

ESR 法检测含纤维素辐照食品的研究进展

李伟明¹ 哈益明¹ 张彦立²

¹ (中国农业科学院农产品加工研究所 北京 100193)

² (中国计量科学研究院 北京 100013)

摘要 本文阐述了电子自旋共振(ESR)波谱技术检测含纤维素辐照食品的原理,介绍了国内外 ESR 法检测含纤维素辐照食品的研究进展,提出了该方法在应用中可能存在的问题,并对如何能更好地扩大 ESR 法检测含纤维素辐照食品的应用范围提出了建议。

关键词 电子自旋共振, 纤维素, 辐照食品, 检测

中图分类号 TL75⁺1, TL75⁺2

食品辐照是一种非热力冷杀菌技术,它利用 γ 射线、X射线以及电子束等电离辐射与物质相互作用产生的物理效应、化学效应和生物效应,达到杀灭虫害和微生物、防止霉变、保持食品原有的色、香、味和形态及延长货架期的目的^[1,2]。近年来,随着全球农产品国际贸易的迅速开展,食品辐照商业化和辐照食品国际贸易量的不断增加,各国对辐照食品检测技术的要求愈加迫切,以期通过研究食品是否被辐照以及辐照剂量的大小,来解决辐照食品的贸易纠纷,提高消费者对辐照食品的信任度。我国加入 WTO 之后,发达国家利用其自身检测技术上的优势在国际贸易中设置技术壁垒,极大地影响了我国农产品特别是辐照食品的国际贸易和商业化进程^[3]。因此,研究建立辐照食品的检测鉴定方法,建立完善的辐照食品相关法律法规,保证辐照食品的质量安全,已成为当前辐照食品研究的热门课题^[4]。目前辐照食品检测鉴定的有热释光(TL)法,电子自旋共振(ESR)法,化学法等已在国际贸易中得到使用^[5]。其中电子自旋共振(ESR)法是快速检测含纤维素辐照食品有效的方法,已越来越多地被世界各国研究机构广泛使用^[6]。截至目前,欧盟已批准的10项辐照食品的鉴定方法标准里就有3项是应用 ESR 法进行检测的^[7-9]。本文介绍了 ESR 法检测含纤维素辐照食品的原理和国内外研究进展,并对 ESR 方法检测含纤维素辐照食品的应用进行了探讨。

1 ESR 法检测含纤维素辐照食品的原理

当食品经过电离辐射后,其物质分子因受到电离或激发而形成一定数量的自由基。由于自由基含有未成对电子,具有自旋角动量,能够产生磁性和自旋磁矩,用 ESR 谱仪检测时自由基将会产生电子自旋共振现象,形成 ESR 谱线。然而食品辐照处理后产生的大多数自由基通过相互反应(耦合)很快会消失,寿命很短,这对于应用 ESR 波谱法检测辐照食品不具备实际应用意义。只有当被辐照的食品中存在固态或硬组织(如骨头、钙化的表皮、硬果壳、籽、核等)时,辐照后在这些食品组分中产生的自由基扩散比较困难,自由基之间相互反应受到限制,仅仅具有部分较高扩散能力的一些分子量小的活性自由基才能相互反应。因此,含纤维素辐照食品中所产生的自由基通常会具有较长的寿命,这些由于辐照产生的长寿命自由基所形成的电子自旋共振现象,对辐照食品的检测鉴定具有实际应用意义^[10]。ESR 检测方法就是建立在对辐照形成的长寿命自由基的电子自旋共振谱线分析的基础上形成的。

2 ESR 法检测含纤维素辐照食品的研究进展

2.1 国外研究进展

2.1.1 标准建立前 物理学家 Zavoisky 于 1945 年

国家十一五食品安全科技支撑专项(2006BAK02A18-3),农业部公益性行业科技专项(200803034)资助

第一作者:李伟明,男,1984年12月出生,2008年毕业于西北农林科技大学,现为中国农业科学院硕士研究生,专业为农产品加工及贮藏工程

通讯作者:哈益明, E-mail: hayiming@sina.com

收稿日期:初稿 2009-12-10, 修回 2010-01-18

首次提出检测 EPR (电子顺磁共振, 亦称电子自旋共振 ESR) 信号试验方法, 并发表了 MnCl_2 、 MnSO_4 、 CuCl_2 等顺磁性盐类的研究结果^[11]。1955 年 Gordy 第一次用电离辐射方法处理生物物质并测定其 EPR 光谱^[12]。1971 年 Boshard 和他的同事们最早将 ESR 法用在辐照处理的食品上, 他们用木瓜作为实验材料, 研究了辐照剂量与木瓜籽自由基含量的关系^[13]。1974 年 Beczner, Onderdelinden 和 Strackee 开始扩大了对 EPR 法应用范围的研究, 他们发现 EPR 法对于干燥物质食品(谷物和香料)以及相对干燥的食物成分(贝壳、种子、骨头)是一种有效的检测方法。直到 1985 年 EPR 作为一种检测方法才被国际辐照界广泛地研究。Dodd 在 1985 年指出辐照处理的肉制品、海产品和水果产生的自由基可以用 EPR 法检测^[14]。

1988 年 Raffi 第一次将 ESR 法作为含纤维素辐照食品的检测方法, 来鉴定食品是否被辐照处理过。研究发现辐照后产生的 ESR 信号应该在食品正常的贮藏期保持稳定, 甚至经过长期的贮藏, 仍能够清晰地和未辐照样品的 ESR 信号之间区分开。为此他用辐照过的草莓作为研究对象, 发现辐照后的 ESR 光谱由 A、B、C 三个信号构成, 信号 A 是由于 Mn^{2+} 引起的六重峰信号; 信号 B 由于辐照而产生, 其信号强度随着辐照剂量的增大而增强, 但是此信号受样品水分含量的影响较严重; 信号 C 是由信号 B 左右两侧的两个伴峰构成, 它不受样品水分含量的影响, 只是在辐照后才出现。由此信号 C 的出现可以证明草莓样品是经过辐照处理的。Raffi 等^[15]还研究了贮藏时间对 ESR 信号的影响, 研究发现在不超过 25 d 的时间里, 通过检测信号 C 的出现同样可以证明贮藏的草莓样品是否经过了辐照处理。Raffi 等^[15]又用樱桃、苹果、梨、猕猴桃、柠檬等水果作为研究对象, 研究得出了同样的结论。由于大多数水果的水分含量很高, 用果肉做为研究对象辐照后产生的 ESR 信号很不稳定, 如果改用水果中较为坚硬并且水分含量较少的成分作为研究对象, 则会产生较为稳定的 ESR 信号。为此, Raffi 和他的同事们用一些瘦果(草莓、木莓、葡萄干、桑果、无花果等)、猕猴桃、柠檬等水果的种子, 苹果和梨的柄和茎, 樱桃和李子的核作为研究对象来研究辐照前后 ESR 信号的变化。结果表明这些水果的种子、核仁和柄等部位都可以作为鉴定水果是否辐照的良好实验材料, 但是水分含量、温度、最大贮藏时间等贮藏条件都会影响实验结果^[16]。

1991 年 Tabner 等^[17]对黑葡萄的籽、表皮和梗等部位进行了辐照 ESR 法研究, 研究发现辐照后葡

萄的梗在较低的辐照剂量下其 ESR 信号能轻易地与未辐照葡萄梗的 ESR 信号区别开, 并且辐照后产生的 ESR 信号在 15 d 后依然能够检测到, 但是作为一种鉴定方法还需要对不同产地、不同气候等条件下的样品进行大量的对比试验。为此 Tabner 等^[17]又在 1992 年从法国、西班牙、智利、英国购得葡萄样品进行试验, 研究得出在 2—10 kGy 剂量范围内葡萄样品经辐照产生的 ESR 信号不受样品产地和气候的影响^[18]。鉴于以往的研究大多数是针对水果中不能食用的部分(籽、梗、核), Tabner 等^[19]1995 年第一次对柑橘类水果(柠檬、酸橙、柑橘、柚子)的果肉进行了辐照 ESR 法研究, 研究发现果肉辐照后产生的 ESR 信号强度不如水果表皮的 ESR 信号强, 但仍表现出了与表皮相同的信号强度与剂量关系的关系特征。1996 年 Murrieta 等^[20]研究了辐照剂量、贮藏时间和温度对燕麦、玉米、小麦辐照 ESR 信号的影响, 第一次运用最小二乘法初步建立起了 ESR 信号强度与辐照剂量的定量关系, 但是这种关系受到多种因素的影响。Mangaonkar 等^[21]研究可可豆和小葵子的种子, 得出在不超过 10kGy 剂量范围内辐照剂量与 ESR 信号强度成正比例关系。

由于 ESR 波谱中用于辐照鉴定的一对附峰(中心信号两侧的伴峰)经过一段时间(70—90 d)会急剧衰减甚至消失掉, 因此为了扩大 ESR 检测应用范围, Raffi 等^[22]人又对辐照后产生的 ESR 波谱中心信号进行研究。针对该中心信号易受样品水分含量的影响, 他将香辛料样品辐照后在 30—50 °C 下加热 1 h 再进行 ESR 检测, 结果发现辐照后的香辛料的纤维素自由基保持了较长的寿命, ESR 中心信号在 6 个月后仍能检测到, 有效地扩大了 ESR 检测含纤维素辐照食品的应用范围。为了降低水果和蔬菜中水分含量, 提高 ESR 检测灵敏度, 2000 年 Jesus 等^[23]用真空干燥和乙醇萃取两种干燥方法处理水果样品, 比较两种方法对 ESR 信号的影响。结果发现采用乙醇萃取的方法能在短时间内去除样品中的水分, 提高了 ESR 检测灵敏度, 使其能够检测出经 100 Gy 辐照的样品。

2.1.2 标准建立后 2001 年欧盟颁布了 ESR 法检测含纤维素辐照食品的标准(EN1787: 2000), 为辐照食品的检测提供了有力的依据。Shimoyama 等^[24]在 2007 年研究辐照黑胡椒 ESR 图谱时发现了 ESR 信号有一种新的特性, 他们称之为递进饱和特性(PSB)。研究发现在不同微波功率条件下, 辐照后黑胡椒的 ESR 信号的 PSB 特性显示出了不同的弛豫特征, 这是由于辐照产生新的自由基的缘故。由此可以将辐照和未辐照的样品区分开。Mitsuko 等^[25]

在研究干制蔬菜时也发现了这种 PSB 特性,他们发现辐照后的样品 ESR 信号的 PSB 特征要比未辐照样品复杂得多。Aleksieva 等^[26]在 2009 年分别用新鲜的、空气干燥和冷冻干燥处理过的西红柿为实验材料,研究辐照前后 ESR 信号的不同。他们发现辐照后所有样品都产生了纤维素自由基特征 ESR 信号,是由一个中心信号和左右两侧两个伴峰所构成,这两个伴峰可以作为鉴定西红柿是否辐照的有利依据。Yordanov 等^[27]用两种不同的干燥方法(酒精萃取和室温干燥)处理水果样品时也得出同样的结论,这个结论可以有效地扩大欧盟标准 EN1787(2000)用 ESR 法鉴定辐照含纤维素食品的适用范围。

2.2 国内研究进展

我国从 80 年代末期开始了对 ESR 法检测辐照食品的研究。1989 年中国科学院生物物理研究所的赵克俭和刘天伟对花椒粉、黑白胡椒、大料、姜粉、芥末、咖喱粉、五香粉等香料以及全脂奶粉、纯藕粉、白面粉、健儿粉等食品和玻璃、木材、纸等包装材料进行了辐照 ESR 法研究^[28]。研究发现各种食品经照射后都有自由基产生,在一定时间内辐照样品的 ESR 信号强度都比未辐照样品的高,而且某些食品辐照后产生特征性的 ESR 信号,完全可以用于鉴定食品是否经过辐照。而食品常用的包装材料玻璃、木屑、聚乙烯袋硬纸片辐照后 ESR 信号强度均明显增大,因此不打开包装也能够检测到食品是否经过辐照。2005 年胡芳芳等^[29]人对奶粉、面粉、干红辣椒、大米四种辐照食品进行 ESR 法研究。研究发现四种食品经辐照均具特有的 ESR 特征峰,且四种样品经不同剂量辐照产生的 ESR 特征峰值随贮存时间的增长按乘幂公式衰减。通过分期测定 ESR 峰值计算乘幂公式对照指数衰减的方法,可以进行定量的辐照剂量估算,为确认辐照食品和辐照剂量估算开辟了一条新的途径。2008 年赵永富等人又对聚乙烯袋、打包带、木桶板材、塑料包扎绳、封装胶带、纸板材等 6 种食品中常用的包装材料进行了辐照 ESR 法研究,研究发现这些包装材料经电离辐射后均产生活性粒子或自由基,其中只有封装胶带和纸板材辐照(3kGy、8kGy)后能产生特异的 ESR 信号,可以作为间接判断食品辐照与否的依据^[30]。万小娟等^[31]在 2008 年对草莓籽、花生和辣椒粉三种含纤维素辐照食品进行了 ESR 波谱分析,研究得出三种食品的辐照剂量与 ESR 信号强度均呈现正相关,并建立了辐照剂量与 ESR 信号强度的关系。2009 年谭瑗瑗等人用 ESR 法和电镜法对辐照处理

的玉米粉、小麦粉和糯米粉进行研究,研究发现未辐照和辐照样品的 ESR 波谱有明显区别,ESR 信号强度随着样品辐照吸收剂量的增加而增强,利用 ESR 波谱技术能够鉴别出这三种样品是否经过辐照。而从电镜图片中观察到玉米、小麦和糯米辐照处理后淀粉形态受到破坏,淀粉粒之间的缝隙随辐照剂量增加而增大,说明辐照对淀粉粒的微晶结构确有影响,但电镜不能作为检测淀粉是否经过辐照的依据,由此更加肯定了 ESR 法在检测含纤维素辐照食品上的优势^[32]。

3 ESR 法检测含纤维素辐照食品的发展前景

随着对 ESR 法检测含纤维素辐照食品的研究不断深入,该方法已被国际辐照界认可并广泛应用。为了满足我国辐照食品商业化和国际贸易的需要,建立起一套与国际接轨的辐照食品标准检测技术变得尤为重要。然而 ESR 法在检测过程中尚存以下不足之处:

(1)ESR 法检测前需要将样品剪碎或粉碎成较小颗粒,此过程可能会产生一些效应(产生自由基)干扰对样品的 ESR 测试。

(2)ESR 信号强度易受样品贮藏条件的影响,尤其对水分含量要求很高。

(3)由于 ESR 谱仪灵敏度很高,所以样品的微小变化都会影响到 ESR 信号强度的变化。如 ESR 谱仪谐振腔内每次取样的重量是否一致,样品的颗粒度大小是否合适,每次样品管放置到谐振腔内的位置是否保持一样,这些都会不同程度地影响到检测结果。

(4)ESR 设备昂贵,测试费用高且需要专业技术人员。

针对 ESR 法自身适用范围的局限性,结合当前国际和国内对 ESR 法的研究进展,未来一段时期应该从以下几个方面开展工作: 1)对纤维素自由基的信号产生机理以及影响 ESR 信号强度变化的贮藏因素如水分含量、贮藏时间、样品前处理条件等进行研究,弄清这些影响因子引起 ESR 信号强度变化的规律,找到减少或消除这些影响的方法。2)针对食品个体之间存在的差异,如食品成分、食品产地、气候、上市的前处理等等,进行大量调查实验和 ESR 波谱统计分析。3)建立起准确的辐照剂量与 ESR 信号强度之间的数学关系,为建立起我国利用 ESR 法检测辐照含纤维素食品的标准法规提供技术支撑。4)加强多学科多领域之间的技术攻关与合作,研究 ESR 法与其他方法的结合,使其成为适用范围广泛、

检测过程快捷、检测结果准确的高效检测方法。同时要加强辐照食品辐射加工剂量检测方法的研究,以配合 ESR 法进行辐照剂量的反推验证。

综上,面对着世界各国对辐照食品检测水平的要求越来越高,ESR 法作为一种高效快捷的鉴定手段,在鉴定含纤维素辐照食品上必将拥有巨大的发展空间和潜力。

参考文献

- 1 Yuhei Shimoyama, Mitsuko Ukai, Hideo Nakamura. *Spectrochimica Acta Part A*, 2006, **63**: 888-890
- 2 施培新. 食品辐照加工原理与技术. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004. 1-2
SHI Peixin. Principle and technology of food irradiation processing, Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2004. 1-2
- 3 哈益明, 周洪杰. 食品科学, 2005, **26**(6): 21-24
HA Yiming, ZHOU Hongjie. *Food Sci*, 2005, **26**(6): 21-24
- 4 崔磊. 高科技与产业化, 2007, **3**: 66-67
CUI Lei. High-tech and industrialization, 2007, **3**: 66-67
- 5 陈德平, 许立宪, 巫德辉, 等. 检验检疫科学, 2007, **17**: 98-101
CHEN Deping, XU Lixian, WU Dehui, *et al.* *Inspection and Quarantine Science*, 2007, **17**: 98-101
- 6 Sulaxana Kumari Chauhan, Kumar R, Nadanasabapathy S, *et al.* *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2009, **8**: 1-16
- 7 EN 1786-1996 ESR spectroscopy of bones
- 8 EN 1787-2000 ESR spectroscopy of cellulose
- 9 EN 13708-2003 ESR spectroscopy of crystalline sugars
- 10 汪勋清, 哈益明, 高美须. 食品辐照加工技术. 北京: 化学工业出版社, 2004. 235-236
WANG Xunqing, HA Yiming, GAO Meixu. Food irradiation processing techniques Beijing: Chemical Industry Press, 2004. 235-236
- 11 Kev Salikhov. *Applied Magnetic Resonance*, 2009, **35**: 361-362
- 12 Desrosiers M F. *Applied Radiation and Isotopes*, 1996, **47**: 1621-1628
- 13 Boshard Jo-Anna P, Holmes D E, Piette L H. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, 1971, **22**: 316-318
- 14 Dood N J F, Swallow A J. *Radiation Physics and Chemistry*, 1985, **26**(4): 451-453
- 15 Raffi J, Boisseau P, Buscarlet L, *et al.* *J Chem Soc Faraday Trans*, 1988, **84**: 3359-3362
- 16 Raffi J, Agnel J P L. *Radiation Physics and Chemistry*, 1989, **34**: 891-894
- 17 Tabner B J, Tanber V A. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation*, 1991, **38**(6): 523-531
- 18 Maloney D R, Tanber B J, Tanber V A. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation*, 1992, **39**(4): 309-314
- 19 Tanber B J, Tanber V A. *Radiation Physics and Chemistry*. 1996, **47**(4): 601-605
- 20 Murrieta H S, Munoz E P, Adem E, *et al.* *Applied Radiation and Isotopes*, 1996, **47**: 1657-1661
- 21 Manganonkar S R, Natarajan V, Sastry M D, *et al.* *Food chemistry*, 1997, **60**(3): 287-289
- 22 Raffi J, Yordanov N D, Chabane S, *et al.* *Spectrochimica Acta Part A*, 2000, **56**: 409-416
- 23 de Jesus E F O, Rossi A M, Lopes R T. *Applied Radiation and Isotopes*, 2000, **52**: 1375-1383
- 24 Yuhei Shimoyama, Mitsuko Ukai, Hideo Nakamura. *Radiation Physics and Chemistry*, 2007, **76**: 1837-1839
- 25 Mitsuko Ukai, Hiromi Kameya, Hideo Nakamura, *et al.* *Spectrochimica Acta Part A*, 2008, **69**: 1417-1422
- 26 Aleksieva K, Georgieva L, Tzvetkova E, *et al.* *Radiation Physics and Chemistry*, 2009, **78**: 823-825
- 27 Yordanov N D, Aleksieva K. *Radiation Physics and Chemistry*, 2009, **78**: 213-216
- 28 赵克俭, 刘天伟. 核农学报, 1989, **3**(2): 91-97
ZHAO Kejian, LIU Tianwei. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 1989, **3**(2): 91-97
- 29 胡芳芳, 俞平, 高士根, 等. 中华放射医学与防护, 2005, **25**(4): 379-380
HU Fangfang, YU Ping, GAO Shigen, *et al.* *Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection*, 2005, **25**(4): 379-380
- 30 赵永富, 刘婷, 汪昌保. 江苏农业科学, 2008, **2**: 191-193
ZHAO Yongfu, LIU Ting, WANG Changbao *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2008, **2**: 191-193
- 31 万小娟, 王佳, 郑建飞, 等. 核技术, 2008, **31**(8): 629-632
WAN Xiaojuan, WANG Jia, ZHENG Jianfei, *et al.* *Nuclear technology*, 2008, **31**(8): 629-632
- 32 谭媛媛, 阚登蕾, 赵小俊, 等. 核农学报, 2009, **23**(2): 294-296
TAN Yuanyuan, KAN Denglei, ZHAO Xiaojun, *et al.*

Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2009, 23(2):

294-296

Progress of ESR technique to identify irradiated food containing cellulose

LI Weiming¹ HA Yiming¹ ZHANG Yanli²

¹(Institute of Agro-Food Science & Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

²(National Institute of Metrology the People's Republic of China, Beijing 100013, China)

ABSTRACT In the article, we report our progresses in using electron spin resonance (ESR) technique to identify irradiated food containing cellulose. Several issues that might be concerned in the ESR application are discussed, and suggestions are given for extending the ESR application.

KEYWORDS Electron spin resonance (ESR), Cellulose, Irradiated food, Detection

CLC TL75⁺¹, TL75⁺²