

《肉类罐头中牛、羊、猪、鸡、鸭源性成分检测方法》行业标准 (征求意见稿) 编制说明

一、 工作简况

1、任务来源

2018年1月,工信部发布《工业和信息化部办公厅关于印发2018年第一批行业标准制修订和英文版项目计划的通知》(工信厅科〔2018〕3号),《肉类罐头中牛、羊、猪、鸡、鸭源性成分检测方法》(计划编号:2018-0083T-QB)列入轻工行业标准计划。主要起草单位包括中国食品发酵工业研究院、上海梅林正广和股份有限公司、四川美宁食品有限公司等,本标准由全国食品工业标准化技术委员会罐头分技术委员会归口,完成年限2019年。

2、主要工作过程

起草阶段

计划下达后,秘书处即着手组织该项标准的制定工作,根据承担单位在项目立项前开展的基础研究情况,提出本标准的制定思路和框架,2018年4月,秘书处组织在北京召开了《肉类罐头中牛、羊、猪、鸡、鸭源性成分检测方法》行业标准起草启动会议,起草工作组在听取秘书处前期的研究工作介绍后,针对基于PCR技术开展肉类深加工食品真实性鉴别的可行性、准确性等方面进行充分讨论并取得一致意见。

根据会议讨论意见和安排,秘书处会后发出征样通知,从生产企业或自行采集总计94个样品,其中单一样品73个(只包含一种动物源性成分),混合样品20个(包含两种及以上动物源性成分),单一样品包括牛源性成分3罐、羊源性成分5罐、猪源性成分61罐、鸡源性成分2罐、鸭源性成分2罐,从中选取有代表性的不同品种、不同工艺类型的8个肉类罐头样品,组织中国食品发酵工业研究院、厦门市产品质量监督检验院、中国肉类食品综合研究中心、北京市产品质量监督检验院、大连市食品检验所等5家单位于2018年6月-8月开展实验室间比对验证工作,由秘书处统一发送样品,各实验室按照标准草案中规定的实验方案进行验证,并在按时返回实验结果,秘书处对比对结果汇总进行分析,各实验室比对结果结果较为一致,确认了利用特异性PCR技术鉴别牛、羊、猪、鸡、鸭等五种不同种属动物源性成分的可行性、准确性、科学性,根据比对过程中各实验室操作中出现的状况,对标准草案进一步完善,并对上述所征集的所有样品进行普查,进一步验证本方法的适用性,初步了解我国肉类罐头市场产品真实

性的基本情况，形成标准征求意见稿。

二、 标准编制原则和主要内容

1、标准主要内容的论据

- 1)、本标准以科学技术和实验数据为依据，结合产品实际情况，确保标准的科学性、先进性、可操作性。
- 2)、与现有的相关标准相配套与协调，进一步完善标准体系。
- 3)、保护消费者利益。
- 4)、促进行业的技术进步与健康发展，提升检测水平。

2、标准主要内容的论据

1) 适用范围

本标准规定了利用特异性 PCR 技术检测肉类罐头中牛、羊、猪、鸡、鸭源性成分。

本标准适用于肉类罐头中牛、羊、猪、鸡、鸭源性成分定性检测，方法检出限为 1%（质量分数）。

2) DNA 提取

按照 GB 4789.26-2013 中 6.4 规定的方法无菌条件下开启罐头样品，并将样品混合均匀后进行取样。

对于肉类罐头食品，由于经过了繁杂的前处理和长时间的高温加工，使得 DNA 严重降解。从这些深加工食品中提取足够数量和质量的 DNA 是进行动物源分子学鉴别的基础和关键。

目前，常用的 DNA 提取方法有 SDS 法，异硫氰酸胍法，CTAB 法和试剂盒法。在基础研究过程中，分别比较了 EE101-02 DNA 提取试剂盒、SDS 法、CTAB 法和异硫氰酸胍法对肉类罐头中 DNA 的提取效果，确立利用异硫氰酸胍法提取肉类罐头食品中总 DNA 提取的有效方法，为后续利用分子生物学技术继续开展深加工肉制品中动物源性成分鉴别工作提供技术依据。

3) 引物与 PCR 扩增

肉类罐头在加工过程中需经过预煮、斩拌、调味、高温高压杀菌等处理，这些加工过程对食品中的 DNA 造成不同程度的破坏，而其中长时间的高温高压加工对 DNA 的破坏尤为严重。这是由于高温可以引起 DNA 的脱嘌呤或脱氨基反应，高温加工使食品的 DNA 发生降解，DNA 断裂成小的片段。因此在本方法中 PCR 扩增目标基因选择线粒体 DNA，这是因为动物细胞中，每个细胞中有数百个线粒体，每个线粒体包含多份

拷贝的 DNA，在数量上远超核 DNA，另外，线粒体 DNA 长度远短于核 DNA，这些特点使线粒体 DNA 适用于加工食品的分析。

本方法根据扩增的目的基因设计高特异性引物，相应的扩增产物就是该物种的目的片段，对其他物种则无扩增，针对猪、牛、羊、鸡、鸭等五种成分，分别设计五对特异性引物，目的片段长度大小分别为 212bp、147 bp、202 bp、131 bp、201 bp，既适合单一成分样品，也适用于混合成分样品。根据研究结果，牛羊肉罐头加工程度相对更高，因此对于这一类样品进行二次 PCR 以获取目的片段。

4) 结果确认

在获得目的片段后，选择合适的限制性内切酶，通过限制性内切酶将 PCR 产物酶切为特定大小的片段，以验证 PCR 扩增的正确性，如果酶切结果符合预期结果则鉴别样品中含有相应的动物源性成分或也可以利用测序的方式进行验证。

3、解决的主要问题

近年来，肉制品的掺假事件层出不穷，越来越多的不法商贩以低价值肉类掺入冒充高价值肉类，其严重的损害了消费者的利益，掺假行为严重的更是会引起食品安全问题，使消费者的身体健康和心理受到伤害。

目前，在国内的生肉及肉制品生产、销售领域中，有些商贩为了获得不法利润，利用掺假等恶劣手段，将低价格肉类掺杂到高价肉中，以假乱真、用次充好扰乱市场秩序，侵犯消费者权益的事件在各地常有发生，常见的是用猪肉掺假牛肉和羊肉，用猪、鸭、牛肉掺假羊肉等。这种行为涉及到经济、食品安全、人民健康，甚至涉及到宗教信仰问题，如在清真食品中掺杂猪肉，在穆斯林聚居区域销售掺杂猪肉的牛羊肉很有可能引发民族矛盾，对民族团结和发展造成严重后果。肉类罐头食品由于经过了斩拌、调味、高温加工等处理，普通消费者难以通过感官分辨掺假肉，即使是执法部门在取证过程中目前也缺乏简便有效的技术手段，对掺假肉打击乏力是肉类掺假愈演愈烈的技术原因，我国目前对各类动物源性食品进行定性或定量检测的标准体系尚不完善，目前对肉类罐头食品中动物源性的检测还未制定相关标准。

因此本标准应用 PCR 扩增技术对肉类罐头中的动物源性成分进行快速、准确的检测，从而对肉类罐头中动物源性成分进行有效的监管，为监管部门提供技术支撑，进一步提高肉类罐头的品质，增加市场竞争力，同时对保障消费者的健康和权益，规范食品市场、打击食品掺假的商业欺诈行为等具有十分重要的意义。

三、 主要试验（或验证）情况分析

为验证本方法引物的特异性及方法稳定性、准确性和适用性，组织中国食品发酵工业研究院、厦门市产品质量监督检验院、中国肉类食品综合研究中心、北京市产品质量监督检验院、大连市食品检验所等 5 家单位对 8 种不同类型的肉类罐头样品进行方法学验证比对，由秘书处统一盲样编号，发送各实验室，比对结果见表 1

表 1 畜禽类罐头中动物源性成分检测结果汇总表

样品编号	原料标注成分	Lab-1	Lab-2	Lab-3	Lab-4	Lab-5
CM-3	猪、鸡	猪、鸡	猪、鸡	猪、鸡	鸡、猪	猪、鸡
CM-4	猪	猪	猪	猪	猪	猪
CM-6	牛	牛	牛	牛	牛	牛
CM-7	鸡、牛	牛、鸡	牛、鸡	牛、鸡	牛、鸡	牛、鸡
CM-10	羊、鸡	鸡（二次扩增）	羊、鸡	羊、鸡	羊、鸡	羊、鸡
CM-11	鸡	鸡	鸡	鸡	鸡	鸡
CM-12	鸭	鸭、鸡（二次扩增）	鸭、鸡	鸭、鸡	鸭	鸭
CM-13	羊	羊	羊	羊	羊	羊

罐头样品 CM-3、CM-4、CM-6、CM-7、CM-11、CM-13 四家实验室对比检测结果均相同且与产品原料标注成分相一致；CM-10 罐头样品三家实验室比对检测结果相同且与原料标注成分相一致，Lab-1 未在 CM-10 罐头样品中检测到羊源性成分，通过二次 PCR 扩增技术在其中检测到鸡源性成分；CM-12 罐头样品四家实验室均检测到鸭源性成分，其原料标注成分为 100%鸭源成分，但两家实验室在 CM-12 号样品中检测到鸡源性成分；Lab-1 通过两次 PCR 扩增技术分别在 CM-6、CM-10、CM-12、CM-13 中检测到鸡源性成分，其中 CM-12 号样品虽标称仅有鸭源性成分，但 3 家实验室均检出了鸡源性成分，原因可能是由于在 CM-12 罐头样品中添加有鸡精或鸡汤等成分而未标出。

因此可以看出，本方法在不同实验室间鉴别结果较为一致，方法具有较好的稳定性和重复性。

四、 标准中涉及的专利

本标准不涉及专利问题。

五、 产业化情况、推广应用论证和预期达到的经济效益等情况

肉类罐头中动物成份掺假是食品安全所关注的问题之一，同时也会对消费者身体健康和心理造成一定的影响。本次对《肉类罐头中牛、羊、猪、鸡、鸭源成分检测方法》标准的制定，规范了畜禽类罐头中牛、羊、猪、鸡、鸭5种动物源性成分的检测方法，满足了科研和实际生产需要。

该标准的实施，将填补我国肉类罐头中牛、羊、猪、鸡、鸭5种动物源性成分检测

方法标准的空白，为行业提供了一种快速、高精度、高灵敏性和低检出限的检测方法。我国罐头行业正处于蓬勃发展阶段，积极推广和实施该标准，通过检测肉类罐头中动物源性成分的分析，有助于预防和控制肉类罐头中掺假问题的发生，对进一步提高肉类罐头产品质量，增强市场竞争力具有十分重要的意义。

六、 采用国际标准和国外先进标准情况，与国际、国外同类标准水平的对比情况，国内外关键指标对比分析与测试的国外样品、样机的相关数据对比情况。

本标准没有采用国际标准。

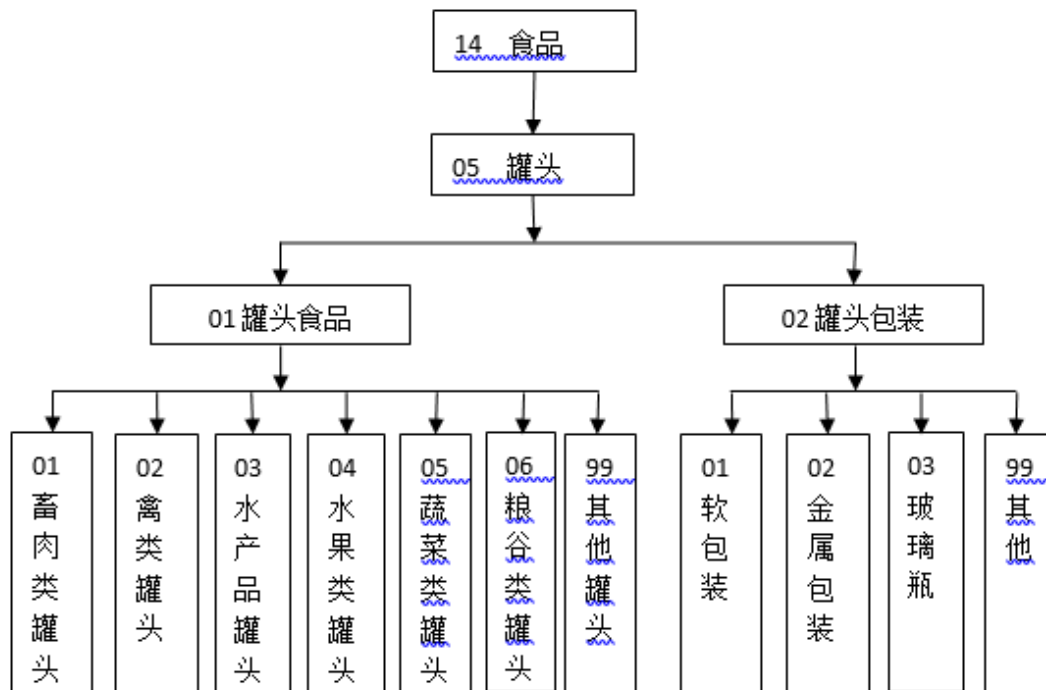
本标准制定过程中未查到同类国际、国外标准。

本标准制定过程中未测试国外的样品、样机。

本标准水平为国内先进水平。

七、在标准体系中的位置，与现行相关法律、法规、规章及标准，特别是强制性标准的协调性

本专业领域标准体系框图如图。



本标准属于食品标准体系“罐头”大类，“罐头食品”中类，“畜肉类罐头”和“禽类罐头”小类。

本标准与现行相关法律、法规、规章及相关标准协调一致。

七、 重大分歧意见的处理经过和依据

无。

八、 标准性质的建议说明

建议本标准的性质为推荐性行业标准。

建议本标准通过审核、批准发布之后，由相关部门组织力量对本标准进行宣贯，在行业内进行推广。

九、 贯彻标准的要求和措施建议

建议本标准自发布6个月之后开始实施。

十、 废止现行相关标准的建议

无。

十一、 其它应予说明的事项

无。

全国食品工业标准化技术委员会

罐头分技术委员会

2018年9月13日