

立项背景

- ✓ 特殊医学用途配方食品，简称特医食品，是为了满足进食受限、消化吸收障碍、代谢紊乱或特定疾病状态人群对营养素或膳食的特殊需要，专门加工配制而成的配方食品。
- ✓ 特医食品原料中，叶酸、泛酸、生物素和维生素B₁₂是常添加的4种微量营养素。

产品种类	叶酸	泛酸	生物素	维生素B ₁₂
	μg/100kJ			
特殊医学用途婴儿配方食品	2.5 ~ 12.0	96 ~ 478	0.4 ~ 2.4	0.025 ~ 0.360
特殊医学用途配方食品 (1 ~ 10岁)	> 1.0	> 0.07	≥0.4	≥0.04
特殊医学用途配方食品 (10岁以上)	≥5.3	> 0.07	≥0.5	≥0.03

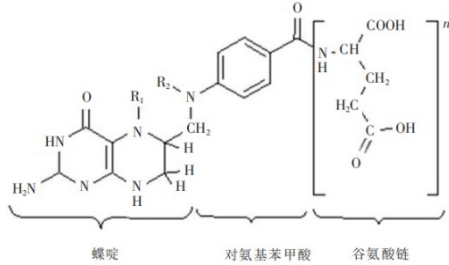
(特医食品中4种维生素含量指标要求)



准确测定添加量对于特医食品质量控制具有重要意义

立项背景

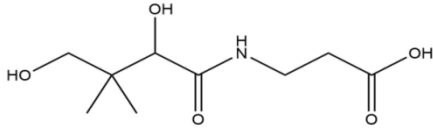
叶酸 (维生素B₉)



作为甲基供体参与许多生化反应进行，有助于人体细胞分裂、分化与增殖等

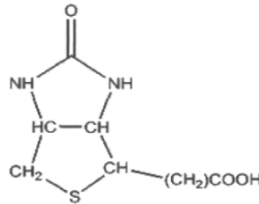
叶酸衍生物种类多，不稳定，部分会与蛋白结合的方式存在

泛酸 (维生素B₅)



辅酶A (CoA) 的组成部分之一；对人体血糖浓度的维持、矿物质和微量元素的代谢均有关键作用

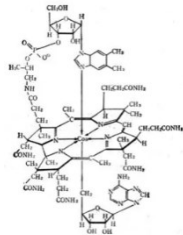
生物素 (维生素B₇)



合成Vc的必要物质，也是参与机体蛋白质、脂肪和糖类三大代谢的重要物质

共8种同分异构体，但只有D-生物素才有生理活性

维生素B₁₂ (钴胺素)



以辅酶形式参与各种代谢过程，在造血和健全神经系统功能方面有重要作用

至少有5种相似结构分子，甲钴胺素和5-脱氧腺苷钴胺素是其活性型

特医食品针对人群特殊，对添加量有严格要求。由于不同衍生物及同分异构体等众多，使得精确检测存在难度。

立项必要性

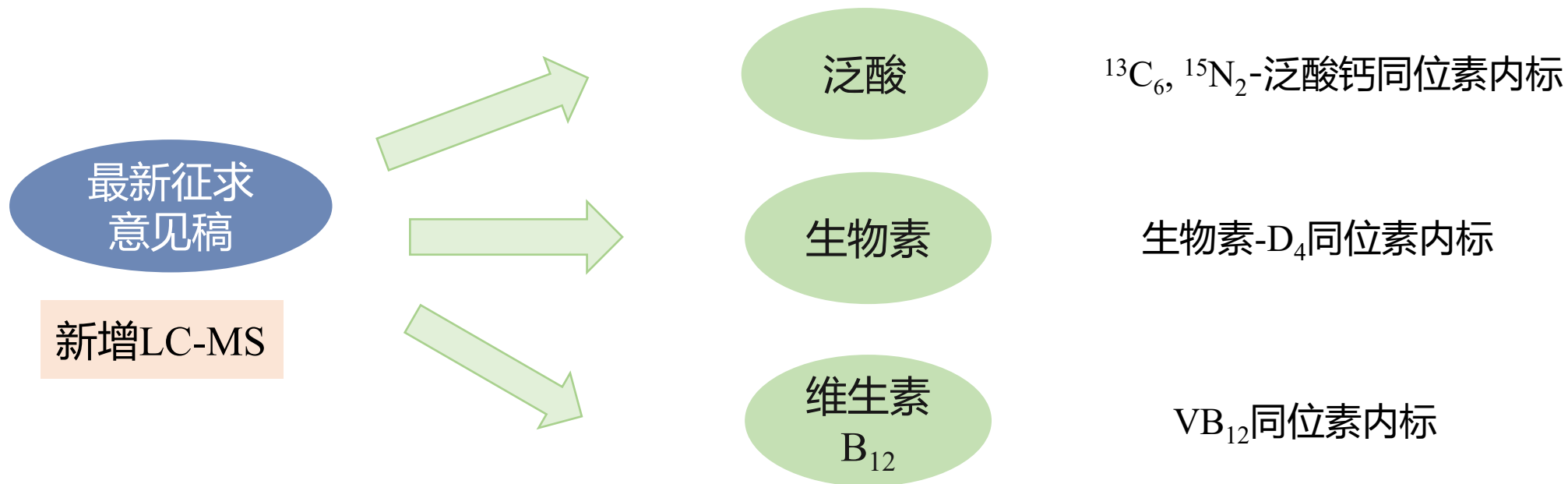
◆ 现有检测方法比较

检测方法	比色法	HPLC	LC-MS/MS	微生物法
实验整体耗时	短	较长	较长	很长
灵敏度准确性	低	高	高	高
操作方式	简单	繁琐	繁琐	繁琐
是否定量	是	是	是	是
是否需要专业人员操作	简单培训即可	专业+严格培训	专业+严格培训	专业+培训熟练后上岗
使用成本	便宜	贵	很贵	一般
维护成本	少	贵	很贵	无

目前特医食品中微量维生素的常用检测方法主要集中在液相色谱-质谱联用法及微生物法。

立项必要性

◆ 液相色谱-质谱联用法



优点

- ✓ 强大的组分分离与鉴定能力;
- ✓ 操作简单, 分析速度快;
- ✓ 重复性好, 灵敏度高;

缺点

- ✓ 同位素内标不稳定, 易分解, 价格昂贵, 增加应用成本;
- ✓ VB₁₂测定前处理过程中, 所用NaCN 和 KCN 为剧毒化学品;
- ✓ 需要大型精密仪器和专业人员操作, 费时、费力、费钱。

立项必要性

◆ 微生物法

利用相应的营养缺陷型菌种对特定维生素有很强的特异性，在一定条件下，其生长和繁殖速度与溶液中维生素的含量成一定对应关系。

使用菌株:

叶酸- 鼠李糖乳杆菌 (ATCC 7469)

泛酸- 植物乳杆菌 (ATCC 8014)

生物素- 植物乳杆菌 (ATCC 8014)

维生素B₁₂- 莱士曼氏乳酸杆菌 (ATCC 7830)

具备优点:

- ✓ 高度的灵敏性和特异性;
- ✓ 作为一种活试剂，可以测具有生物学活性的维生素含量;
- ✓ 测定结果更为准确、范围广、灵敏度高;
- ✓ 可满足含量低和基质复杂的特医食品检测。

微生物法是现阶段我国现行检测标准，同时也是国际上AOAC的推荐方法

立项必要性

◆ 国内外现行检测标准

维生素	国内标准	检测方法	国际标准	检测方法
叶酸	《GB5009.211-2014 食品安全标准 食品中叶酸的测定》	微生物法	欧盟 BS EN 14131-2003	微生物法
			AOAC 2004.05、AOAC 992.05-1995、 AOAC 944.12-1997、AOAC 960.46、 AOAC 2011.05、AOAC 2011.06	5个微生物法 1个光学生物传感器法 1个UPLC-MS/MS
泛酸	《GB5009.210-2016 食品安全标准 食品中泛酸的测定》	微生物法	ISO20639:2015 AOAC 2012.16	LC-MS法
		HPLC法	AOAC945.74、AOAC992.07	微生物法
生物素	《GB5009.259-2016食品安全标准 食品中生物素的测定》	微生物法	AOAC 2016.11	免疫亲和柱净化-HPLC
			ISO/DIS 23305	免疫亲和柱净化-HPLC
维生素B ₁₂	《GB5413.14-2010食品安全标准 婴幼儿食品和乳品中维生素B ₁₂ 的测定》	微生物法	AOAC 986.23	微生物法
			AOAC 2011.10	双柱切换-液相色谱-紫外检测法

立项必要性

◆ 微生物法

局限性

- ✓ 检测周期长，为保证菌活力要传代2~3代，检测一般4~6d；
- ✓ 操作步骤繁琐，实验关键节点多；
- ✓ 所有玻璃器皿及用具严格清洗、酸泡和干热灭菌，工作量大；
- ✓ 重复差，易受外部干扰，对检验员的操作水平和检测经验要求高。

以叶酸为例

- 叶酸主要是以叶酸衍生物的形式存在，最主要的形式包括：5-甲酰四氢叶酸、5-甲基四氢叶酸、四氢叶酸和叶酸；
- 不同叶酸衍生物又包含单谷氨酸形式和多聚谷氨酸形式的叶酸，具有生物活性的多达100多种



叶酸测定中所使用的鼠李糖乳杆菌只可测定出单尾形式的叶酸或含2~3个谷氨酸尾的叶酸，对长链的谷氨酸叶酸衍生物的反应会低很多

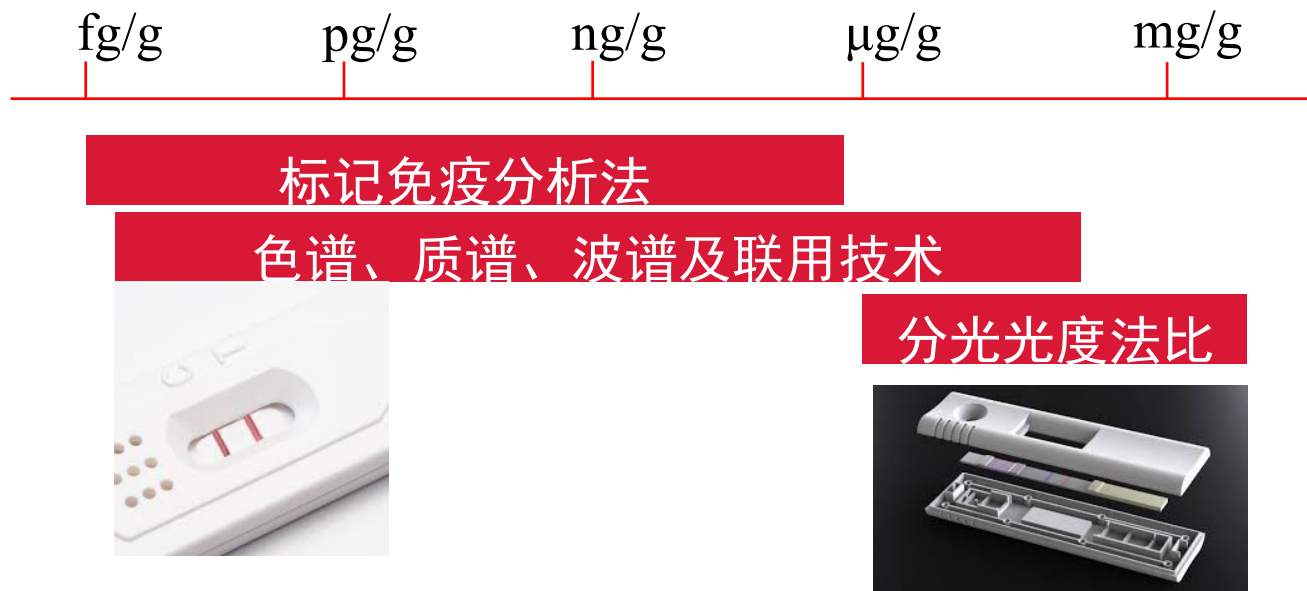
亟需开发一种方便、准确和低成本的维生素快速检测方法，以满足特医食品企业及政府监管部门的生产过程监控和监督检查工作需求

技术可行性

◆ 时间分辨荧光免疫分析技术 (time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA)

原理：试样中待测维生素与标记的特异性抗体发生结合后，抑制了层析过程中抗体与检测线上维生素-蛋白偶联物的免疫反应，使检测线上时间分辨荧光强度降低，通过荧光强度的变化进行定量测定。

- ✓ 新型非放射性免疫标记技术，与现有检测标准等效；
- ✓ 方法简便、可靠、检测周期短；
- ✓ 不受基质干扰，实现超微量物质检测；
- ✓ 高度特异性和标记示踪物的高度灵敏性，其灵敏度、可测范围和稳定性优于传统的免疫方法。



技术可行性

◆ 时间分辨荧光免疫分析技术 (time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA)

该技术在国家粮食局关于粮食行业标准征求意见稿中广泛采用：

《粮油检验 粮食中T-2毒素的测定 时间分辨荧光免疫层析快速定量法》

《粮油检验 粮食中伏马毒素的测定 时间分辨荧光免疫层析定量法》

《粮油检验 粮食中镉的测定 时间分辨荧光免疫层析定量法》

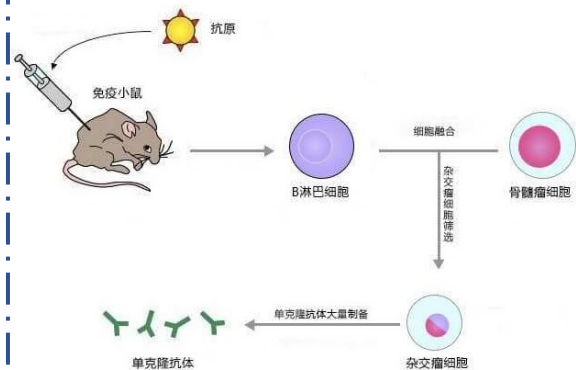
《粮油检验 粮食中铅的测定 时间分辨荧光免疫层析定量法》

技术可行性

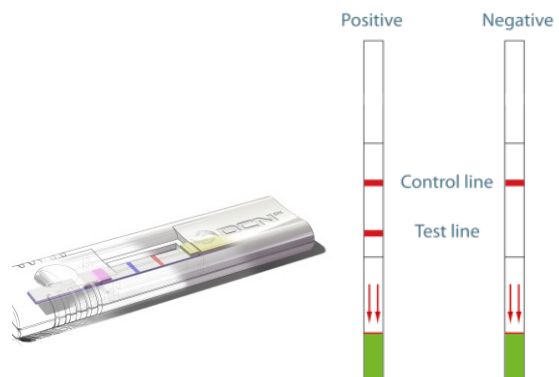
◆ 时间分辨荧光免疫分析技术 (time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA)

✓ 前期已完成工作:

抗体制备



试纸条制备



装备开发



临床应用



技术可行性

◆ 标准牵头单位



- 无锡食检中心拥有一支以博士、硕士为主体的高素质技术团队，在食品安全检测、营养食品功能评价、质量控制、风险预警等方面积累了丰富的工作经验。
- 无锡食检中心获批“国家市场监督管理总局技术创新中心（特殊食品）”，平台基础国内领先。

现有员工52名：

- 研究员级高级工程师 2 名
- 高级工程师 10 名，占 18.9%
- 博士 3名，硕士 16 名，占 35.8%
- 本科以上学历 52 人，占 98.1%
- 江南大学校外硕士生导师 4 名
- 全国食品工业标准化技术委员会委员1名



技术可行性

◆ 现有条件基础

项目负责人

冯永巍 博士



- 研究员级高级工程师
- 全国食品工业标准化技术委员会（TC64）委员
- 江苏省分析测试学会食品质量分析专委会快检分会委员
- 无锡市分析测试学会常务理事
- 江南大学校外硕士生导师

主要技术成果

主持完成江苏省质量技术监督局计划科技项目《基于金纳米粒子的肉制品中猪源性成分快速检测方法研究》。

- [1] 一株杂交瘤细胞株及其在含乳饮料中酪蛋白含量检测中的应用[P]. CN107607704A, 2018-01-19.
- [2] 一种猪源性成分掺假的快速鉴别方法[P]. CN103484549A, 2014-01-01.
- [3] Strand-displacement DNA polymerase induced isothermal circular amplification fluorescence sensor for identification of pork component[J]. Food Bioscience, 2021 (84):101189
- [4] HPLC-CAD法测定薏苡仁中的甘油三油酸酯[J]. 粮食与食品工业, 2020, 27(03): 65-68.
- [5] 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鸡蛋中7种色素[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(11): 3495-3499.
- [6] 超高效液相色谱-串联飞行时间质谱法测定绿茶中9种拟除虫菊酯类农药[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(11): 3516-3520.
- [7] 猪肉成分胶体金检测试纸条的制备研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(24): 180-184.
- [8] 基于纳米金粒子的猪源性成分快速比色检测[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(23): 8107-8110.

技术可行性

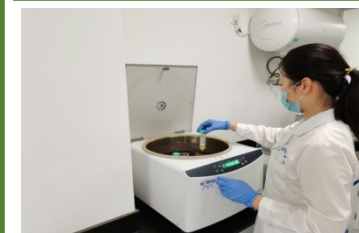
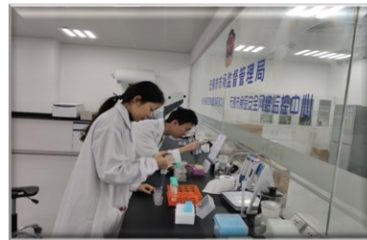
◆ 现有基础条件

近年来，无锡食检中心承担省、市级科研课题4项；参与制修订国家标准2项，团体标准2项；授权发明专利6件；发表高水平学术论文20余篇。

科研课题	发明专利	标准制定	代表论文
《保健食品中非法添加降压药物现场快速筛查关键技术集成及应用》(KJ21125006)	一种高效薄层色谱联用生物发光法筛检硝苯地平的方法(ZL201910486813.9)	GB/T 8887-2020 《淀粉分类》	Strand-displacement DNA polymerase induced isothermal circular amplification fluorescence sensor for identification of pork component [J]. Food Bioscience, 2021 (84):101189.
《苯丙酮尿症特医食品中酪蛋白糖巨肽的精准检测技术研究》(KJ204131)	一种用于检测沙门氏菌的显色培养基及其制备方法(ZL 201810528206.X)	GB/T 33411-2016 《酶联免疫分析试剂盒通则》	Preparation of human milk fat substitutes similar to human milk fat by enzymatic acidolysis and physical blend-ing[J]. LWT- Food Science and Technology, 2020, 140:110818;
《基于代谢组学的食品中兽药多残留高通量检测与筛查》(NL2021022)	一株杂交瘤细胞株及其在含乳饮料中乳蛋白含量检测中的应用(ZL201710815744.2)	T/SDAS 198-2020 《DHA营养强化鸡蛋》	变波长高效液相色谱法同时测定酱腌菜中的安赛蜜和脱氢乙酸[J]. 中国食品添加剂, 2019,30(10): 148-152
《基于核酸等温扩增技术的肉类食品掺假鉴别技术研究》(N20191012)	一种用于检测阪崎肠杆菌的显色培养基(ZL201610262341.5)	T/CIMA0009-2019 《水产品中孔雀石绿快速检测自动化前处理仪》	对二安替比林甲烷比色法测定食品中二氧化钛方法的探讨[J]. 粮食与食品工业, 2020,27(3):73-75
	一种猪源性成分掺假的快速鉴别方法(ZL201310445819.4)		超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鸡蛋中7种色素[J]. 食品安全质量检测学, 2020,11(11): 3495-3499
	一种猪源性成分掺假的快速试纸检测方法(ZL201310445787.8)		

技术可行性

◆ 快检方面工作



承担苏南公司学校食材监管

- ❖ 覆盖 680 所学校 70 余万师生
- ❖ 监督指导开展食品检测
- ❖ 建成了以“定规立标，阳光呵护”为主要内容的学校食材集中配送快检体系

承担市民中心食材保障

承担市民中心食堂蔬菜水果、畜禽肉及副产品、水产品、鲜蛋、豆制品、糕点等食材快速检测工作。