

指纹图谱技术在食品品质检测中的应用

朱潘炜 刘东红 黄伟 刘芬

(浙江大学生物系统工程与食品科技学院)

【摘要】 指纹图谱技术是指采用现代的分析手段, 得到的能够代表该样品特性的色谱、光谱以及其他图谱数据资料的技术。指纹图谱技术在食品中的应用可以有效的控制食品的质量, 也是辨别食品防伪的有效参考。本文对指纹图谱技术在转基因食品、酒类、果汁、果蔬、食用油、牛奶及奶油、肉及肉制品以及其他方面的开发应用现状进行了综述。

【关键词】 食品; 指纹图谱技术; 应用

中图分类号: TS207.7 文献标识码: A 文章编号: 1673-7199 (2008) 06-0125-04

指纹图谱是随着现代分析技术发展而诞生的一种从整体上研究复杂物质体系的技术, 已经在环境保护、食品评价、中药质量控制等许多领域中得到应用。尤其在中药材上应用比较广泛。在食品领域中的应用还不是很普遍, 指纹图谱技术在食品中应用, 可以对食品的质量和风味等的鉴定提供参考数据, 结合感官评定来评价食品的质量和风味。

食品的本质特征包括 4 个方面: 安全、营养、美味和保健。食品的风味占有重要地位, 而食品的风味受到其中的各种化学成分的影响, 同时食品中的化学成分非常复杂, 且相互作用, 不能通过分析各种成分的含量来判断一种食物的风味和营养价值, 需要从整体上来考虑食品的本质。而传统的分析方法一般是通过感官评定或个别成分的分析来评价食品的风味及质量, 但是通过感官评定来分析食品的本质, 受人为等外界因素的影响较大。而个别成分的分析不能反映食品的整体品质, 而指纹图谱技术的应用可以解决这些问题, 使食品的品质评定更加的准确。

1 指纹图谱的简介

中药指纹图谱是指某种 (或某产地) 中药材或中成药经适当的处理后, 采用一定的分析手段, 得到的能够标志该中药材或中成药特征的色谱或光谱的图谱。指纹图谱的作用主要是反应复杂成分的中药及其制剂

内在质量的均一性和稳定性。指纹图谱技术在食品中的应用就是在中药指纹图谱的基础之上, 把指纹图谱技术与食品的质量控制与品质检测联系起来。从而整体的评价食品的品质。

食品质量指纹技术是指样品经适当处理后采用一定的分析手段, 得到能够表示该样品特性的色谱、光谱以及其他图谱数据资料, 是食品固有的综合的品质特征。质量指纹的研究是建立在现代仪器分析基础上的。例如: 气相色谱-质谱 (GC-MS)、高效液相色谱-质谱 (HPLC-MS)、毛细管电泳-质谱 (CE-MS)、核磁共振 (NMR)、液相色谱-核磁共振 (LC-NMR)、X 射线衍射 (XRD) 等。指纹图谱不仅依赖于先进的分析技术, 而且还与数学统计手段以及计算机模拟的方法学密切相关。通过大量基础工作建立的食品质量指纹图谱是辨别食品防伪的有效参考。指纹图谱这一新的质量控制模式已受到广泛的重视, 应用该项技术对食品的质量控制及食品的品质检测将会起到重要的作用。

2 指纹图谱技术在食品品质检测中的应用

2.1 在转基因食品中的应用

基因改良体 (GMO) 在近十年来得到极大的发展。植物的遗传工程在改进农作物的质量与产量方面起到了重要作用, 为人类生活带来了方便。可是, 转基因食品的安全问题日益引起人类的关注, 因此需要开发

能够检测基因改良造成的非预见变异作用。 ^1H NMR 在代谢学中具有的广泛应用, 因此也可以作为基因改良体代谢成分的分析手段。

Gall G. Le 利用 ^1H NMR 对红番茄基因改良后潜在的非预见变异作用进行检测。番茄是重要的农作物, 对番茄的基因改良主要是提高黄酮类物质的生物合成, 以增加其抗氧化能力。本研究所用的番茄是通过转录因子 LC 和 C1 同时超量表达来增加黄酮类成分。文中比较了在同等条件下生长的不同成熟程度的基因改良和无基因改良番茄的代谢物成分 ^1H NMR 图谱显示, 谷氨酸、果糖和一些核苷及核苷酸的含量随着番茄从不成熟到成熟逐渐增加, 而一些氨基酸如缬氨酸和 γ -氨基酪酸的含量则逐渐降低。经比较, 两种红番茄除了 6 种主要黄酮苷外, 至少有 15 种其他代谢成分含量不同。将 PCA 与 PLS 应用于 80 份两种番茄的 ^1H NMR 数据, 几乎可完全实现区分。 ^1H NMR 图谱也应用于转基因玉米、豌豆、烟草等食物的代谢成分分析。

蛋白质是基因表达的直接产物, 蛋白质指纹是经电泳分析某种生物体组织后所显示的特有的蛋白质图谱特征, 是生物基因型在生化表现型上的一种反映。种子蛋白质的成分主要由遗传决定, 较少受环境条件的影响, 因此种子蛋白质指纹图谱已经成功地应用于水稻、玉米的品种鉴定和杂交种子的纯度检测。

2.2 在酒类检测中的应用

酒作为一种嗜好品, 采取感官品评的方式有其很大的必要性和合理性, 但不稳定的人为因素又制约了这种方式的科学性。因此, 在感官品评的基础上, 寻求科学、有效的品质评价方法和手段就成为了客观要求。白酒是我国传统的饮料酒, 其香味组分极其复杂, 组分种类之多, 含量跨度之大, 堪称世界蒸馏酒之冠。同时白酒的生产为固态开放式自然发酵, 生产过程中对产品质量影响来自于原材料、工艺控制、微生物代谢等多个方面, 因此对原材料品质控制、发酵过程参数控制等都要依靠分析技术。传统的化学分析方法分析时间长, 而且分析结果的准确度和精密度都受到限制。仪器分析技术的应用提高了白酒产品质量及其相关参数分析的速度及准确度。利用气液色谱/质谱分析技术对白酒微量香味成分及成分间的复杂量比关系进行剖析, 建立白酒产品“标准指纹图谱”, 与感官品评相结合, 应用于对白酒产品质量及稳定性的评价, 不失为一种科学、有效的评价手段。

李长文等人运用红外光谱技术鉴别酱香型白酒, 在一维红外谱图上, 酱香型白酒最主要的区别是在 1225 cm^{-1} 处的峰强和峰位。另外, 在二阶导数谱上, 酱香型白酒可以按照 1720 cm^{-1} 、 1705 cm^{-1} 和 1789 cm^{-1} 处的吸收峰进行鉴别。在二维相关红外谱图上, 茅台酒、金士力酒和郎酒都有特殊的自动峰和交叉峰。因此, 可以证明用三级红外宏观指纹图谱法鉴别区分同类型白酒是直接、快速和有效的方法。

林艳等人采用蛋白质“指纹”技术鉴定啤酒大麦的品种和纯度, 利用 Gel-Pro 软件对 7 个常用品种的啤酒大麦醇溶蛋白的 SDS-PAGE 电泳图谱进行分析比较, 建立了 3 个澳大利亚啤酒大麦品种和 4 个法国啤酒大麦品种真实性和纯度的鉴定提供了标准参比物。并利用电泳图谱, 分别对供试的啤酒大麦品种进行了遗传聚类分析, 与传统的分类方法结果相近。Peter 等人采用固相微萃取-气相色谱-脉冲火焰光度检测器 (SPME-GC-PFPD) 对啤酒中的硫进行了分析测定, 这对啤酒质量控制及防伪起到了指导性作用。

鲍忠定等人通过 GC/MS 研究了黄酒的香气成分, 共鉴定到 42 种香气成分, 其中醇类 12 种, 酸类 13 种, 酯类 9 种, 其他类 8 种, 并以内标法定量测定黄酒中的部分醇、酯的组分, 回收率在 $94.8\%\sim 103.8\%$ 之间, 具有较高的准确度与灵敏度。陈青俊等人以液相色谱二级管阵列检测法 (HPLC-DAD) 测定黄酒中的 β -苯乙醇, 并利用该检测体系对不同厂家的几种黄酒中的 β -苯乙醇进行了比较。应用该方法可以将黄酒中的 β -苯乙醇与其他杂质达到安全分离, 样品 β -苯乙醇组分峰无干扰; 采用二级管阵列检测器色谱峰的光谱相似系数和保留时间同时对待测组分进行定性, 结果可靠。测定结果与气相色谱法 (GC 法) 无显著性差异, 但分析时间、精密度、回收率等优于 GC 法。

Eva SP 等人采用顶空-固相微萃取结合气相色谱-质谱 (HS-SPME-GC-MS) 对 Muscat 葡萄中的香气成分进行了分析。认为芳樟醇、香叶醇、橙花醇是 Muscat 葡萄及其葡萄酒香气中含量最高的物质。Alves RF 等人采用固相萃取搅拌棒-固相微萃取-气相色谱-质谱 (SBSE-SPME-GC-MS) 技术对 Madeira 葡萄酒的挥发性物质进行了研究, 认为癸酸乙酯、丁二酸二乙酯、辛酸乙酯、十二酸乙酯、壬酸乙酯、己酸乙酯、辛酸异戊酯等为其特征香气物质。Serkan S 等人采用溶剂萃取

法结合气相色谱-质谱 (GC-MS) 对白葡萄酒的香气成分分析定性并定量了 72 种成分, 其中乙酸异戊酯、苯乙酸乙酯、芳樟醇、香叶醇、苯乙醇、 β -大马酮、己酸乙酯、丁酸乙酯为主要挥发性成分。

2.3 在果蔬产品中的应用

果汁指纹图谱技术是在中药指纹图谱研究工作的基础上提出的一种实用、科学、先进的果汁质量保证及检验体系。同中药一样果汁也具有种类繁多、成分复杂的特点, 其图谱具有整体性、模糊性和可以部分量化的特征, 每一种果汁都有独特的风味以区别于其他种类果汁的化学组成, 即它们有自己的指纹特征。

Galigle 利用 NMR 指纹图谱区分了天然桔子汁和人工加工的桔子汁。超过 300 份天然和人工加工的桔子汁的 ^1H NMR 谱图用 PCA 及 LDA 分析, 通过 6 个主成分建立了准确率达到 94% 的模型。主成分分析载荷 (loading) 显示二甲基脯氨酸对两种桔子汁的区分起重要作用, 人工加工桔子汁的含量较高。ANOVA 显示两种桔子汁至少有 21 种其他成分的信号有显著差异。

果蔬香气物质是具有挥发性、能够产生一定气味的含香物质的总称。它是构成和影响果品鲜食、加工质量的主要因素。香气成分是果蔬产品的一个重要质量指标。Song 等人采用 SPME-GC 研究了苹果的香气成分。蒋玉梅等人用果腔顶空法结合 GC-MS 对“银帝”甜瓜的香气成分进行了分析, 分离出了其中 82 种化合物并确定了“银帝”甜瓜中的主要香气物质为酯类, 占 32.93%, 包括乙酸乙酯、丙酸乙酯、乙酸丁酯、乙酸丁酯、丙酸-2-丁烯酯、羟氨基甲酸乙酯、丁氨酸、戊酸甲酯、丁二酸甲酯乙酯和 2-甲基丁酸乙酯、1,2-苯二甲酸二丁酯等。张彦萍等人用改进的聚丙烯酰胺凝胶电泳技术对韭菜、大葱和洋葱三种蔬菜不同品种的种子醇溶蛋白进行了系统分析, 发现此方法具有高度的分辨力和稳定性。韭菜、大葱和洋葱种子醇溶蛋白存在丰富的多态性, 它们的电泳图谱均具有其鲜明特征, 构成它们各自独特的“指纹”。果蔬香气质量指纹的研究为其贮藏、加工及产品质量控制起到了指导作用。

2.4 在食用油中的应用

食用油的品种很多, 常见的有大豆油、玉米油、芝麻油、花生油、菜籽油等。由于各种油的产量、营养价值和应用价值的不同, 所以在价格上有很大的差异。近年来发现以次充好、掺杂使假、以假顶真的现

象并不少见, 严重损害了消费者的利益。

穆方喆用气相色谱-氢火焰离子检测器 (GC-FID) 测定食用油中脂肪酸含量, 以所测得的脂肪酸含量的分布状况来识别不同的食用油。同时亦能以此原则检测出油质优劣-掺假油或混合油。文中还首次提出了用相对不饱和度来识别食用油, 通常同种食用油具有一定的 U/S 值, 不同食用油的 U/S 值的差别很明显, 这便是 U/S 值是食用油的固有特征, 所以, 用 U/S 值来识别不同种类的食用油简便可靠, 采用本方法对食用油进行鉴定具有实用价值, 并能准确无误地识别掺假油类。尹庚明等人采用氢氧化钾-甲醇衍生化体系, 以正庚烷为提取剂, 用气相色谱-质谱联用仪对棕榈油、调和油、花生油和大豆油中的特征脂肪酸进行了鉴别。El-Hnmody 等人采用高效液相色谱 (HPLC) 对橄榄油的掺伪掺杂进行了分析测定。

2.5 在畜产品中的应用

牛奶作为一种营养全面的理想乳品, 越来越受到人们的青睐。实时、快速、准确地检测牛奶成分对实现乳业生产过程的自动化及提高乳品质量具有重要意义。目前牛奶成分检测仍以化学分析方法为主导, 其检验结果准确, 但过程耗时费力、破坏样品。王云等人运用近红外光谱技术实现了牛奶成分的快速检测, 为牛奶的质量鉴别提供了有效的手段。

奶油是一种组分复杂的天然食品, 要分析它的香味成分, 必须用多种繁琐的方法进行前处理。据报道采用固相微萃取-气相色谱-顶空-质谱 (SPME-GC-MS) 法, 不经前处理, 可直接对奶油进行分析, 其质量指纹图谱既可用于鉴别进口新西兰天然奶油, 也可用于鉴别不同生产国所生产的天然奶油。

肉及肉制品是人类获得蛋白质、维生素和矿物质等营养成分的重要来源之一。风味是肉与肉制品重要品质指标之一, 刘源等人采用顶空固相微萃取气质联用 (HS-SPME-GC-MS) 法分析检测了南京酱牛肉的挥发性香气成分, 共检测到 88 种风味化合物, 包括烃类、酮类、醇类、醛类、酸类、酯类以及含硫含氮含氧杂环化合物。并初步判定 2-甲基丁醛、3-甲基丁醛、甲基硫醇、2,3-戊二酮、2,5-二甲基吡嗪、1,3,5-三甲基-1-氢吡唑、反式茴香脑等为南京酱牛肉的主体香味成分。吴昊等人采用 Tenax-GC (Diphenyl-Phenylene Oxide) 吸附剂吸附-解吸法和同时蒸馏萃取法 (SDE) 两种方法提取牛肉风味料中的挥发性香气成

分, 并利用 GC-MS 进行了成分的分离与鉴定。结果表明, 鉴定得出的化合物共 104 种, 杂环化合物和含硫、氮化合物构成了牛肉风味的主体。Raquel 等人用顶空-固相微萃取-气相色谱-热能分析 (HS-SPME-GC-TEA) 分析测定了香肠中的挥发性亚硝氮, 为肉制品中挥发性亚硝氮的测定提供了快速、简便、准确的方法。赵庆喜等人用微波蒸馏 (MD)-固相微萃取装置 (SPME) 提取鳙鱼鱼肉中的挥发性成分, 利用气相色谱-质谱联用仪对气化化合物成分进行了定性分析, 同时利用嗅觉检测器鉴别了部分挥发性物质的气味特征。通过 NIST02 质谱数据库检索共定性确定出鳙鱼鱼肉挥发性成分中的 53 种化合物, 其中主要为 C6-C9 的羰基化合物和挥发性醇类。经过嗅觉检测器分析, 这些成分分别具有青草味、鱼腥味、泥土味等气味特征, 其协同作用构成了鳙鱼鱼肉特殊的鱼腥味、泥腥味。该方法可用于水产品中挥发性成分的分析, 并可为不良风味化合物的定量研究提供参考。

2.6 指纹图谱技术在食品其他方面的应用

吴海强等人通过对鲫鱼和鲢鱼总蛋白、河虾总蛋白、花生总蛋白的二向电泳 2-DE (2-Dimension Electrophoresis) 分析建立指纹图谱, 并建立一种简捷、准确、快速检测食品过敏原的方法。朱恩圆等人通过对不同产地蜂胶的 HPLC 指纹图谱的研究, 以期通过 HPLC 指纹图谱来全面、有效地控制蜂胶质量, 对市场蜂胶及其保健品进行鉴别。

3 小结

现代仪器分析技术的迅速发展为掺伪食品的鉴别提供了可靠的技术手段。电子鼻、基因芯片的开发与应用也为食品质量分析领域提供了快速准确的手段。但要完整的表达一种食品的质量状况, 其质量指纹的建立与识别技术确定仍需要大量的基础性工作。尽管食品质量指纹图谱技术的研究在国内尚处于起步阶段, 还需进一步加强基础研究, 但由于食品质量指纹图谱能较全面地反映食品品质的整体信息, 较好地体现食品成分的复杂性和相关性, 因此, 食品质量指纹图谱必将成为食品质量评价的发展趋势。规范、标准的食品质量指纹图谱的实施, 将会极大地促进食品品质检测的现代化进程。

参 考 文 献

- 1 曲国福, 孟昭宇, 陆舍铭等. 香料指纹图谱及其在烟用香精质量控制中的应用概述 [J]. 烟草科技, 2006, (5): 47-50.
- 2 Le Gall G, Colquhoun I J, Davis A L, et al. Metabolite profiling of tomato (*Lycopersicon esculentum*) using ^1H NMR spectroscopy as a tool to detect potential unintended effects following a genetic modification [J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2003, 51(9): 2447-2456.
- 3 王莉. 现代仪器分析在白酒行业中的应用和前景展望 [J]. 酿酒, 2006, 33 (5): 28-32.
- 4 李长文, 魏纪平, 孙素琴等. 运用红外光谱技术鉴别酱香型白酒 [J]. 酿酒科技, 2006, (11): 56-58.
- 5 林 艳, 梅承芳, 董建军等. 利用蛋白质“指纹”技术鉴定啤酒大麦的品种和纯度 [J]. 酿酒科技, 2005, (10): 60-64.
- 6 鲍忠定, 许荣年. 黄酒香气成份的分析 [J]. 酿酒科技, 1999, (5): 66-67.
- 7 Eva S P, Consuelo D M, Soledad P C. Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC-MS [J]. *Talanta*, 2005, 66(5): 1152-1157.
- 8 Alves R F, Nascimento A M D, Nogueira J M F. Characterization of the aroma profile of Madeira wine by sorptive extraction techniques [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2005, 546(1): 11-21.
- 9 Serkan S, Ahmet C, Turgut C, et al. Aroma components of cv. Muscat of Bornova wines and influence of skin contact treatment [J]. *Food Chemistry*, 2006, 94(3): 319-326.
- 10 LeGall G, Puaud M, Colquhoun I J. Discrimination between orange juice and pulp wash by ^1H nuclear magnetic resonance spectroscopy: identification of marker compounds [J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2001, 49(2): 580-588.
- 11 蒋玉梅, 毕阳, 周小平等. 果腔顶空法分析厚皮甜瓜“银帝”的挥发性成分 [J]. 食品工业科技, 2005, 26 (8): 173-176.
- 12 穆方喆. 运用微观法识别真假食用油的研究 [J]. 吉林粮食高等专科学校学报, 2001, 16 (2): 14-26.
- 13 刘源, 徐幸莲, 周光宏. 南京酱牛肉风味研究初报 [J]. 江苏农业科学, 2000, (5): 101-104.
- 14 吴昊, 许时婴. 牛肉风味料的香气成分 [J]. 无锡轻工大学学报, 2001, 20 (2): 158-163.
- 15 Raquel A, Felix G R, Susanne R. A method for the determination of volatile N-nitrosamines in food by HS-SPME-GC-TEA [J]. *Food Chemistry*, 2005, 91(1): 173-179.

收稿日期: 2008-01-23

作者简介: 朱潘炜 (1985-), 男, 浙江温岭人, 硕士研究生, 研究方向食品安全。

通讯作者: 刘东红, 女, 副教授。

通讯地址: (310029) 浙江省杭州市华家池