

结果无明显差异,发光法测定食品中活菌总数是可行的。

在我们的研究中也注意到,发光法和平板计数法都有一定的计数误差。发光法主要是浓缩误差,样品中菌量越低,误差越大。平板法相反,主要是稀释误差,菌量越高,误差越大。在实验测定中应严格操作,尽量降低误差。

发光法的检测极限为 1×10^{-13} mol,相当于 1×10^4 左右活菌数,我们实验结果与国外资料报告的基本相符。根据中华人民共和国国家食品卫生限量标准,所有食品类细菌总数限量均低于 1×10^4 个/ml。因此,样品中细菌的浓缩是必不可少的步骤。浓缩方法一般有两种,即离心和过滤。这要视样品而选择,对每一种食品都要摸索其浓缩的最适条件;我们的体会是比较清亮,含沉淀物少的饮料用过滤的方法较好;固体食品用离心的方法,或者离心与过滤结合的方法较好,离心时要根据不同的样品选择不同的离心速度。

细菌中 ATP 抽提是否完全直接关系到测定结果的准确性,由于不同类型细菌的细胞壁厚薄不同,使用抽提剂的浓度也应不同,细胞壁厚的要用较高浓度抽提剂,反之,要用较低浓度的抽提剂。根据资料及我们的经验,提出一个参考浓度:

细菌类别	抽提剂(TCA)浓度(w/v)
真菌	2.5-5.0%
细菌	0.2-2.5%

在 ATP 测定中我们发现, Cl^{-1} 除 Mg^{+2} 以外

的阳离子对发光有一定的干扰,因此,检测中的稀释剂要用 EDTA 缓冲液,并尽量避免用生理盐水作稀释剂,降低离子对发光反应的干扰。

小 结

利用生物发光的原理快速检测食品中活菌总数,具有灵敏、重复性好、所用试剂简便、方法快速等优点,在 1 h 内可报告结果,比常规的平板计数法节省 1 天时间,作为出口食品生产过程中快速微生物监测手段是可行的,对建立我国出口食品安全优质保证体系有现实意义。

参 考 文 献

- 1 孟昭赫主编. 食品卫生检验方法注解,微生物学部分. 人民卫生出版社,1990.
- 2 Philip E. stanley J. Bioluminescence and Chemi-luminescence, 1989, 4: 375~380.
- 3 N. Yu. Filippova. J. Bioluminescence and Chemiluminescence, 1989, 4: 419~422.
- 4 Eric Schram. J. Bioluminescence and Chemiluminescence, 1989, 4: 390~398.
- 5 Stanard C. J In "Analytical Application of Bioluminescence and chemiluminescence" 53. New York; Academic Press, 1984.
- 6 Emmett W et al. In "Bioluminescence and chemiluminescence" (Ed DeLuca M A) 65. New York; Academic Press, 1978.
- 7 Arne Lundin and Anders Thore. Applied Microbiology, 1975, 30(5): 713~721.

快速筛选鉴别霉变谷物特效法

摘要 介绍一种快速筛选谷物麦角甾醇的特效定性分析法。麦角甾醇可作为衡量谷物类食品是否霉变的有效标记物,由此可鉴别谷物食品是否霉变。本方法鉴别原理为:首先使谷物食品中麦角甾醇与碘发生碘化反应,生成一种强荧光加合物——碘化麦角甾醇,此物质受紫外线照射即发出特征的淡绿兰色荧光。然后又用化学法处理,进一步确证。

1 前 言

人们经常食用的一些粮油食品,如谷物、小米、油籽等通常易于霉变,霉变程度随环境条件而异。霉变常使食物外观及风味发生讨厌的变化,并使食物中游离脂肪酸增加,最终致使食物败坏变质。而导致食物霉变的真菌所产生的二元代谢物,如真菌毒素等亦对动物与人体有害。早期曾提出几种筛选与评估食物霉变(真菌污染)的方法,如Howard霉菌计数法(计算食物真菌丝体数)、薄层板系列稀释法与壳多糖法(壳多糖作食物霉变标记物)。此外,麦角甾醇(绝大多数真菌的构成组份)也已用作谷物食品霉变标记物。这一方法已用于定性与定量分析麦角甾醇(因为它与真菌的生长繁殖密切相关)。但是,上述检测法均需诸如高效液相色谱仪、分光光度计等复杂仪器设备,这就限制了它们在检测谷物食品霉变的常规分析中的应用。

因此,若从经济以及真菌毒素有害人体的角度考虑,则希望找到一种简易快速谷物食品霉变鉴别法。这通常需要对大量样品进行筛选,以确定其中是否存在真菌一元或二元代谢物。为此,本文提出一种能快速筛选大量样品中麦角甾醇(作为谷物食品霉变生化标记物),并进一步用化学处理法确证其是否存在的方法,藉以达到快速鉴别谷物食品霉变的目的。

2 材料与方 法

2.1 材 料

麦角甾醇基准物(由Sigma化学公司提供),硅胶G(由Glaxo实验室提供),超级纯结晶碘(由Sarabhai化学公司提供),所有其它试剂均为分析纯。

方 法

首先用薄层法分析已霉变麦粒、标准面粉、精面粉、玉米、高粱5种样品。每一谷物取样6份,每份试样作3次平行试验,每份试样量50g。对粒状试样,先粉碎后取样(50g)。然后又用与上相同方法分析未霉变的上述5种试样。检测时,采用Seitz等方法提取谷物中麦角甾醇,即试样

用甲醇提取后皂化,皂化液经水洗后,用石油醚提取麦角甾醇。接着于水浴中蒸去石油醚。残渣用1ml苯-乙腈(98:2)混合液溶解。将麦角甾醇基准液(1 μ g/10 μ l)与上述萃取液并列点于事先制备好的薄层板(20cm \times 20cm,硅胶G薄层厚500 μ m),然后用甲苯-丙酮(9:1)混合液作展开剂进行展开。当展开剂前沿上升至15cm时,将薄层板置室温凉干,然后将其置已为碘蒸气饱和的容器内45s,若出现棕色,则可能存在麦角甾醇,且由此可指明斑点位置。取出薄层板放置5~10min,此时棕色因碘化作用而消失。将薄层板置暗室紫外线灯下照射,此时麦角甾醇斑点呈淡绿兰荧光,其 R_f 值为0.75。而其它通常伴随出现的植物甾醇,如 β -谷甾醇、豆甾醇,以及胆固醇等动物甾醇亦会发生碘化反应,但用紫外线照射时,它们的斑点无荧光出现。这样就可除去其它甾醇物质的干扰。

化学确证试验

为确证麦角甾醇的存在,本文提出一种化学处理确证法。即等麦角甾醇发生碘化反应并经紫外线照射察看荧光后,将50% H_2SO_4 (v/v)及18% HCl (w/v)喷洒于薄层板上,室温凉干。然后复用紫外线照射,此时麦角甾醇斑点荧光由原淡绿兰转变为亮绿。若薄层板继而用 HCl 处理,于100 $^{\circ}C$ 烘5~10min,又用紫外线照射时,则斑点荧光又由亮绿变为淡绿兰色。但是,若只用 H_2SO_4 作上述酸处理,则紫外线照射后,麦角甾醇斑点荧光不能由亮绿变为原淡绿兰色。

3 结果与讨论

薄层板法对上述已霉变小麦、标准面粉、精面粉、玉米和高粱的分析结果均证实它们已发生霉变。由此鉴出的真菌有:曲霉菌属和镰刀菌属等真菌。本法对以上所有霉变试样麦角甾醇的筛选试验结果也呈阳性,这也同样证实它们已发生霉变。但是,用薄层板法检测呈阳性的麦粒对照样(未霉变),用本法检测却呈阴性(见表1)。

表1 谷物及谷物制品霉变检测结果

试样	薄层层析法		麦角甾醇荧光法	
	对照样	自然霉变样	对照样	自然霉变样
麦粒(6份)	-	+	-	+
精面粉 (6份)	+	+	-	+
标准面 粉(6份)	+	+	-	+
玉米(6份)	-	+	-	+
高粱(6份)	-	+	-	+

注:1. 每试样做3次平行试验,括弧内为试样份数

2. (-)霉变呈阴性反应

3. (+)霉变呈阳性反应

综上所述,本法鉴别原理为:麦角甾醇与碘发生碘化反应,生成强荧光物质——碘化麦角甾醇加合物。紫外线照射下,该物质呈特征淡绿兰色荧光。斑点的 R_f 值为0.75。在指定条件下, R_f 值变异系数 $< \pm 3\%$ 。另外,实验证实,碘化反应使麦角甾醇最大吸收波长从282 nm 移至271 nm。实验还证实:麦角甾醇的碘化反应非常特效,以至于通常伴随出现的其它甾醇,如 β -谷物甾醇和豆甾醇等植物甾醇,以及诸如胆固醇类动物甾醇碘化反应后,不生成荧光性物质。更重要的是,虽然上述所有甾醇(包括麦角甾醇)薄层层析的 R_f 值均为0.75,但是其中仅麦角甾醇与碘生成荧光性物质,且这种强荧光性物质很稳定,与易于自动氧化的未碘化麦角甾醇不同。同时实验结果证实,用本法检测上述所

有霉变试样,均产生 R_f 值为0.75的淡绿兰色荧光斑点,这说明试样中均存在麦角甾醇。本法最低检测限量为500 ng 斑点。再者,还可用上述化学酸处理法对麦角甾醇斑点进行确证试验,这一试验将使斑点荧光由淡绿兰色转变为亮绿色。此外,本法尚可定量测定谷物霉变程度。

以前,试样经表面灭菌后,欲获得种生真菌及活菌丝体测定结果通常需时5~7 d(天),而多壳糖(大多数真菌的细胞壁组份,已用作衡量真菌污染的化学标记物)分析法分析1个样品需4~5 h。而且混有昆虫或昆虫肢体的谷物试样,用此法分析时,会因昆虫肢体含多壳糖而得出错误结论。Seitz 等人已指出,麦角甾醇可作为鉴别谷物是否霉变的灵敏标记物。由上述可知麦角甾醇检测法是基于紫外吸收。本文的麦角甾醇化学处理确证试验,可帮助将它与其它动物甾醇区别开来。此外早期的壳多糖与麦角甾醇检测须依靠诸如气相色谱仪、高效液相色谱仪及分光光度计等一类复杂仪器设备,这对谷物霉变的常规分析不甚适宜。

以上讨论说明,与早期法不同之处是,本法检测每一谷物样品仅需2 h。另外,本法优于早期法的总的特点是,简单、快速、特效,可在短时间内检测大量样品,因此本法可供有关管理部门及食品工业部门检测谷物食品霉变情况用。
余兴华 译自 Food Chemistry, 1989, 31(1): 51~56.

建议在大豆制品的理化指标中 增加脲酶定性试验

吴洁英 广西梧州市轻工业研究所 543002

1 前 言

近年来世界各国,特别是日本、美国和苏联等国,对大豆制品的研究和开发卓有成效。以大

豆为主要原料的代乳制品,销量日增,已占领各国的超级市场。

目前,我国大豆制品的系列产品研究和开发,市场上已陆续出现豆奶、速溶豆浆粉、速溶