响应速度，另一方面也为开发便携式、低成本的现场检测设备打开了新的大门。下面表格中总结了各种主要碳纳米材料的特性及用途。

主要碳纳米材料特性及应用对比表

材料类型	维度	主要特性	在检测中的主要作用	典型应用实例
碳纳米管	一维	优异的导电性、巨大的比表面积、中空管状结构	电极修饰、生物分子载体、信号标记物	农药残留、病原菌、酶活性检测
石墨烯及其衍生物	二维	极高的载流子迁移率、超大的理论比表面积、独特的荧光淬灭效应	电极修饰、场效应晶体管沟道、荧光淬灭剂	农药、霉菌毒素、重金属离子检测
碳量子点	零维	强烈的荧光发射、高光稳定性、良好的生物相容性、低毒性	荧光探针、离子识别探针	重金属离子、农药、非法添加剂检测

一、碳纳米管在快速检测中的应用

碳纳米管属于一种典型的维纳米材料，从被发现的那一刻起就吸引了科学界的注意。它独有的管状结构、优良的导电性以及巨大的比表面积，使得其在构建高性能生物传感器方面具有得天独厚的优势，给食品中痕量污染物的准确、快速检测提供了新的技术方案。

（一）碳纳米管的电化学特性

碳纳米管本质上是石墨烯片层卷曲而成的无缝中空管体，构成单元碳原子主要以 sp^2 杂化形式存在，形成高度离域的 π 电子体系。独特的电子结构使碳纳米管具有很好的导电性，可以作为理想的导电介质，促进生物分子和电极表面之间的电子传递。根据卷曲手性的不同，单壁碳纳米管可以是金属性或者半导体性，多壁碳纳米管一般具有较好的金属性，导电性比玻碳、石墨等传统碳素材料要好。

除了良好的导电性外，碳纳米管还有很大的比表面积以及丰富的表面活性位点。纳米级的管状结构给酶、抗体、核酸等生物分子的固定提供了广阔的平台，



可以承载大量的识别分子,从而极大地提高检测信号。碳纳米管的端部以及管壁缺陷处类似石墨的边缘平面,电催化活性很高,可以明显减小很多电化学反应的过电位,加快反应动力学进程。综合上述优秀的电化学性质,碳纳米管成为了制造高灵敏度电化学传感器的优秀纳米功能材料,从而提升了食品中有害物质的检测水平。

(二) 碳纳米管修饰的电极传感器

利用碳纳米管优异的电化学性能来改良传统的电极,是形成新型食品安全传感器的主要手段。利用碳纳米管和金、铂、玻碳等电极基底材料复合起来可以形成三维网络结构的纳米复合界面。该界面大大地增大电极的有效表面积,也给电化学反应提供了更多的活性位点,从而提高了传感器的电流响应信号和检测灵敏度。

在传感器的构建中,碳纳米管就如同无数个微小的“导线”,能够很好地把生物识别分子的活性中心和电极表面连接起来,从而使得两者之间可以快速、直接地进行电子传递。以酶传感器为例,很多酶的氧化还原活性中心隐藏在蛋白质骨架内部,直接的电子传递很困难。如果把酶固定在碳纳米管修饰的电极上,碳纳米管就可以“穿透”蛋白质的绝缘外壳,使酶活性中心与电极之间的电子交换更加顺畅,从而实现对底物的高灵敏度检测。该机制已经被用于有机磷农药残留检测,通过固定乙酰胆碱酯酶并测定其被抑制程度来定量分析农药。

碳纳米管修饰电极也被广泛用作核酸适体传感器和免疫传感器的构建。通过将对某种特定目标物(例如病原菌、霉菌毒素、兽药残留)有高亲和力的核酸适体或者抗体,固定到功能化的碳纳米管电极表面,当目标物被捕获时,会引起电极界面阻抗、电容、电流等性质的变化。碳纳米管的加入使得信号变化被放大,可以进行痕量检测,检测限可低至纳克甚至皮克,完全符合食品安全领域越来越严格的检测标准。

(三) 作为载体与标记物的碳纳米管

在生物分析方面,碳纳米管可以作电极的修饰材料,也可以充当多功能载体和高效信号标记物。碳纳米管具有较大的比表面积和易于功能化的表面,是固定生物识别分子的理想载体。通过化学方法在其表面引入羧基、氨基等官能团后,就可以很容易地与抗体、酶、核酸等生物分子发生共价结合,制备出稳定、生物活性高的探针。探针生物分子负载量大,碳纳米管的刚性结构也有利于生物分子的天然构象和活性的保持。

碳纳米管还可以用作免疫分析中的新型的信号标记物,代替传统的酶或者荧光素。具体做法是将大量的酶(辣根过氧化物酶等)或者电化学活性物质(金属纳米粒子、二茂铁等)负载在一根碳纳米管上,再将此复合物与二抗连接。夹心免疫分析中一个碳纳米管标记物就可以引入成千上万个信号分子,从而产生指数级的信号放大效应,使检测灵敏度大大提高。该技术在检测食品中沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7 等致病微生物方面有巨大的潜力,在数小时之内就可以获得可靠的检测结果。

二、石墨烯及其衍生物在快速检测中的应用

石墨烯是种革命性的二维纳米材料,它有着近乎完美的单原子层构造,并且具备一系列特殊的物理化学性质,正促使分析检测技术发生改变。石墨烯及其衍生物氧化石墨烯、还原氧化石墨烯给食品安全快速检测赋予了崭新且功能强大的平台,这个平台可以灵活地进行设计。

(一) 石墨烯的电化学与光学特性

石墨烯是由碳原子以 sp^2 杂化轨道构成的一种蜂窝状平面薄膜,是石墨、碳纳米管和富勒烯的基本结构单元。其主要特点有极高的载流子迁移率和极大的理论比表面积,因此它在电化学传感领域有着非常大的应用潜力。石墨烯能给电化学传感器赋予广阔的反应界面和良好的电子传导通道,进而明显改善电信号、削减检测限。它完美的二维平面结构也使其对表面环境的变化十分敏感,任何吸附在它表面的分子都会引起它的电学性质发生显著变化。

氧化石墨烯是石墨烯的一种氧化物,在它的片层上分布着羟基、环氧基、羧基等含氧官能团。这些官能团的存在虽然破坏了石墨烯原有的 sp^2 共轭网络,使其从导体变为绝缘体,但是也使石墨烯具有了很好的水分散性以及丰富的化学修饰位点。因此氧化石墨烯能方便地和其它功能分子(抗体、核酸探针)结合,形成功能化的生物传感界面。通过化学或者热还原的方式去除氧化石墨烯表面的含氧官能团,就可以得到还原氧化石墨烯。它在一定程度上恢复了石墨烯的导电性,并且保留了一部分官能团,既有良好的导电性又有较好的功能化能力。

从光学性质来说,石墨烯对紫外到远红外的宽光谱范围内的光都有很强的吸收性。尤其是氧化石墨烯,由于其特有的电子能带结构,可以有效地抑制邻近荧光基团的荧光,在构建荧光共振能量转移的“开关”型荧光传感器时起着非常重



要的作用。该依赖于距离的荧光淬灭效应，给创建高选择性的生物分子检测方法提供了一种新的传感途径。

（二）石墨烯修饰的生物传感器

石墨烯及其衍生物由于具有很大的比表面积和优良的导电性，已经成为了制作高性能生物传感器的重要材料。石墨烯用于传感器件，可以明显改善传感器性能，实现食品中多种有害物质的快速、灵敏检测。在这些传感器中，石墨烯一般充当信号转换和放大的主要元件。

在众多基于石墨烯的生物传感器当中，电化学传感器与场效应晶体管传感器是研究得最广泛、最深入的两种类型。

1. 电化学传感器：将石墨烯或其衍生物涂覆在电极表面上，可以构成高灵敏度、高选择性的电化学传感平台。石墨烯有巨大的表面积可以富集待测物，高导电性又加快了识别分子与电极间的电子传递。例如，在石墨烯修饰的电极上固定特定的酶，可以检测相应的底物或者抑制剂（农药残留）；固定了抗体或者核酸适体的石墨烯电化学传感器，在和目标病原菌或者毒素结合之后，会产生明显的电化学信号变化，从而实现精准的定量检测。

2. 场效应晶体管传感器：石墨烯场效应晶体管传感器是具有前景的超灵敏检测技术。其工作原理是用石墨烯做晶体管的导电沟道，该沟道的电导率对表面电场的变化非常敏感。当带电的生物分子（DNA、蛋白质等）与功能化后的石墨烯沟道表面发生特异性结合时，就会引起局部电场的变化，进而改变石墨烯沟道的载流子浓度以及电导率。通过测量电导率的变化就可以对目标物进行无标记、实时、超高灵敏度的检测，理论上甚至可以到达单分子检测的水平。

（三）石墨烯在荧光淬灭中的应用

氧化石墨烯由于独特的二维结构以及宽波段光吸收的特点，已经被证明是荧光淬灭剂中的一种极好材料。利用非辐射能量转移过程，可以有效地淬灭荧光基团的荧光，是开发新型荧光检测方法的基础。该类传感方法又叫作开闭模式，具有操作方便、响应迅速、背景信号低等优点。

其基本的工作原理就是荧光共振能量转移。设计带有荧光标记的生物探针（单链DNA、核酸适体或肽链）。没有目标物存在时，探针依靠 π - π 堆积、静电等相互作用吸附于氧化石墨烯上。因为探针上的荧光基团和氧化石墨烯表面的距离很近，一般在10纳米以内，荧光基团受激发后产生的能量会以非辐射的方式转

移到氧化石墨烯上,使荧光信号被抑制,此时系统处于关闭状态。

当体系中存在待测目标物时,探针就会与目标物发生特异性结合。核酸适配体探针与目标蛋白或者小分子结合之后形成稳定的三维结构,单链 DNA 探针与互补的 DNA 链杂交之后形成双链结构。特异性结合的亲和力远远大于探针与氧化石墨烯的非特异性吸附力,使得探针-目标物复合物从氧化石墨烯表面脱离进入溶液。

荧光探针距离氧化石墨烯这个淬灭平台越远,荧光基团和淬灭剂之间的距离也就越大,能量转移过程被阻断,原本被淬灭的荧光可以重新释放出来,系统就变成了“开启”状态。根据荧光强度恢复的程度可以对目标物进行定量分析。以石墨烯荧光淬灭为原理的传感平台已经成功应用于赭曲霉毒素 A 等霉菌毒素、汞离子等重金属离子、兽药残留、致病菌等食品安全指标的检测中,具有很高的灵敏度,并且有较好的选择性。

三、碳量子点在快速检测中的应用

碳量子点属于一类新的零维碳基纳米材料,它具备优良的光学性质,良好的生物相容性,低毒性,容易制备等特点,在食品安全快速检测方面迅速崭露头角。传统半导体量子点的有前途的替代品,为开发绿色、高效的分析方法打下了坚实的基础。

(一) 碳量子点的荧光特性

碳量子点一般指的是直径小于 10 纳米的碳基纳米颗粒,其内部主要是由 sp^2 、 sp^3 杂化碳原子组成,表面附有很多含氧或含氮官能团(羧基、羟基、氨基)。这些表面基团既使碳量子点具有良好的水溶性,又为之后的功能化改性提供了方便。碳量子点最令人称奇的特性就是它的强且可调的光致发光(也就是荧光)。

碳量子点比传统的有机染料有更好的光稳定性、抗光漂白性,在长时间的光激发下荧光强度衰减较慢。它们的荧光发射波长会随着激发波长的不同而发生变化,表现出激发依赖性的发射特性,这就为多色成像以及多组分的同时检测创造了条件。部分碳量子点的荧光发射还与它的尺寸有关,即表现出量子限域效应,调节合成条件来控制它的尺寸就可以调节它的荧光颜色。碳量子点的合成方法多种多样,成本低,甚至可以用果皮、蔗糖、柠檬酸等天然生物质作为碳源,通过简单的水热法或微波法制备,体现了绿色化学的思想。



（二）作为荧光探针的碳量子点

由于碳量子点有独特的荧光性质，所以被广泛地用来开发新型荧光探针，用来检测食品中的一些有害物质。其传感原理是，待测物和碳量子点相互作用后会引起荧光信号的变化，变化形式一般是荧光淬灭（信号关闭）或者荧光增强（信号开启）。相互作用可以有静电吸引、氢键、配位、电子转移或能量转移等。

在信号关闭模式中，被测物可以淬灭碳量子点的荧光。像一些含有硝基芳香环的农药分子，就可以通过电子转移的过程，从受激发的碳量子点那里抢走电子，造成荧光淬灭。荧光淬灭的程度和待测物浓度呈线性关系，因此可以建立定量分析的方法。另一种情况下，碳量子点可以和其它物质（比如金属纳米粒子）形成能量转移对，当目标物促使二者聚集的时候，也会出现荧光淬灭。

与信号关闭模式相比，信号开启模式是从无到有的信号突变，背景干扰小，一般灵敏度更高。一种常见的信号开启方式是用待测物来阻止淬灭剂对碳量子点的淬灭。检测酶活性的时候，先让碳量子点和淬灭剂结合造成荧光熄灭，目标酶可以特异性地降解淬灭剂，使碳量子点的荧光恢复。另一种信号开启机制就是待测物自身可以增强碳量子点的荧光，通过与碳量子点表面基团结合来抑制非辐射跃迁通道，提高荧光效率。基于碳量子点的荧光探针已被成功地用来检测食品中的农药残留、兽药残留、生物胺以及非法添加剂等。

（三）碳量子点在金属离子检测中的应用

重金属离子是食品和环境里的一类重要污染物，会对人的健康造成极大的危害。碳量子点是发展快速、灵敏、低成本的重金属离子检测方法的有效工具。检测机理主要是依靠金属离子和碳量子点表面官能团之间的相互作用，而这种相互作用会大大改变碳量子点的荧光特性。

碳量子点表面富集的羧基、羟基等官能团是天然的金属离子配位位点。当溶液中有汞离子、铜离子、铅离子或者铁离子等重金属离子存在的时候，这些重金属离子会和碳量子点表面官能团产生强烈的配位作用。配位作用可以使受激发的碳量子点和金属离子之间发生电子转移，形成一条有效的非辐射能量消耗途径，从而使得碳量子点的荧光被明显抑制。通过测量荧光强度衰减的程度来定量分析重金属离子。为了提高检测的专一性，可以对碳量子点表面进行修饰，即加入对某金属离子具有特异识别能力的配体或者核酸序列，从而有效消除其它共存离子的干扰，实现对目标金属离子的特异性检测。

第八章 微流控芯片快速检测技术

微流控芯片技术，被誉为芯片上的实验室，它在微米尺度的芯片上构建起完整的分析系统，可以对微量流体进行精准控制。把样品处理、反应、分离以及检测这些通常在实验室里进行的功能浓缩在小小的芯片上，这给食品安全方面带来了巨大的改变。它大大缩短了检测周期，也因为便携性、高度自动化，给食品安全风险的现场快速检测提供强有力的技术支持。

第一节 微流控芯片设计原理

微流控芯片的强大功能，是从其精巧的设计开始的。该过程融合了流体力学、材料学以及微加工技术等诸多会聚学科的智慧。成功的芯片设计要精确构建微通道网络，慎重选择芯片材料和制备工艺，还要高效整合流体控制模块。深入认识这些基本的设计原理，这是研发与改进专门用于某种食品安全检测目的（例如农兽药残留，病原微生物，生物毒素等等）芯片时所必需具备的根基。

一、微流控芯片的基本概念与特点

微流控芯片的精髓在于它的微观结构以及由此产生的独特物理性质。它把繁杂的分析化学流程微型化到了一个便携的平台上，呈现出和传统分析方法完全不一样的优点。充分认识其基本概念及集成化、低消耗、高通量等主要特点，是掌握并成功应用这项技术进行食品安全快速检测的前提。

（一）微通道网络与流体操控

微流控芯片的功能核心就是芯片内部设计好的微通道网络，微通道的尺寸一般为几十到几百微米。在这个尺度之下，流体的物理性质和宏观世界大相径庭。由于雷诺数非常小，流体基本上处于稳定的层流状态，不同流体之间发生混合主要是靠分子扩散。这就使得精确控制流体边界、形成稳定的浓度梯度成为可能。

同时表面张力、黏性力、毛细效应等界面效应的影响变得很大，成为决定流体运动的主要力量。研究人员就是通过这些微尺度效应来利用 Y 型、T 型或者蛇



形微小通道完成流体的汇合、分流、混合和分离等基本操作。对于微通道网络里流体行为的深入认识和精确预估，乃是实现样品以及试剂自动化、程序化操控，进而使整个芯片功能得以充分发挥的关键所在。

（二）集成化与微型化优势

微流控芯片最被人称道的就是它的高度集成化、微型化，因此得享“芯片实验室”之美誉。传统的食品安全检测流程一般包含样品前处理、生化反应、分离纯化、信号检测等许多独立的步骤，除了需要大型仪器之外，还伴随着繁琐的离心、移液等人工作业。微流控技术可以把混合器、反应室、分离柱、传感器这些功能单元，全都微缩并集成到一块只有几平方厘米的芯片上。

高度集成使分析仪器体积小、重量轻，具有良好的便携性，给食品生产、流通等环节现场快速检测创造条件，实现了分析流程自动化。样品被注入进样口后，会按照已经预设的程序完成全部的分析步骤，最大程度地减少由于人为操作而引起的误差来源，保证分析结果的稳定性。整个系统处于封闭状态，可以避免样品之间互相污染，也使操作人员免于接触有害试剂，安全性更高。

微型化、集成化的双重好处，使检测设备向智能化、便携化方向不断发展。如果能够与智能手机等移动终端相融合，就可以做到数据的实时读取、分析以及上传到云端，从而建立分布式的网络化食品安全监测网络，给及时预警和精准溯源提供强大的支持。

（三）低消耗与高通量潜力

微流控芯片微米级尺寸带来的最大的好处就是样品、试剂消耗量极低。分析过程所用的液体体积一般是微升、纳升甚至皮升级，比传统检测法需要消耗毫升级别的液体要少几个数量级。既大大降低了单次检测的成本，在使用昂贵抗体、酶、核酸探针等生物试剂时尤为明显，同时又使对珍稀、微量样品做多项目分析成为现实。

由于其灵活的设计，微流控芯片还有很大的高通量分析潜力。在芯片上形成并行的微通道阵列，可以对多个样品实施相同的检测，或者对一份样品执行多种不同的检测。每一个通道就是一个独立的反应单元，互不干扰，在极短的时间内可以得到大量的检测数据。并行处理的优势在于可以对大量样品进行快速检测，在食品进出口检验、疫病暴发监测等场景下可以大大提高检测速度，及时作出反应。

二、微流控芯片的材料与制备

微流控芯片由理论走向实际，不能缺少材料科学和微加工技术的坚实支撑。芯片材料的好坏直接影响到芯片的光学性能、生物相容性、化学稳定性和制造成本，制造工艺的先进程度决定着微结构加工的精度和批量生产的可行性。两者一起构成了微流控芯片制造的基础，是实现芯片功能的物理保证。

（一）常用材料

微流控芯片所用材料种类繁多，根据应用要求以及成本考虑，大致可以分为聚合物、无机材料和纸基材料三大类。材料的选择在芯片的设计和制造中是十分重要的。

1. 聚合物材料是目前使用最广泛的材料之一。其中聚二甲基硅氧烷由于其综合性能最好而被广泛使用。它有很好的光学透明性（对紫外和可见光透明），良好的生物相容性，较好的透气性（利于细胞培养），其材质较软，容易与不同的基底密封。用软光刻法，就能快而又便宜地复制出细致的微结构。聚甲基丙烯酸甲酯、聚碳酸酯等热塑性聚合物，由于硬度高、成本低，且可以通过注塑或热压等方法进行大规模的工业生产，因此也得到了广泛的应用。

2. 无机材料主要为硅和玻璃，在微流控芯片研究上最早使用。这类材料表面性质稳定，可以承受有机溶剂、高温高压，加工工艺成熟，最适合做毛细管电泳分离、精密电极集成。玻璃的光学性能极好，适合做各种光学检测。但是硅、玻璃的加工需要昂贵的光刻、刻蚀设备，工艺流程复杂、成本高，不适用于一次性快速检测产品。

3. 纸基材料作为新型芯片基材，近些年来引起人们的关注。纸张具有天然的多孔性，因此具有毛细作用，能驱动液体自发流动，不需要外力泵送。成本低、易加工、便于废弃处理等特点使其非常适合资源匮乏地区或者即时检测的一次性诊断工具的开发。借助蜡打印之类简单的手段在纸上创建疏水边界，就能形成特定的流路与反应区。

各类材料的详细特性对比可见下表。



微流控芯片常用材料特性对比表

材料类型	主要代表	优点	缺点	常用加工技术
聚合物	聚二甲基硅氧烷、 聚甲基丙烯酸甲酯	光学透明性好、生物 相容性佳、成本低、 加工快速	对部分有机溶剂 耐受性差、表面 性质不稳定	软光刻、热压印、 注塑成型
无机材料	玻璃、石英、硅	化学性质稳定、耐有 机溶剂、耐高温高压、 电学性能好	材质脆、成本高 昂、加工工艺复 杂、周期长	光刻、湿法 / 干法刻蚀
纸基材料	滤纸、色谱纸	成本极低、可降解、 无需外力驱动流体	精度较低、流速 不易精确控制、 蒸发效应明显	蜡打印、喷墨打印

(二) 微加工技术

微加工技术就是用设计的微通道网络、反应室等微结构精准复制到芯片基材上的一种手段。不同的材料要搭配对应的加工技术，而这些技术的精确度、花费以及速度，一起决定着芯片的好坏及其适用的场合。

以聚二甲基硅氧烷为代表的弹性聚合物，其最主流的加工方法是实验室里广泛使用的软光刻技术。该技术首先用光刻等工艺制作出带有凸起微结构的母模，然后把液态 PDMS 预聚体浇注到母模上，待其固化之后再移除母模，就得到凹陷的微通道 PDMS 副本。此法对设备要求低、制作周期短、成本低，很适合快速原型制造和科研。

对于玻璃、石英、硅这些硬质材料，加工还是以微机电系统工艺为主，主要工序为光刻和刻蚀。光刻是用紫外光透过掩模版，把设计好的图形转印到涂有光刻胶的基片上，形成保护图案；然后用化学腐蚀液（氢氟酸对玻璃）或等离子体对未被保护的区域进行刻蚀，从而形成所需要的沟槽结构。该工艺精度可达到亚微米级，但是流程繁杂、成本高。

随着技术的发展，适合于聚合物材料大规模生产的工艺也日趋完善。热压印技术就是在一定的温度和压力下，用带有微结构的模具将微通道压印到热塑性塑料片材上。注塑成型工艺与工业塑料制品的生产过程相似，把熔融的聚合物注入带有微结构的模具里，冷却成型后脱模，生产效率高，是商业化产品批量生产的首选。近些年来，高精确度的 3D 打印技术也被应用到微流控芯片的制作当中，可以快速创建出复杂的三维流道，给芯片的设计带来了前所未有的自由。

（三）芯片封合技术

微加工技术制得的基片一般带有开放的沟槽，为了形成可供流体通过的封闭微通道网络，必须将基片与另一片盖板牢固地封合。芯片封合是微流控芯片制造的最后一道关键工序，它的质量好坏直接影响芯片是否会漏液、能否承受内部压力，以及能否保持良好的生物相容性。

对于聚二甲基硅氧烷芯片来说，最常用的封合方法就是等离子体键合。采用氧等离子体处理 PDMS 和盖片（盖片一般为玻璃或者另一片 PDMS）的表面，使其表面产生大量的羟基。当两个已经处理过的表面接触时，就会发生脱水缩合反应，形成牢固的共价键连接，从而实现永久、不可逆的密封。这种封合方式强度高，而且不会加入任何可能引起污染的粘合剂。对于用聚甲基丙烯酸甲酯、聚碳酸酯等热塑性聚合物做成的芯片，一般采用热键合或溶剂键合。热键合是在高于材料玻璃化转变温度的条件下，将两片芯片对准并加压，使界面处的高分子链发生扩散、缠结，实现封合。用胶黏剂（环氧树脂）或者双面胶带粘合也是一种简单快速的方法，但是要注意胶黏剂不能与分析物流体发生反应，也不能堵塞微通道。

三、微流控芯片的流体操控技术

为了能够在微米级的通道网络里实现样品、试剂的精确输送、混合、分配、分离，必须依靠先进的流体控制技术。这些都是构成驱动芯片内生物化学反应按程序进行的“动力系统”。流体操控技术的发展从最初简单的外加压力驱动，集成片上微阀、微泵，再到最新的液滴微流控，都是提高微流控芯片自动化和集成度的重要手段。

（一）压力驱动与电渗驱动

压力驱动是最直观最常用的流体驱动方式。其基本原理就是用微通道的进出口压差来实现流动。压力源可以由外部的精密注射泵、蠕动泵或者压力控制器提供。压力驱动技术成熟、控制稳定、流量范围大，不要求流体的电学性质，适用于任何种类的液体。通过准确控制泵的流速或者压力，可以达到对芯片内液体的定量输送。

电渗驱动就是利用电场来控制流体的又一种重要的技术。电解质溶液与带电的微通道内壁接触时，会在内壁上形成一个电荷区域，叫做双电层。如果沿着通



道方向加上一个电场,电场力就会推动双电层中的净电荷移动,从而经过黏滞力的作用使整个液体柱前进,这就是所谓的电渗流。

电渗流的流速剖面是平推状的,即通道截面内各处流速相等,这与压力驱动下呈抛物线形的流速剖面大相径庭。平推流特性对于要求高精度分离的应用(芯片毛细管电泳)来说有非常大的好处,可以避免由于流速不同而产生的谱带变宽。电渗驱动系统结构简单,不需要复杂的外部泵,但是流速和方向受溶液离子浓度、pH 值以及通道壁面化学性质的影响,只能用于导电溶液。

(二) 微阀与微泵技术

要在芯片上实现更复杂的流体路径切换、序列进样、循环反应等高级功能,就必须引入可以控制流体通断和流向的微阀、微泵。它们是实现微流控系统自动化的关键器件,也是实现微流控系统功能集成化的核心。

1. 微阀起到类似宏观世界中阀门的作用,可以对微通道内液体的启停以及流向的切换做出精确的控制。根据结构和驱动原理的不同,微阀有很多种类。以聚二甲基硅氧烷为材料制成的多层结构“气动微阀”使用最广泛。该类阀门在主液流通道上方开设一个可以变形的气动控制通道。当向控制通道内通入压缩气体的时候,PDMS 薄膜就会向下变形,挤压并关闭下方的液体通道;释放气体压力后,薄膜弹性恢复,通道就重新打开。利用气动微阀的阵列化,可以构造复杂的逻辑控制单元来对流体网络进行高度可编程控制。

2. 微泵指的是集成在芯片上的微型流体动力源,其目的就是取代体积较大的外部泵,实现整个分析系统的微型化、便携化。集成微泵也分为机械式和非机械式两种。机械式微泵,压电泵和气动隔膜泵都是用周期性的薄膜形变来挤压输送液体的。非机械式微泵依靠电渗流、电润湿或者磁流体动力学等原理来驱动液体,系统内部没有可移动的机械部件。

(三) 液滴微流控技术

液滴微流控技术是和传统的连续流微流控并行发展的革命性技术。它不再输送连续的液流,而是将待测样品、试剂等分散成一个个被互不相溶的介质(一般为油)包裹的独立微液滴,其体积可达皮升到纳升级别。每一个液滴都成了一个独立的、和外界物理隔绝的微型反应器,从而彻底地解决了样品在连续流动时常见的扩散、交叉污染问题。

该技术主要优点是分区效果好、通量高。借助 T 型通道或者流动聚焦等微结

构，可以快速得到成千上万个大小均一的微液滴。这些液滴之后可以在芯片上执行一系列精确的操作，比如融合（混合含有不同试剂的液滴以开始反应），分裂（将反应后的液滴快速分成两半以进行不同的检测），孵育以及高速分选。因为每一个液滴都算作一个独立的实验单元，液滴微流控技术可以以比传统微孔板高出几个数量级的通量，完成单细胞分析、数字 PCR、高通量药物筛选、定向进化等复杂的实验。

食品安全检测中，液滴微流控技术对微生物或者目标分子进行绝对定量检测比较合适。通过将样品高度稀释后分散到海量液滴中，使每个液滴最多只有一个目标分析物，然后对所有液滴进行检测并统计阳性液滴比例，就能用泊松分布精确计算出原始样品中目标的绝对浓度。被称为“数字分析”的方法，具有很高的灵敏度与准确度。

第二节 样品前处理集成技术

样品前处理是食品安全检测的关键步骤，它的效率和效果会直接影响到后面分析结果是否准确。把传统的，繁琐的前处理过程，采用小型化，自动化的办法整合到微流控芯片里，成了当下的发展方向，这样明显改善了检测速度和灵敏度。

一、芯片上的样品提取与纯化

提取与纯化，就是从复杂的食品基质中分离出目标分析物，并去除干扰物质。微流控芯片依靠精巧的结构设计以及高度的功能整合，使得样品提取纯化流程可以做到高通量、自动化地进行，在此基础上开展现场快速检测就变得切实可行。

（一）固相萃取单元集成

固相萃取技术使用固体吸附剂，根据其与样品中各组分间作用力的不同来达到目标物和干扰物的分离。将该技术集成到微流控芯片上，就形成了微型固相萃取系统，这也是实现样品在线净化和富集最常用的方法之一。集成化一般在芯片微通道内构筑萃取单元来实现，主要构筑方式有填料填充、原位聚合和表面键合等。填料填充法就是将传统的固相萃取填料，例如 C18 反相硅胶、离子交换树脂或亲水性材料，直接填入微通道或者微腔室中，构成微型萃取柱。该方法虽直观，但是容易产生通道堵塞和不均匀的沟流效应，影响萃取效率及结果重现性。



为了克服传统填料填充的缺点,原位聚合整体式材料出现了。通过在微通道内直接引发单体聚合反应,可以得到具有连续多孔网络结构的整体柱。由于整体式材料和通道壁之间形成了共价键合,所以不存在填充不均和死体积的问题,可以更快地进行操作,背压也更低,传质效率和萃取速度大大提高。聚合物基质及功能单体的选择很灵活,可以依据目标分析物的性质(极性、电荷、分子大小)来定制,使其适用于兽药残留、农药残留、真菌毒素等各种污染物的提取。

对微通道内壁直接进行化学修饰或者功能分子键合,也属于一种重要的集成手段。采用等离子体处理、化学气相沉积或者自组装单分子膜技术,在通道表面包覆一层具有特定吸附功能的薄膜。虽然二维萃取界面的比表面积比三维填充柱要小一些,但是结构简单、无堵塞风险、传质阻力小,特别适合处理黏度大或者含有悬浮颗粒的样品。在通道内壁修饰疏水性长碳链,就可以萃取水样中的非极性有机污染物。芯片上固相萃取单元的集成,不但极大地减少了有机溶剂和样品的使用量,而且实现了萃取、洗脱、进样等一系列操作的无缝衔接及自动化控制,给创建全自动样品入-结果出的微全分析系统打下了重要的功能基础。

(二) 磁珠分离技术集成

磁珠分离属于一种高效的样品前处理技术,速度快,效率高。它利用表面包被有特异性捕获分子(如抗体、核酸探针、适体)的超顺磁性微球或纳米颗粒作固相载体,在液相中与目标物特异性结合。结合完成后,用外加磁场把带有目标物的磁珠复合物从复杂的样品基质中分离出来,其它干扰物就随着废液流走。这项技术与微流控芯片相结合之后,便可以实现对目标物(小分子、蛋白质、核酸甚至是细胞等)的自动化、高通量捕获、清洗和洗脱。

在微流控芯片上集成磁珠分离技术,核心就是对磁珠进行精确的操作。一般在芯片外部或者内部集成微型永磁体或者电磁体来实现。经过程序控制移动磁体或者开闭电磁铁,在芯片上不同功能区(样品混合区、清洗缓冲液区、洗脱液区)之间就能准确地运送磁珠。样品和磁珠在混合通道内充分孵育之后,磁场的作用下磁珠被吸附固定在通道的一侧;此时改变流路,用清洗缓冲液冲走基质中的杂质。清洗完毕后,撤去磁场或者将磁珠转移到无磁场的洗脱区,加入洗脱液,即可将目标物从磁珠上解离下来,得到用于后续检测的纯化样品。该法省去了传统离心、移液等麻烦过程,封闭式操作也防止交叉污染。磁珠巨大的比表面积使得捕获动力学十分高效,微流控系统给予液体控制的精度,两者结合相得益彰,极

大提高了前处理的自动化程度和处理效率，很适合病原体核酸提取、痕量蛋白质富集等对纯度、回收率要求高的应用。

（三）膜过滤与透析集成

膜技术是用具有选择性渗透性的多孔膜，在驱动力作用下实现物质分离的经典方法。在微流控芯片上集成微孔滤膜或者透析膜，可以实现样品的高效澄清、除杂、脱盐以及缓冲液的替换。集成方式主要依靠微加工技术在芯片上构造物理筛分或者渗透界面。膜过滤主要是根据尺寸排阻原理，通过设置一定孔径的滤膜，截留大于膜孔径的颗粒、细胞、大分子，小分子溶质和溶剂透过。微过滤在食品样品前处理中常用来去除乳糜颗粒、植物组织碎片、微生物菌体等，给后续仪器分析提供澄清的样品。

透析是靠半透膜两侧的浓度差来分离大小分子。芯片上一般会构造两条由透析膜隔开的并列微通道，一条输送样品，另一条输送透析液（纯水或者缓冲液）。样品中的小分子污染物、盐离子等在浓度梯度的作用下，会通过半透膜进入透析液一侧，而被截留在原通道中的蛋白质、核酸等大分子目标物就可以达到纯化和脱盐的目的。由于传质距离短、表面积与体积比大，所以芯片上透析的分离速度远远大于宏观透析。膜集成技术的主要问题就是膜污染、堵塞，在处理高蛋白、高脂肪等复杂食品基质的时候，尤其明显。为此研究人员开发出了切向流过滤模式，使样品液流向与膜表面平行，利用流体剪切力及时冲刷掉沉积在膜表面的污染层，减缓污染速度，延长膜的使用寿命并保持良好的分离性能。

二、芯片上的富集与浓缩

食品中许多有害物质的含量很小，常规的直接检测方法很难满足法规限值的要求。因此，在芯片上对目标物进行高效富集和浓缩，对于提高检测限、提高分析灵敏度来说非常重要。

（一）场流分级技术

场流分级是一种在开放细长通道内进行的分离技术，它的核心特点是没有固定相，对样品的剪切力很小，因此特别适合分离容易损伤的生物大分子、超分子组装体和细胞颗粒。其分离原理是依靠两种运动来实现的，垂直于通道方向的力场（流场、电场、温度场等）使样品组分向通道一侧的积聚壁富集，分子的布朗运动或者扩散作用则驱使它们向通道中心扩散，离开壁面。这两种作用达到平衡



的时候,不同的组分在通道横截面上就会形成厚度、特征各异的稳定分布层。

通道中流速呈抛物线分布,中心流速最快,壁面处流速最慢。因此,尺寸小、扩散快、分布层较厚且平均位置更靠近通道中心的组分会受到更快流体的推动,首先流出通道;相反,尺寸大、扩散能力差、被力场更紧密地压在壁面附近的组分则移动较慢。由此便可按尺寸或者物理性质对样品进行分离分级。

将场流分级技术微型化,即微型场流分级,不单减小了仪器体积和样品需求量,更重要的是微尺度下高效的传质使得分离过程更快、分辨率更高。在食品安全方面,微型场流分级可以分析食品添加剂(纳米级二氧化钛)的粒径分布,也可以从复杂的饮料基质中分离并浓缩病毒颗粒,是具有巨大潜力的温和、高效的在线富集与表征技术。

(二) 等电聚焦技术

等电聚焦是一种分辨率很高的电泳分离技术,专门用来分离蛋白质、多肽等两性物质。原理就是在分离通道中建立一个覆盖一定范围并且稳定的 pH 梯度。蛋白质混合样品进入通道后,在电场的作用下,带正电的蛋白质向负极移动,带负电的蛋白质向正极移动。迁移时蛋白质所处的局部环境的 pH 值不断变化,其自身的净电荷也随之改变。当某个蛋白质分子移动到 pH 值正好等于这个蛋白质分子的等电点的地方时,这个蛋白质分子的净电荷变成零,在这个时候它不会受到电场力的影响而停止移动,就会在这儿聚集起来,形成一条非常细的谱带。

经过等电聚焦,原先分散在样品溶液中的目标蛋白质,可以被浓缩到各自对应的等电点位置上,富集倍数可以达到几百甚至上千倍。将该技术应用于微流控芯片中,即芯片等电聚焦,有更多的优势。芯片上可以利用载体两性电解质、光聚合凝胶或者电解水等方法来快速、稳定地生成 pH 梯度。微通道高效的散热能力可以使得施加的场强变大,聚焦时间也从以往的小时级或者分钟级缩短到几分钟甚至几十秒。聚焦以后形成的窄带不仅浓度高,纯度高,还可以直接与质谱、免疫分析等后续检测方法联用。食品安全检测中,用芯片等电聚焦可快速浓缩并鉴别特定来源的过敏原蛋白,或者区分不同的细菌毒素亚型,高分辨率和高富集倍数的特点,使其在蛋白质组学分析以及痕量蛋白检测方面有着巨大的应用前景。

(三) 纳米材料富集技术

纳米材料由于具有独特的尺寸效应、巨大的比表面积以及容易实现功能化的表面化学性质,已经成为食品安全领域中用于痕量物质富集的“超级吸附剂”。

将纳米材料整合到微流控芯片里，可形成高效的富集微型反应器，对目标污染物加以捕捉。常用的几种富集用的纳米材料及其特性对比如下表所示。

常用纳米富集材料及其特性对比表

纳米材料类型	核心特点	主要作用机理	典型应用目标物
金纳米粒子	生物相容性好，易于功能化，具有光学特性	表面修饰的抗体 / 适体与目标物特异性结合	病原体、毒素、小分子
磁性纳米粒子	超顺磁性，比表面积大，可磁控分离	表面功能化后特异性捕获，外磁场分离富集	核酸、蛋白质、细胞
碳基纳米材料	超大比表面积，丰富的 π 电子系统	π - π 堆积、疏水作用、氢键等非特异性吸附	农药、多环芳烃、有机染料
分子印迹聚合物	可人工合成，识别位点可定制，成本低且稳定	通过预设的模板空穴进行特异性分子识别	尚无抗体的小分子污染物、非法添加物

1. 金纳米粒子具有良好的生物相容性和特殊的表面等离子共振效应。其表面可以通过硫醇化学方便地修饰上 DNA 适体或者抗体，从而特异性地捕获病原体、毒素或者小分子。应用时可以将功能化的金纳米粒子预先固定在通道内，也可以以胶体溶液的形式加入到样品中，再通过后面的步骤将其捕获，从而达到富集目标物的目的。

2. 磁性纳米粒子是理想的可移动固相，它具有纳米材料的高比表面积和磁性材料的易控制。经表面功能化后的磁性纳米粒子与样品混合，能特异性结合目标物，用外部的微型磁铁就可以很容易地将它们从果汁、牛奶等复杂的食品基质中分离、清洗、浓缩。整个过程是自动化的，回收率高。

3. 以石墨烯、氧化石墨烯、碳纳米管等为代表的碳基纳米材料，具有很大的理论比表面积和丰富的 π 电子系统。通过 π - π 堆积、疏水作用、氢键等相互作用，对于农药、多环芳烃、偶氮染料等众多有机污染物具有很强的非特异性吸附能力，是一种广谱高效的富集材料。

4. 分子印迹聚合物纳米粒子属于可以特异性识别目标分子的人工合成“塑料抗体”。它用目标分子作为模板进行聚合，在模板分子周围形成有特定三维形状和化学基团的识别位点。该材料性质稳定、成本低，可以针对没有抗体的某些小分子污染物（如一些非法添加物）进行定制化合成，实现高选择性富集。



三、芯片上的细胞 / 病原体分离

从食品中快速准确地分离出致病微生物，给公共卫生奠定了基础。传统培养法费时费力，微流控技术则利用物理或者生化的方法，实现了对目标细胞或者病原体的高效、快速、特异性分离，为即时诊断创造了条件。

（一）微柱阵列与确定性侧向位移

确定性侧向位移属于一种依靠流体动力学原理、完全被动地进行颗粒分选的技术。核心就是建立布满整齐排列的微米级柱子的微流控芯片。微柱排布有如下特征，每一排柱子相对于前一排，在侧向存在微小但是固定的偏移量。当带有颗粒的流体流过这个阵列时，流线就会在柱子周围发生偏转。

分离原理是依靠颗粒大小同柱间距、柱排偏移量综合产生的临界直径来比较的。小于临界直径的颗粒质心始终能跟随初始流线在柱间曲折穿行，总体运动方向和主流方向保持一致。与前一种情况不同，尺寸大于临界直径的颗粒，在经过一排柱子时，由于体积较大不能完全跟随流线偏转，质心就会被柱面“确定性地”推挤到下一条相邻的流线中去。该过程每经过一排微柱都重复进行，大颗粒最后都会以一个固定且可预料的角度离开主流。

经过足够长柱阵列后，不同粒径的颗粒群就会在空间上明显地分离出来。此方法不需要外加力场或者化学标记，可以实现连续高通量的分选。通过精心设计微柱阵列的几何参数来达到细胞的高分辨率分离。食品安全检测里，此技术把牛奶等液体食品中几微米的大肠杆菌、沙门氏菌等分离出来，与背景中的更小的颗粒或者碎片区别开来，给后一步的菌种识别和计数供应了干净的样品。

（二）介电电泳分离

介电电泳属于依靠不均匀交变电场去操控微粒的主动式分离手段。细胞等可极化颗粒处在不均匀电场当中，就会由于极化而产生电偶极子。电偶极子与外电场相互作用，产生一个净的介电电泳力来驱动颗粒运动。这个力的方向和大小由颗粒以及周围的介质的介电性质，也就是极化率，还有电场的频率所决定。当颗粒的极化率大于介质时，它受正介电电泳力，被吸引到电场最强的区域；当其极化率小于介质时，它受负介电电泳力，被排斥到电场最弱的区域。

不同种类的细胞、活细胞和死细胞的细胞膜电容、细胞质电导率等物理参数各不相同，因此它们的介电性质以及对电场频率的响应曲线也有所不同。利用这

一差异,在微流控芯片上制作精密的微电极阵列以产生特定的不均匀电场,选择合适的电场频率就可以对混合细胞群施加选择性的介电电泳力。例如选择一个频率,使目标病原体受到正介电电泳力而被捕获到电极边缘,背景菌或者食品基质颗粒受到负介电电泳力被推开,从而实现高特异性的分离。介电电泳分离技术有非接触、无标记、可实时调控等优势,可以快速地、根据需要从复杂的食品样品中分离出目标微生物。

(三) 免疫亲和捕获

免疫亲和捕获是目前微流控病原体分离中特异性最高的手段之一,其原理是利用抗体与抗原之间具有高度的专一性分子识别和结合。此项技术运用化学的方法,在微流控芯片的通道内壁上,或者是在微柱、微珠等集成结构表面,固定上针对某种特定病原体表面抗原的单克隆抗体或多克隆抗体,由此形成一个免疫反应界面。当含有病原体的食品样品流过这个功能化表面的时候,目标病原体就会像钥匙插入锁孔一样,被表面固定的抗体准确地“捕获”并固定下来。

非目标细菌、病毒以及食品基质中的其它组分,由于没有相应的抗原表位,不能与抗体结合,随液流而去。经过清洗步骤后,留在芯片上的几乎都是目标病原体,达到了高纯度的分离和富集。为了提高捕获效率,即病原体和抗体之间碰撞的概率,设计芯片时一般会采用一些特殊的措施来达到目的,例如制作成之字形或者螺旋形的通道引起混沌对流,或是在通道中设置密集的微柱阵列,大幅度增加比表面积。生物亲和捕获法选择性很高,甚至可以区分亲缘关系很近的菌株,从混合菌中准确捕获致病性大肠杆菌 O157: H7。免疫亲和捕获为后面的核酸检测、细胞培养、显微成像提供干净、集中的分析对象,是实现特定食源性致病菌的快速预警和溯源的重要技术环节。

第三节 检测单元微型化技术

食品安全快速检测技术的发展,在很大程度上是依靠检测单元的革新和突破来实现的。对传统大型分析仪器的检测单元进行微型化设计是设备微型化、现场化和智能化的重要组成。检测单元微型化,不只是尺寸变小,还深深地牵涉到灵敏度、稳定性和集成度这些方面技术的革新,目的在于用更低的成本、更高的速度,得到稳定可靠的检测结果。



一、光学检测单元微型化

光学分析方法由于灵敏度高、选择性好、非破坏性等优点，在食品安全检测中得到了广泛的应用。使用光学检测单元微型化、微流控等技术，可以建立功能强大的便携式光学分析系统。既挑战着光学元件的加工精度和集成工艺，又促进新型光学传感机理的研究和应用，给现场快速检测提供了更多的可能性。

（一）微型化荧光检测器

微型化荧光检测器因为灵敏度高、特异性好，在痕量物质检测中起着非常重要的作用。在激发光源、滤光片和光电探测器等主要部件被集成到微小芯片上以后，研究人员也开发出了许多高集成度的荧光检测系统。用发光二极管或激光二极管做激发光源，配合高灵敏度的光电二极管或者雪崩光电二极管，可以有效地检测出食品样品中荧光标记的农药残留、兽药残留、生物毒素和致病微生物。近年来，量子点、上转换纳米颗粒等新型荧光材料的应用，使检测的灵敏度进一步提高，并且可以实现多组分分析。

微型检测器常常同微流控芯片技术融合起来，创建出“芯片实验室”，进而达成样品的前处理、反应、分离以及检测等全部流程的自动化。集成系统中的微通道网络可以准确地控制纳升甚至皮升级别的液体，大大减少了样品和试剂的消耗量，并大大缩短了分析时间。改良过的光路设计，共聚焦、倏逝波激发以及全内反射荧光等技术可以有效地减小背景干扰，提高信噪比，因此在复杂食品基质中检测到低浓度的目标物是完全可行的。3D 打印等新型微加工技术的使用，给制造结构更复杂、光路设计更好的微型荧光检测器提供了新的可能，有力推动了微型荧光检测器在食品安全现场快速检测中的普及。

（二）微型化吸收光度检测器

吸收光度法也叫比色法，在化学分析中是最经典、最常用的方法之一。检测单元微型化的关键在于，怎样在缩短光程、减小检测体积的基础上，保证足够的检测灵敏度。微型化吸收光度检测器一般使用高亮度发光二极管作光源，用微透镜把光束聚焦到微流控芯片的检测池里，然后由另一侧的光电探测器接收透过光。朗伯比尔定律认为光吸收度同物质浓度、光程成正比。为了保证微米级光程下的检测灵敏度，研究人员提出了很多种光程增强结构。

常见的一种光程增强的方法就是制作数百微米到毫米级水平的长通道，或者

利用多次全内反射原理,使光束在检测池内来回反射,从而在很小的物理空间里实现等效光程数十倍甚至上百倍的增加。另一种思路就是采用更加灵敏的光电探测器,并且配合更加先进的信号处理算法,从而提高对于微弱光吸收变化的识别能力。

微型吸收光度检测器在食品安全检测中应用较多,可以检测亚硝酸盐、二氧化硫、甲醛等小分子非法添加剂,也可以检测食品中的重金属离子。由于其结构简单、成本低、集成方便,因此它被用作开发低费用、便携式的快速检测设备的理想选择。未来发展就是提高光源的稳定性、单色性,优化微光路减少杂散光的干扰,并用智能算法实现检测结果的自动校正和分析。

(三) 微型化化学发光检测器

化学发光分析法具有极高的灵敏度(可以达到飞克甚至阿克级别)、宽广的线性范围和不需外部激发光源,这些优点使得化学发光分析法在免疫分析、核酸检测等领域受到广泛的应用。微型化化学发光检测器设计的重点就是,怎样才能高效地收集并探测到反应过程中产生的微弱光子。

该类检测器一般将化学发光反应体系集成到微流控芯片中,用微通道准确地混合试剂并控制反应时间。反应区域靠近高灵敏度的光电探测器,例如光电倍增管、单光子雪崩二极管等,以获得最大的光信号。为了提高信号采集的效率,通常在反应池底部或者探测器表面涂覆一层高反射层,把各个方向发出的光子都引向探测器。

微型化学发光系统在食品安全检测中被广泛使用,可用于致病菌、病毒、生物毒素、过敏原的检测。以磁珠分离和化学发光免疫分析为基础的微流控系统,可以实现沙门氏菌、大肠杆菌等食源性致病菌的全自动、高通量、快速检测。电化学发光属于化学发光的一个重要分支,它是利用电极上施加电压引发发光反应来实现的,具有很好的时空控制性。把电化学发光单元集成到芯片上,可以简化系统设计,节省电力,为研制掌上型高灵敏度检测设备打下了良好的基础。

二、电化学检测单元微型化

电化学分析技术可以将化学信号直接转换成容易测量的电信号,具有装置简单、成本低、灵敏度高、易于微型化等天然的优势。随着微纳加工技术的迅速发展,把电极系统和信号处理电路集成在小小的芯片上已经成为可能。这不但催生



了大量便携式甚至可穿戴的电化学传感设备,也给食品安全检测提供了一种即时、现场、高通量的方案。

(一) 微电极阵列设计

微电极就是指特征尺寸达到微米量级的电极。多个微电极按照一定的模式(如线性、圆形、叉指形)组合起来就形成了微电极阵列。与单个宏观电极相比,微电极阵列有非法拉第电流小、信噪比高、传质速率快等许多独特的电化学优点,因此它在痕量分析中表现出色。微电极阵列的设计与制造属于微型电化学传感器的重要技术。利用光刻、丝网印刷、激光直写等微加工技术,可以在玻璃、硅片、柔性聚合物等不同的基底上制备出由金、铂、碳、导电聚合物等组成的多材料微电极阵列。

在阵列设计时可以给每一个微电极单元赋予不同的功能。在不同的电极上修饰不同的识别分子(抗体、核酸探针、酶)可制备出能够检测多种目标物的传感器阵列。高通量检测模式对于食品中多种农药、抗生素或者致病菌的快速筛查有着十分重要的意义。叉指微电极阵列由于特殊的几何形状,在相邻电极之间会产生强电场,对介电特性微小的变化都非常敏感,因此非常适合做阻抗、电导检测。柔性微电极阵列的出现使它可以贴在水果、肉等食品的不规则表面上进行原位、无损地实时检测。

(二) 芯片电化学检测系统

芯片电化学检测系统,通常被称为“电化学芯片实验室”,它把样品处理、电化学反应、信号检测等各个功能单元全部集成在一个小小的芯片上。此类高度集成的系统一般包含微流体通道、微混合器、微反应室以及内置的电化学检测单元(通常为具有工作电极、参比电极和对电极的三电极系统)。待测样品在微泵或者毛细作用的作用下进入芯片,然后在微通道里与试剂混合反应,再流经检测区,由电化学工作站记录并分析其产生的电信号。整个过程自动化程度很高,不但可以避免人为操作误差,还能大幅度提高分析速度。

芯片电化学检测系统是否成功,关键在于各个功能模块是否协调一致、检测电极是否良好。使用微加工技术,可在芯片的某个位置上制作出性能优异的工作电极,之后再用表面修饰的方法增强电极的选择性及灵敏度。使用纳米材料(金纳米颗粒、碳纳米管、石墨烯等)对电极进行修饰,可以极大地增加电极的有效表面积,提高催化电化学反应的效果,从而大大提高检测信号。将微型恒电位仪

电路和传感芯片集成在同一块印刷电路板上，可以构成真正的便携式、手持式电化学分析仪，给食品供应链全程实时监控提供强有力的技术支持。

（三）阻抗谱检测集成

电化学阻抗谱是一种强大的分析技术，它是向体系施加一个微小的正弦交流电势，测量体系在不同频率下的阻抗响应，从而分析电极与溶液界面发生的过程。当生物识别事件（抗原与抗体结合、DNA 杂交）发生在电极表面时，会引起界面层的介电性质以及电荷转移电阻的变化，这些变化可以被电化学阻抗谱准确地捕捉到。因此该技术非常适合用于开发无标记、实时的生物传感器。将阻抗谱检测单元整合到微型化系统中，给食品安全快速检测开拓了新途径。

集成阻抗谱检测系统一般采用叉指电极阵列为传感器，该种结构对于电极表面微小阻抗变化很敏感。检测时将经过生物分子修饰的叉指电极浸入到待测样品中。如果样品中有目标分析物，目标分析物就会与电极表面的识别分子发生特异性结合，导致电极界面阻抗发生变化。通过测量整个频率范围内的阻抗谱图，用等效电路模型拟合分析，就可以实现对目标物的准确定量。此方法的优势在于不需要给目标物做标记，简化了操作步骤，降低了成本。微型化阻抗谱传感器被成功用于检测沙门氏菌、黄曲霉毒素、抗生素残留等许多危害物，具有巨大的商业化前景。

以上所讨论的光学与电化学微型检测技术是目前主流的方法，原理与应用上各有不同，下面列出它们各自的关键特性对比。

主要微型化检测技术对比表

检测技术	主要原理	灵敏度	优点	主要应用领域
微型荧光检测	荧光标记物	高至极高	特异性强、技术成熟	农兽药残留、生物毒素、致病菌
微型吸收光度	朗伯 - 比尔定律	中等	成本低、结构简单	小分子添加剂、重金属离子
微型化学发光	反应自发光	极高	无需外置光源、背景干扰小	致病菌、病毒、免疫分析
微电化学检测	电信号转换	高	易于集成、成本低、响应快	多种农药、抗生素、实时监测
微声学检测	质量 - 频率响应	高	无标记、实时响应	过敏原、病毒、生物分子互作



三、其他检测单元微型化

除光学、电化学检测之外,基于其它原理的检测单元也取得了微小化的进展,并具有独特的应用价值,在食品安全方面得到应用。质谱、热学、声学等检测技术微型化的难度较大,但是其提供的信息维度以及检测性能是传统方法所不能比拟的,代表了未来高端便携式检测设备的发展方向。

(一) 质谱接口技术

质谱分析由于它无与伦比的定性与定量能力,被称作分析化学的“金标准”。但是传统质谱仪体积大、价格贵、需要高真空环境,这些因素都影响了它在现场环境中的使用。近些年来,敞开式离子化技术和微型质谱分析器不断出现,便携式质谱仪渐渐变得可行。而将微型化样品前处理系统(微流控芯片)与质谱仪连接起来,成为目前研究的重点和难点,其核心就是质谱接口技术。

微型化质谱接口是将芯片上分离或者反应后的分析物,有效地、稳定地送入质谱的离子源中进行电离分析。如芯片电喷雾离子化接口,在微流控芯片出口处制作一个尖锐喷口,用高电压把液体雾化成离子直接进质谱仪。其他的创新接口技术,如解吸电喷雾离子化、纸喷雾离子化等,可以直接从食品表面或者简单的萃取液中产生待测物离子,省去了复杂的色谱分离过程,大大提高了分析速度。微型化接口技术出现以后,便携式质谱仪在田间地头或者生产线上快速鉴定农药残留、非法添加物等变得可行。

(二) 热学检测单元

几乎所有的化学反应和生物过程都会伴随着热量的产生或者吸收。热学检测就是通过测量微小的热量变化来进行定量分析的方法。微型化热学检测单元,尤其是微量热计,具有通用性强(任何有热效应的反应都可以检测)、不需要标记、不受样品光学特性影响等优势。典型的微型热学传感器以热电堆或者热敏电阻为基本结构,并且集成在微小反应室中。当样品和试剂在反应室内混合反应时,产生的热量会引起传感器温度的变化,进而产生一个可以被检测的电压或者电阻变化信号,该信号的大小与反应物浓度成正比。

为了提高灵敏度,微量热计必须具有良好的热隔离性,以免热量过快地散失到周围环境中去,微量热计本身的热容也应越小越好。采用精密的微加工技术,制作出悬浮的薄膜结构或者微悬臂梁结构的热学传感器,其灵敏度可以达到检测

微瓦甚至纳瓦级的热功率变化。微型热学检测单元可以用来监测微生物生长代谢、酶催化反应和抗原抗体结合的过程,进而实现对致病菌、农药、毒素等的定量分析。由于它的通用性,该技术在开发广谱筛选方法方面有独特的优势。

(三) 声学检测单元

声学检测传感器属于质量敏感型器件,工作原理是,当传感器表面的质量发生细微变化的时候,传感器的谐振频率就会出现相应的偏移情况。通过测量频率的变化就可以反推出吸附在传感器表面的物质质量。该技术具有极高的质量灵敏度,可以达到纳克甚至皮克的级别,很适合做无标记的生物分子相互作用研究。

最常用的声音学检测器件是石英晶体微天平、表面声波传感器。石英晶体微天平是利用石英晶体的压电效应,它的谐振频率和它的质量负载成线性关系。食品安全检测时,先在石英晶体微天平芯片的金电极上固定特异性抗体或者核酸探针,含有目标病原体或者毒素的样品流过芯片表面时,目标物被捕获,芯片总质量增大,谐振频率减小。表面声波传感器是采用压电基片上表面传播的声波,声波在表面的传播速度对于表面的质量和粘弹性变化很敏感。与石英晶体微天平相比,表面声波器件的工作频率更高,所以一般具有更高的灵敏度。微型声学检测单元结构简单、成本低,便于在便携式系统中集成,对于食品过敏原、致病菌和病毒的快速现场检测有很好的应用前景。

第四节 微流控芯片产业化进展

微流控芯片技术,被人们称作“芯片上的实验室”,它把反应和分析单元构建在微米级的芯片上,从而对传统检测的范式实施了彻底的改变。该项技术把复杂的生物或者化学实验过程小型化、集成化,为高通量、低消耗、自动化快速检测打开了新的大门。近几年来,材料科学、微纳加工技术和生物技术相互渗透,微流控芯片的产业化速度明显加快,在食品安全检测方面,商业化前景和应用价值愈加突出。

一、国内外微流控芯片产业发展现状

微流控芯片产业在全球范围内高速发展,市场不断扩张。国际巨头依靠深厚的技术积累和资本优势,在市场中处于主导地位,国内企业受政策扶持和市场需



求的双重推动，在技术创新和产业化方面取得了令人瞩目的成就。整个产业正由科研探索阶段稳步地走向多元化商业应用的新时代。

（一）国外领先企业与技术

全球微流控市场的集中度较高，主要是被少数跨国公司所控制。这些企业依靠不断加大研发支出并有针对性地实施并购，塑造起较强的技术障碍和宽广的市场网络。国外一些领先企业以及他们的技术特性见下表。

国际微流控领先企业及其技术平台表

企业	代表技术 / 系统	核心特点
Cepheid (丹纳赫旗下)	GeneXpert 系统	全自动分子诊断平台，将样本制备、核酸扩增及检测完全整合于封闭试剂盒中，实现“样本进，结果出”。
Illumina	数字微流控技术	应用于基因测序领域，通过精准控制纳升级液滴完成复杂的文库制备等流程，推动个性化医疗发展。
BioFire (生物梅里埃旗下)	FilmArray 系统	利用巢式多重 PCR 技术，在单芯片上实现对复杂样本中多种病原体的同步检测，完成快速定性分析。
Iquum (罗氏诊断旗下)	Liat 分析仪	新一代快速 PCR 技术的代表，可在极短时间内对流感等病毒进行精准检测，适用于即时诊断场景。

丹纳赫集团的 Cepheid 公司 GeneXpert 系统已经成为分子诊断平台行业的标杆，将样本制备、核酸扩增、检测等步骤完全融合在一个封闭的试剂盒里，简化了操作流程。illumina 公司在基因测序方面使用数字微流控技术很巧妙，很好地促进了个性化医疗与精准基因组学的发展。微型化操作流程 + 准测序技术 = illumina 公司继续保持领先地位！赛默飞世尔科技把微流控技术融合进自家成熟的 PCR 以及分析系统当中，供应给大量临床和研究实验室，很好地推动了高通量诊断的发展。

这些领先企业的技术核心就是高度集成和自动化。生物梅里埃收购了 BioFire Diagnostics 公司出品的 FilmArray 系统，该系统运用最先进的一次性巢式多重 PCR 技术，可以对复杂的生物样品中的多种病原体进行检测，快速得出样品到结果的分析。被罗氏诊断收购的 Iquum 公司的 Liat 分析仪，是新一代快速 PCR 设备，可以很快对流感等病毒进行检测。除了在技术上追求高灵敏度、高特异性以外，企业在平台易用性和检测过程的自动化上也都十分重视，大多数企业实现样本入、结果出的一套高效操作流程，给用户带来快速可靠的解决方案。

从国外这些巨头的成长路径来看，它们的成功都离不开收购一些有潜力的初

创技术公司，从而快速获得核心技术、扩大产品线，最终成为市场的强有力的竞争者。它们的成功不是依靠某一个技术的突破，而是由微流控芯片、光学、电子、软件算法等诸多领域的科技深度融合所形成的完整的生态系统。同时这些公司也在材料科学上不断革新，从最早的硅、玻璃基芯片发展到后来更容易实现大规模生产、成本更低的聚合物材料芯片，推动了微流控技术的商业化。

（二）国内研发与产业化情况

中国的微流控芯片产业虽然发展时间不长，但是正处于高速发展的起步期。在国家政策大力扶持之下，尤其是“十三五”、“十四五”规划中把微流控技术列为重点发展的关键技术之后，国内研发和产业化进程明显加快。近几年来，资本市场对微流控领域表现出浓厚的兴趣，大量资金的涌入给企业技术革新、市场拓展注入了强大的动力。目前，国内微流控企业主要集中在体外诊断，即时检验、分子诊断。

从技术研发的角度来说，中国科学院下属的诸多研究所、清华大学、北京大学、东南大学等国内顶尖的高校，是基础研究强大的生力军，在微流控芯片的设计、制造工艺、新型检测方法的开发等方面都取得了许多创新成果。一些研究团队在数字微流控、纸基微流控、以及 CRISPR 等前沿基因编辑技术上取得创新，提高了检测的灵敏度及多重检测的能力。国内的企业也开始由模仿跟随转向自主创新，有些企业已经掌握了从芯片设计、模具加工到大批量生产的全部核心技术。博晖创新的 HPV 检测产品用微流控技术实现了核酸分子的全自动检测，在国内市场上占有重要份额。迪奇生物以数字微流控技术平台为基础，针对不同的应用领域研发出便携式的自动化检测设备。

虽然我国微流控产业已得到很大发展，但仍存在不足。与国际巨头相比，我国企业对核心材料、精密加工设备、高端传感器等存在一定程度的外购。由于缺少专业的产业设计咨询公司和不完善的产业配套，许多企业不得不自己承担从研发、设计到生产的全部工作，从而造成研发周期变长、成本难以控制。国内企业大多规模小、产品线窄，在细分赛道上同质化竞争激烈。

但是随着分级诊疗制度的不断深化以及居民健康意识的普遍提高，快速、便携的检测设备需求量越来越大，给国内微流控公司提供了广阔的市场空间。许多企业正向技术成熟度较高的免疫诊断、生化诊断领域扩展，也正在向分子诊断这样高门槛、高利润空间的技术领域拓展。同时微流控在食品安全、环境监测等非



医疗方面也得到了越来越多的关注，微流控在各个方向上都有所突破、全链条升级，预示着国产微流控在某些细分领域有“弯道超车”的潜力。

（三）主要应用领域与市场分析

微流控芯片技术因为微型化、高通量、低消耗等明显的优势，已经渗透到许多高价值的应用场景当中，具有很大的市场前景。全球微流控市场规模正在持续增长，有研究预计到2027年产业总规模会达到数百亿美元。其应用领域早已不再局限于最初的学术研究，从生物医学、新药研发、环境监测、食品安全等各个方面，覆盖了诸多领域，其中以生物医学分析作为最为核心也是最为成熟的热点应用。

微流控芯片最大的应用市场是体外诊断，尤其是即时检测。伴随着全球人口老龄化加剧、慢性病发病率不断上升，社会对于快速、便捷诊断工具的需求也越来越大。微流控技术可以把繁琐的实验室检测流程压缩在小小的芯片上，与即时检测所追求的“样本进，结果出”的发展方向不谋而合，因此被广泛地应用于血糖、血脂、心肌标志物和传染病的快速检测中。在分子诊断上，微流控技术把核酸提取、扩增、检测等许多功能结合在一起，简化了实验过程，也有力地促进了数字PCR和高通量测序技术的发展。从市场分析来看，即时检验和临床检验是微流控市场份额最大的两个细分市场，两者加起来占据的市场份额是绝大多数。

除了医疗诊断，微流控芯片在其他领域也显示出强大的应用活力，并逐步形成商业化市场。

1. 药物研发与筛选：液滴微流控技术可以产生成千上万个独立的微反应器，可以用于高通量药物筛选、细胞分析、合成生物学研究等，从而大大缩短新药研发周期，降低研发成本。“器官芯片”是一种先进的微流控设备，可以模拟人体的生理微环境，用于药物试验和疾病模型的建立，有望代替部分动物试验。

2.2、食品和环境检测：微流控技术可以实现食品中农药残留、兽药残留、病原微生物、重金属、非法添加剂等的现场快速分析。其携带方便，反应时间短，适合于海关、市场监管的应急处治以及突发事件。

3. 生命科学：单细胞分析中微流控技术可以对单个细胞进行精确的捕获、培养、操控、分析，给肿瘤研究、免疫学研究、神经科学等前沿探索提供强有力的工具。

从整体上看，目前全球微流控市场由北美占据，这主要是由于北美地区医疗体系比较成熟，研发力量比较雄厚。亚太地区特别是中国被认为是发展最快的市

场，政策支持加上持续扩大的市场需求一起促成了产业的高速发展。随着技术的不断成熟和成本的不断下降，微流控芯片的使用场景将会向下沉到基层医疗、家庭健康监测等更多的地方。

二、微流控芯片面临的挑战

尽管微流控芯片技术前景非常广阔，但是从实验室走向大规模产业化并不是一条顺遂的道路。这项技术在释放出它巨大潜能的时候，也同时面临着来自成本、标准化以及系统集成等多方面存在的诸多难题。这些障碍一起阻碍着微流控产品市场化的进程和商业化发展。

（一）成本控制与规模化生产

微流控芯片推广应用的第一个障碍就是成本。从理论上来讲，微流控技术可以利用减少试剂用量来降低单次检测的成本，但是芯片及其配套设备的价格较高也是不可忽略的问题。这是由于芯片的研发周期很长，且涉及到很多交叉学科的知识，前期投入的研发成本很高。芯片制造使用的材料，不论是传统的玻璃、石英，还是目前主流的聚合物如聚二甲基硅 oxane、聚甲基丙烯酸甲酯等，本身的价格以及对加工环境的严格要求，都使得材料成本提高。

制造工艺属于决定成本的又一重要因素。实验室中常用的软光刻等工艺虽然精度高、灵活性好，但是生产效率低，不能满足大规模生产的需求。适合批量化生产的注塑成型、热压成型等工艺，则要投入巨资来制造精密模具，在初期固定成本非常高，只有产量上百万时，单位成本才能大幅降低。这对许多处于市场开拓阶段的中小企业来说，就是一笔沉重的负担。芯片的键合、表面修饰、试剂预置和稳定保存等后续工艺也十分繁琐，需要生产线具备很高的自动化水平以及质量控制能力，从而使得制造成本进一步提高。

业界正在积极地寻求各种解决的办法。一方面研究人员致力于研发新型低成本材料，纸基微流控芯片，由于成本低、易加工处理等优点，在资源匮乏地区有较好的应用前景。另一方面，3D 打印技术的发展给快速原型制作、复杂三维流道结构的制造带来了一种新的方法，有利于缩短研发周期、降低小批量定制的成本。未来要想使微流控芯片的低成本大规模生产成为现实，在材料、工艺以及供应链等各方面都需要有系统的突破，这样才能使这项技术在更多价格敏感的市场，如食品安全的日常筛查中得到广泛的应用。



（二）标准化与可靠性

缺少标准是微流控芯片产业健康发展的一大障碍。目前整个行业还没有形成统一的设计、制造、测试标准，各个厂商、各个型号的芯片、仪器、接口互不兼容，形成了一个技术“孤岛”。这种非标状态把用户牢牢地锁在某个厂商的生态体系里，限制了用户的选取自由，也不利于产业链上下游企业之间的配合。比如芯片尺寸、流体接口规格、数据输出格式等关键参数都没有统一的标准，导致组件通用化、模块化的设计无法实现。

造成此种局面的原因是多样的。微流控技术本身正处在快速演进期，新技术、新材料层出不穷，还没有形成公认的主流技术路线，标准制定难以跟上创新的步伐。微流控芯片的应用范围非常广，从生物医学到化学分析，不同的应用场景对于芯片性能的要求差别很大，制定出能够适应所有应用场景的通用标准几乎是不可能的。产业化程度低，市场被少数大公司以及大量的初创企业共同占据，并没有形成能够主导标准制定的强大力量。

缺乏标准化的直接结果是造成产品可靠性、质量控制问题。由于没有统一的生产工艺规程和质量检验标准，同一批次甚至同一块芯片的性能都会不一样。不稳定性对于需要结果精确度非常高的临床诊断、食品安全检测等领域来说是致命的。芯片封装的好坏、微通道表面的化学性质、预置试剂的活性等都会影响检测结果的准确性和重复性。因此建立完善的质量控制体系，保证产品性能的稳定可靠，是微流控企业获得市场信任的前提。未来标准化工作可以从具体的应用行业入手，逐步建立起各细分领域的标准体系，从而引导产业有条不紊地发展。

（三）系统集成与用户体验

将微流控芯片由一个单一的分析元件变成一套完整的、易于使用的检测系统，是它走向商业成功的决定性因素，也是目前面临的最大技术难题。一个真正实用的微流控系统，不只是核心芯片本身，还要集成微型泵、阀门、传感器、加热器、检测器、数据处理和显示单元。怎样把来自各个技术领域的组件高效、低成本地集成到一个小型化、自动化的设备中，是复杂的系统工程难题。特别是芯片同外部设备连接的“世界-芯片”接口问题，至今仍是科研人员与工程师面临的一个技术难题。

提高系统集成度的最终目的就是实现“样本进，结果出”的理想状态，即用户只需要将原始样本放入设备中，系统就能自动完成样品前处理、反应、检测到

结果报告的全过程，不需要专业人员进行复杂的手动操作。这就对系统的自动控制能力提出了很高的要求。特别是在食品安全检测当中，常常要对固体或者半固体样品实施均质、裂解、核酸或者蛋白质提取之类的繁杂前处理过程，要把这些宏观的操作微缩并集成到芯片上，其难度非常大。市面上的微流控产品都需要大量的手操作转移液与样品处理步骤，会降低检测的效率，增大交叉污染以及操作错误的风险，严重影响了用户使用体验。

从根本上来说，用户体验决定技术的市场接受度。即使一个系统在技术上再先进，如果操作复杂、流程繁琐、结果解读困难，也不能被实际应用所推广。因此除了硬件高度集成，友好的软件界面、简化的操作流程、清晰的结果展示同样很重要。未来微流控系统的设计趋势一定是越来越“傻瓜化”，让非专业人员也能轻松操作。这就要求开发者不能仅仅关注芯片本身，而是应该从用户实际的使用场景出发，对整个系统做系统的整体化设计以及人性化的交互设计，把复杂的分析过程隐藏在简洁的操作界面后面，真正达到用先进的技术为人的目的。

三、微流控芯片在食品安全领域的应用前景

微流控芯片技术因为其快速、便捷、高灵敏等特点，给食品安全检测领域带来了革命性的变化。传统的食品安全检测大多依靠大型仪器设备，操作麻烦、耗时长，不能满足现场快速检测的迫切需要。微流控技术把实验室的功能全部集成到一片芯片里，给新一代食品安全监控体系的建立提供了一个理想的技术平台，其发展前景十分广阔。

（一）便携式现场检测设备

微流控芯片在食品安全领域最被看好的是开发小型化的、便携式的现场快速检测设备。传统的食品安全检测完全依赖于中心实验室，从样品采集、运输到最终取得检测结果一般需要数天时间，对时效性要求极高的食源性疾病暴发调查、进出口食品检验检疫、生产线实时质量控制等场合来说，已经无法满足需求了。微流控可以把复杂的检测流程整合进手持式或者便携式设备里，检测不再局限于实验室，在农田、养殖场、屠宰场、超市甚至餐桌旁，检测人员可以随时随地进行即时检测。

这类便携式设备的发展将带来多重显著优势：

1. 即刻应对，迅速判定。现场检测将原本要几天才能等到的检测时间缩短为



几十分钟。监管人员或者企业品控人员根据即时得到的检测结果,就可以马上作出判断和决定,像迅速找到污染源头,拦截有问题的产品,调整生产流程等等,这样就大幅提高了监管效率和风险防控能力。

2. 降低检测门槛,利用高度自动化的技术,便携式微流控设备有可能实现用户无需专业知识即可进行检测。从而构建覆盖面更广的食品安全社会共治监督网,把检测能力从专业实验室下沉到基层监管单位、生产企业甚至消费者手中。

3. 扩大检测覆盖面,由于便携式检测设备低成本、高效率,所以可以进行大规模筛查。监管机构可以大幅度提高食品流通环节抽检的频率,企业也可以对原材料及成品实行全面的质量把控,进而更有效地避免食品安全事故的发生。

目前已有研究团队和企业开始研发可以用来检测农药残留、兽药残留、致病细菌、重金属离子以及生物毒素的便携式微流控系统。随着技术的日趋成熟和成本的降低,这样的设备将会是食品安全监管人员、企业质量控制人员的标配,从源头上守护“舌尖上的安全”。

(二) 一体化“样本进,结果出”系统

微流控技术在食品安全领域的一个最终目的,就是建立全自动、一体化的“样本进,结果出”的检测系统。目前虽然有多种快速检测方法,但是样品的前处理过程依然成为影响快速检测效率和普及的主要因素。食品样品的基质非常复杂,含有大量的脂肪、蛋白质、色素等干扰物质,所以对目标物进行检测之前,通常需要经过均质、提取、纯化、富集等一系列繁杂的处理过程。不但耗时费力,而且容易造成人为误差和交叉污染,影响检测结果的可靠性。

微流控芯片对于解决这一难题给出了一种理想的办法。通过在芯片上集成不同功能单元,比如微型过滤器、磁珠分离结构、混合器、反应室等等,从而实现从原始样本处理到最后的信号检测的全部过程自动化。已经有一些研究者在芯片上开发出能够自动完成细菌细胞裂解、DNA 提取、PCR 扩增、荧光检测等全部过程,从而快速鉴定食源性致病菌。华中科技大学的研究小组研制出手驱动的微流控系统,翻个身就能对多种分子进行检测,极简操作一体化系统的应用前景十分广阔。

一个真正的一体化系统,就是说检测人员只需要把样品(经过简单的预处理,比如稀释、均质)放进一次性芯片卡盒里,然后把卡盒放进分析仪器里,仪器就会自动完成接下来的所有步骤,在很短的时间内直接给出定量或者定性的结果。

高度自动化的系统将会使检测人员从繁琐的工作中完全解脱出来，大幅度降低操作人员的技能要求，保证检测结果稳定可靠。随着技术的发展，全集成系统必然成为未来食品安全快速检测的主要方式，给食品安全高效的、准确的、标准的监控体系提供了有力的技术支撑。

（三）智能化与网络化检测平台

未来微流控芯片在食品安全检测中不会单独作为一个检测设备，而会向智能化、网络化智慧监管平台的方向发展。随着人工智能、物联网、大数据、5G 通信等前沿技术日趋成熟，将这些前沿技术与微流控检测设备相结合，就会产生出全新的食品安全预警和溯源系统。在融合之后，检测数据不再孤立地存在，而是汇集成可以指导决策的智能数据流。

智能化主要表现为检测过程优化以及智能的结果分析。集成有 AI 算法的微流控系统可以随时监督检测过程，对检测过程中的流体实施智能控制，以改善反应条件，从而提高检测的稳定性和准确性。在数据分析上，人工智能可以借助图像识别、模式识别等方式自动识别复杂的检测结果，甚至根据历史数据和环境数据来对食品安全风险进行预测。通过对显微图像数据进行分析，AI 可以更加准确地识别和计数循环肿瘤细胞，同样的技术也可以用在食品中微生物或者杂质的识别上。由此可知，智能化的提升将会使检测设备从一个简单的工具变成一个可以思考、会做出判断的智能终端。

网络化就是把分布各地的智能化检测终端连接起来，形成一个从农田到餐桌的全产业链食品安全监控网络。每一台便携式微流控设备都是一个数据采集节点，实时把含有时间、地点、样品信息、检测项目、结果等的数据上传到云端数据中心。监管部门可以依靠这个平台，随时掌握区域内食品安全的大体状况，及时察觉可能存在的区域性食品安全风险因素，从而准确预知食品安全风险，并做出迅速反应。对于消费者来说，未来只需要扫描产品的二维码，就可以查看该产品从原料到成品每一次快速检测的记录，真正做到全过程透明可追溯。依靠海量实时数据开展智慧监管的模式，有望从根本上改变目前相对被动、滞后的食品安全监管状况，促使整个食品安全体系朝着主动预防、精准打击、科学决策的方向发展。

第九章 食品安全快速检测数据处理

食品安全快速检测技术真正的价值不是先进的传感器,而是对大量的复杂的原始数据进行深入挖掘和分析。本章系统阐述由原始信号得到最终模型的一整套数据处理手段,希望为提高快速检测技术的准确性和可靠性提供理论依据和实用指导。

第一节 快速检测信号处理技术

从传感器得到的最初信号算作数据处理的开始,其中包含着很多干扰信息。高效的信号处理是保证后续分析准确性的前提,直接影响模型可以提取的有效信息量及质量,是联系物理测量和化学信息的桥梁。

一、信号采集与预处理

信号预处理就是去除原始数据中非目标信息,增强与待测物浓度有关的信号,从而为建立稳定的、可靠的分析模型奠定基础。该步骤就如同给粗糙的原材料进行精细加工,是后续所有分析工作的基础,处理的好坏直接决定了最后检测结果的准确性。

(一) 噪声滤除与基线校正

食品安全快速检测过程中,光谱、色谱、电化学信号等任何一种信号的采集,都会受到仪器本身、环境、样品基质复杂性等因素的影响,产生各种噪声。噪声一般表现为信号中的高频随机波动,会严重掩盖待测物质的真实特征信息,降低信噪比,对后面的定性与定量分析造成很大的干扰。因此噪声滤除成了信号预处理中极为重要甚至常常是第一步的步骤。常用的噪声滤除方法有移动平均滤波、高斯滤波、中值滤波和在化学计量学中经常用到的萨维茨基-戈雷滤波。其中,萨维茨基-戈雷滤波是在滑动窗口内利用多项式最小二乘拟合的方法,可以较好地滤除噪声,同时又能较好地保留信号的峰形、峰宽等重要特征信息,因此得到



广泛的应用。傅里叶变换、小波变换等频域分析方法给信号去噪提供强有力的工具，特别是小波变换，可以把信号在不同尺度上进行分解，区分高频噪声和低频有用信号，达到更精细的滤除效果。

基线漂移，属于另外一个常见的信号干扰。它表现为信号整体背景缓慢、非线性地上升或者下降，一般是由仪器长时间工作导致的温漂、光源老化或者样品背景吸收缓慢变化等原因造成的。基线漂移没有被有效地校正，就会给定量分析带来巨大的系统误差，尤其在近红外光谱、拉曼光谱等信号中表现更为明显。基线校正就是把倾斜或者弯曲的基线拉成水平。常用的校正方法有多项式拟合、一阶或者二阶导数光谱、迭代重加权惩罚最小二乘法、非对称最小二乘法等。导数光谱通过对原始光谱求导来消除基线漂移和部分背景干扰，提高光谱分辨率，但是会增大噪声水平。而非对称最小二乘法等现代算法，通过给残差赋予不同的权重，然后迭代拟合基线，可以自适应处理各种复杂的基线形状，鲁棒性、适用性更强。

（二）信号平滑与归一化

信号平滑和噪声滤除紧密相连，其主要目的就是提高信号的信噪比。平滑处理的主要目的就是消除数据点之间的局部随机波动，使信号曲线更加平滑，更好地反映出数据的趋势性。移动平均法是最简单的一种平滑方法，即把窗口内的数据点平均值代替中心点，操作简单，但缺点是可能会使信号峰变宽、峰高降低。由于萨维茨基-戈雷平滑法在保持信号的关键特征方面具有明显的优势，所以它得到了更广泛的应用。选择平滑方法和参数（窗口大小、多项式阶数等）时，要在平滑效果和信噪比之间做权衡，过度平滑会把样品里微量组分的特征信息给抹掉，平滑不够则达不到好的去噪效果。

信号归一化也是一道非常重要的预处理环节。消除样品制备、测量条件等非化学因素变化所引起的信号强度差异，使不同样品之间的信号可以进行有效的比较。以光谱分析为例，样品的物理状态（颗粒大小、紧密程度等）会引起光的散射，使光谱整体强度发生平移或者缩放，而这种变化和待测物的化学浓度没有直接联系。归一化处理可以较好地校正这些物理效应。常用的归一化方法有最大最小值归一化、矢量归一化、标准正态变量变换等。最大最小值归一化就是把数据线性地变换到指定区间上，例如 $[0, 1]$ 。矢量归一化把每一个样本信号（光谱）当作一个向量，通过除以自身模长来使所有样本向量的长度归一化，从而有效地

消除由于光程变化引起的乘性干扰。标准正态变量变换,即对每一个样本的光谱进行中心化和标准化处理,可以很好地校正由于固体颗粒散射所导致的基线平移或者倾斜现象,所以在近红外光谱分析中被广泛地使用。

(三) 异常值识别与剔除

数据采集的过程中,由于操作失误、仪器故障或者样品本身的异常特性等,会出现一些异常值或者离群点。如果不处理这些异常样本,而直接用它们来建模,那么异常就会对模型性能造成不成比例的影响,造成模型偏离真实规律的情况,从而使模型预测准确度和稳健性下降。因此,对异常值进行识别并妥善处理,在数据分析中是不能缺少的环节。

异常值的识别方法多种多样,大致可以归纳为以下几类方法:

1. 基于统计分布的方法: 该类方法假定数据服从某种概率分布(如正态分布),把偏离分布中心的样本点判为异常。经典例子就是“ 3σ 准则”,把均值 ± 3 倍标准差范围之外的数据当做异常值。对多元数据,一般采用马氏距离来度量样本点到数据中心(均值)的距离,马氏距离过大则认为是异常。

2. 基于距离和密度的方法不需要对数据分布做特定的假定。核心思想就是,如果一个样本点周围邻居很少,即该点到它的 K 个最近邻点的平均距离明显比其他点大,那么可以判断为异常。

3. 基于模型预测的方法,用全部数据建立初步模型,例如主成分分析模型,然后观察各个样本的预测残差或者杠杆值。残差过大的样本说明模型对于该样本的解释性不好,杠杆值过大的样本说明该样本对于模型的建立影响较大,这两类样本都可以看作是异常值。

对于已经识别出来的异常值在处理的时候要特别小心。最直接的就是把它从数据集中删除。但是,在剔除之前应尽可能分析异常产生原因。异常是由于明显的测量误差引起的,剔除是合理的;如果异常是由样品本身独特的性质造成的,那么所谓的异常样本就可能含有重要的未知信息,简单地剔除可能会导致有价值的发现被遗漏。因此异常值的处理要结合专业知识综合判断,保证数据清洗的科学性、合理性。

二、特征提取与选择

预处理后数据的维度往往仍然很高,其中包含很多冗余或者不相关的信息。



特征提取与选择的主要目的就是从高维数据中找出最有代表性的变量,即特征。这些特征应最大程度地保留原始数据的有效信息,使数据维度降低、简化模型结构、提高运算效率、提高模型的泛化能力。

(一) 光谱特征提取

光谱技术(近红外光谱、中红外光谱、拉曼光谱等)在食品安全快速检测中应用较多,而这些技术所产生数据往往包含几百甚至上千个波长点,这就形成了一个高维数据空间。这些波长点之间常常存在着严重的共线性以及信息冗余现象,如果直接将它们应用于建模之中,那么计算量将会变得非常大,并且很容易造成模型过拟合的问题。光谱特征提取就是将原始高维光谱数据投影到低维特征空间,得到少数几个包含主要信息的“特征变量”。主成分分析是最常用的光谱特征提取方法,用线性变换找出一组正交变量(即主成分)。第一主成分解释数据中最大的方差,第二主成分解释剩余方差中的最大部分,依次类推。前几个主成分一般可以包含原始光谱的大部分变异信息,从而达到很好的降维效果。

除主成分分析外,光谱特征提取中还使用了其他一些方法。偏最小二乘法提取特征时除了考虑自变量(如光谱)的变异,还要考虑自变量与因变量(如浓度)之间的协方差,所以提取的特征与预测目标更相关,常被用于定量分析。小波变换属于一种多尺度分析方法,可以把光谱信号拆解成各种频率的细节和近似成分,这些拆解出的系数可以当作特征,有助于体现光谱里不同尺度的峰形特点。在一些分析任务中,也会使用更为直接的方法,即根据化学知识选择某一个官能团振动的特征波段,或者使用连续投影算法等方法选出共线性最小的一组波长。

(二) 图像特征提取

随着机器视觉和高光谱成像技术在食品检测领域的日益广泛应用,图像数据处理的重要性也越来越突出。从图像中提取出可以有效表征样品状态(新鲜度、有无缺陷、是否掺假等)的特征,是实现自动化、智能化检测的关键。图像的特征大致可以分为颜色、纹理、形状、空间关系等。颜色特征最为直观,可以利用分析图像在 RGB、HSV、Lab 等颜色空间中直方图、均值、方差等统计量的方式得到。像水果成熟度,肉是否腐败这些都会体现在它们的颜色上。

纹理特征反映的是图像像素灰度值分布的情况,可以用来表征物体表面的粗糙度、均匀度和周期性。经典纹理分析方法有灰度共生矩阵、局部二值模式、Gabor 滤波器等。灰度共生矩阵可以统计出不同灰度级像素对的共现次数,再得

到能量、对比度、相关性等纹理描述子，可以区分谷物种类或者检验水产品的冰晶状态。形状特征用来表征目标的轮廓及几何形状，有面积、周长、圆形成度、矩形成度、不变矩等。可以用来做农产品分级、异物分选和微生物菌落形态识别等。高光谱成像中特征提取更加复杂，它将光谱和图像两种信息融合起来，既要提取每一个像素点的光谱信息，也要提取整个图像的空间纹理信息，得到所谓的“谱-空”联合特征，从而实现食品组分空间分布的可视化分析。

（三）传感器阵列特征选择

电子鼻、电子舌等传感器阵列技术，是模仿生物体的嗅觉、味觉而设计的，利用一组非选择性的传感器来检测样品中的挥发性气体或者液体，产生交叉反应，形成一个独一无二的“指纹”图谱。图谱就是高维响应向量，每一个维度对应一个传感器的信号。传感器阵列数据也存在高维、冗余信息的问题，和光谱数据类似。有些传感器对目标分析物不敏感，有些传感器的信号噪声太大，有些传感器的响应与其他传感器的响应高度相关。特征选择的目的是从所有的传感器响应信号中选出最优子集，并用它来建立识别模型。

传感器阵列的特征选择方法大致可分为过滤式、包裹式和嵌入式三类，其具体对比如下表所示。

特征选择方法对比

方法类型	原理概述	优点	缺点	典型算法
过滤式	独立于模型，根据统计量评估特征重要性并排序	计算速度快，通用性强，与模型无关	未考虑特征间的相互作用，选出的特征子集不一定对模型最优	相关系数、信息增益、卡方检验
包裹式	将特征子集作为优化目标，结合分类器性能进行评估和选择	选出的特征子集通常对特定模型性能最佳，考虑了特征间交互作用	计算代价高昂，易受模型过拟合影响	遗传算法、序列前向选择
嵌入式	在模型训练过程中同时进行特征选择	兼顾效率和效果，考虑特征间相互作用，选择结果与模型紧密结合	依赖于特定模型，通用性相对较差	LASSO 回归 (L1 正则化)

上表给出了各种选择特征的方法的特点。选择适合的传感器阵列特征可以明显提高模型预测精度及鲁棒性，还可以为传感器设计的改善以及硬件成本降低给与重要的参照。



三、定量与定性识别模型

在获得高质量的特征变量之后,下一步就是建立数学模型,从而实现对目标物质的准确定量或者对样品类别的有效识别。模型选择与构建是数据处理流程的终点,也是快速检测技术应用价值得以实现的关键环节,好坏直接决定检测结果是否准确可靠。

(一) 多元校正模型

定量分析是食品安全检测的重要任务之一,其目的就是建立特征信号与待测物浓度之间的数学关系,也就是校正模型。由于快速检测技术得到的信号(光谱等)一般是多变量数据,变量之间常存在共线性问题,传统的单变量线性回归已经不再适用。所以,只能采用多种校正方法。多元线性回归是较早尝试的一种方法,它要求自变量彼此独立,这一条件在光谱等数据中很难满足,因此该方法的应用受到了限制。主成分回归先对自变量做主成分分析,再用得到的主成分与因变量做回归建模,巧妙地解决了自变量共线性的问题。

众多多元校正模型当中,偏最小二乘回归至今在化学计量学、食品分析等领域中得到了最成功的、最广泛的应用。与主成分回归不同的是,偏最小二乘回归在提取出潜在变量(即特征)时,除了尽可能多地解释自变量矩阵的方差之外,还尽可能多地解释了自变量和因变量之间的协方差。这就意味着提取出的特征与预测目标最相关,所以一般情况下用较少的潜在变量建立起来的模型会更加稳定、预测性能更好。变量数远大于样本数且变量之间存在严重共线性的数据,该方法特别有效。

近些年来,由于机器学习技术的迅猛发展,非线性校正模型也被应用于食品定量分析中,来处理信号与浓度之间的非线性关系。支持向量回归、人工神经网络等模型,用核函数、多层网络结构等拟合高度非线性的映射关系。在处理复杂基质或者大浓度范围样品的时候,有时可以获得比线性模型更好的预测精度。但是非线性模型结构复杂,参数多,容易发生过拟合,对于建模人员的要求也相对较高。

(二) 模式识别模型

定性识别,即模式识别或分类,在食品安全方面也得到广泛应用,它的任务是把未知样品划分到事先定义好的类别中,比如判断牛奶是否掺假、食用油的来

源地、水果是否霉变等。模式识别模型大致可以分为有监督学习和无监督学习。无监督学习不需要类别标签，在缺少标签的情况下对数据进行聚类分析，如 K 均值聚类、层次聚类、主成分分析等，主要用于探索性分析，发现数据本身固有的自然群组结构。

有监督学习就是用已知的样本（即训练集）来训练一个分类器，然后利用该分类器对未知样本进行分类。线性判别分析是经典线性分类器，它的目的是找到最佳的投影方向，使得类间距离最大，类内距离最小。K-近邻算法属于一种简单直观的非参数方法，它通过未知样本在特征空间中最近的 K 个邻居的类别来确定该样本的类别。

支持向量机是目前使用最广泛的分类算法之一。它通过寻找一个最优的超平面，使两类样本之间的间隔最大，来实现分类。使用核函数，支持向量机可以处理线性不可分的数据，将数据映射到高维空间，使其线性可分，具有很强的非线性分类能力，泛化性能好。近些年来，以深度学习代表的人工神经网络里的卷积神经网络，在食品图像识别，光谱分类这些任务上也逐渐开始崭露头角。深度神经网络可以自动学习、提取多层次的抽象特征，对图像、高维光谱等复杂的多维数据的处理非常有效，并且在一些特定的应用上取得了突破性的成果。

（三）模型评价与优化

模型建立之后，对其性能进行客观、全面的评价是必不可少的环节，在此基础上进行优化，这就是模型在实际应用中可靠有效的最后一道关卡。模型的评价是在不同的数据集上完成的，训练集用来初步建立模型，交叉验证集用来调节模型参数（偏最小二乘潜在变量个数、支持向量机核参数等），以防止过拟合，最后用完全独立的测试集或者外部验证集严格检验模型的泛化能力。

定量校正模型的评价指标主要有校正均方根误差、预测均方根误差、决定系数（ R^2 ）和剩余预测残差等。各指标详细说明见下表。均方根误差越小，决定系数越接近于 1，模型的拟合与预测精度就越高。



定量校正模型评价指标

指标名称	缩写	含义	理想值	描述
校正均方根误差	RMSEC	模型在训练集上的拟合误差	越小越好	反映模型对已知数据的拟合能力
预测均方根误差	RMSEP	模型在独立测试集上的预测误差	越小越好	反映模型的泛化能力和预测准确性
决定系数	R^2	模型解释因变量变异的比例	越接近 1 越好	表征模型对数据变异的解释程度
剩余预测残差	REP	预测值与真实值之间的差异	越小越好	用于识别离群点或模型失效区域

定性识别模型经常使用的评价指标有准确率、精确率、召回率、F1 分数、ROC 曲线下的面积等，各个指标的特点见下表。准确率用来衡量模型正确分类的样本比例，但是在类别不平衡的数据集中容易产生误导性的结果。用精确率、召回率来更好地反映各个类的指标。ROC 曲线下的面积，就是模型在所有分类阈值下综合性能的表现，是评价分类器总体性能的一个稳健的度量。

定性识别模型评价指标

指标名称	含义	计算方式	优缺点	适用场景
准确率	模型正确分类的样本比例	$(TP+TN) / (TP+TN+FP+FN)$	直观，但类别不平衡时可能产生误导	类别分布均衡的场景
精确率	预测为正例的样本中，真实为正例的比例	$TP / (TP+FP)$	关注模型“不误报”的能力	误报代价高昂的场景（如垃圾邮件识别）
召回率	真实为正例的样本中，被模型正确识别为正例的比例	$TP / (TP+FN)$	关注模型“不错过”的能力	漏报代价高昂的场景（如疾病诊断）
F1 分数	精确率和召回率的调和平均值	$2 \text{ (Precision Recall)} / (\text{Precision} + \text{Recall})$	平衡精确率和召回率的综合指标	类别不平衡的场景，需要兼顾两方面
ROC 曲线下的面积	AUC	在所有分类阈值下，模型区分正负样本的综合能力	越接近 1 越好	对分类器总体性能的稳健度量，不依赖于特定阈值

模型优化就是不断迭代、不断试探的过程，可能会涉及到重新选择预处理的方法、重新选择特征选择的方法、更换模型算法、调整模型超参数等等。其主要目的就是尽可能在保持精度的情况下，提高模型的鲁棒性和泛化性，以达到更好的预测未来新样本的目的。

第二节 大数据分析在食品安全中的应用

信息技术迅猛发展时，大数据就成了促使社会前进、产业改变的关键推动力量。大数据给食品安全领域传统的监管模式造成了极大的冲击。它依靠数据挖掘与智能分析，明显加强了风险识别、监测预警、过程追溯及协同治理的水平，给保证“舌尖上的安全”赋予了前所未有的技术支撑。

一、食品安全大数据来源与特点

食品安全大数据的有效利用是智慧监管、精准防控的基础，是对从农田到餐桌整个链条上所有风险和信息的大数据。因此，深入了解并掌握这些数据的来源渠道及内在特性，对建立科学有效的食品安全分析体系来说是十分重要的。

（一）快速检测数据、监管数据、舆情数据等

食品安全大数据的来源渠道多种多样，才有了丰富的大数据基础。首先是快速检测数据，快速检测数据是生产企业、流通环节、基层监管站点产生的，时效性较强，可以对某个风险点进行及时监控。二是各级政府在日常监管中生成的大量数据，包括监督抽查数据、行政许可数据、行政处罚数据、对企业的巡查记录等等，是判断企业是否合规的重要依据，也是判断某地区风险状况的重要依据。其中监督抽检数据、风险监测数据等尤为重要，给风险评价提供有力的支撑。第三方检测机构出的实验室检测数据，以它的精准性与权威性给风险研判提供科学依据。



食品安全大数据主要来源类型

数据来源	数据示例	特点	应用场景
政府监管数据	监督抽检、行政许可、行政处罚、企业巡查记录	权威性、合规性	企业合规评估、区域风险判断
快速检测数据	生产企业、流通环节、基层站点快速检测数据	时效性强	风险点实时监控
第三方检测数据	实验室检测报告	精确、权威	风险研判科学支撑
网络舆情数据	社交媒体评论、电商评价、新闻报道、论坛讨论	实时性、非结构化	早期风险识别、公众情绪洞察
企业内部数据	生产过程、供应链管理数据	详尽、业务相关	全链条风险分析、生产优化
环境相关数据	农业、气象、地理数据	辅助性、宏观性	产地风险评估、灾害预警

伴随着互联网的发展，网络舆情数据、消费者投诉举报数据也变得越来越重要，成为不可忽视的信息来源。社交媒体、电商平台的用户评价、新闻报道、各种论坛讨论里，藏匿着许多食品安全事件的线索以及公众情绪的转变。非结构化的信息可以及时地反映出市场的反应、潜在的风险信号，使监管者能够在风险刚刚露出苗头的时候就发现并加以干预。同时，食品企业自身产生的生产过程数据、供应链管理数据、与农业、气象、地理等有关的环境数据等，也属于食品安全大数据的一部分，可以给全链条风险分析提供多维度的参考。食品安全大数据主要来源类型及特点，见上表。

（二）数据的多源性与异构性

食品安全大数据最突出的特点之一就是来源多，即多源性。数据是由政府监管机构、食品生产与经营企业、科研检测机构、互联网企业、广大消费者等多方面提供的。多源并存的局面使数据可以从生产、流通、消费等各方面，全方位、多角度地反映食品安全整体情况。以政府抽检数据来说，是官方监管之下的合规状况，以网络舆情数据而言，是消费者个人的主观感受与消费体验，两者加在一起便构成一个较为完整、较为均衡的风险视图。

和多源性并存的是数据的异构性。食品安全数据包含数据库中结构化的检测结果、企业注册信息等，也包含大量的半结构化、非结构化数据。非结构化数据所占比例较大，网页文本、社交媒体评论、图片、视频等都属于非结构化数据。数据格式多种多样、标准不一，不能直接进行传统的统计分析，给数据整合、处

理带来了巨大的挑战。怎样把异构数据融合起来,比如说把某地农产品滞销舆情同当地的气候异常状况、农药残留抽检数据联系到一起加以分析,这是释放大数据能量的关键一步,也是目前技术研究的重点所在。

由于数据来源众多,类型又杂,所以只能用先进技术来进行统一描述和集中存储。目前已有研究试图用某种技术解决异构数据库之间的数据同步问题,这对融合不同来源、结构各异的数据有着十分宝贵的经验。只有将分散的不同种类的数据有效的联系在一起,才能够打破孤立的数据岛屿,实现信息的互通共享,为之后进行深入的挖掘以及智能的应用奠定良好基础。

(三) 数据的体量与速度特征

食品安全大数据具有典型的食品安全大数据数据体量大、速度快的特征。体量大,数据的数量级非常大,由于物联网、移动终端、各种传感器的普及,食品生产线上实时监控的参数数据,物流运输过程中记录的温度、湿度等数据,每天上亿条的网络舆情信息,这些都使数据量以指数级增长。以大型连锁超市每天产生的交易数据和库存数据就达到 TB 级为例。如此大量的数据,给利用机器学习等方法来发现隐藏的、宏观的食品安全规律留下了很大的空间。

速度快主要是指数据产生和更新的频率很高,具有很强的时效性。不管是生产过程中实时产生的监测数据,还是网络上某食品安全事件的传播发酵,它们的数据流都是连续不断的。该种高速特性要求数据处理平台具备实时或者准实时的计算能力,可以及时捕捉转瞬即逝的风险信号。对社交媒体平台高频词进行实时监控,可以快速发现食品安全负面舆情,为危机处理争取到宝贵时间。与传统的按周期进行的随机抽样检查相比,后者的获取信息的速度以及作出反应的速度要慢得多。大数据高速处理能力把原来的“事后追溯”完全变成了“事中控制”甚至“事前预警”,大大提高了食品安全治理的主动性、及时性。

二、大数据在风险预警与溯源中的应用

大数据技术把多种异构的数据整合并且分析之后,正在深深改变食品安全风险管理的方式。不仅可以提前预知潜在风险,在问题发生以后也能及时追溯到问题的源头,从而促使食品安全保障体系从被动应对转变为主动防控,给食品安全保障体系注入强大的动力。



(一) 食品安全风险监测与预警模型

大数据驱动的风险监测预警属于食品安全的第一道防线。利用科学的预警模型可以预知食品安全的潜在风险,并对其进行评价。这些模型一般会把监督抽检、风险监测、食源性疾病的报告、网络舆情、环境监测等各方面的数据综合起来,对风险实施动态的、连续的监测。风险预警指标体系为模型建立奠定了基础,抽检不合格率、某特定污染物检出率、消费者投诉数量等可以被用作预警信号。当某个或者多个指标超出设定的阈值时,系统就会自动发出预警。

目前,多种先进的算法被用于食品安全预警模型的创建,从而提高预测的准确性,具体类型及特点如表所示。

食品安全风险预警模型类型与特点

模型类型	主要功能	常用算法	优势	示例应用
机器学习模型	识别复杂特征组合、预测高风险	随机森林、支持向量机、神经网络	预测准确性高、发现隐性关联	预测生鲜水产品风险
时空分析模型	分析风险分布、定位高发区域	地理信息系统、聚类算法	直观展示、资源精准投放	绘制风险地图、预知风险时空

1. 机器学习模型,随机森林、SVM、神经网络等算法对于风险的预测有着非常强的能力。可以利用大量的历史数据,在海量的食品样本中发现其高风险食品的组合特点。例如某种工艺、某个地区或某个时节内具有风险联系的特征。有研究显示,依靠大数据训练而得的随机森林模型,在预测生鲜水产品风险的时候,其灵敏度和精确度较高。

2. 时空分析模型:主要从地理和时间维度上对风险分布进行分析。将食品安全风险制成地图呈现给监管部门后,能够使他们清晰地看到各个区域的风险高低,精准定位出比较严重的地方,把监管资源用在刀刃上。通过时空融合技术、机器学习,甚至可以预测风险发生的时间和地点。

彻底改变了以往依靠专家经验、被动应对的模式,使风险监测更加智能化、科学化、前瞻性。模型的应用可以使得监管部门在大量的数据中及时发现区域性、行业性的潜在问题,将风险隐患扼杀在萌芽之中。

(二) 基于大数据的污染溯源分析

食品溯源对于精准召回、明确责任具有十分重要的作用,大数据技术为建立高效、透明的全链条溯源体系打下了强有力的基础。传统溯源方法因为信息记录

不完整或者环节间数据割裂而产生中断。大数据溯源就是把田间到餐桌各个环节的信息进行整合,实现了食品前世今生的全方位追踪。包含农产品种植信息、化肥农药使用记录、生产企业加工批次、仓储物流温控数据、分销商流向记录,一直到最终消费者购买信息。

食品安全事件发生之后,监管机构通过溯源系统可以立即得到产品生产批次、影响范围和流通渠道等有关信息,从而为精准召回和靶向监管工作提供有力支撑。贵州省的食品安全云平台就包含农产品安全溯源子系统,它通过收集各个环节的数据,实现了从源头到终端的信息可查,在事件发生的时候可以快速溯源并及时处理。把区块链技术和大数据结合起来,可以让溯源的信息更真实可信,不能被篡改。区块链的分布式记账特性保证供应链各环节上传的数据不能被篡改,可以防止数据造假并且可以明确各个环节的责任。

（三）区域性食品安全状况评估

对某一地区的食品安全状况做出客观、全面的评价,是地方政府制订有效的监管政策和资源配置计划的前提。大数据给这些评价带来了新的方法论和数据支撑。传统的评估方式大多依靠少量的抽样数据以及统计报告,其评估的结果在及时性以及全面性方面有所欠缺。但是大数据评估模型可以通过区域内更多的数据维度来进行更加深入、动态的分析。

评价模型往往会考虑到此地的监管抽查数据,企业的违规记录,消费者的投诉举报数量,食源性疾病发病人数,当地的媒体舆情,农产品产量与价格波动等众多信息。通过建立多因素评价模型,可以得到区域的食物安全指数或者风险指数,并以风险地图等形式直观地呈现出来。有利于监管部门准确辨识区域内各类食品存在的食物安全隐患,找到食物安全监管的薄弱点,进而有针对性地实施专项整治和监管。此类评价既可反映当下的安全状况,经由对时间序列数据加以分析,又可以表现出区域食物安全水平的变动趋向,从而给评判监管政策成效给予量化依照。数据驱动会让地方食物安全治理从经验决策转变为数据决策,从而促使区域评估模式由经验型向数据型发生转变。

三、大数据平台构建与挑战

要充分发挥大数据在食物安全领域的巨大作用,建设强大高效运转的大数据平台势在必行。该平台要有数据采集,整合,储存,剖析,应用等完整链路。但



是,在平台的建设和运行中存在着许多技术上的困难,也存在着数据安全、隐私保护、标准协同等许多问题。

(一) 数据采集与整合技术

建设食品安全大数据平台,首先要解决数据采集和整合的问题。因为数据的来源和结构不同,怎样把它们迅速而准确地汇集到一个平台上来,这是平台创建所碰到的第一个技术难题。数据采集技术要能自动从各种业务系统、物联网设备、互联网页面、移动应用等众多渠道获取和接收数据。例如生产线上的传感器数据需要经过物联网关实时采集;政府网站发布的抽检公告可以通过网络爬虫定向获取;社交媒体上用户的评论可以用专门接口或者采集工具来监控。

数据采集结束之后,更大的难题就是数据整合。不同的数据来源存在标准不一、格式不同、含义不清等状况,直接堆砌只会形成数据沼泽。所以需要对原始数据做数据清洗、格式转换、实体识别、数据对齐等处理。例如把不同企业上报的产品名称“番茄”和“西红柿”归一化处理,统一成标准术语;把不同部门的企业身份编码进行匹配关联,使数据围绕同一企业或产品主体进行组织。通过创建统一的数据模型和元数据管理体系,把无序、异构的多源数据整合成逻辑清晰、质量可靠、可以分析的数据资产,给上层应用提供高质量的数据基础。

(二) 数据安全与隐私保护

食品安全大数据汇总及使用过程中,数据安全和隐私保护是不可逾越的红线。平台上有许多企业商业秘密、个人隐私信息,比如企业的生产工艺、配方数据、销售渠道,消费者投诉时留下的个人信息、联系方式。一旦这些数据泄露或者被滥用,就会给企业及个人带来巨大的损失,甚至引发社会信任危机。因此平台从建立的第一天起就应当同时建立强大的安全保证体系。

该体系应该包含技术和管理两方面。技术上采取数据加密、访问控制、数据脱敏处理和安全审计等措施保证数据在存储、传输、使用中不泄漏、篡改、丢失。对个人身份信息进行匿名化或者假名化处理,使得数据分析人员可以在不接触原始隐私的情况下进行数据分析工作。管理上要建立完善的数据安全管理制度与操作规程,给各个用户规定好访问权限和责任,对数据处理过程进行全程记录和监督。在涉及到国际合作和数据跨境流动的时候,还需要遵守有关国家和地区的数据保护法律法规。在数据利用和隐私保护之间找到最佳平衡点,这是食品安全大数据平台可以不断健康发展的保障。

（三）数据共享与标准化

长期以来由于数据孤岛现象以及数据标准不一致，食品安全协同治理的发展受到了阻碍，成为大数据平台建设必须解决的问题。目前大量的食品安全相关数据分散在农业、卫健、市场监管、海关等政府部门以及生产企业、电商平台等社会各主体手中，并没有建立起有效的共享机制。由于各自为政的信息系统以及不同的数据标准，造成数据很难实现互联互通，严重制约了跨部门、跨区域、跨行业的协同分析与监管联动，造成资源浪费和效率低下。

为了推进数据共享、标准化，需要从顶层设计开始，建立跨部门的协调机构，制定统一的食物安全信息数据标准以及交换协议。这些标准要包括食品分类、企业编码、检测项目、地理标识等所有重要部分，给数据互操作供应统一的“语言”。在此基础上构建起安全可控的数据共享、数据交换平台，明确共享目录、责任清单及激励政策，在保证数据安全的前提下有序开放数据资源。打破部门壁垒，让数据可以自由流动、充分共享，是发挥大数据整体价值、形成社会共治合力根本所在，也是食物安全治理体系和治理能力现代化的必由之路。

第三节 人工智能识别技术

大数据时代，人工智能以史无前例的深度、广度渗透到各个行业。在食物安全上，人工智能依靠其强大的学习、识别、决策能力，给快速检测技术的智能化升级带来了重要的推动，使检测手段从以往依靠人工操作的传统方式向着自动化、智能化方向发生了根本性的转变。

一、机器学习在快速检测中的应用

机器学习是人工智能的一个重要分支，它从数据中挖掘出数据的内在规律和模式来进行学习，给食物安全检测中的各种复杂数据提供了一种强有力的工具，大大提高了检测的准确度和效率，已经成为智能化分析的重要技术。

（一）支持向量机分类

支持向量机属于统计学习理论中的一种监督学习模型，对于小样本、非线性、高维度的模式识别问题有明显的优势。核心思想就是构建一个使各个类之间间隔最大的最优分类超平面，从而得到好的泛化能力。在食物安全快速检测中，支持



向量机被用来处理各种传感器数据和光谱数据。

使用电子鼻或者电子舌技术来检测食品的新鲜度或者掺假的时候,会产生高维响应信号矩阵。信号具有非线性特征,传统的线性分析方法很难区分。用支持向量机算法就可以对高维数据进行有效的分类,可以准确地判断样品的真实性质,比如区分不同的产地的葡萄酒、判断肉类的保鲜程度、识别地沟油等等。支持向量机在训练样本数量较少时仍能获得较好的效果,正好符合快速检测技术应用中样本数量有限的特点,因此它成为了一种高效可靠的数据分类工具。

(二) 人工神经网络建模

人工神经网络是模仿生物神经网络结构的模型,由大量的神经元节点以及相互连接的神经元节点组成,用以处理信息。该网络结构具有很强的非线性映射能力以及自学习能力,可以很好地从复杂、模糊的数据中学习并找到隐藏的规律和关系,很适合做食品安全检测中的定量分析及预测建模。

快速检测时,人工神经网络可以整合传感器的信息,从而创建起多输入单输出或者多输出的预测模型。例如把温度、湿度、气体组分等传感器的实时数据同训练好的人工神经网络模型结合起来,可以预测水果在特定贮藏条件下货架期,也可以准确预测水产品中组胺等腐败指标的含量。与传统的线性回归模型相比,神经网络更擅长处理各种因素之间错综复杂的非线性关系,由此创建的预测模型更加精准可靠,给食品质量的实时监测和提前预警打下了牢固的技术根基。

(三) 随机森林等集成学习方法

集成学习是用多个学习器来完成一项学习任务的策略,核心思想是三个臭皮匠胜过一个诸葛亮。随机森林属于集成学习里面非常有代表性的一种算法,它会创建很多棵决策树,然后针对这些树的预测结果进行投票或者取平均数,从而大幅提高模型的准确率、稳定性和泛化能力,而且可以较好地防止过拟合现象的发生。对于特征很多并且交互作用比较复杂的数据集来说,该法特别有效。

随机森林在食品安全快速检测的各种复杂场景下用于判别分析。如鉴别蜂蜜、食用油等高价食品的真伪、掺假问题,需要对包含很多化学组分的光谱或色谱数据进行分析,这样的数据一般具备特征维度较多、不同特征之间联系复杂的特性。随机森林算法可以同时评估成百上千个特征的重要性,并从中筛选出重要的判别指标,进而建立一个鲁棒性好的分类模型。相比于单个的决策树,随机森林引入了样本的随机抽样以及特征的随机抽样,使得模型具有了更多的随机性以及

多样性，从而降低了模型对于某个异常样本的依赖，在面对未知样品的时候可以做出更加可靠的判断，因此使得检测的结果更加可信。

不同机器学习技术在食品安全快速检测中的应用特点，可见下表。

人工智能在食品安全快速检测中的应用概览

技术类型	核心特点	优势	典型应用场景
支持向量机	监督学习、构建最优分类超平面	小样本、非线性、高维数据处理能力强，泛化能力好	区分产地、判别新鲜度、识别掺假物
人工神经网络	模仿生物神经、非线性映射、自学习	捕捉复杂非线性关系，适用于定量分析与预测	预测货架期、预知腐败指标含量
随机森林	集成学习、多棵决策树投票 / 平均	准确性、稳定性高，有效避免过拟合，处理复杂特征	高价值食品真伪鉴别、掺假识别

二、深度学习在快速检测中的应用

深度学习属于机器学习前沿领域，它创建出更为繁杂精致的神经网络模型，完成原始数据直接学习特征的端到端处理。在图像、语音以及序列数据处理上取得重大的突破，在食品安全快速检测上也赋予了更强的智能识别能力。

（一）卷积神经网络在图像识别中的应用

卷积神经网络在图像处理领域是深度学习中最具代表性的模型之一，它特殊的卷积层、池化层和全连接层结构，可以自动地从图像中提取出由低到高的多层次特征。它强大的特征提取能力给食品安全视觉检测大展拳脚。传统的机器视觉检测方法要设计复杂的、耗时的特征提取算法，并且泛化能力差。

卷积神经网络彻底改变了这一情况。农产品表面缺陷检测的时候用带有标注的图像（发霉、破损、带病斑的水果等）来训练卷积神经网络模型。训练好之后这个模型就能自己分辨新输入的图像中水果的品质，准确率远高于传统的办法。生产线上装有使用卷积神经网络算法的高速相机，能对食品中的玻璃碎片、金属屑、塑料片等异物实施实时检测并予以剔除。微生物检测中，卷积神经网络可自动识别培养皿上菌落并进行计数，减轻检验人员的劳动强度，提高检测效率及结果一致性。

这些应用很好地说明了卷积神经网络把食品外观、形态等视觉信息的快速无损检测带到了一个新的智能化阶段。经过不断的优化网络结构并扩大训练数据集，其识别精确度与适用范围也正在逐渐扩大，已经成为保证食品物理安全和品质均一性的主要技术手段。



（二）循环神经网络在时序数据分析中的应用

循环神经网络是为处理序列数据而设计的，它的网络结构中存在循环连接，使得信息可以在时间步之间传递，因此具有对时间序列信息的记忆能力。因此，它在分析食品安全相关数据随时间变化的趋势时具有天然的优势，可以很好地捕捉数据随时间变化所呈现的规律。

食品腐败变质的过程是动态的，物理、化学、微生物等指标都会随时间的变化而变化。利用电子鼻、电子舌等传感器阵列持续监测食品在储存过程中挥发性物质或味觉信息的变化，可以获得连续的时间序列数据。循环神经网络以及它的变体，长短期记忆网络，可以很好地处理这种时序数据，在其中挖掘出和腐败程度有关的动态特征模式。由此建立的预测模型不仅能判断食品是否变质，而且能预测保质期，给供应链管理、消费预警提供准确的数据支持。循环神经网络对于食品溯源可以对产品生产、加工、运输、销售等各个环节所产生的时间序列数据流展开分析，从中找出异常模式，从而有效地帮助追溯问题产品的来源以及流向。

（三）深度学习在光谱数据分析中的应用

光谱分析技术有近红外光谱、拉曼光谱、高光谱成像等，为食品安全快速无损检测的主要方法。但是这些技术所生成的光谱数据具有高维、信息重叠多、容易受背景噪声干扰的特点，传统化学计量学方法在特征提取和建模过程中遇到难题。深度学习尤其是采用一维卷积神经网络、自编码器等模型，给光谱信息的深度挖掘供应了新的解决办法。

深度学习模型可以直接对原始光谱数据进行学习，得到有效的特征表示，省去了传统方法中的预处理、人工特征选择的过程。光谱数据分析中主要应用在以下几个方面：

1. 自动特征提取与降维，用深度自编码器等非监督学习模型压缩高维原始光谱数据，将低维特征空间中的关键判别信息保留下来。提取出来的深度特征，比用主成分分析等传统方法得到的特征更加有代表性。

2. 高精度定性、定量分析，将提取出的深度特征或者直接将原始光谱数据作为输入，送入一维卷积神经网络中，可以建立农药残留、添加剂、重金属等物质的定性判别和定量检测模型。深度学习模型有很强的非线性拟合能力，处理光谱基线漂移、峰形变化等问题比传统方法更高效、更准确，极大地提高了模型的预测精度和鲁棒性。

3. 数据融合和多模态分析,用深度学习框架可以融合不同光谱技术(近红外,拉曼)或者光谱和图像(高光谱成像)的多模态数据,通过联合学习完成信息互补,从而得到比单个数据源更全面,更准确的检测结果。

三、人工智能在快速检测流程中的综合应用

(一) 智能判读与结果解释

人工智能技术的加入,让快速检测设备不再只是输出原始数据或者做简单的阈值判断,而变成了可以给出智能判读和结果解释的“专家”。大大减少了对操作人员专业知识的依赖,减小了由于主观判断带来的误差,使检测结果更加可靠、实用。

一个基于人工智能的决策系统,可以将复杂的检测信号,如光谱曲线、传感器响应模式等,直接转换成简单的结论,比如样品合格或者不合格,疑似物质的种类和浓度范围,样品新鲜度等级等等。前沿的人工智能系统已经有了可解释性。它不仅给出最终的结论,还可以以热力图或者文字说明的形式,指出对最终判断起决定性作用的是哪些数据特征,例如光谱中某个吸收峰、图像中某个区域等。这样一种知其然又知其所以然的能力,极大地提高了用户对人工智能决策的信任程度,也给之后的问题排查和进一步分析提供了重要的线索。

(二) 检测流程优化

人工智能正在从根子上改变食品安全检测的全部过程,从样品前处理到数据分析,每一个环节都有很大的改进余地。利用人工智能对历史检测数据及流程参数进行深度学习,可以针对某项检测工作给出最佳方案,使资源被最大程度地利用并提高检测效率。

在实验设计上,人工智能根据待测样品基质及目标物特性,可给出最适合的快速检测方法和操作参数(提取溶剂选择、反应时间等),大大缩短方法创建时间。人工智能可以实现智能采样和自适应检测。例如,对一批原材料进行抽检时,人工智能系统可以根据初步的检测结果和以往的数据,动态地改变采样策略,重点对高风险区进行布控。对于需要连续监测的任务,人工智能可以分析数据变化的趋势,发现异常信号时就会自动提高检测频率或者发出警报,这实现了由被动检测向主动预警的重大转变。智能化的流程优化使得检测资源更加精准的投入需要的地方上,从而大大提高了整个检测体系响应速度以及监管效率。



（三）自动化报告生成

食品安全检测的最后一道工序就是检测报告的编写与管理，耗时费力且容易出现错误。利用人工智能来创建决策系统，可以做到检测报告的全流程自动化生产，把检测人员从繁琐的文书工作中解放出来，并且保证报告的规范性、准确性、一致性。

快速检测设备完成分析以后，人工智能系统就自动汇总了所有有关信息，样品详情、最新的检测数据、模型分析结果、智能判断结论、各种图表。系统根据模板按照相关的法规、标准的要求自动生成全部必填项，生成一份格式规范、内容完整的检测报告。报告内容可以按用户要求进行定制，既可以生成供专业人员审阅的详细技术报告，也可以生成供管理层或者公众阅读的简明摘要。自动化报告系统可以和数据库以及实验室信息管理系统无缝对接，检测结果即刻保存、查询、追溯，给食品安全大数据平台的建立与全链条智慧监管打下良好的基础。

第四节 检测结果可视化展示

食品安全检测由单一指标向多指标、由被动响应向主动预警发展，由此产生的海量高维复杂数据也越来越多。怎样把那些抽象的检测数据变成直观易懂的视觉信息，既是技术发展的一种必然走向，也是改进监管效率、支持科学决策、加强公众交流的一环。本节会对检测结果可视化的手段、工具以及未来发展走向做进一步的探究。

一、数据可视化基本方法与工具

数据可视化就是利用图形化的手段把原始的数据清晰、有效的展示出来，它将设计美学、计算机科学技术和统计学原理相结合。食品安全方面，合适的可视化可以把检测得到的复杂结果变成容易理解的图像，从而给风险评价和管理提供有力的支持。

（一）图表类型选择

选择合适的图表类型是数据可视化的第一要务，也是保证信息能够有效传达的前提。不同的图表适合于不同种类的数据以及不同的分析目的。柱状图常用来表示不同样品中污染物的含量；折线图适合用来展示某一个污染物随时间或批次

变化趋势；饼图或环形图可以清楚地反映各类不合格项目所占的比例。用柱状图展示一批次牛奶中多种兽药残留检测结果时，可以并列显示每种兽药的检出值与国家限量标准，用警示色标出超标部分，使结果一目了然。

散点图则适用于探索两个变量间可能存在的关联，例如探究某种水果的含糖量与农药残留量之间是否存在关系。对于多维、多指标的复杂数据集，热力图是一种出色的选择。它能通过颜色深浅的变化，直观地反映样品在各个检测项目上的综合结果，从而快速识别高风险样品及关键风险项目。因此，图表的选择必须紧密围绕待解决的业务问题及数据自身的特性进行，避免滥用或误用，以确保信息传递的准确性与有效性。不同图表的适用场景，可见常见图表类型及其食品安全应用：

常见图表类型及其食品安全应用

图表类型	应用场景	示例
柱状图	比较不同样品或类别间的数值大小	不同样品污染物含量、兽药残留检出值与限量标准对比
折线图	展示数据随时间或批次的变化趋势	污染物含量随时间变化、产品稳定性分析
饼图 / 环形图	呈现各部分占总体的比例	各类不合格项目所占比例
散点图	探索两个变量间的关系	含糖量与农药残留量的关系
热力图	直观展示多维数据的综合结果，发现高风险点	样品在多个检测项目上的综合风险等级

（二）可视化设计原则

好的可视化设计能带领用户迅速、准确地把握数据背后所隐藏的信息，关键在于清晰、正确、有效。优秀的设计要以数据为主角，避免多余的装饰元素干扰信息传达，即追求更高的数据墨水比。图表中每一个像素都应该服务于数据表达。色彩使用要遵守一致性、功能性这两个原则。采用绿色、黄色、红色构成的交通灯系统分别代表合格、警告、超标，这样的色彩编码能大大降低用户的认知负担。

在设计过程中，还必须遵循以下几个关键原则：

1. 准确性、完整性：可视化应该真实地反映原始数据，不能歪曲或者忽略重要信息。图表的坐标轴刻度、标签、单位要清楚明确，不能误导。对不确定数据可以采用误差线等方式表示，保证信息完整无缺。

2. 目的性，设计要有明确的分析目的。在开始设计之前必须明确可视化要回答的问题，即比较、展示分布、揭示构成还是理清关系，从而选择最合适的表现形式。



3. 简洁性与美观性, 界面要简洁, 所有与数据无关的多余信息, 例如过度的三维效果, 无关的背景图等等都要去除。同时用合理布局、和谐的色彩搭配、清晰的字体等手段来提高整体的美观度、可读性, 给用户提供良好的视觉体验。

(三) 常用可视化软件与库

目前食品安全检测领域的可视化工具越来越丰富, 大体上可以分为商业智能软件和编程语言库两大类, 以满足不同用户的需要。商业智能软件, 如 Tableau、Power BI, 一般都具有简单易用的图形化用户界面和丰富的功能模板, 使不懂编程的分析师也可以很快制作出交互性强、内容丰富的仪表盘和报告。该类工具能对接各种数据源, 可以是简单的电子表格也可以是大型数据库。它们非常适合用来做探索性数据分析、制作管理驾驶舱, 让管理者可以一眼看出各种食品安全指标。

需要高度定制, 并且要深度集成到已有系统中时就选择编程语言库。Matplotlib 是 Python 生态系统的基础绘图库, 具有广泛的绘图能力; Seaborn 在 Matplotlib 的基础上进行了封装, 为图表提供更美观的默认样式以及更简洁的高级图形接口, 特别适合于统计类图形的绘制。D3.js 是 Web 端交互式可视化领域最具影响力的库之一, 可以绑定数据到 DOM(文档对象模型), 创建出表现力强、交互性高的动态数据图形。ECharts 等库由于其图表种类多、支持中文, 被大量的信息平台所采用。

二、快速检测结果的可视化呈现

将快速检测技术所产生大量数据变成直观的图形, 是使这些数据发挥最大效用的重要部分。有效的可视化可以清楚地表现出单个样品的安全状况, 并且可以进行多维度的对比分析以及空间分析, 找到数据中隐藏的规律和潜在的风险。

(一) 单项检测结果可视化

对于单一样品的单项检测结果, 可视化主要目的是快速、清楚地表达出“合格”或者“不合格”的重要信息, 并显示该样品的结果距离安全阈值还有多远。最常见的方式就是仪表盘式的图表或者带有阈值线的柱状图。检测样品中铅含量的时候可以使用半圆形仪表盘来表示, 刻度范围是 0 到国家标准限量值, 指针指向当前测量的数值。仪表盘各个区域用绿、黄、红三种颜色来表示安全区、警戒区、超标区, 用户只要看颜色就可以做出初步判断。

另一种有效的方法就是使用目标对比图。该图以一根竖直的柱子表示检测值，旁边用一条水平线或者一个标记点清晰标示国家标准限量值。柱子高度低于标准线为合格，高于标准线为不合格。直观，又可以准确体现检出值和限量标准的差距，给风险评价赋予量化依据。对于荧光或者比色等信号强度和浓度有关的检测，还可以将信号响应曲线和标准曲线并列显示，使结果更加科学、有说服力。

（二）多批次 / 多项目结果对比可视化

在实际的监管、质量控制环节中，常需将不同批次的产品或者同一批次的多个检测项目进行横向比较，以发现可能存在的系统性风险或者质量问题。此时热力图效果好，可以直观地在一个二维表格上体现多样本（行）和多个检测项目（列）结果。单元格颜色深浅来表现数值大小或者风险等级。监管人员根据热力图可以快速找到共性问题的样品或者检测项目，然后对共性问题进行干预。

折线图是分析时间序列数据的有效方法。绘制某一批次或多批次的某个关键指标（黄曲霉毒素 M1）随时间或生产批次变化的曲线图，可很好地观察产品的稳定性状况。如果折线图出现异常峰值或者上升趋势，就说明生产环节失控，必须立即追踪找到问题。分组柱状图适合用来比较不同供应商、不同产地同种产品的某一个指标上的表现，为原材料采购、供应链管理等提供数据支持。将三个不同供应商的苹果的农药残留检测结果并列展示，就可以直观评价各个供应商的品控水平。

（三）地理信息可视化

食品安全问题常常与地理位置存在联系。将检测数据同地理信息系统融合起来，从空间角度实施可视化分析，对疫情溯源、风险预警以及区域化监管有着无法取代的意义。地理信息可视化能够把食品安全风险的空间分布规律、聚类特征清晰展现出来，给精准监管提供有力的决策支持。常用的地理信息可视化形式是分级统计地图，也叫做着色地图。该类地图会用不同的颜色或深浅来表示省、市、县等行政区域中抽检合格率、某种污染物的平均浓度或者不合格样品数量，使食品安全的风险地理分布差异一目了然。

点状分布图同样重要，它可以将每一个不合格样品或者食品安全事件作为一个点，准确地标记在地图上。当这些点在某一个区域密集出现的时候，就可能意味着这个地区存在着污染源或者系统性的风险。绘制食源性疾病病例地理分布图，可以快速找到疫情爆发的中心区域，给流行病学调查指明方向。从时间上来说，



地理信息可视化也可以是动态时空的，用地图数据变化来追踪风险的传播路径和发展趋势，可以大大提高风险溯源和警报的效率。

三、交互式可视化与报告生成

虽然静态图表可以传递信息，但随着数据探索需求越来越复杂，它的局限性也越发突出。交互式可视化同自动化报告生成技术结合之后，使得食品安全数据分析变得越发动态化、智能化、个性化，数据的利用效率得以提升，解决问题的反应速度也被加快。

（一）动态交互式仪表盘

动态交互式仪表盘属于现代数据分析的关键手段之一，它把若干个重要的指标以及图表汇集到一个可以相互作用的面板上，给用户塑造出一个全局的、支持钻取的数据探索场所。用户不再是被动的接受信息，而可以主动的通过点击、筛选、下钻等操作去探寻数据背后的深层次关系。食品安全监管人员可以查看一张全国地图，各省份总体抽检合格率一目了然；点击某个省份，仪表盘上其他的图表（不合格项目分类、各类食品风险排行等）就会立即联动更新，显示该省份的详细情况。用户可以使用时间筛选器查看某一时间段的数据变化趋势，也可以使用食品分类筛选器关注某一高风险的食品。

仪表盘设计的核心理念就是联动和钻取。联动是指在一个组件上发生的操作会引起其它相关组件同步更新，形成分析逻辑链；钻取则允许用户从宏观数据逐步深入到微观细节，例如从全国数据钻取到城市，再到城市下的市场或者企业，最后到具体的样品信息。这种探索性分析方法使数据分析更加灵活深入，可以帮助监管者、管理者及早发现异常模式，探究问题根源，达到数据支撑下精准决策的目的。

（二）自动化检测报告生成

传统的检测报告的编写费时费力，并且容易出现错误。自动化检测报告生成技术就是把快速检测仪器、数据分析平台和报告模板系统这三个部分连成一体的技术，实现从数据采集到报告输出全程自动。检测仪器分析完毕以后数据会自动传送到中央数据库。系统根据预设规则，调用相应的可视化模板（柱状图、仪表盘等），将图表嵌入标准报告模板中。报告中关于文字描述、样品信息、检测依据、标准限值和结果判定等内容，同样可以由程序自动填写。

这项技术把报告出具时间从几小时或者几天缩短到几分钟，而且保证报告格式统一，数据一致，防止因手动录入和复制粘贴而产生错误。智能报告系统能够根据检测结果给出初步的分析建议。检测结果超标时系统自动把不合格项高亮显示，在报告里附上相关法规条款和处置建议，给后续的执法或质量改进提供直接的指导。这就使检测人员从繁重的文书工作中解放出来，可以把更多的精力放在检测技术本身以及一些复杂的问题判断上。

（三）面向不同用户的可视化

同样的食品安全数据，对不同的用户来说，关注的侧重点和信息需求是完全不一样的。因此优秀的可视化应该“因人而异”，给不同层次的用户呈现不同的可视化界面和内容。一线检测技术人员需要的是最详尽、最准确的数据表现，包括原始数据、光谱图、色谱图、质控信息和详细的误差分析，以便对检测过程的准确性做出专业判断。

对企业质量管理人员或者政府监管决策者来说，他们所关注的更多是宏观趋势以及关键绩效指标。为他们制作的可视化仪表盘应该呈现合格率、主要风险项、风险区域分布、预警信号等高层次信息，用简单明了的图表和清晰明了的指标，迅速地传达整个安全态势，利于其进行资源调配与战略筹划。当信息需要公之于众时，可视化的重点就变成了通俗易懂，防止造成恐慌。此时应该使用交通灯信号、笑脸、哭脸符号等简单的图形，加上简明扼要的文字说明，使公众在不了解专业细节的情况下，也能对食品安全状况形成直观正确的认知，从而达到有效的风险沟通。

第十章 食品安全快速检测技术展望

随着全球食品安全问题的日益突出，科学技术的不断进步，食品安全快速检测技术得到了飞速的发展。本章会详细探究这个领域未来的发展动向，而且还会谈及未来几年里，在灵敏度，速度，便携性以及智能化这些方面的重要走向，从而给行业的发展给予前瞻性的思索与预测。

第一节 快速检测技术发展趋势

食品安全快速检测技术的未来发展趋向，会把“精准、快速、便携、智能”这四个要素当作核心。借助技术更新和技术融合，希望搭建起一个覆盖从农田到餐桌整个食品安全链条的，全天候的，全方位的食品安全监测网络，以应对日益复杂化的全球食品供应链所造成的挑战。

一、更高灵敏度与特异性

食品中痕量甚至超痕量有害物质的检测，提高检测方法的灵敏度、特异性一直是技术发展的主要研究方向。不但要能够检测出更低的浓度，而且在复杂的食品基质中正确地鉴别出目标物，防止出现假阳性或假阴性的情况。

（一）新型识别分子的发掘

传统的抗体和核酸探针虽然应用广泛，但是稳定性、成本、制备周期等方面存在不足。未来研究的主要方向就是发现新的识别分子，从源头上提高检测的特异性、稳定性。核酸适配体是一种利用体外筛选技术得到的单链寡核苷酸，具有高亲和力、良好的特异性、容易化学合成和修饰、稳定性好等特点，在识别小分子污染物、蛋白质毒素、病原微生物等方面有巨大的应用潜力。

噬菌体展示肽技术给筛选特异性结合多肽供应了高效途径。这些短肽分子量小、稳定性好，可作为理想的抗体用于传感器的构建。分子印迹聚合物被称为“人工抗体”，能够根据模板分子的形状、大小、官能团来定制识别位点，对于目标



物有很好的识别效果,尤其对缺少对应抗体的小分子化合物检测有优势。纳米抗体和亲和体等新型蛋白分子的出现,也给传统免疫分析的局限性提供了更多的解决办法,其结构简单、易表达、易改造的特点,为开发更稳健、高效的检测方法打下了良好的基础。

新型识别分子的出现和使用将会使得食品安全检测工具箱更加完善,使得检测系统可以更加准确地鉴别出目标物质。通过与其它信号转换技术相结合,可以对不同种类、数量的食品样品做出高特异性的识别响应,从而明显提高快速检测技术的性能和使用范围,为未来建立有效的食品安全快速检测技术防线提供重要支撑。

(二) 信号放大技术的创新

识别元件与目标物结合后,把这种微弱的生物或者化学事件转化成易于读取的宏观信号,这是决定检测灵敏度的重要步骤。因此信号放大的技术革新,也成了推动快速检测达到更高灵敏度的主要驱动力之一。传统的信号放大方式,比如酶催化显色,虽然已经被广泛应用,但是在放大效率和稳定性方面还有待提高。

未来技术的发展会更加依靠新型的材料以及新的机制。纳米材料,例如金纳米颗粒、量子点、碳点、上转换纳米材料等,由于具有独特的光学、电学以及催化特性,因此成为了信号放大的“明星”。可利用贵金属纳米颗粒的等离子体共振效应或者其优异的催化活性(模拟酶)来实现显著的信号增强。量子点和碳点由于具有高荧光量子产率、宽激发光谱和窄发射光谱等特性,在荧光检测方面也起着不可忽略的作用。聚合酶链式反应、滚环扩增、链置换扩增、CRISPR-Cas系统的交叉切割等基于核酸信号放大的技术,可以将微量核酸信号指数级放大,在病原微生物和转基因成分的超灵敏检测上取得了突破。

(三) 单分子检测技术的探索

将检测灵敏度提升到极致的终极目标,就是对单个目标分子进行直接计数和分析。单分子检测技术抛弃了传统的信号放大手段,转而利用高灵敏度的探测装置直接获取单个分子事件所引发的信号,从根本上杜绝了系综平均效应的存在,从而可以展示出单个分子独有的特性以及行为,为绝对定量和超高灵敏度检测奠定了基础。

目前,多种单分子检测技术正在食品安全领域进行积极探索与应用。

1. 纳米孔测序与传感技术:用观察单个分子通过纳米孔时引起的电流或者光

学信号特征变化的“指纹”，来实现对分子的识别。它不仅可以对 DNA/RNA 进行快速测序，还可以检测蛋白质、小分子毒素等很多种目标物，有广阔的应用前景。

2. 表面等离子共振技术：通过单纳米颗粒与目标分子结合后散射光谱或者亮度的改变，可以实时无标记地追踪单分子结合事件。该技术对于病毒颗粒、外泌体等大尺寸的目标物检测效果最好。

3. 荧光相关光谱、超分辨成像，用高精度的光学仪器，低浓度时观察单个荧光标记分子的扩散、相互作用；或者用打破衍射极限的成像技术，直接观察单分子的空间位置。这些技术对于认识分子间的相互作用机理，在复杂的体系里精确定位痕量物质提供了有力的手段。随着技术的发展和成本的降低，单分子检测会逐步进入常规检测领域，给食品安全监管提供极好的灵敏度和准确度保障。

二、更快速与现场化

食品供应链的复杂性、时效性要求检测技术必须脱离中心实验室，走向生产、流通、消费的第一线。实现从样品预处理到结果判读的全过程快速化、现场化，是技术发展的必然趋势，也是应对突发性食品安全事件的有效手段。

（一）“样本进，结果出”一体化

传统的快速检测流程一般需要经历样品称量、提取、净化、孵育、读数等几道独立的工序，操作比较繁琐、耗时长，对操作人员的专业技能要求高。未来的发展方向就是将这些步骤高度集成在一个封闭、自动化的装置中，实现样本进来、结果出来的一步到位全自动化检测。此类一体化系统一般基于微流控芯片技术，用微米级的通道、阀门和反应室等精确控制液体的流动，实现样品裂解、分离、富集、反应、检测的全过程。

微流控芯片，也叫做“芯片上的实验室”，可以将复杂的实验过程压缩到一个小小的芯片里。在致病菌检测中可以将细菌捕获、细胞壁破碎、核酸提取、扩增、信号检测等全部集成在一张芯片上。操作人员只需将待测的原始样品（牛奶、肉汤）滴加在芯片入口处，剩下全部的操作就交给仪器做，很短的时间内就可以直接得到最终结果。

这种一体化的设计大大缩短了检测的时间，由原来的数小时缩短到数十分钟甚至几分钟。同时对系统内操作加以封闭，从而有效地阻止了样本之间的相互干扰和交叉污染情况发生，也减小了操作人员接触有害试剂的风险，使得检测更为



准确并且具备较好的生物安全性。随着制造工艺的成熟以及成本的降低,这类全自动一体化检测系统将在基层监管、企业品控、海关口岸等各种场合得到广泛的使用。

(二) 免试剂或简试剂检测

现场检测的环境变化很大,对于试剂的保存和使用的条件也更高。生物试剂(抗体、酶等)对温度、湿度都很敏感,必须冷链运输和保存,这就大大增加了现场检测的难度和成本。因此,开发免试剂或者只需要极简稳定试剂的检测技术,就是提高快速检测技术现场适应性的主要方向。

基于物理原理的检测技术是实现免试剂检测的最佳方法。拉曼光谱、太赫兹光谱和高光谱成像等技术通过物质自身独特的光谱“指纹”来鉴定它的化学组成,不需要任何化学试剂。它们可以对固体、液体、包装内的食品做原位、无损检测,在农药残留、非法添加物、食品掺假等检测方面具有很大优势。质谱技术的微型化也在快速发展,出现了手持式质谱仪,可像电子鼻一样直接分析样品挥发物或经简单热解析的气体,快速鉴定其中复杂的化学成分。这些物理检测方法的普及,将使现场检测像使用手机拍照一样方便快捷。

(三) 环境适应性增强

现场检测环境的复杂性,极端温度、高湿度、粉尘、振动、不稳定的电源供应等都会给检测仪器、试剂的稳定性带来严峻的考验。只有提高技术的环境适应性,才能使现场的检测结果可靠。将来要努力研制出更加坚韧耐用品。

从试剂角度看,基因工程改造或者化学修饰可以大幅度提高酶、抗体等生物分子的热稳定性和耐酸碱性,使其能够在更宽的温度、pH 值范围内保持活性。用嗜热菌来源的聚合酶进行核酸扩增,或者用纳米材料固定和保护生物分子,都可以提高试剂盒的环境耐受性。仪器方面设备设计会更加重视三防性能,即防尘、防水、防震。用密封设计、高强度外壳材料、内部减震结构来保证仪器在恶劣环境下也能正常工作。采用低功耗芯片、高性能电池克服现场电源不方便的缺陷,利用算法对环境温湿度变化进行实时补偿,消除了环境因素对检测信号的影响,使测量结果具有很好的准确性。

三、微型化与智能化

随着微电子、物联网、人工智能技术越来越紧密地结合在一起,食品安全快

速检测设备也向着更加小巧、更加智能的方向发展。微型化便于携带,智能化给设备赋予了自主分析决策的能力,二者结合最终将实现人人可用、时时可测、处处可防的食品安全新局面。

（一）便携式/手持式设备普及

检测设备微型化、便携化是开展现场快速检测的先决条件。依靠微机电系统、微光学元件以及高度集成化的电路设计,传统实验室大型分析仪器正在不断变小。目前手持式拉曼光谱仪、近红外光谱仪、荧光检测仪等设备已经广泛使用,体积、重量与智能手机相当,可以轻松放入口袋,成为一线执法人员、企业采购员、普通消费者进行现场筛查的“利器”。

这些便携式设备一般采用模块化设计,可以根据需要更换检测模块,达到一机多用的目的,可以涵盖农兽药残留、食品添加剂、重金属、生物毒素等常见风险项目的检测。设备普及取代了以前实验室送检的方式,把检测关口前移,高频次随机抽查大大加强了监管的威慑力。随着制造成本的不断下降,此种设备有可能变成像体温计一样的家庭必备品,使每个消费者都成为食品安全的第一道防线。

（二）内置算法与智能判读

由于检测数据量的迅速增加,依靠人手进行判读已经不切实际,对于光谱、图像等复杂的数据更是如此。因此把人工智能算法嵌入检测设备中,实现数据自动处理和智能判读,成为提高检测效率和准确度的一种有效方法。

未来的智能检测设备将不再仅仅是一个数据采集工具,更是一个具备“大脑”的分析终端。

1. 数据处理分析,内置机器学习或者深度学习算法,可以自动对采集到的原始数据(光谱曲线,层析条带图像等)进行预处理(基线校正,去噪,特征提取),再根据之前建立好的数学模型,快速准确地计算出待测物的浓度或者判断其是否存在。

2. 智能预警和决策:设备能连接云端数据库,实时对比国家标准或者历史数据,发现超标或者异常情况就会立即发出警告。对大量的检测数据加以挖掘,人工智能能找出特定地区或者某种类型食品的风险规律,预知可能的食品安全热点,给监管部门给予精确的科学决策支撑,达成由被动应对向主动预防的转变。

（三）自校准与自诊断功能

便携式设备要在各种环境下长时间工作并保持稳定的、准确的检测结果,便



携式设备必须具有自校准、自诊断的功能。这就像现代精密仪器普遍具有的内部自检功能，最大程度上减少设备状态漂移或者故障所造成的错误，减少对于操作人员专业维护技能的依赖。

自校准功能即设备可以依靠内置的标准物质或者稳定的物理参考，对自身光源强度、检测器响应、波长精度等重要性能参数进行定期自动检查并校正。例如光谱类仪器可以内置一块标准参考片，每次开机或在设定的时间间隔内自动扫描，然后将得到的数据和出厂标定值进行比较，用算法进行自动补偿。这就保证了即使元器件老化、环境温湿度改变，仪器的计量学准确性也不会受到影响。

自诊断功能就是给设备装上了“自我体检”的功能。仪器内部各个传感器会对仪器内部的核心部件如激光器、探测器、电池等工作的状态和工作性能进行不断的检测。系统在检测到性能下降、参数异常或者存在潜在故障风险的时候，会马上对用户发出警告，并且给出相应的故障信息以及初步的处理建议。这种主动式故障预警机制，很好地避免了在不知情的情况下使用故障设备进行检测，保证了每次检测结果的有效性、可靠性，对维持现场检测的公信力有着无法取代的意义。

快速检测技术发展要素与优势

要素	核心要求	关键技术方向	预期优势
更高灵敏度与特异性	痕量 / 超痕量检测，复杂基质准确识别	新型识别分子（核酸适配体、MIP、纳米抗体），信号放大（纳米材料、核酸扩增），单分子检测	检测下限更低，识别更精准，假阳性 / 阴性减少
更快速与现场化	摆脱实验室依赖，全流程快速化	“样本进，结果出”一体化（微流控芯片），免 / 简试剂检测（光谱、微型质谱），环境适应性增强	检测周期缩短，操作简化，适应复杂现场，降低成本
微型化与智能化	便于携带，自主分析决策	便携式 / 手持式设备（MEMS、微光学），内置算法智能判读（AI、机器学习），自校准 / 自诊断	设备小巧易用，自动数据处理，智能预警，确保检测可靠性

上表清楚地列出了未来快速检测技术在灵敏度、速度、便携性、智能化等方面的发展要素、基本需求、关键技术方向和预期优势。

第二节 多技术联用发展方向

因为食品安全问题日趋复杂多样，单一的检测方法很难达到全面、快速、准确分析的目的。为了克服单一技术的灵敏度低、选择差或者检测效率低等问题，把多种检测技术结合起来互相补充、相互创新已经成为食品安全快速检测领域的一个重要的发展方向。多技术联用可以明显提高检测性能，而且可以扩大应用范围，给食品安全监管提供更强大的技术支持。

一、检测技术间的联用

在现代分析科学中，把不同的检测技术联用起来，可以达到 $1+1 > 2$ 的效果。联用不是简单地把仪器堆叠起来，而是在接口技术上进行优化，在数据处理算法上进行改进，最大限度地发挥各种技术的优势，在更深的层次上解析食品样品的复杂信息，高效、准确地识别风险物质。

（一）色谱 - 质谱联用的小型化

色谱 - 质谱联用技术，特别是气相色谱 - 质谱和液相色谱 - 质谱，由于它们极佳的分离能力和鉴定能力而被称作食品安全检测领域里的“金标准”。但是传统的色谱 - 质谱联用仪器体积大、价格贵，对操作环境要求苛刻，一般只能在中心实验室使用，这限制了它在现场快速检测中的应用。

目前，该领域的发展方向是小型化、便携化。研究人员正在利用微机电系统技术、新型离子源（低温等离子体离子源）的研发以及微型质量分析器的设计，来减小仪器的体积和降低功耗。便携式气相色谱 - 质谱仪成功地用于现场快速筛查挥发性有机物、农药残留等。虽然在达到和大型仪器相当的灵敏度和分辨率上还面临着一些问题，比如小型真空系统的保持、高压电源的小型化等等，但是随着技术的不断发展，小型化色谱 - 质谱联用仪正逐渐走向成熟，在基层监管、进出口检验检疫以及突发事件应急响应等方面有着巨大的应用潜力。未来的发展会更加注重提高仪器的耐用性、降低操作的复杂性，开发出更加智能化的数据分析软件，满足非专业人员现场使用的需求。

（二）光谱 - 成像技术联用

高光谱成像技术是把传统的成像技术和光谱技术结合起来的检测手段。它克服了传统检测只能得到“点”信息的局限，可以同时获得样品的空间图像信息以



及每个像素点的光谱信息,从而实现对目标物“面”分布的可视化。该种“图谱合一”的特点给食品安全无损检测领域带来了独一无二的优势。

高光谱成像技术能够在无需样品前处理的情况下,快速获取食品表面的化学成分分布图。

1. 农产品领域:可以用来检测水果表面的农药残留分布、识别肉类的腐败部位或者发现谷物中的霉变颗粒。

2. 水产品领域:利用该技术可以对鱼片的新鲜度进行评价,在特定波段下通过血红蛋白衍生物的变化来体现新鲜度的空间差异。

3. 食品掺伪鉴别,例如扫描奶粉样本,根据其光谱特征的不同,就可以直接判断奶粉中是否掺有三聚氰胺等非法物质。

尽管高光谱成像技术还存在数据处理量大、建模复杂、仪器昂贵等问题,但是随着算法的优化、计算能力的提升以及硬件成本的下降,高光谱成像技术在食品加工在线质量控制、供应链品质监控等领域的应用越来越广、越来越深。

(三) 生物传感—微流控联用

生物传感技术和微流控技术相结合,产生了被称为芯片实验室的分析平台。这项技术把样品处理、反应、分离、检测这些传统实验室的步骤,压缩到几平方厘米的芯片上,实现了分析过程的自动化、微型化、高通量化。生物传感器具有高度的特异性,微流控系统可以精确控制微量的流体,二者结合起来极大地提高了检测效率,同时大大地降低了试剂的用量。

食品安全检测中该联用技术有很好的应用前景。在微流控芯片的通道中固定特异性的抗体或者核酸探针,即可构建出用于快速检测食源性致病菌的生物传感系统。待测样品流过芯片的时候,目标病原体会被特异性捕获,然后通过之后的光学或者电化学信号读出。整个过程几十分钟就可以结束,比传统的培养法要快得多。

微流控-生物传感系统还可以用来检测农药残留、兽药残留、生物毒素等小分子污染物。利用不同的反应单元以及传感界面,可在一块芯片上同时检测多种目标物。未来它会越来越集成化、智能化,样品前处理也会被整合进去,并与智能手机等便携设备相结合,创造出真正意义上的即时即地检测工具,为现场快速诊断提供有力的支持。

二、检测与前处理技术的集成

样品前处理属于食品分析流程里的关键部分，它要除去复杂基质的干扰并富集痕量目标物。但是传统的手动前处理方法费时、费力、容易出错，是整个检测过程中的一个瓶颈。因此，把样品前处理技术与检测技术实现无缝隙、无间断的衔接，使整个分析过程自动化、一体化，就是提高快速检测速度和准确性的关键。

（一）在线样品前处理 - 检测一体化

在线样品前处理 - 检测一体化系统就是利用管路或者阀门切换的方法，把样品提取、净化、浓缩等前处理过程直接连接到色谱、质谱等分离检测仪器上，构成一个封闭、连续的自动化分析流程。该种模式下人工的干涉最少，分析的精密度和回收率较高，而且节约了溶剂，降低了工作人员的暴露风险。

典型的应用就是在液固相萃取液相色谱系统。样品溶液经进样器之后，首先流过装有特定吸附剂的萃取柱。目标分析物被选择性保留，大部分基质干扰物被冲洗掉。然后用流动相将萃取柱上富集的目标物洗脱下来，直接送入液相色谱柱进行分离和进一步分析。该技术已经被用于乳制品中兽药残留、果汁中多种农药残留、水产品中孔雀石绿等多种复杂基质中痕量污染物的自动化、高通量分析。在线一体化技术的发展使食品安全检测从“离线”变为“在线”，为生产过程中的实时质量检测创造了条件。

（二）富集 - 分离 - 检测联用

对于食品中含量非常低的、如一些强致癌性的生物毒素或持久性有机污染物等，直接检测一般达不到所需要的灵敏度。因此，检测之前对目标物进行有效的富集十分必要。高效的富集技术、高选择性的分离技术、高灵敏度的检测技术三者相配合，才能对痕量和超痕量物质进行准确的测定。

免疫磁珠分离技术是这方面非常有代表性的一种富集方法。该技术用包被有特异性抗体的磁性纳米颗粒作捕获载体，可以像磁性钓鱼一样，从复杂的食品基质中准确地捕获目标病原菌或者毒素。在磁场的作用下，含有目标物的磁珠复合物很容易从样品溶液中分离出来，洗去杂质后，再将目标物洗脱或者直接进行检测。

将免疫磁珠富集技术同聚合酶链式反应或者液相色谱 - 质谱等技术联合起来，可以构建出具有高特异性、高灵敏度的分析方法。用免疫磁珠对牛奶中沙门



氏菌进行选择富集后,就可以将传统的需要几个小时到十几小时的增菌培养时间缩短很多,再用实时荧光法快速、准确地定量。富集、分离、检测的联用方法很好地解决了复杂基质的干扰、目标物浓度过低这两个问题,使检测方法的检出限、可靠性大大提高。

(三) 多种前处理技术模块化集成

由于食品基质和分析物种类的日益多样化,开发一种“万能”的前处理方法是不现实的。模块化集成策略给它提供了一种灵活的解决办法。该策略的主要思想就是将各种不同的前处理技术如固相萃取、凝胶渗透色谱、基质分散固相萃取等开发为独立的、标准化的功能模块。分析人员根据样品种类、检测要求像搭积木一样自由地组合出最好的前处理流程。

模块化的集成不是简单地将各种方法学进行物理上的叠加,而是各种方法学的相互融合。在茶叶中检测多种农药残留的时候,可以先用改进的基质分散固相萃取法提取、纯化,然后通过在线固相萃取柱除去色素等强基质干扰,最后进入色谱-质谱系统进行检测。多技术、多步骤的组合可以逐步剥离基质的复杂性,保证最后的检测结果准确可靠。

模块化集成的思想产生了自动化样品前处理平台。这些平台一般会配有机械臂和多个功能站,可以自动完成样品称重、溶剂添加、提取、净化、定容等全过程。用户可以选取预设的处理方法程序或者自定义模块的排列顺序,从而实现多种前处理技术的自动联用。如此高程度的灵活以及自动化集成方式,一方面把分析人员从繁杂的重复性工作中解脱出来,另一方面给解决食品安全领域新产生的问题赋予了强大的技术积蓄。

三、多目标物同时检测

食品中所存在的风险物质常常不是单独出现的,同一种农产品上可能同时存在多种农药残留,或者一种加工食品中就含有多种非法添加剂。传统的单目标检测方法效率低下,不能满足现代食品安全监管对高通量筛查的要求。因此发展可以同时检测多种目标物的技术是实现高效、经济、全面风险监控的重要方向。

(一) 多通道传感阵列

多通道传感阵列也叫电子鼻、电子舌,是一种模仿生物嗅觉、味觉感官机制的检测技术。它并不是直接识别样品中某一种特定的化学物质,而是利用由多个

非特异性或者半特异性传感器组成的阵列，对样品整体的挥发性成分或者溶解性成分作出反应，从而产生一个具有独特性、信息量丰富的“化学指纹”图谱。

传感器可以由不同的材料制成，例如化学电阻传感器、导电聚合物传感器或者光学传感器，每种传感器对不同化合物的响应灵敏度都不相同。当样品的气体或液体流过传感阵列的时候，每一个传感器都会产生一个信号响应，所有传感器的响应信号组合起来就形成一个高维的数据向量。使用主成分分析、线性判别分析等模式识别算法来处理分析指纹图谱，即可达到区分样品，进行分类或者品质评价的目的。电子鼻可以很快（一般只有几分钟）分辨出不同产地的茶、不同等级的茶、判断水果成熟度、判断肉在贮存中是否腐败。此项技术对于复杂体系来说，整体质量评价以及真伪辨别非常合适，为食品品质的宏观快速评判赋予了新的方法。

（二）高通量芯片技术

高通量芯片技术，尤其微阵列芯片，是在固相基片（玻璃片或者硅片）表面微小区域上固定了数千甚至数万个不同的探针分子（DNA 片段、抗体、抗原等），形成一个微型的并行分析矩阵。这项技术可以将成千上万个独立的检测反应集中在方寸之间，一次实验就可以同时完成多种目标物的筛查，真正实现了高通量、高并行性分析。

食品安全检测中 DNA 芯片可以一次鉴定多种食源性致病菌或者检测多种转基因成分。蛋白质芯片或者抗体芯片可以用于同时检测多种兽药残留、农药残留、真菌毒素和食物过敏原。检测时将标记的样品溶液与芯片接触，样品中的目标分子会与芯片上对应的探针发生特异性结合。通过扫描芯片上的信号（通常是荧光信号）可以判断出样品中存在哪些目标物以及大概含量。芯片技术样品消耗量小、试剂消耗量小、检测通量高、分析速度快，适合大样本量的初步筛查和风险监控。

（三）广谱筛查与精准确证结合

食品中已知的、未知的、以及非预期的化学污染物，任何单一的分析方法都无法做到全方位的检测。所以广谱筛查和精确定证相结合的方法成为解决这一问题的有效方法。先用高通量、广覆盖的筛查技术对样品进行大范围筛查，快速找出可疑样品，再对这少部分可疑样品用高选择性、高灵敏度的确证技术进行定性定量分析。

目前高分辨率质谱、飞行时间质谱、静电场轨道阱质谱为广谱筛查的主流方



法。它们一次分析就可以测定样品中成千上万种化合物的分子量，再和庞大的数据库一比对，就能迅速筛查出几百种已知的农兽药残留和非法添加物。更重要的是可以发现数据库中没有的潜在风险物质或者未知代谢物。

一旦广谱筛查出现疑似阳性或者异常信号，就要开始第二步精准确证。三重四极杆质谱是法定确证分析的“金标准”，多反应监测模式具有很高的选择性、灵敏度，可以对检测物进行明确的结构确证和可靠的定量。采用先筛后证的方式，既可以保证检测的覆盖面和效率，又可以保证最终结果的法律效力，达到检测资源的最优配置，也是现代食品安全监管系统解决复杂污染问题的主要方式。

常见质谱技术特点概览

特性	高分辨率质谱	飞行时间质谱	静电场轨道阱质谱	三重四极杆质谱
分辨率	高	高	极高	中等
质量准确度	高	高	极高	中等
广谱筛查能力	强	强	极强	弱（多目标 MRM）
定性能力	优秀	优秀	卓越	辅助
定量能力	好	好	优秀	卓越（MRM 模式）
主要应用	未知物筛查、代谢组学	快速筛查、蛋白质组学	复杂样品全面分析	法定确证、痕量定量
特点	高质量准确度与分辨率，适合复杂基质中的未知物发现	快速数据采集，适合高通量筛查	卓越的分辨率和质量准确度，筛查与确证兼顾	“金标准”定量，极高灵敏度和选择性

上述表格对广谱筛查和精准确证中常用的质谱技术特点进行了概括。

第三节 现场检测设备智能化

信息技术发展日新月异，食品安全快速检测也发生着深刻的智能化变革。现场检测设备不再像过去一样是孤立的、功能单一的工具，而是朝着集成化、自动化、网络化的智能设备发展。智能化使检测效率和准确度得到很大提升，更重要的是给食品安全监管模式革新给予了前所未有的技术支撑，促使整个食品安全保障体系向着更加智能、高效、精确的方向发展。

一、智能化硬件设计

智能硬件是现场快速检测设备功能升级、性能提高的基础。先进的硬件设计理念,创建出功耗更低、性能更强、更加集成化、适应性更好的新一代检测设备。它既是设备便携性、续航能力的体现,又是设备在复杂多变的环境下能否可靠运行、检测精度能否得到保证、功能能否有效拓展的关键。同时,它也为智能软件、算法的应用搭建起一个可靠的物理承载平台。

(一) 低功耗与高性能处理器

由于现场检测设备对便携性以及续航时间有着较高的要求,因此低功耗、高性能处理器的使用成了智能化硬件设计的主要要素。一方面利用最新的处理架构和工艺,使用 ARM Cortex-M 或者 Cortex-A 系列微控制器或微处理器等,使设备的工作耗能大幅降低,在满足足够性能的同时。这些处理器一般有着较好的能效比,而且会使用深度睡眠,动态调频调压等手段,能够很大程度上延长设备在野外,移动,断电等情况下的连续工作时间,对实现全天候,不间断的现场监测有着重要的意义。

另一方面,随着端侧人工智能的流行,对设备本地数据处理的要求也越来越大。高性能处理器可以支持复杂的算法模型直接在设备端进行运行,对数据进行实时分析和决策,减少对云端的依赖。光谱分析或者图像识别等应用当中,强大的处理器可以快速地完成数据预处理,特征提取以及模型推理,几分钟甚至几秒钟就能得到检测结果,现场处置的速度得到了极大的提升。未来的发展趋势是异构计算平台的广泛使用,即将 CPU、GPU、NPU 等多种计算单元集成在一起来完成各种计算任务,以达到最好的功耗与性能的平衡。

(二) 高精度传感器与执行器

高精度传感器是食品安全快速检测设备的“感官”,是决定检测结果是否准确、灵敏、可靠的直接原因。近些年来,新材料、微机电系统以及生物技术的蓬勃发展,催生出诸多新型高精度传感器。表面增强拉曼光谱传感器可进行农药残留中微量成分的快速识别。微生物检测时,用固定化抗体或者核酸探针来专门捕捉病原体,就能做到高准确率的高检。这些传感器的发展趋势是多模态融合,即将多种不同的原理的传感单元集成到一片芯片里,实现对农药、兽药、重金属、生物毒素等多种危害因子的同时检测,以增加检测的通量和广度。



食品安全常见危害因子与检测技术

危害因子类别	典型危害物	常用检测技术 / 传感器类型	优势特点
农药残留	有机磷、氨基甲酸酯类	表面增强拉曼光谱、酶抑制法、免疫传感器	高灵敏度、快速、现场可用
兽药残留	抗生素、激素类	免疫层析、电化学传感器、荧光免疫法	快速筛选、特异性强
重金属	铅、镉、砷、汞	电化学法（伏安法）、原子吸收光谱、纳米材料传感器	灵敏度高、成本相对较低
生物毒素	霉菌毒素、细菌毒素	荧光免疫法、SPR 生物传感器、基因检测技术	特异性强、可定量、自动化潜力大
微生物	致病菌（如沙门氏菌）	生物传感器（抗体 / 核酸探针）、ATP 荧光法、微流控芯片	快速培养、实时检测、小型化
非法添加物	苏丹红、瘦肉精	近红外光谱、化学发光法、色谱 - 质谱联用	快速筛查、准确度高

高精度执行器用来实现检测过程的自动化。微型泵、阀、精密电机等执行器的应用，使样品自动进样、稀释、混合、温控等复杂的前处理工作可以在密闭的微流控芯片或者设备内完成，大大减少人为操作误差，提高检测效率。通过精确控制微流体可以实现试剂与样品反应的自动化，比如化学发光免疫分析等方法的自动化。未来的执行器将更加智能，根据传感器反馈的信息调整操作参数，实现闭环控制，保证检测的标准化、结果稳定，使非专业人员也能精确地完成检测。食品安全常见危害因子及检测技术见上表。

（三）模块化与可扩展设计

模块化，可扩展，是解决食品安全检测需求多样化、技术快速更新的方法。这种设计思想把检测设备分成许多功能独立的模块，像电源模块、主控模块、传感模块、通信模块等等，各个模块之间用标准接口互相连接。这带来多方面的好处：

1. 提高了设备的灵活性及可维护性。当某个功能模块需要升级或者出现故障时，只需要更换对应的模块即可，不需要更换整个主机，从而大大降低了维护成本和升级难度。用户可根据实际需要，像搭积木一样自由选择、更换不同的传感模块，今天检测农药残留，明天换一个模块就可以检测重金属，真正做到一机多用。

2. 加快了新技术的应用以及产品的更新换代。研发人员可以集中精力攻克某

一个特定模块的技术难题，例如研发出一个新型光谱传感模块之后，就可以很快速地将其加入到现有的平台里，从而大大缩短新产品上市的时间。标准化接口有利于第三方开发者加入，可以形成一个开放的硬件生态系统，促进技术之间的交流与合作。因此设备具有不断进化的功能，可以应对以后不断出现的新检测项目和新技术。

二、智能化软件与算法

如果说硬件是智能设备的骨架，那么软件和算法就是它的灵魂。智能化软件和算法使设备具有思考、学习的能力，从而把设备由单纯接收指令、完成任务的工具，转变为可以分析数据、做出判断、自我完善的伙伴。这既改善了检测精度和自动化水平，又经由远程联系开启了设备全生命周期智能化经营的新局面，对于食品安全检测方法及其效能来说，有着长远意义。

（一）嵌入式 AI 算法

嵌入式人工智能算法的发展，让食品安全快速检测设备由自动化向智能化转变。在设备端部署轻量级的机器学习、深度学习模型，可以对设备端采集到的光谱、图像、气味信号等数据做实时分析、模式识别。这意味着设备不需要上传大量的原始数据到云端，就可以在现场快速做出判断。利用卷积神经网络模型分析高光谱图像可以准确地识别肉眼不能分辨的早期腐败、掺假或者污染物。

端侧智能的优势有很多。它大大减小了数据传输的带宽压力和延迟，这对网络信号差的现场来说是很大的帮助。数据在本地处理可以提高数据的隐私性以及安全性。业界对于模型压缩量化的研究越来越深入，轻量化网络 MobileNet、ShuffleNet 等被使用，一些复杂的 AI 模型得以在嵌入式处理器上运行。随着更多的 AI 算法被开发出来并不断优化，用于食品安全检测的设备也会变得越来越智能，可以识别出更多的风险并给出更准确的检测结果。

（二）自适应校准与补偿算法

环境变化（温度、湿度、背景光）以及设备本身老化都会造成现场检测结果稳定性、准确性降低。通过自适应校准与补偿算法的使用，使设备可以适应这种变化，进而做到自我调节。该类算法依靠内置的参考标准或者环境传感器，实时跟踪系统状态漂移的情况，从而自动修正测量模型或者参数。

在光谱检测时，设备会通过内置光源或者参比物质，在每次检测之前做基线



校准,从而消除背景干扰以及光源强度变化造成的误差。更先进的算法可以建立环境因素和测量偏差之间的数学模型,当环境发生变化的时候,系统可以依据模型自动补偿,保证不同时间、不同地点测得的检测数据具有良好的可比性、一致性。智能化的校准和补偿,使以前很复杂的人工定期校准变得很简单,大大提高了设备的可靠性和环境适应性,保证各种复杂环境中测量结果准确可靠。

(三) 远程升级与维护

远程升级、维护技术,尤其以 OTA 为代表的远程升级、维护技术给现场检测设备持续更新、高效管理带来了极大的方便。使用 OTA 技术,制造商或运维方可以通过网络对已经部署的设备进行固件、算法以及功能的更新,而不需要召回设备或者派遣技术人员到现场。这就表示设备的功能可以不断增添,安全漏洞能及时得到修正,检测模型可以持续更新,从而保证设备一直处在最佳的工作状态。

当设备出现故障时,可以获取到设备的运行日志、状态参数等数据信息,通过数据分析就能对设备进行大致检查并定位到设备故障的地方,以达到缩短故障反应的时间、降低维修成本的目的。对于分布广、数量大的检测设备网络来说,远程管理能力是十分重要的。不仅提升了服务效率和用户体验,更为实现预测性维护创造了条件,对设备运行数据进行长时间观察分析,可在故障出现之前预知潜在问题进而主动干预,以最大程度上保证设备的稳定运行和完成检测任务。

三、物联网与云平台融合

物联网加上云平台,两者结合给食品安全现场检测带来了巨大的改变,把各个检测点连在一起,形成一个巨大的智慧网络。这就打破了地域与时间对于信息的束缚,可以使得信息即时汇聚、充分挖掘并自由流动。它带给单个设备的是一套从未有过的强大的数据处理与分析能力,但更重要的是创造了一个多方参与、信息透明的食品安全智慧监管新生态。

(一) 设备联网与数据实时上传

现场检测设备接入物联网,是智能管理的前提。借助于内置的 4G/5G、NB-IoT 或者 Wi-Fi 等无线通信模块,检测设备可以把包含检测结果、设备状况、地理位置、操作人员信息等等的数据,及时传输到云端服务器。实时数据流打通了现场到管理后台的信息通道,解决了传统检测中数据滞后、信息孤立的问题。

数据上传的实时性十分重要。监管人员可任意在办公室电脑或者移动设备上随时观察各个农贸市场、加工场所及流通环节的检测结果，及时知晓食品安全状况。突发食品安全事件中快速上传的数据可以给应急响应、决策提供关键依据，大大缩短处置时间。实时数据流保证了检测过程的透明、可追溯，每次检测都有据可查，防止数据篡改，保证检测结果的真实性、可信度。

（二）云端数据分析与存储

云平台因为具有强大的计算能力以及巨大的存储空间，成为了现场检测数据的智慧大脑。上传到云端的数据永久、安全地存放在这里，可以运用大数据分析技术进行深度挖掘，得到它所蕴含的巨大价值。

1. 宏观分析与风险预警，云平台可以汇聚起成千上万台设备的数据，对这些数据进行统计分析之后，便能找出某个地区、某类食品或者某个时间段内食品安全风险的规律和趋势。通过对某地一段时间内蔬菜农药残留合格率变化情况进行分析，可以给监管部门提供靶向抽检、风险预警的科学依据。

2. 建立全链条追溯体系。将快速检测数据同食品供应链上的生产、加工、物流等环节信息联系起来，就可以形成起从“农田到餐桌”的全链条追溯体系。消费者或者监管者通过扫描产品的二维码，就可以查询到该产品各个生产环节的安全检测信息。发现问题之后可以立即追根溯源，找到问题批次，从而精准召回。云端强大的数据处理能力，这是完成上述复杂追溯与关联的基础。

（三）远程监控与协同工作

物联网与云平台一起形成起了一个远程监控、协同工作的高效体系。监管人员可以远程实时对设备电量、耗材余量、设备运行状况等进行监控，还可以远程设置设备参数、远程控制设备。在一些高端设备上，甚至可以将“明厨亮灶”等形式与后厨或者生产线视频画面实时直播相结合，从而实现云监工（远程监督）。远程可视化既把监管的范围扩大了，又把监管的效率提高了。

更重要的是，云平台创建起一个多方协作的工作环境。政府监管部门、企业生产管理者、第三方检测机构以及公众都可以通过统一的平台取得自己所需的信息、完成自己的任务并进行交流。当系统发现某企业的自检数据异常的时候，会自动向该企业的负责人以及对应的监管人员发送预警信息，形成监管闭环。打破了部门间的壁垒，实现了信息的共享、互联互通和整个食品安全治理体系的联动性以及透明度，双方合作形成了新的社会共治治理食品安全新态势。



第四节 快速检测技术标准化进程

食品安全快速检测技术属于食品安全监管体系的重要组成部分，它的发展依靠标准的引导与规范。建立健全的、科学的、统一的标准化体系，是保证快速检测结果准确可靠、有序推广应用快速检测技术、提高监管效率的基础。近几年来，关于快速检测技术的标准化工作已经在方法、产品、应用等各个方面全面启动，目的是创建起一个从研发到应用的完整闭环管理体系。

一、完善快速检测方法标准体系

方法标准是技术应用的基本准则，它把技术和监管联系起来。完善检测方法标准体系可以保证检测行为的一致性，检测结果的可比性，给技术的应用推广和监管执法提供统一的技术语言。创建该体系要全面考虑新的风险因子，新兴技术以及国际发展趋向，使之具有前瞻性，科学性以及普遍适用性。

（一）加快新方法标准制修订

由于新型非法添加物、环境污染物、复杂基质干扰物等食品安全新问题的出现，以及生物传感、分子生物学、纳米材料等前沿分析技术在快检领域的交叉融合，目前的标准体系已经不能完全满足所有的检测需求。因此，加快新方法标准的制修订工作显得十分重要。这就需要建立一个动态的、反应迅速的立项机制，鼓励科研机构、高等院校、行业领头羊企业等参与进来，把经过充分验证、性能良好且成熟的新的技术、新的方法，及时转化为国家、行业或团体标准。在标准制定的过程中必须了解实际应用的场景需求、痛点，根据不同环节的特点（基层执法和企业自控等）来制定不同的并相衔接的方法标准。同时修订工作也不能忽视，要定期对现有的标准进行适用性评价，对技术落后、灵敏度不够、不符合当前监管要求的标准及时进行修订或者废止，保证整个标准体系的先进性、时效性，更好地服务于从农田到餐桌的全链条食品安全。

目前，各个监管部门、科研单位采用“揭榜挂帅”的方式推动相关标准的制定，来应对不断出现的食品安全新问题。这其中既有对传统检测项目加以改良优化的情况，更有意义的是把一些新兴检测技术纳入到规范化管理的范畴当中来，像依靠 CRISPR 基因编辑技术所开发出来的高灵敏度病原体检测方法，借助于量子点或者金纳米棒的信号放大技术等等。标准的制定、修订过程要严格按照科学

程序，要通过起草、征求意见、技术审查、批准发布等步骤，保证每一项标准的出台都是经过科学论证的，可以得到社会的广泛认同。经过持续的吐故纳新，快速检测方法标准体系会逐步完善，形成一个动态平衡、结构合理、层次分明的有机整体，给快速检测技术的科学使用和健康发展提供有力的法规和技术支撑。

（二）建立快速检测产品评价标准

快速检测技术与传统实验室检测方法不同，它更多地是以商品化试剂盒、检测卡或便携式仪器的形式出现，它的性能好坏直接关系到检测结果的准确性。所以，仅有方法标准是不够的，还需要建立一套针对产品本身的评价标准和体系，这是保证快检技术可靠应用的关键一环。产品评价标准是对产品主要性能指标的客观量化评价，下表为其中部分指标及含义。

快检产品关键性能评价指标表

指标	含义与评价要点
灵敏度	能够检出目标物的最低浓度或量，通常用检出限表示，反映了方法的探测能力。
特异性	仅与目标物发生反应，而不与结构类似物或基质中其他物质发生交叉反应的能力。
准确度	检测结果与真值（或参比方法测定值）的接近程度，主要反映系统误差的大小。
精密度	在相同条件下重复检测时，各次结果之间的一致性，通常用重复性或再现性表示，反映随机误差。
稳定性	产品在规定储存条件下，保持其性能指标不变的能力，直接关系到产品的有效期。

产品评价标准的建立要解决“谁来评价”和“怎么评价”这两个主要问题。目前行业内正在尝试创建一种以权威第三方机构为主导的评价模式，用组织实验室比对、盲样考核等方式，对市场上所有的快检产品进行全面的评测。市场监管总局等部门已经发布相关技术规范，规定了评价的具体指标、程序，假阴性率、假阳性率的计算方法及可接受范围。样品选择要覆盖不同的食品基质和浓度水平，以标准物质或者参比法得到准确定值的样品为先，从而保证评价结果公正合理、科学可靠。公开透明的评价结果也可以推动行业的健康发展，发布推荐产品目录或者对产品进行认证，可以引导市场的良性竞争，淘汰性能不合格的劣质产品，从而提高快速检测产品的整体质量水平。

目前，我国正在推进快检产品符合性评价和认证工作，鼓励监管部门优先采购和使用通过评价或者认证的快检产品。此举既是对于生产企业的激励，也是对于终端用户权益的保障。产品评价标准的制定和实施把方法标准的具体要求落实到商品上，架起了方法与应用的桥梁。促使企业从源头抓起，重视研发投资和生



产过程的质量管理,有利于改善市场上产品质量良莠不齐、用户无从选择的状况,为快速检测行业高质量发展奠定坚实的基础,保证这项技术在食品安全“防火墙”中真正发挥作用。

(三) 推动快速检测方法国际互认

在经济全球化的背景下,食品贸易日益频繁,快速检测成为进出口商品检验检疫的重要环节,快速检测结果的国际互认对消除技术性贸易壁垒、促进贸易便利化起着举足轻重的作用。推动国际互认,就是指一个国家或者地区根据一定的标准和程序获得的检测结果,被其他国家或者地区所接受和承认,从而避免重复检测,降低贸易成本,提高流通效率。这是项复杂的系统工程,核心就是标准和质量体系的对标和互信。

实现国际互认的基础就是采用国际公认的标准和规范。国际食品法典委员会、国际标准化组织、国际分析化学家协会等国际组织,也制定了很多关于食品检测方法的标准和验证指南,这些标准在全世界范围内受到认可。我国在制定和转化快速检测方法标准时,应当充分借鉴或者采用上述国际标准,在我国的方法原理、性能指标、验证要求等方面与国际主流规范相衔接。不仅可以提高我国标准的国际地位,也可以为以后互认谈判打下坚实的技术基础。积极地参加国际标准的研究与制定,提出中国的智慧和方案,也是提高我国在这个领域的话语权和影响力的重要途径。

互认的另一个关键就是证明检测能力的等效性。这就需要建立完善的实验室能力验证体系来实现。定期参加国际实验室比对、能力验证活动,可以使得国内外的实验室在相同的条件下对同一样品进行检测,通过比对结果客观评价各个实验室的检测能力是否一致、可靠。能力得到不断验证,这是信任产生、维持的一种方式。认证认可体系的国际互认也起着重要的作用。若我国的检测机构能够通过国际实验室认可合作组织等多边互认协议下的认可,其出具的带有认可标识的检测报告便能在协议成员国或地区内得到更广泛的承认。虽然国际互认存在各国法规不同、技术水平参差不齐等障碍,但是坚持标准对接、加强能力验证、深化国际合作,推动更多的快速检测方法实现国际互认互用,是必然的趋势,对我国食品产业“走出去”和保障进口食品安全具有重大的战略意义。

二、加强快速检测产品质量控制

快速检测产品属于一种特殊的工业产品，它的质量稳定性与可靠性关系到食品安全监管的效果，也关乎到公众的健康。因此加强该类产品的质量控制在产品上市前的性能评价、生产过程中的质量控制、产品上市后的监督抽查构成一个全链条、无死角的监管体系。

（一）产品性能评价与认证

产品性能评价和认证是保证快速检测产品质量的第一道关卡，目的在于使投放市场的产品能够达到预期的使用要求。此环节的重点就是依靠科学、客观、公正的程序，对产品的各项关键性能指标进行系统的检验和评定，为产品进入市场奠定基础。性能评价不同于一般的检验，它是对产品在模拟或实际使用条件下功能全面检验。评价的主要指标一般有方法的检出限、定量限、线性范围、特异性、准确度、精密度、不同基质中回收率、抗干扰能力等。这些指标一起决定了产品能否在复杂的食品样品中准确、可靠地识别出目标物。

为了保证评价的科学性、权威性，评价工作一般由具有相应资质的第三方技术机构来完成。评价过程严格按照预先设定的方案进行，一般采用盲样测试，即检测人员不知道样品真实值而进行检测，以排除主观因素的影响。所用的盲样要具有良好的均匀性和稳定性，其量值应可以溯源到国家基准或者通过实验室参比方法予以确认，这是保证评价结果准确可靠的基础。国家市场监督管理总局等部门已出台详细的食品快速检测产品符合性评价程序和技术要求，对评价指标、盲样要求、评价方法等都做出了具体规定，为评价工作的规范开展提供了明确指引。

认证就是评价后，认证机构对符合标准和技术要求的产品进行确认，颁发认证证书，允许使用认证标志的合格评定活动。它是评价工作的一个延续和提高，权威性、公信力更高。通过认证的产品，其质量、性能得到国家认可机构的背书，能给使用者更大的信心。中国检验检疫科学研究院等机构已经开始了相关认证工作，全国首张食品快速检测产品认证证书也已经颁发。“评价+认证”模式可以筛选出市场上优质的产品，从而产生“良币驱逐劣币”的效果。

建立并推行产品性能评价与认证制度，一方面可以给监管机构、普通消费者挑选可靠的快检工具提供参考，另一方面也可以反过来促进生产企业增加研发投入，提高技术水平和产品品质。申请评价的企业需要提交产品技术参数、自检报



告、产品说明书等整套材料，并对材料的真实性负责。评价过程要重视程序的规范、过程记录的完备性和可追溯性，重要的实验环节还要全部进行录像来保证评价结果的公正、科学、准确。最后的评价结果会在官方的信息平台上公布，接受社会的监督。这样一套严格的准入前控制体系，从源头上给快检产品的质量提供有力的制度保障。

（二）生产过程质量控制

为了保证终端用户收到的每一批次快速检测产品都具有稳定可靠性能，仅靠上市前性能评定是远远不够的，必须将质量控制理念贯穿于产品的整个生产过程。生产过程质量控制是保证产品批间一致性的重要环节，要求生产企业建立起一套系统的、规范的质量管理体系，从原材料的采购、入库到生产加工、包装、出厂等各个环节实行严格的控制。该体系可以参照药品生产质量管理规范或者 ISO9001 质量管理体系等标准进行建立，保证生产环境、设备、人员、操作流程等均符合要求。

原材料的质量决定着产品的质量。对于免疫类快速检测产品来说，抗体、抗原、酶等主要生物原料的活性、纯度、亲和力直接决定产品的灵敏度和特异性。生产企业必须建立严格的供应商筛选及原材料入厂检验制度，对每一批次原料的关键指标进行检测，只有达标的原料才可投入生产。对于化学类快检产品来说试剂的纯度、浓度、稳定性也非常重要。配套耗材（反应板、层析膜等）的材质是否一致也需要检查，不能对反应产生干扰。

生产工艺稳定、标准化可以保证产品的品质的一致性。企业要制定详细的 SOP（标准作业程序），对试剂配制、包被、干燥、切割、组装等每一个生产步骤作出明确规定，对温度、湿度、反应时间等工艺参数加以严格控制并记录。在生产过程中设置质量控制点十分重要，通过在关键节点处检验半成品可以及时发现并纠正生产偏差，防止不合格的半成品流到下一道工序。胶体金试纸在生产时需要检测标记的胶体金溶液、包被的硝酸纤维素膜等中间产品质量是否符合要求。

成品放行检验，是防止不合格产品流向市场的最后一关。每一批次产品出厂前都要进行全性能检验，与上批次产品做比对、和阳性、阴性标准品做反应等来验证其灵敏度、特异性等关键指标是否达到出厂标准。所有的检验记录都要保存下来，这样才可以追查产品的去向。只有全部检验项目合格的产品才能开具合格证，上市销售。只有这样环环相扣、层层把关的生产过程质量控制，才能最大限

度地保证快速检测产品的批内、批间差异最小化，为用户提供质量稳定、结果可靠的检测工具。

（三）市场监督与抽查

产品通过性能评价、严格的生产质量控制之后，并不表示质量监管就结束了。建立健全的市场监督和抽查制度，是保证产品在流通使用过程中始终满足质量要求的必要补充，也是打击假冒伪劣产品、维护市场秩序的有效手段。市场监督抽查是监管部门在市场上随机抽检样品进行检验，评价产品质量的一种监管方式。后市场监管和前市场的准入审批相互配合，形成质量监管闭环。

市场监督抽查工作具有很强的计划性、针对性。各级市场监管部门会根据风险评估结果、消费者投诉举报、以往抽查情况等因素，制定年度或者专项抽查计划。抽查的重点一般都会放在与民众生活密切相关、使用频繁、安全风险高的项目所对应的快检产品上，即农药残留、瘦肉精、黄曲霉毒素等的快检试剂。抽查的场所包含生产企业、经销商、快检产品使用农贸市场、超市等，多环节抽查保证监管的全面性。抽查过程严格按照规定执行，执法人员抽样时必须详细记录产品名称、生产厂家、批号等信息，并得到被抽查单位的确认，保证样品的代表性、可追溯性。

抽查检验内容除了对产品的灵敏度、特异性等主要性能指标进行复核之外，还要对产品的标识标签是否规范、说明书内容是否齐全准确、产品是否在有效期内等进行检查。检验工作由有资质的法定检验机构进行，保证检验结果的权威性、公正性。监管部门会对抽查中发现不合格的产品实施依法处理，即命令生产、销售的企业停止销售并下架召回，违法行为情节严重的还要处以罚款和吊销生产许可证等行政处罚。抽查的结果和不合格的产品信息会被公布在官方网站、新闻媒体上，以此告诫消费者，也对违法的企业起到警示作用。

部分省级市场监管部门还会对快检的结果开展实验室比对验证，将快检机构的筛查结果同实验室的精确定量结果加以比较，从而评判快检产品和操作人员的检测准确程度，对快检机构的结果准确率展开动态评价并予以排名。常态市场监督与后续的验证一方面可以及时清理市场，清退不合格的产品，保护合法企业的和消费者的权益；另一方面也可以向所有的生产企业发出一个明确的信号，产品质量是企业的生命线，任何时候，任何环节都不能松懈。持续的监管压力会使得企业一直把产品质量放在首位，从而推动整个行业健康发展、持续发展。



三、推动快速检测技术规范应用

技术只有经过了应用过程之后才能真正体现出它的价值，而这个应用过程的规范性是至关重要的。即使使用最精密的仪器、最优质的试剂，不规范的操作、不合格的人员、不明确的应用场景，都会导致结果的偏差或者错误。推进快速检测技术的规范应用，是让其发挥食品安全“前哨”作用的最后一公里，也是至关重要的最后一公里。

（一）制定快速检测操作规程

标准化的操作，是保证检测结果准确可靠，有可比性的基础。为了最大限度地减少由于操作不同所造成的人为误差，必须制定出统一的、详细的具体可行的快速检测操作程序。这是一本现场检测的工作说明书，行为准则，把复杂的检测过程拆解成标准化步骤来指导工作人员规范、一致地完成每一次的检测。国家市场监督管理总局发布的食品快速检测操作指南等文件，给各地制定具体的规程提供重要的依据和参考。

完善的快速检测操作规程应该包括样品处理到结果报告的全部过程。在样品管理方面要明确样品的采集方法、采样数量、代表性要求、盛放容器，对运输保存条件（避光、冷藏）做出详细规定，建立样品标识和信息记录制度，保证样品和信息一一对应、全程可溯。样品前处理中均质、称量、提取、净化等步骤是影响检测成败的关键，规程应该根据不同的食品基质（蔬菜、水果、肉类、水产品等）给出具体的前处理方法，详细说明所用试剂种类、用量及操作细节，以最大限度地减少基质效应的干扰。检测操作环节中需要严格按照快检产品说明书的要求，对加样量、反应时间、温育温度等重要参数进行规定。对需要仪器读数的项目还要包括仪器开机预热、校准、参数设置、日常维护等内容。规程中必须包含质量控制要求，即每次开机或者每批样品检测时，都应使用阴、阳性对照品或者标准物质进行测试，以保证仪器和试剂处于正常的工作状态，只有当质控结果在规定的范围内时，样品检测结果才有效。关于结果判读和报告，规程应对阳性、阴性或者可疑结果的判读标准做出明确界定，规范记录和报告程序，特别是要明确初筛阳性结果的后续复测或者送实验室确认程序。

制定并严格执行这样一套标准化的操作规程，可以最大限度地减少由于检测人员个人经验、主观判断所造成的差异，保证无论何时何地、由任何经过培训

的人员进行检测，都能得到一致、可靠的结果，真正实现快速检测技术的规范化使用。

（二）加强人员培训与考核

快速检测操作人员属于最活跃、最不确定的因素之一，直接决定检测数据好坏的是操作人员的专业知识、操作技能和责任心。即使有完善的标准、优质的设备，如果操作人员对方法原理理解不透彻、操作不规范、对结果判断随意，整个检测体系就毫无可靠性可言。因此，建立一套系统、严格、规范的人员培训和考核体系，是保证快速检测技术正确运用的重要保证。市场监管总局已要求，食品快检操作人员必须经过培训并考核合格后才能上岗。

培训内容要理论知识与实践技能并重，全面系统。理论培训内容包含相关的法律法规、食品安全基础知识、所用快检方法的科学原理、质量控制要求、实验室安全防护知识等，使操作人员知其然，也知其所以然，遇到异常情况时具备初步的分析判断能力。实践技能培训主要是标准作业程序的演练，样品规范采集和制备、仪器正确使用和保养、试剂规范储存和使用、数据准确记录和处理等。大量的动手操作、模拟练习使学员熟练掌握准确完成整个检测过程的方法。

考核是检验培训效果、保证人员能力达到要求的重要方法。考核方式应该多样化，一般采取理论笔试和现场实际操作相结合的方式。理论考试主要是考察学员对基础知识以及法规标准的掌握情况，实际操作考核可以更直接的反映学员解决实际问题的能力。考核合格者由相应机构颁发上岗资格证，实行持证上岗。人员的能力不是固定不变的，还要建立定期再培训、再考核制度，保证人员的能力水平始终符合岗位的要求。监管部门还要对快检人员的培训情况实施监督检查，保证培训工作切实落实到位。

一名合格的快检人员，还要有良好的职业道德和科学素养。培训时一定要说明检测工作要实事求是、科学客观，不得弄虚作假、伪造数据。操作人员以及其所在的单位要对检测过程中及检测结果真实性，客观性，可追溯性负责。要形成一支专业化的、规范化的快速检测队伍，经过系统的培训、严格的考核、不断的监督，这是保障这项技术在食品安全一线发挥其应有的作用的人才基础。

（三）明确快速检测结果的法律地位与应用场景

要使快速检测技术在监管中发挥最大的作用，就必须明确快速检测技术的法律地位，合理确定快速检测技术的应用场景。快速检测技术因为高效、便捷等特



点,在食品安全监管中是不可缺少的“哨兵”,但是由于方法学特性所决定,其结果的准确性、权威性一般都低于实验室法定检验方法。因此,在法律法规上给它明确的定位十分必要。新修订的《食品安全法》、《农产品质量安全法》等法律法规对食品安全监管工作中的快速检测方法作出了规定,监管部门可以采用国家规定的快速检测方法对食品进行抽查检测。

这些法律规定是对快速检测的根本遵循。其主要作用就是做初步筛查和风险排查的工具。实际应用中,主要场景有现场监管执法、生产经营单位自查、大型活动保障、消费前快速筛查等。执法人员在农贸市场、超市等流通环节可以利用快速检测的方式对农兽药残留、非法添加物等高风险项目进行大量的现场抽查,及时发现可疑的问题产品。按照《食用农产品市场销售质量安全监督管理办法》的规定,对快检抽查中发现存在质量安全隐患的食用农产品,销售者应当立即停止销售,赋予了快检结果风险控制的强制力,可以有效阻止可疑问题产品继续扩散。

同时法律也规定了快检的结果是有局限性的。快速检测结果不能作为最终的行政处罚、产品召回的唯一依据,也不能用于国家统一组织的食品安全抽样检验。当快检结果呈阳性或者可疑的时候,一般会启动风险管理程序,而不是直接进入行政处罚程序。监管部门要进行监督检查,并委托有法定资质的检验机构,按照国家标准方法对同批次产品进行实验室确证检验。只有在实验室的复检检验结果仍然是不合格的,才可以作为启动后续行政处罚的最终依据。另外法律还对例外情况进行规定,最新的《农产品质量安全法》中明确指出被认定为可利用的快速检测方法,如果该方法的检测结果不符农产品质量安全标准的话,可以作为行政处罚证据来使用,极大提高特定快检方法权威性和运用效力。

法律也对被检测人权利进行了充分的保护。被检测人对农产品快检结果有异议的,可以在规定时间内(一般为4小时)提出复检申请,复检不能再用快检方法。既发挥了快速检测高效筛查风险的优点,又通过实验室确证程序保证最终执法决定的科学性、公正性,实现科学监管和依法行政有机结合。法律法规通过规定快检结果的地位、使用场合,可以合理地引导各方正确地运用这个工具,使之能够在食品安全监管体系中找到自己合适的位置、各司其职、有所作为。

参考文献

- [1] 王姝婷,虞爱旭,金铨,等.多组分免疫分析技术在农药残留检测中的应用及其研究进展[J].中国卫生检验杂志, 2009(8):3.
- [2] 张改平.《食品科学:食品分析与安全检测技术专刊》[J].食品科学, 2014, 35(8).
- [3] 吴小燕.食品快速检测技术的现状及发展建议[J].食品界, 2018(4):1.
- [4] 彭丽萍,郑剑,张章杰.食品安全快速检测技术在食品安全监督中的应用[J].农业科学, 2024, 7(3):75-77.
- [5] 王俊平.食品安全检测与控制技术研究[J].天津科技大学学报, 2014, 29(1): I0002-I0002.
- [6] 马艳钟传量.中国食品安全研究热点挖掘与前沿探析[J].湖北民族大学学报:自然科学版, 2022, 40(3):260-266.
- [7] 谭麟,郭晓磊,王圣博,等.液质联用技术在食品安全检测内运用阐述[J].粮食流通技术, 2021, 027(013):29-31.
- [8] 于宝军.专注微生物快速检测,保障食品安全——Soleris 微生物快速检测系统[C]//第四届中国北京国际食品安全高峰论坛.2011.
- [9] 乌恩琦,宁保安,高志贤,等.光子晶体传感技术在食品安全检测中应用进展[J].解放军预防医学杂志 2017年35卷1期, 62-64,71页, ISTIC CA, 2017:国家自然科学基金资助项目(No.81472985,No.81502847,No.AWS15J006)天津市应用基础与前沿技术研究计划.
- [10] 王翠竹.食安检测引重视,前沿动态出展会[J].食品安全导刊, 2019.
- [11] 吴晶晶.我国初步建立食品安全检测技术体系[J].中国禽业导刊, 2006, 23(5):1.
- [12] 徐俊.我国食品安全科技发展现状[J].中国食品工业, 2006(10):9-11.
- [13] 刘国坤,曾勇明,陈启振,等.拉曼光谱技术在食品安全领域的现场快速检测方法开发[C]//2015年现场检测仪器前沿技术研讨会.2015.
- [14] 张南.食品安全快速检测技术的专利文献计量研究[J].食品科学, 2019, 40(1):7.
- [15] 欧阳兆东.食品安全检测技术在食品质量安全评价中的应用[J].食品安全导刊, 2024(5):164-166.



- [16] 王俊平.食品安全检测与控制技术研究[J].天津科技大学学报, 2014, 29(1):1.
- [17] 田莉虹,程永红.探讨我国食品安全问题及食品检测的发展趋势[J].食品安全导刊, 2022(6).
- [18] 赵海涛.转基因农产品检测前沿技术解析及运用[J].农业与技术, 2013, 33(10):1.
- [19] 王运照,胡文忠,李婷婷,等.基因芯片在微生物检测中的应用研究及发展状况[C]//中国食品科学技术学会年会.2014.
- [20] 王治平.食品检测中生物技术的应用研究[J].农业科学, 2024, 7(3):87-89.
- [21] 陈乐群,杨正慧,韩凤霞.食品安全监管前沿问题研究[C]//2023年度吉林省市场监督管理学会工作会议.吉林市产品质量检验院, 2024.
- [22] 丁丽萍.浅析深度学习在食品安全检测与风险预警中的应用[C]//第十届工程技术与数字化转型学术交流会议论文集.2025.
- [23] 陈乐群,杨正慧,韩凤霞.食品安全监管前沿问题研究[C]//2023年吉林省市场监督管理学会征文活动优秀论文集.2024.
- [24] 马述忠.生物技术经济管理——关于农业经济管理学科前沿与发展的战略思考[C]//2004年全国农业经济管理学科前沿发展战略学术研讨会.0[2025-12-08].
- [25] 唐启元,赵 慧.食品安全问题及食品检测的发展趋势[J].工程研究与实用, 2023, 4(3):25-27.