

食品检测中生物技术的研究进展

黄晓云^{1,2}, 黄永震³, 姜艳芬¹, 郭抗抗¹, 王晶钰¹, 张彦明¹, 贺花^{1*} (1. 西北农林科技大学动物医学院, 陕西杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100; 3. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

摘要 传统的食品检测技术主要为化学分析, 有些方法存在分析时间长、分析步骤繁琐等问题。随着各领域的科学技术发展, 在食品检测中, 有一些新型的检测手段可以满足快速、方便、准确和灵敏的要求。综述了食品检测中应用生物技术的意义和当前主要应用的几种生物技术, 并简述了它们的应用原理和优缺点。

关键词 食品检测; PCR 技术; 免疫技术; 生物芯片; 生物传感器

中图分类号 TS207 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)19-0026-03

Research Progress of Biotechnology in Food Testing

HUANG Xiao-yun^{1,2}, HUANG Yong-zhen³, JIANG Yan-fen¹ et al (1. College of Veterinary Medicine, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. College of Food Science and Engineering, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 3. College of Animal Science and Technology, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract Traditional methods for food detection were mainly chemical techniques, some of these include long time, complex procedure, et al. With the development of technology, there were some advanced techniques that could meet the requirement of fast, convenient, accurate and sensitive. In this article, we were going to discuss the meaning of using biotechnology in food detection and some widely applied biotechnological methods, including a brief introduction of their principle and then analyzed their pros and cons.

Key words Food detection; PCR technology; Immunological technique; Biochip; Biosensor

随着人们食品安全意识的提高, 人们对食品质量的要求越来越高, 政府的监管部门也对食品检测技术不断地进行更新。传统的检测技术已经逐渐落后于社会发展需求, 因此在食品检测当中充分应用现代科技手段以提高检测结果的速率、准确度和灵敏度是时代的需求。而将生物技术与食品检测相结合, 能够很好地满足这些要求, 在大多数食品检测机构中已经被广泛应用。笔者介绍了在当前食品检测中应用的几种主要生物技术, 分别是 PCR 技术、免疫技术、生物芯片技术和生物传感器技术, 这些技术相比传统的检测技术, 其检测速度、灵敏度和准确度更高, 检测应用的范围主要针对食品中的病原微生物, 这些前沿生物技术的应用为人类的食品安全提供了可靠保障。

1 食品检测中应用生物技术的意义

在现代社会, 保障食品安全、提高食品质量都离不开食品检测。但是传统的物理化学检测手段有很大的局限性, 比如物理检测所需的仪器昂贵而且对环境和操作水平有一定的要求, 这使得传统技术已经不能满足现代社会食品产业发展的需求。随着科技水平的不断发展, 生物技术在食品检测中所具备的优势逐渐展露, 并得到了大范围的推广与应用, 许多食品检测部门已经逐渐用生物检测技术取代了传统的物理化学仪器等检测技术。

事实上, 生物技术并不是将以往的物理化学检测方式完

全摒弃, 而是将它们互相结合, 综合两者的优势, 从而得到简单、快速、灵活、准确而又低成本的组合检测方法。生物检测技术能够高效地检测出食品中携带的病原微生物, 从而为人们能够购买到安全的食品做出了极大的贡献。不仅如此, 生物检测还可以精准地检测出食品中所残留的农药, 在很大程度上避免了安全隐患。生物科技在食品检测中的运用已经得到了广泛地认可, 占据的地位也越来越重要, 为食品安全提供更全面更可靠的保障。

2 食品检测中的主要生物技术

2.1 PCR 技术

聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction, 简称 PCR), 最早应用在基因克隆上, 因为其独特的微量和精度优势, 被广泛应用于各个领域。经过不断的实践与检验发现, 食品检测的关键在于对基因序列的检验和遗传因子的检验, 这也刚好符合 PCR 技术的独特优势。PCR 检测技术主要分为常规 PCR 检测、多重 PCR 检测和荧光定量 PCR 检测。多重 PCR 检测和荧光定量 PCR 检测均是由常规 PCR 技术衍生出的技术。这 3 种方法的基本原理是一样的, 但是在应用过程中展现了不同的特点, 所以有各自适用的应用范围。

常规 PCR 技术的主要原理是以热稳定 DNA 聚合酶作为催化剂, 以引物、DNA 模板、dNTPs、缓冲液与 MgCl₂ 溶液作为反应混合物, 扩增一对核苷酸物所引导的特定 DNA 片段^[1]。DNA 经过多次扩增之后, PCR 复制出的 DNA 可多达体内的 2 倍, 从而满足多方面分析, 所以 PCR 技术只需要采用少量的物质就可以扩增到需要的 DNA 片段数量, 为分析人员定量分析提供了便利条件。目前为止, 常规 PCR 技术可以有效地检测食品中的致病菌, 如沙门氏菌、致病性大肠杆菌等。尤其是水体病原微生物的检测也可应用常规 PCR 技术, 所以近几年逐渐开始将其应用于生活用水的检测。

基金项目 陕西省自然科学基金基础研究计划一般项目 (2017JM3012, 2017JM3024); 中国博士后科学基金面上项目 (2015M570856); 陕西省博士后科研项目资助基金 (2016BSHYDZZ44); 西北农林科技大学 2017 年大学生创新创业训练计划 (S201710712086)。
作者简介 * 通讯作者, 实验师, 博士, 从事动物性食品卫生检验相关研究。
收稿日期 2018-03-16; **修回日期** 2018-03-23

多重 PCR 技术是对常规 PCR 技术进行改动,加入多对特异性引物,使得多重 PCR 技术在一次反应中能扩增出多条目的 DNA 片段,从而同时检测确认多个基因。这也让多重 PCR 技术有快速、价廉、易操作等特点,是适用于检测食源性微生物的技术。多重 PCR 技术广泛地应用于加工食品中的检测,该技术不仅可以检测韩国泡菜中的乳酸菌,也可以对肉类加工食品中的李斯特氏菌、伊氏李斯特氏菌等进行检测^[2]。

荧光定量 PCR 检测技术是近几年兴起的在常规 PCR 的基础上发展而来的一种新的实时定量检测特定核酸的技术,其主要原理是将荧光能量传递技术应用于常规多聚酶链式反应仪中,通过受体发色团之间偶极-偶极相互作用来产生效果。从检测 PCR 的过程得知靶序列初始浓度,能量从供体发色团转移到受体发色团,受体荧光染料发射出的荧光讯号强度与 DNA 成正比,从而达到定量的目的^[3]。荧光定量 PCR 技术所具有的环保性和灵敏性使得它在食源性致病菌检测中具有举足轻重的地位。同时由于其在分子水平上检测转基因成分准确性更高,荧光定量 PCR 技术也被广泛地应用在转基因食品的检测中^[4]。

此外,反转录 PCR 等技术也比较常见。但是由于 PCR 检测技术较复杂,难度高,仪器成本高,因此对 PCR 检测的实验室要求比较严格,对技术人员的要求也很高,使得 PCR 技术不能快速的广泛应用。

2.2 免疫技术 免疫技术是生物检测方法中最受欢迎的一种检测技术,原理是根据抗原和抗体的特异性结合反应进行工作。与其他检测技术相比,免疫技术具备一些其他方法所不具备的优势,例如检测灵敏度高、特异性强、成本低、分析容量大。特别是在食品检测中,这些优势得以全部发挥,尤其是应用在蛋白质结构分析时。在此主要介绍免疫荧光技术、酶联免疫吸附技术和免疫磁珠分离技术。

免疫荧光技术就是将不影响抗原抗体活性的荧光色素标记在抗体或抗原上,与其相应的抗原或抗体结合后,在荧光显微镜下会产生一种特异性荧光反应,可用来快速检测沙门氏菌、李斯特菌等^[5]。这个方法具有特异性强、灵敏度高和速度快的优点,但是仍存在结果判断有主观因素的影响、技术操作步骤较为复杂等问题。

酶联免疫吸附技术是将抗原或抗体吸附于某种固相载体表面,在载体上进行免疫酶染色。底物显色后通过定量分析有色产物的量(即颜色的深浅)就可确定样品中待测物质的含量。通过酶的催化可以极大地放大反应效果,从而使检测方法的敏感度极大提高^[6]。该技术的优点是可定量分析、灵敏准确、适用范围广、判断结果客观、简单迅速、费用低,而且可以同时进行大量样品的分析。但是由于此检测技术对试剂的选择性较高,使得其很难同时分析多种成分^[7]。当被测样品蛋白质浓度较低时此方法也不适用。目前酶联免疫吸附技术已成为食品检测中应用最广泛的检测方法之一,在检测农药兽药残留中发挥了重要作用。

免疫磁珠分离技术是将磁珠特有的磁响应性与免疫反

应的特异性结合的一种方法。作为抗体载体的磁珠由人工合成,含有铁元素,可被磁铁吸引,且外部有可以结合抗体的功能基团。当磁珠上的抗体与特异性抗原结合后会形成抗原-抗体-磁珠免疫复合物^[8]。由于磁珠的磁响应性,该复合物在磁铁的吸引下可以定向移动,从而将复合物从其他物质中分离出来,借此达到将特异性抗原分离、浓缩、纯化的目的。免疫磁珠分离技术可以快速地食品中分离出靶细胞,克服了选择性培养基的抑制问题。现在已经大范围应用于检测和鉴定食品中的大肠杆菌和沙门氏菌。

2.3 生物芯片技术 生物芯片技术是指利用光导原位合成或微量点样的方式,把大量生物大分子有序固化在玻璃片、硅片等载体的表面,组成密集的二维分子排列,然后与标记过的样品分子进行杂交,利用特定仪器(如电荷耦合相机、激光共聚焦扫描设备等)对杂交信号的强度进行快速、并行、高效的检测分析,从而来判断样品中靶分子的数量,通过与标准样品进行对比来达到分析比较的目的^[9]。因为这项技术需要硅片等作为支持物,并且在制备过程中需要模拟计算机芯片的制备技术,由此称为生物芯片技术。生物芯片的制备包括4个要点,分别是芯片的构建、样品的制备、生物分子相互反应和结果分析^[10]。

自从转基因食品诞生以来,转基因食品的安全问题也随之产生。尤其是近几年,人们对转基因食品的安全性越来越关心。因此对转基因食品的检测和鉴定也变得十分重要。生物芯片可以判断样品当中是否含有转基因成分、是否在安全限度内。利用这项技术检测转基因食品简单快速、假阳性低、特异性强且自动化程度高。

在检测食品中病原性微生物时,传统的生化培养检测法需要较长的时间去培养微生物和计数,不仅操作复杂,灵敏度低,而且不能及时反映生产过程中或销售过程中的污染情况,使得食品检测存在潜在风险,给消费者带来威胁。而利用生物芯片技术,将常见致病菌的特异基因制备成基因芯片,利用碱基互补配对原则杂交检测待测样品,对数据进行分析比对判定样品中致病菌的含量,以确定食品是否有被病原性微生物污染。这样可以及时地反映食品被污染的情况,从而避免这类食品流入市场,危害公民健康,同时可以防止巨大经济损失和社会危害的发生。

在食品毒理学中应用生物芯片技术也得到了广泛的认可。传统毒理学研究必须通过动物试验来进行模糊评估。这不仅要消耗大量的动物,而且费时费力。再考虑到动物模型由于种属差异,得出的结果往往并不适合外推至人^[11]。而且动物试验中的毒物剂量远大于人的暴露水平,不能反映真实的情况。所以传统的动物试验既不精确,而且不符合人道主义。而生物芯片可以同时数千个基因的表达进行分析,为研究新型食品对人体的免疫系统影响机理提供完整的技术资料;并通过对单个或多个混合体有害成分进行分析,以确定该化学物质在低剂量条件下的毒性,分析出该物质的最低限量。这使得许多生物试验可以被免去,降低了动物的消耗,节约了大量经费和时间,并且可以避免试验结果

外推至人时所产生的误差,更真实地反映暴露水平下人体对化学物质的反应。

生物芯片存在的主要缺点是检测灵敏度低,假阳性和假阴性仍然影响结果的准确性,这极大地限制了这项技术从实验室走向临床应用。传统的免疫检测技术中所有的检测程序都是一体化的,但是当前生物芯片尚未形成有效统一的制备、检测 and 数据处理标准,对芯片结果的可重复性有较大影响^[12]。而且芯片制作系统价格昂贵,严重限制了这种方法的普及推广。

2.4 生物传感器技术 生物传感器是把具有分子识别功能的生物活性材料比如抗原、抗体、蛋白质、酶、细胞、生物膜等作为敏感元件固定在特定转换器上进行测定的一类传感器^[13],由生物接收器、换能器和测量系统构成^[14],其工作原理是待测物质和分子识别原件特异性结合,产生离子强度变化、颜色变化、pH 变化、热焓变化等信号。产生的信号通过信号转换器转化为能够进行定量处理的光、电信号,经过二次仪表放大输出,用电极测定电压或电流值,可以换算出被测物质的浓度或物质的量^[15]。

这类方法分析简单、迅速、准确、灵敏度高、价廉,不仅可以在生产和部门检测中大规模应用,还能够现场在线检测,因此在食品成分分析、食品保鲜期预测、食品生产过程中的质量控制具有广阔的应用前景^[16]。但是由于稳定性、重现性、使用寿命的限制,以及食品成分众多且含量差异大等问题,在食品检测中实现生物传感器的商业化仍受到制约^[17]。

生物传感器可以对蛋白质、氨基酸、有机酸、酚类、糖类、胆固醇、维生素、矿物质元素等大多数食品的基本成分进行快速分析。而且针对食品中的添加剂、有害微生物、农药兽药残留、生物毒素、重金属也能实现快速检测。此外还可以检测食品是否合乎品质指标、是否含有转基因成分。

3 展望

运用生物技术进行食品安全检测对人们的身体健康和

生活质量都起着十分重要的作用,保障食品安全提高品质量离不开生物检测技术的应用和推广。通过 PCR 检测技术、免疫学检测技术、生物芯片技术、生物传感器技术,还有其他的一些生物检测技术对食品进行安全、科学、可靠的检验,极大地提高了食品质量。生物检测技术作为一项复杂的研究,涉及的内容多且杂,这需要在今后的实践中加强对生物技术的重视,不断完善改进现有的技术手段,以促进生物检测技术的应用和推广,不断推动我国食品检测技术的发展,为人们能够享受安全的食品做出贡献。

参考文献

- [1] 吕艳芳,马春颖,励建荣.实时荧光定量 PCR 技术在食源性致病菌检测中的应用[J].食品与发酵科技,2014,50(2):80-84.
- [2] 刘赛.PCR 技术在食品检测中的应用探究[J].现代食品,2016(17):44-46.
- [3] 孙吉浩.基于 PCR 技术探究食品检测新技术的应用[J].食品安全导刊,2016(9):83-84.
- [4] 程海星,郭月英,任霆,等.实时荧光定量 PCR 技术原理及在食品检测中的应用[J].食品与发酵工业,2015,41(3):243-247.
- [5] 王峰,潘赢,王学涛,等.食品微生物快速检测技术研究进展[J].中国微生物学杂志,2013,25(8):128-131.
- [6] 陈发荣,罗舜菁,刘成梅,等.酶联免疫快速检测方法在食品安全中的应用[J].江西食品工业,2009(3):49-51.
- [7] 张也,刘以祥.酶联免疫技术与食品安全快速检测[J].食品科学,2003,24(8):200-204.
- [8] 王辉,张伟,王燕,等.食品病原微生物快速检测技术及研究进展[J].粮食与油脂,2012,25(4):1-5.
- [9] 付华.生物芯片技术及其在食品检测中的应用[J].现代食品,2016(16):14-15.
- [10] 张奇志,邓欢英.生物芯片技术在食品检测中的应用[J].食品研究与开发,2006,27(8):206-209.
- [11] 朱杰.生物芯片技术在食品科学中应用研究[J].粮食与油脂,2005(2):6-8.
- [12] 刘晓鹏,尚丹.常用分子生物学技术在食品病原微生物检测中的应用[J].河北医药,2015,37(9):1391-1393.
- [13] 白冰,赵玲,王程程,等.生物传感器在检测食品品质及其质量安全中的应用[J].食品安全质量检测学报,2012,3(5):414-420.
- [14] 王凯,殷涌光.SPR 生物传感器在食品安全领域的应用研究[J].传感器与微系统,2007,26(5):12-14.
- [15] 孟邵华,高丽娟,罗慧慧,等.生物传感器在食品安全中的应用[J].食品研究与开发,2012,33(9):197-200.
- [16] 张焕新,徐春仲.生物传感器在食品分析中的应用[J].食品科技,2008,33(6):200-203.
- [17] 刘荣,徐致,李保国,等.生物传感器在食品分析检测中的应用[J].乳业科学与技术,2005,27(6):246-249.
- [18] er[J]. Ecotoxicology, 2016, 25(4): 655-663.
- [19] 向志国,郑榜高,吴学渊.昆虫抗药性的产生及其治理对策[J].植物医生,2009,22(5):6-8.
- [20] 马标,张素峰,高凡昌,等.螺虫乙酯 150 OD 与 1.8%阿维菌素 EC 桶混防治辣椒烟粉虱田间试验初报[J].安徽农学通报,2012,18(24):70-72.
- [21] 张凯,高广春,王向阳.21.6%螺虫乙酯·噻虫嗪悬浮剂对烟粉虱的田间防效评价[J].安徽农学通报,2013(15):78-79.
- [22] 王虹.螺虫乙酯·噻虫嗪 21.6%悬浮剂防治大棚黄瓜烟粉虱试验总结[J].新疆农业科技,2015(2):25-26.
- [23] 蔡美艳,冯永斌,陈海波.螺虫乙酯·噻虫嗪 240SC 等药剂防治西瓜烟粉虱田间药效试验[J].上海农业科技,2014(4):149-150.
- [24] 邹华娇.螺虫乙酯与噻虫嗪混配剂对菊花烟粉虱的毒力、防效及安全性研究[J].福建农业学报,2015(4):357-361.
- [25] 孙海,郑翔,王晓青,等.高效防治烟粉虱的药剂筛选[J].中国蔬菜,2015,1(8):46-49.
- [26] 钟小颖,石绪根,熊件妹.螺虫乙酯与乙螨唑混配剂对柑橘红蜘蛛的增效作用研究[J].生物灾害科学,2016,39(4):228-232.
- [27] 焦蕊,李立涛,于丽辰,等.三种杀螨剂及其复配剂对苹果全爪螨的田间防效[J].北方园艺,2017(4):109-111.
- [28] 姜殿国,邢光耀.不同杀菌剂和杀虫剂混配拌种对棉苗病害、棉蚜和绿盲蝽的效果[J].中国棉花,2014,41(3):27-29.

(上接第 15 页)

- [24] KARATOLOS N, WILLIAMSON M S, DENHOLM I, et al. Resistance to spiromesifen in *Trialeurodes vaporariorum* is associated with a single amino acid replacement in its target enzyme acetyl-coenzyme A carboxylase [J]. Insect molecular biology, 2012, 21(3): 327-334.
- [25] PAN Y, ZHU E, GAO X, et al. Novel mutations and expression changes of acetyl-coenzyme A carboxylase are associated with spirotetramat resistance in *Aphis gossypii* Glover [J]. Insect molecular biology, 2017, 26(4): 383-391.
- [26] WEI X, ZHENG C, PENG T F, et al. miR-276 and miR-3016-modulated expression of acetyl-CoA carboxylase accounts for spirotetramat resistance in *Aphis gossypii* Glover [J]. Insect biochemistry & molecular biology, 2016, 79: 57-65.
- [27] 杨顺义,岳秀利,王进军,等.二斑叶螨不同抗性品系最佳内参基因的筛选及 CYP392E 亚家族基因的表达分析[J].昆虫学报,2013,56(10):1152-1159.
- [28] PAN Y O, YANG C, GAO X W, et al. Spirotetramat resistance adaption analysis of *Aphis gossypii* Glover by transcriptomic survey [J]. Pesticide biochemistry & physiology, 2015, 124: 73-80.
- [29] GONG Y H, SHI X Y, DESNEUX N, et al. Effects of spirotetramat treatments on fecundity and carboxylesterase expression of *Aphis gossypii* Glover [J].