

●质量检测

# 荧光分析在肉品检验中的应用

王国良 刘 卓 梁克昌

(沈阳市工商行政管理局商品检验所)

有些物质在紫外线的照射下能发射肉眼可见的荧光,运用这一性质可以检验肉品的质量。我们试用荧光染色和荧光抗体技术检查病源微生物,用荧光目检法评价肉品质量,取得令人满意的成果。实践证明,荧光分析不需复杂的仪器,且操作简单,技术上容易掌握,易于在基层化验室推广应用。

## 一、荧光染色镜检法

细菌的荧光染色是用荧光染料进行染色,由于荧光染色所观察的是标本的彩色图象,因而发现目标快,鉴别容易;且眼睛不易疲劳,可长时间坚持有效工作。

我们用普通显微镜和落射式荧光源,以荧光色素染色检查肉品中结核菌,经过对比实验,其阳性率比普通抗酸染色法高出25%。我们将肉品中结核菌的荧光染色镜检实用技术介绍如下:

(一)可疑病料的采集(无菌采集新鲜病料)。

牛:采集肺脏、乳腺和淋巴结的病灶。

猪:采集下颌淋巴结。

禽类:采集肝脏、脾脏。

(二)可疑病变组织的处理

1.取适量样品于无菌玻璃研磨器内研成乳浆状。

2.取上述乳浆一份加入组织消化液五份。搅匀,置37℃恒温箱中,振荡器以100次/分频率消化60分钟。

3.用稀盐酸调整上述混合液pH值为6.8—7.0。

4.以3000转/分离心沉淀30分钟后,弃去上清液,取沉淀物和3毫升灭菌生理盐水

搅匀,涂片,染色,镜检。

(三)、荧光色素染色

1.处理后的被检样品用0.1%金胺石炭酸溶液染色5分钟后,水洗。

2.用3%盐酸酒精脱色至涂片无黄色止,水洗。

3.用美兰酒精饱和溶液染色2~3分钟后,水洗。

4.滴加甘油PBS液一滴,用荧光显微镜检。

结果:视野下可见呈明亮黄绿色荧光的细杆状微弯曲物为结核杆菌。

(四)检验试剂的配制

1.组织消化液:

取苛性钠3.5克,硫酸铝钾0.2克,加蒸馏水至1000毫升。

2.3%盐酸酒精:

取浓盐酸3毫升,徐徐加到97毫升的97%酒精中。

3.金胺石炭酸溶液:

取金胺0.01克溶于100毫升5%的碳酸水溶液中,避光保存。

4.美兰酒精饱和液:

取2%美兰酒精溶液30毫升,加0.01%苛性钾溶液70毫升。

(五)讨论和说明

1.采取病料时须用灭菌器具盛装,立即送检或暂存冰箱中,待次日送检。

2.病灶内容物一般可直接涂片。

3.结核菌经荧光染色后易于观察,比常规抗酸染色法检出率高,尤其适用于对含菌数少的样品检验。

## 二、荧光抗体法

荧光抗体法,或称免疫荧光法,是一种抗原抗体反应与形态学检查相结合的方法。其原理是,某些荧光素,如异硫氰酸荧光素(FITC)、罗丹阳(RB200)等受紫外线照射时,能改肉眼看不见光为可见光,从而产生荧光;在一定条件下,荧光素可与抗体分子结合,但不影响抗体与抗原的特异性结合。用这种荧光抗体对受检标本染色后,在荧光显微镜下观察,即可在黑暗的视野中,能看到荧光闪烁的细菌等。利用这种现象便能对标本中相应抗原进行鉴定和定位。

### (一) 荧光抗体染色技术基本方法

1.直接法:滴加荧光抗体于待检标本上,经一定时间,冲去未着染的染色液,干燥后,在荧光显微镜下观察。标本中若有相应抗原存在,即与荧光抗体结合,在镜下即见有荧光抗体围绕在受检抗原的周围,发出草绿色荧光。本法的缺点是,每检查一种抗原,必须制备与其相应的荧光抗体染色液。

2.间接法。首先往待检标本上滴加特异性抗体,作用一定时间后,再滴加用荧光标记的抗球蛋白抗体(或称抗抗体),作用一定时间,阳性时,则形成抗原—抗体—荧光抗抗体的复合物。本法的优点是制备一种荧光标记的抗抗体,可用于多种抗原—抗体系统的检查。

### 3.沙门氏菌荧光抗体检查法:

(1)涂片、固定。浸于固定液内3—5分钟,用95%酒精漂洗吹干。

(2)用滴管或注射器往标本面上滴加沙门氏菌A—F混合血清一滴,再滴加一滴磷酸缓冲盐水混匀,并剪一小块与标本面一样大的擦镜纸,复盖在上面。

(3)恒温箱37℃作用30分钟。

(4)用PBS轻轻浸洗10—15分钟(三个缸,每缸3—5分钟)。

(5)用吸水纸吸干。

(6)滴加羊抗兔荧光抗体一滴和PBS

1~2滴,混匀。

(7)37℃染色30分钟。

(8)同上用PBS浸洗三次,吸干余水。

(9)滴加缓冲甘油水,镜检。

结果判定标准:

“++++”,黄绿色闪光荧光,菌体周围及中心轮廓清晰。

“+++”,黄绿色明亮荧光,菌体周围及中心轮廓清晰。

“++”,黄绿色荧光较弱,菌体周围及中心轮廓清晰。

“+”仅有暗淡的荧光,菌形可见。

“-”,无荧光,或菌形不清。

报告时以“++”以上作为阳性结果。

### (二) 猪瘟荧光抗体检查

1.以扁桃体、淋巴结、脾的新切面先接于滤纸上,然后压印于载玻片上,冷风吹干随即浸泡于丙酮中,室温固定10分钟取出吹干。

2.以pH7.4的PBS稀释猪瘟荧光抗(4倍),滴加于印片上,盖满组织,置37℃环境30分钟。

3.取出后以pH7.4,0.01MPBS冲洗3次,最后以水冲洗,自然干燥。

4.以伊文思兰或2/万结晶紫染色30秒,洗去染液。

5.镜检:阳性(+)细胞内出现明亮绿色荧光,阴性不显荧光。

### 6.试剂配制:

①试剂PBS缓冲液(0.01MP,pH7.4):氯化钠8.5克;磷酸氢二钠1.07克;蒸馏水1,000毫升;磷酸二氢钠0.39克。

### ②固定液:

95%乙醇6份;三氯甲烷3份;甲醛1份;甘油缓冲液,中性甘油9份加PBS1份。

(三)用普通生物显微镜代替昂贵的荧光显微镜方法:

# 肉品及水产品汞污染情况的分析

赵广民 刘 凯 (沈阳市食品公司)

霍金文 (辽宁商业专科学校)

## 摘 要

本实验对肉品及水产品抽取51份样品,均作了汞残留量的检测。其中,猪肉样品26份,汞检出率为11.54%,汞残留量平均值为0.45ppb;牛肉样品13份,汞检出率为7.69%,汞残留量平均值为0.13ppb;鱼肉样品12份,汞检出率为91.67%,汞残留量平均值为21.32ppb。实验结果表明,肉品汞污染程度甚微,而水产品汞污染情况值得关注。

## 引 言

汞不是人体必需的微量元素,而汞及其化合物均为剧毒物质。从食品卫生角度看,汞通过食物危及人体健康。汞在食品中存在量处于ppm级,甚或ppb级,这样低的残留量对人体虽没有急性中毒作用,却具有潜在的慢性中毒危险。譬如,在日本水俣湾海域,由于水质受甲基汞严重污染,该地区居民长期

食用在该水域打捞上来的水产品,最终导致134人发生中毒,48人死亡,这就是震惊全世界的“水俣病”。

在“水俣病”发现后,汞对食品的污染引起了全世界的关注,许多发达国家对食品中允许含汞量均作出了明确规定,建立起各自的食品中汞的卫生标准。我国也制定了食品中汞的卫生标准,规定:肉品允许含汞量为0.05ppm,水产品允许含汞量为0.3ppm。

本文旨在了解肉品及水产品汞污染的情况,并希望通过对同行们有的放矢地开展这方面工作有所裨益。

## 材料与方 法

### 一、样品

51份样品均来自沈阳市食品公司下属六个生产经营企业,样品采集时间自本年2月27日至9月24日。其中,猪肉样品26份,牛

1.光源:用荧光灯代替厂家生产的荧光光源,效果基本相同,用沈阳医疗器械二厂生产的落射式荧光光源可与进口产品媲美。

2.目镜不宜使用10倍以上的,因为倍数越高镜象荧光越暗。

3.载玻片:使用0.8—1.2厘米厚度。盖片厚度用0.17厘米规格。先用洗衣粉洗净再用蒸馏水冲洗,存放于95%乙醇内备用。

4.镜油:用甘油PBS液以避免香柏油产生荧光干扰。

5.显微镜:以选用单、直筒式为好,以减少荧光通过棱镜的光损耗。实践证明,单筒比双筒荧光亮度高一倍。

(四)我们自行设计荧光灯

1.机箱:用铁皮制作,侧壁设有散热孔,如百页窗状,可通风而不透光。

2.光源:光源必须很强,要求在100W以上,并要求接近光源。光源是关键部分,采用高压汞灯输出稳定,光效应强,并使发射光谱向短波方向位移。

3.反光镜:用它把向后发射的光线反射回去,加强照明。

4.聚光镜:由两个平凸透镜两凸相对,以会聚更多的光线,保证足够的亮度。

5.滤光器:作用是吸收可见光,允许紫外线通过。