

核技术在食品分析中的应用

钱瑞生 陆炎培

(食品科学与工程系)

随着人民生活水平的提高,消费者不仅要求食品营养丰富、美味可口,而且要求卫生安全,因此,对食品的原料、加工、保藏、销售环节的监测提出了更高的要求,常规监测方法在某些情况下已不能适应,因而具有独特优点的核技术受到人们的注意,近10多年,它在食品工业中的应用十分广泛,该技术不仅能快速检验食品中细菌污染情况,而且能用同位素稀释法、放射免疫法,中子活化分析法等手段,测定食品中痕量成分,也能借助 ^{14}C 的测量或 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 之比的测定,辨别伪劣食品,而这是一般物理或化学方法无能为力的。用于酶活测定,方法简单准确。本文简要介绍它们在食品工业中的这些应用及其前景。

1 食品中污染细菌的快速检测

用经典方法检查罐头食品中的细菌,往往需要一天到数周的时间,若用同位素示踪法,可缩短到数小时,其检测原理是细菌在代谢过程中使底物产生 CO_2 ,如果产生的 CO_2 具有放射性,如 $^{14}\text{CO}_2$ 则测定释放出的 $^{14}\text{CO}_2$ 的放射性活度,就能分析食品中是否有细菌污染,为此,选用最适宜细菌生长的底物,如葡萄糖或其它糖类,且用 ^{14}C 标记,细菌在含 ^{14}C —葡萄糖的培养基中生长时,代谢产生 $^{14}\text{CO}_2$, $^{14}\text{CO}_2$ 的产生量与食品中细菌量成正比,由此可得到食品中含菌数。

Previte J.^[1]把鼠伤寒沙门氏菌和金葡萄球菌接种于1ml含 $0.0139\mu\text{Ci}$ 的 ^{14}C —葡萄糖的TSB培养基中,37℃保温培养,当1ml肉汤中含 $1\sim 10^4$ 个细菌时,检测时间为9~3h。实验证明,1ml肉汤中含菌量每增加一个量级,检测时间可缩短1~2h。这种方法用于检测牛肉和细菌混合物时,取混合物样品3ml,加到含 $1.0\mu\text{Ci}$ 的 ^{14}C —葡萄糖的10mlTSS培养基中培养,检测所需要的时间如表1所示。

美国Johnston^[2]实验室应用上述原理制成了自动化的检测仪器,名为Bactec,并已生产出几种型号,如Bactec—5型,一次就可测试960个样品,使用非常方便。

本文1989年7月12日收到。

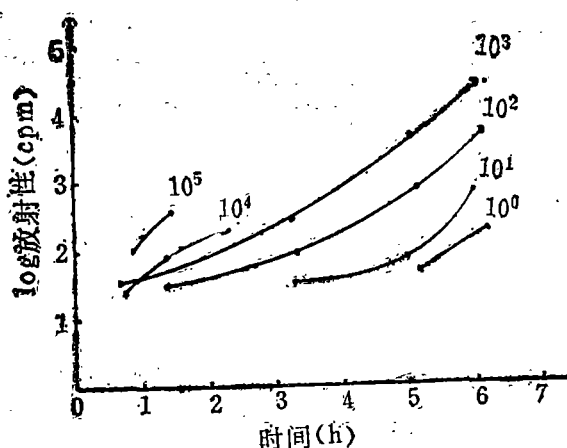
表 1 牛肉和细菌混合物样品的检测

微生物	TSS/ml中菌数量(个)	检测时间(h)
沙门氏菌	5.3×10^4	2
金葡萄菌	2.9×10^4	4
腐败厌氧3679芽孢	4.2×10^5	5
肉毒梭状芽孢杆菌	1.5×10^5	5~6

Rowdey D B^[3]等人使用该仪器测定了油煎鸡、熟肉包子,各种牛排、烤猪肉、牛肉等332份食品标本。当含菌量不超过 10^5 个/g时,73%的样品可在6~7h内获得结果,尚有27%的样品须用常规方法作进一步检验。

Mclaughlin J等人^[4]把它应用在抗生素发酵工业上,成功地检测了原料和发酵液中细菌污染情况。此法快速简便,它还适用于需要控制细菌污染的其他发酵或食品工业。

Bachrach U等人^[5]用这种方法检测了水样品中的大肠杆菌,结果如图1所示。

图 1 释放的 $^{14}\text{CO}_2$ 与水中大肠杆菌数量的关系

由图1可知,若水样中含 10^3 个细菌,则2h就可得到结果。因此作者认为此法是早期检测水中肠道杆菌的重要方法,实现自动化后,可监视自来水的品质,是江河、溪水水质纯度检测的有效手段。

2 食品中微量成分的快速测定

2.1 放射性同位素稀释法(DIR)测定食品中的 VB_{12}

维生素 B_{12} 存在于不同食品中,但一般含量很低,用常规的微生物法测定,通常需要2~4d,若用RID法,则可在几小时内完成。

方法是使用美国的AoAc标准萃取程序。即用 Na_2HPO_4 和 NaHSO_3 及柠檬酸混合液作为萃取剂,从取样食品中萃取 VB_{12} ,然后,在 $121\sim 123^\circ\text{C}$ 灭菌后,加入用 ^{57}Co 标记的 VB_{12} ,与样品中未标记的 VB_{12} 混匀,又加入亚计量的结合蛋白质溶液,反应后生成 VB_{12} 的

复合物,加入少许吸附剂,离心分离后,测定沉淀中复合物的 ^{57}Co 放射性活度。由此,从标准曲线(^{57}Co 放射性活度与 VB_{12} 含量之关系)上查得 VB_{12} 含量即可换算成1g食品中 VB_{12} 的量。

CaSey P J 等人^[6]用这种方法测定了18种强化食品和12种非强化食品中 VB_{12} 的含量。表2列出了测定的部分结果,同时也列出常规法测定的结果。数据表明,RID法与微生物法相比,前者精度较高。

表2 8种强化食品中 VB_{12} 的含量

食 品	VB_{12} 的含量($\mu\text{g}/100\text{g}$)	
	RID 法	微生物法
饮料混合物	23.50 ± 1.21	22.50
强化条状食品	10.60 ± 0.21	13.50
狗 肉	7.45 ± 0.10	9.57
小 麦	28.00 ± 1.01	28.40
玉 米	8.38 ± 0.86	7.12
燕 麦	10.40 ± 0.14	8.96
复合食品	4.38 ± 0.11	4.37
培 根 肉	11.70 ± 1.57	8.60

2.2 质谱同位素稀释法(MSID)测定食品中的痕量碘

这是在被分析样品中加入已知量的某一示踪剂(或称稀释剂)作为待测元素的同位素,使之与样品同位素混合,从而改变样品中待测元素的同位素的丰度比,用质谱计测定该丰度比,即可求出待测元素的含量。这种方法的特点是快速又不必定量分离,且测量的数据具有权威性,常作为参考标准。

若要测定食品中的碘(它是天然丰度为100%的 ^{127}I),则可选用长寿命的 ^{129}I (半衰期为 1.57×10^7 年)作稀释剂。方法是取0.3~0.5g样品,加入1g ^{129}I 溶液(含3.323ppm碘,其中 ^{127}I 丰度为13.92%, ^{129}I 的丰度为86.08%),然后用酚溶解样品,并把碘氧化成碘酸,调成碱性后用 Na_2SO_3 还原成 I^- ,又用 NaNO_2 氧化成 I_2 ,随后用 CCl_4 萃取,有机相中的碘用含肼的水溶液反萃,最后用 AgNO_3 溶液沉淀出 AgI 洗涤后用 HNO_3 溶解,供质谱测定 $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ 之比(R)。根据下式求出样品中碘原子数(N_s):其中 N_i 为加入的稀释剂的原子数, $^{129}Q_i$ 、 $^{127}Q_i$ 分别为稀释剂中 ^{127}I 、 ^{129}I 的丰度。

$$N_s = N_i(1/R \cdot ^{129}Q_i - ^{127}Q_i)$$

Schindlmeier W 等人^[7]用该法测定了食品中碘的含量,结果列于表3。

表3 不同食品中碘含量

食 品	碘 含 量 (ppm)	
	MSID 法	其它方法
奶 粉 BCR No 63	0.285±0.008	0.138~0.428
No150	1.322±0.008	0.790~1.700
No151	5.340±0.01	3.490~7.410
全面粉 BCR No190A	≤0.018	
牛 肝 BCR No185A	0.104±0.003	
罐装金枪鱼	0.631±0.003	0.340~1.900
焖猪肉蔬菜	0.092±0.009	0.052~1.560
罐装玉米	0.048±0.003	0.009~1.200

从表3数据可看出, MSID法与其它方法相比, 其测定数据的准确度高得多。

2.3 中子活化分析测定食品中的微量元素

该方法一般是利用反应堆中子与食品中的微量元素发生($n\cdot\gamma$)反应, 用 γ -谱仪测量活化后生成的核素所放出的 γ 射线活度, 然后按下式计算食品中元素的含量 W , 其中 W_s 为

$$W/W_s = A/A_s$$

标准样品中元素含量, A 和 A_s 分别为样品和标准中该元素经活化后生成的放射性活度。也可以用绝对计数法计算食品中元素的含量, 但计算时考虑的因素较多, 常用相对法计算, 近几年由于探测技术提高及计算机的使用, 测量过程已实现自动化, 并且照射后的样品无需化学处理便可直接测定多个元素。这种方法称非破坏性的仪器活化分析法。分析灵敏度可提高几个量级。因此它是一种高效、简便、灵敏的方法, 在食品工业中应用日趋广泛。

Awadalla R M 等人^[8]用仪器活化分析法测定了甘蔗糖加工过程中各中间产品(包括原料、8个中间工序的产品、糖蜜)及种植甘蔗的不同深度土壤中的23个元素Al, As, Au, Br, Ca, Cl, Co, Cr, En, Fe, K, La, Lu, Mg, Mn, Na, Sb, Se, Sm, U, V, W)的分布及含量。方法是把11甘蔗汁及糖蜜在水浴中蒸发结晶, 取2g干燥样品溶于 HNO_3 , 蒸干后封装于聚乙烯管中。若是固体物, 则在 $100^\circ C$ 干燥后, 研成粉末再封装。然后在功率为250kw的反应堆中, 以 $7.5 \times 10^{13} n/cm^2 \cdot s$ 的通量照射一定时间, 取出后又放置(或称“冷却”)适当时间后, 用Ge(Li)——多道分析器测量。分析结果表明, 土壤中的元素及其含量对糖产品中微量元素成分有显著影响, 但在生蔗汁、糖蜜及糖中微量元素的含量低于许可毒性水平。

Waheed S.^[9]等人用相同的技术测定了9个农场及家庭养鸡场4个月中生产的鸡蛋中的微量元素, 指出有毒元素Hg, Se, As, Sb, Br, U, 富集在蛋白中, 但低于允许限度, 基体元素(有益的)Fe, Zn, Mn, Co, Cr, Cl在蛋黄中含量较高, 这些数据还可用于估算外源污染程度。活化分析法也能用于检测食品在挤出机内停留的时间, 而这些数据对分析食品质量是重要的。同样, 对于聚合物在挤出机内停留的时间谱的测定, 该法也是一种十分有效的手段。

2.4 放射免疫法测定食品中的生物素

该法是近10多年来在测定微量抗原方面广泛应用的一种新技术,已从激素扩展到肿瘤、药物、微生物等200多种物质的医学检验和测定工作中。由于它能测定各种生物液体材料中具有生物活性物质,而且具有操作简便、准确和灵敏度高(达 10^{-9} g水平)、专一性等微量分析优点,所以,近年来被广泛应用于食品中微量成分、添加物、残留药物及微生物的测定。其原理是用放射性原子标记的抗原与未标记的抗原竞争一定量的抗体,形成标记的抗原—抗体复合物(B)及未标记的复合物,将复合物与未结合的标记抗原(F)分离,分别测量其放射性活度,计算结合率($B/B+F$)。然后,从预先绘制的结合率与抗原关系的标准曲线上,查出样品中抗原的含量。

Gridley J C 等人^[10]用放射免疫法测定了一种代谢活性物质——牛肝中的二乙基己稀雌醇(DES),方法是将10g牛肝磨碎,经甲醇萃取,酶水解、离子交换(树脂为Sephades L H—20)纯化,取200 μ l纯化的DES及200 μ l用 3 H标记的DES、100 μ l抗血清、200 μ l第二抗体,于试管中充分混匀,在室温下保温1h,又在4 $^{\circ}$ C冷藏15h,然后在4 $^{\circ}$ C时离心40min,用3ml缓冲溶液稀释后离心30min,弃清液,沉淀用液体闪烁计数法测量 3 H的放射性活度,计算结合率,从标准曲线上查得样品中DES含量,方法的最小检测浓度范围为0.02~0.03ngDES/ml,比其它物理方法的灵敏度高出很多倍。所以也能用于胆汁、肾肌肉、血清中含量很低的DES分析。

Arnol D 等人^[11]用放射免疫法测定了鸡蛋、牛奶、肉类中残留的微量氯霉素(CAP),食品中的其它微生成分如真菌毒素、农药、污染物、天然的植物生长素等也能用该法测定。

3 食品中掺假的检验

随着食品的大规模生产,中外市场上均有伪劣商品出售,他们用合成产品或用廉价代用品掺杂,由于这些添加物的化学性质与天然物的化学性质相似,经典方法已难于胜任。但是不同来源的有机物中或其同位素组分有微小变化或其元素的放射性活度不同,这种差别可用同位素质谱法或放射性测量仪器所监测。

3.1 应用 14 C检验天然苦杏仁油中的掺假

天然苦杏仁油具有天然樱桃味,其中含95%的苯甲醛。早在50年代就用于许多风味食品。苯甲醛也可由化石燃料合成,具有同样的香气,因而可代替苦杏仁油添加到食品中。由于这两种化合物来源不同,所含 14 C的放射性活度也不同,因而 14 C是碳源的灵敏指示剂。

方法:取杏仁样品0.5kg,粉碎后加水2l浸取,用水蒸气蒸馏及乙醚萃取,制得杏仁油约3g。取2g油样品放入燃烧弹中,加100pSi的氧气,使之燃烧生成 CO_2 气体,然后依次通过干冰、三氯乙稀和液体氧,取一份样品,用质谱仪测定样品中 13 C的原子百分超($\delta^{13}C\%$),用于校准 14 C的同位素分凝;剩余的 CO_2 气体用无 3 H的氢气转换成 CH_4 ,纯化后装入贮气瓶,用正比计数器测量 14 C的放射性活度,比较两种样品中 14 C含量,就能推断掺假情况, Krueger D.A.^[12]用该法测定天然苦杏仁油及合成苯甲醛中 14 C的含量及 $\delta^{13}C\%$,数据列于表3。

表3 天然和合成样品中¹⁴C的含量

样 品	$\delta^{13}\text{C}(\%)$	$^{14}\text{C}\%(\text{MSA}^*)$
苦杏仁油	-28.5	116
合成苯甲醛 No1	-27.0	<1
No2	-26.6	<2

*MSA: Modern Standary Activity, 100%的MSA相应于¹⁴C的有效放射性为13.56d pm/g·C, 以1950年的值为标准。

表3表明, 天然和合成样品中¹⁴C含量差别很大, 食品中掺入10%~15%的合成产品就可被检测出来。

Byrne B 等人^[13]用该法测定了用于风味食品的天然丁酸乙酯中掺有的合成物质。天然丁酸乙酯中含¹⁴C的量为129.1%(橙汁中)而用石油产品合成的丁酸乙酯中含¹⁴C仅有1.9%。

3.2 稳定同位素用于食品掺杂检测

自然界中碳元素存在两个同位素¹²C和¹³C, 其相对含量(丰度)通常是恒定的, 但假如来源不同, 丰度比会引起微小差别, 这种差别, 常用 $\delta\%$ 表示:

$$\delta^{13}\text{C}\% = \frac{(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}})_{\text{样品}} - (\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}})_{\text{标准}}}{(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}})_{\text{标准}}}$$

式中 $(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}})_{\text{标准}}$ 采用国际公认的标准值。

用质谱仪测定样品的¹³C/¹²C之比, 就可算出变化的 $\delta^{13}\text{C}\%$, 从而推断食品中掺入的代用品情况。

White J W^[14]用该法测定了掺入高果糖玉米糖浆(HFCS)的蜂蜜, 是把样品通过在纯氧中加热到850℃的氧化铜, 生成H₂O和CO₂, 除水后, CO₂收集在贮气瓶中供质谱分析。测定了119种全蜂蜜的 $\delta^{13}\text{C}\%$, 平均值为-25.4; 4个HFCS样品的 $\delta^{13}\text{C}\%$ 平均值为-9.7, 所以掺有廉价HFCS的蜂蜜的 $\delta^{13}\text{C}\%$ 值介于二者之间。

Doner L W 等人^[15]用同样的方法检测出槭糖中掺入小于10%的价廉蔗糖。

用该法分析了从阿根廷进口的纯柠檬酸^[16], 分析结果如表4所列。

表4 不同来源柠檬酸的 $\delta^{13}\text{C}\%$

样 品	$\delta^{13}\text{C}\%$
天然	-24.1
谷类甘蔗发酵	-9.7
链烷烃发酵	-27.2
进口	-17.2

考察表4的 $\delta^{13}\text{C}\%$ 值, 就可断定进口柠檬酸不是从天然柠檬中提取的, 而是掺进了由谷类发酵生产的廉价柠檬酸。

4 同位素示踪法测定酶的活性

酶是特定化学反应的生物催化剂,酶的催化反应广泛用于食品工业,例如,发酵酿酒、制造糕点、食品防腐、改进食品质量。酶活性的测定不仅是酶学研究工作中的基础,也是生产和应用方面不可缺少的步骤。放射性原子示踪分析法,具有简便、灵敏度高、可用于复杂样品分析的优点而得到广泛应用,其原理是酶和放射性元素(如 ^{14}C)标记的底物作用。生成带有放射性 ^{14}C 的产物,测定其放射性活度进而计算酶活性,因为放射性活度与酶的活性成正比。

Marsili R T 等人^[17]建立了分析 α -淀粉酶的新型实验系统,他们采用 ^{14}C 标记的淀粉、高效液相色谱、放射性流动检测器和积分器。由测定 ^{14}C ——淀粉水解产物的放射性活度而进行酶的定量。此外,他们还从色谱峰的保留时间,推断不同来源的酶的活动方式。方法是把具有 $0.1\mu\text{Ci}$ 的 ^{14}C ——淀粉、缓冲溶液和酶放入6 ml玻璃瓶中,封口,在 55°C 保温1h,然后打开封口,加入0.6g Amberlite MB-1 离子交换剂、混匀,静置,取一份清液,过滤后,样品注入 Hplc 进行分离,水解产物的峰面积用积分——标准方法定量,然后计算水解淀粉的百分数。实验证明,用芽孢枯草杆菌制得的两种酶作实验时,其数量在 $0\sim 50\mu\text{g}$ 范围内与 ^{14}C ——淀粉的水解成线性关系,所以分析样品时只要测定 ^{14}C 的活度,亦即 ^{14}C ——淀粉水解百分数,就能从标准曲线上查得酶的数量(或活性),可用于植物、微生物和动物的胰腺、血液、唾液中的 α -淀粉酶的测定。

相同的原理也适用于其它酶的测定;而在酶作用机理的研究中,示踪技术已成为不可缺少的手段。

同位素示踪技术也可用来定量测定食品包装材料中的添加剂如增塑剂、稳定剂、界面活性、润滑剂以及重金属等向食品转移情况,具有检测灵敏度高和不受干扰的优点。

参 考 文 献

- 1 Previte J J. Appl Microbiol, 1972; 24: 535
- 2 Lamp R A et al. Food Technology, 1974; 28(10): 52
- 3 Rowley D B et al. Rapid Methods and Automation in microbiology Oxford, 1976
- 4 Mclaughlin J et al. Biotechnol Bioeng, 1983; 25(5): 1229
- 5 Bachrach U et al. Appl Microbiol, 1974; 28: 169
- 6 Casey P J et al. J. Assoc off Anal Chem, 1982; 65(1): 85
- 7 Schindlmeier W et al. Z Anal Chem, 1985; 320, 745
- 8 Awadallah R M et al. Int Environ Anal Chem, 1984; 19(1): 41
- 9 Waheed S et al. Int Environ Anal Chem, 1985; 21(4): 333
- 10 Gridley J C et al. J Agric Food Chem, 1983; 31: 292
- 11 Arnold D et al J Assoc off Anal Chem, 1985; 68(5): 984
- 12 Krueger D A et al J Assoc off Anal Chem, 1987; 70(1): 175
- 13 Byrne B et al J Agric Food Chem, 1986; 34: 736
- 14 White J W et al J Assoc off anal Chem, 1978; 61(3): 746

- 15 L W Doherty et al. Science, 1977; 197: 891
- 16 廖涓伟 食品科学, 1988; 11: 55
- 17 R T Marsili et al. J Agric Food Chem, 1987; 35: 304

Application of Nuclear Technique in Food Detection

Qian Ruisheng Lu Yenpel

(Dep. of Food Sci. & Eng)

Abstract This paper describes basic principles of some nuclear techniques: isotope tracer analysis, radioactive or stable isotope dilution, radioimmunoassay, neutron activation method, and the application of these methods in food industry, for example, the rapid detection of bacteria in food, precise determination of trace components, detection of adulterated food, and determination of the enzyme activity.

Subjectwords Radioactivity; Nuclear technique; Food/rapid detection