

酶解——FAAS法测定乳及乳制品中

Ca · Mg · Fe · Mn · Zn · Cu

安徽省卫生防疫站 董仕林

摘要 乳及乳制品中无机元素测定的前处理方法很多,但大都需要较高的实验要求,本实验试图解决在温和条件下处理样品的问题。以蛋白酶水解样品,用一定浓度的酸稀释,经过滤后,以火焰原子吸收法测定其中的Ca、Mg、Fe、Mn、Zn、Cu 6种元素,结果表明:6种元素的平均回收率92—101%,变异系数小于15%,用本法测定二级参考样奶粉中6种元素,结果符合要求。作者认为,本方法具有操作简单,快速、实验成本低,对人体损害小等优点,适用于乳制品中6种元素的测定。

乳及乳制品中无机元素测定是营养与食品卫生以及饲养、乳品业的常规分析项目。目前测定乳品中无机元素的前处理方法多采用混合强酸或干法高温消化⁽¹⁾、⁽²⁾,这些方法耗酸、耗电量,实验时间长,样品时

有损失,对人体有一定的危害。酶解——火焰原子吸收法(FAAS)系在温和条件下以蛋白酶水解样品,经稀酸溶解、过滤,以火焰原子吸收法测定Ca、Mg、Fe、Mn、Zn、Cu 6种元素。

发的食物中毒为主的急性腹痛、腹泻,部分伴恶心、呕吐、发热的临床症状。此外,溶藻弧菌亦可引起急性腹泻症状⁽⁴⁾。在途中进餐而到该旅游区后发病的患者,其粪便副溶血性弧菌检出份数为14/21,说明沿海途中的饮食业副溶血性弧菌的污染亦较严重。

3.4 急性腹泻中有70.8%的患者以往从未到过海岛,副溶血性弧菌对不同地区人群易感性有明显的差异⁽⁵⁾,可能是导致旅游者由本菌造成发病比例较高的原因之一。副溶血性弧菌虽繁殖速度极快,但在80℃分钟即可被杀死⁽⁶⁾。然而该区饮食业中却广泛流行着

3.5 为防止和减少由致病性弧菌对旅游者健康的损害,促进旅游事业的发展,除食品卫生监督机构加强监督管理外,当地行政及有关主管部门,要经常督促饮食业提高卫生水平,改进对熟小水产品的加工和食用方式,并严防因工具容器生熟不分造成的交叉污染,以确保食用者的安全。

参 考 文 献

[1] 李协德·急性感染性腹泻进展·中国公共卫生 1987; 6(3): 155。
[2] Akhtar S Q, et al Microbiological Agents Causing Diarrhoeal Diseases Bangladesh 1985 12: 12

又入行采。因目前又个丹例底加器,使即刀熟小水产品带染大量致病性弧菌。

环境工程学报 1987; 1(2): 200。
[6] 武汉医学院,等 副溶血性弧菌食物中毒·营养与食品卫生学·第一版·北京,人民卫生出版社, 1986, 298。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 仪器: GFU—201型原子吸收分光光度计, 北京分析仪器厂。

1.1.2 试剂: 0.2mol盐酸(优级纯); 0.4%木瓜蛋白酶水溶液(临用现配); 0.1%8-羟基奎宁(分析纯); 称取1.0g溶于10ml1molHCl中加水稀释至1000ml; 0.5%葡萄糖(分析纯); 取0.5g葡萄糖以100ml0.2molHCl溶解; 6种元素标准贮备液(1mg/ml); 称取一定量的高纯金属粉或金属盐粉以少量合适酸溶解后用1%HCL定容。

1.1.3 滤纸: 双圈版102滤纸, 杭州新华造纸厂。

1.2 实验方法

1.2.1 工作曲线制作: 取标准贮备液按表1系列浓度稀释: Ca用0.1%8-羟基奎宁液稀释; Mg用0.2molHCL稀释; Fe、Cu、Mn、Zn以0.5%葡萄糖液稀释。按表1有关参数测定各浓度的吸光度, 作出工作曲线或计算直线回归方程。

1.2.2 样品制备与测定: 鲜乳或酸乳取样5.00g, 乳粉取样1.00g置于100ml烧杯中(乳粉以2mlH₂O调成糊状), 加0.4%木瓜蛋白酶液5ml, 混匀, 加表面皿盖之, 于40℃温箱中保温3h, 加0.2molHCL10ml, 摇匀, 在40℃下保温2h后, 以折叠式滤纸(先用0.2molHCl湿润, 注意: 为避免手对样品的污染, 可取两张滤纸同时折叠, 取未接触手的一张为过滤材料)过滤于50ml容量瓶中, 并以0.2molHCL分数次洗涤烧杯及滤纸上的残渣, 经滤纸滤入容量瓶中, 用0.2molHCL定容, 备用。同时做空白试验。

Fe、Cu、Mn、Zn: 直接以上述滤液测定。

Mg: 将上述滤液用0.2molHCL10倍稀释后测定。

Ca: 将滤液用0.1%8-羟基奎宁液10

倍稀释后测定。

表 1 仪器工作参数及工作曲线浓度

	波长 (Å)	狭缝 (mm)	灯电流 (mA)	工作曲线浓度(ug/ml)					
				0	1	2	3	4	5
Ca	4427	0.2	3	0	0.25	0.50	1.0	2.0	3.0
Mg	2852	0.1	3	0	0.10	0.25	0.50	1.0	2.0
Fe	2483	0.2	4	0	0.20	0.50	1.0	2.0	4.0
Mn	2795	0.2	4	0	0.10	0.25	0.50	1.0	2.0
Zn	2139	0.2	4	0	0.10	0.25	0.50	1.0	2.0
Cu	3247	0.2	3	0	0.10	0.25	0.50	1.0	2.0

1.2.3 计算

$$M = \frac{X}{W} \times 50 \times C$$

式中: M: 某被测金属元素的含量, mg/kg。

X: 由工作曲线或回归方程算出滤液中某被测元素的含量, ug/ml。

W: 样重, g。

C: 滤液稀释倍数。

1 讨论

2.2 实验条件的研究

2.1.1 酶的选择: 本试验选择了胃蛋白酶(上海产), 胰蛋白酶(进口分装)及木瓜蛋白酶(西德产)为实验酶, 结果发现胃蛋白酶作用2h各元素的原子吸收值达到最大, 而同浓度的胰蛋白酶和木瓜蛋白酶则需3h, 且胃蛋白酶和胰蛋白酶空白液中钙含量较高, 因而作者认为木瓜蛋白酶是较理想的分解酶。

2.1.2 脂肪对实验的影响: 乳品中含有一定量的脂肪, 为了探讨脂肪对实验结果的影响, 作者先以脂肪酶分解脂肪, 再按上述实验方法操作, 未见实验值增高。将残渣以酸消化法测定, 6种元素含量均在检出限以下, 说明脂肪对实验无影响。

2.1.3 酸度的影响: 酸的作用除了使无机元素与有机物充分解离外, 还使分子较大的糖类水解便于过滤。在选择0.1mol、0.2mol和0.5molHCL的实验中, 0.2mol与0.5mol

HCL都能使实验值达最大,但 0.5 molHCL使空白液中Ca、Mg浓度增大,这可能是酶中少量Ca、Mg被解离的缘故^[3]。

2.2 关于标准液

本法消解的滤液中,除含有0.2molHCL外还含有大量有机质,这就增加了液体的粘度,影响仪器提升量,为了消除酸度和粘度的影响,作者采用0.5%葡萄糖和0.2molHCL

两种溶液配制标准应用液,若以文献^[1]所述方法配制标准液,则除Ca外,5种元素的回收率仅在80—90%。在测定Ca时由于磷的影响使吸光度降低,加入8-羟基奎宁以消除这种影响。

2.3 方法的准确度和精密度

2.3.1 回收率:对三种样品作回收试验,6种元素回收率均在85—110%之间(表2)。

表 2 回收率测定结果

	标准加入量	奶 粉 (1g)			鲜 乳 (5g)			酸 乳 (5g)			平均回收率%
		样	样+标	回收率%	样	样+标	回收率%	样	样+标	回收率%	
Ca(mg)	5.00	3.46	7.67	90	7.60	12.10	96	12.90	16.10	90	92
Mg(mg)	1.00	0.28	1.16	91	0.71	1.88	110	1.06	2.08	101	101
Fe(ug)	20.00	14.00	23.70	96	27.20	45.30	96	23.90	44.30	101	98
Mn(ug)	2.00	1.00	3.12	104	1.25	3.22	99	2.15	3.65	88	97
Zn(ug)	100.00	35.00	120.20	89	143.60	265.50	109	153.10	235.40	93	97
Cu(ug)	5.00	1.23	6.04	97	5.15	9.95	98	4.45	9.15	94	96

2.3.2 精密度:对三种样品6个元素作6次测定其变异系数, CV均小于15%(表3)。

表 3 精密度测定结果 单位mg/kg

	奶 粉			鲜 乳			酸 乳		
	\bar{X}	S	CV%	\bar{X}	S	CV%	\bar{X}	S	CV%
Ca	3463.30	351.40	10.1	1591.30	133.70	8.4	2586.40	113.80	4.4
Mg	237.80	18.70	7.9	141.10	2.96	2.1	212.70	5.74	2.7
Fe	14.10	1.62	11.5	5.44	0.43	7.9	4.78	0.150	3.2
Zn	35.00	2.70	7.7	28.70	0.5	1.9	30.60	1.26	4.1
Cu	1.23	0.15	12.2	1.03	0.11	10.2	0.89	0.09	9.8
Mn	1.00	0.14	14.0	0.25	0.03	12.8	4.43	0.05	11.3

2.3.3 本法与酸消化法比较:用本方法与HNO₃-HClO₄消化法对同一份鲜乳连续进行11次测定,经统计学处理,两法无差

异,并对中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所制备的奶粉参考样进行11次测定,结果符合要求(表4)。

表 4 本法与酸消化法测定结果 (X±S, mg/kg)

	鲜 乳		奶 粉	
	本 法	酸消化法	本 法	参 考 值
Ca	2457.40±231.80	2379.50±208.70	8638.40±214.40	8282.00±1189.00
Mg	98.70±3.120	101.70±11.40	984.30±32.10	1071.70±78.90
Fe	5.78±0.41	4.88±0.52	4.49±0.13	4.24±0.32
Zn	25.9±0.63	26.3±2.490	33.50±0.50	31.50±10.10
Cu	0.54±0.08	0.84±0.08	0.662±0.06	0.67±0.03
Mn	0.31±0.03	0.34±0.04	0.78±0.02	0.67±0.15

(致谢: 本文承蒙黄士雄主任医师指导并修改, 谨此致谢。)

下转21