

话问卷调查 16.6% ~ 24.3% 近似^[10]。研究得出的饮食行为危险因素、保护因素可作为采取急性腹泻干预措施的依据。

3.3 局限性

急性腹泻调查中被调查者对问卷调查腹泻症状及其危险因素的回答是自诉性的,可能存在一定的主观性,另外,由于是回顾性调查可能存在回忆偏差造成的回顾性偏倚,因此,调查的结果存在一定的局限性。

参考文献

[1] 朱敏,张静,高永军,等. 腹泻病疾病负担研究现状[J]. 卫生研究,2008,37(1):126-127.

[2] THIELMAN N M, GUERRANT R L. Acute infectious diarrhea [J]. N Engl J Med,2004, 350(1):1.

[3] FLINT J A, van DUYNHOVEN Y T, ANGULO F J, et al. Estimating the burden of acute gastroenteritis, foodborne disease, and pathogens commonly transmitted by food: an international review[J]. Clin Infect Dis,2005,41(1):702-703.

[4] BALDI F, BIANCO M A, NARDONE G. Focus on acute diarrheal disease [J]. World J Gastroenterol, 2009, 15 (27):3342.

[5] SCALLAN E, GRIFFI P M, ANGULO F J, et al. Foodborne illness acquired in the United States-unspecified Agents [J]. Emerg Infect Dis,2011,17(1):16-17.

[6] RAVEL A, DAVIDSON V J, RUZANTE J M, et al. Foodborne proportion of gastrointestinal illness: estimates from a Canadian expert elicitation survey [J]. Foodborne Pathog Dis, 2010, 7 (12):1463-1472.

[7] HALL G, KIRK M D, BECKER N, et al. Estimating foodborne gastroenteritis, Australia [J]. Emerg Infect Dis, 2005, 11 (8):1260.

[8] 聂青. 感染性腹泻的研究现状[J]. 传染病信息,2007,20(4):193-194.

[9] SCALLAN E, MAJOWICZ S E, HALL G, et al. Prevalence of diarrhea in the community in Australia, Canada, Ireland, and the United States[J]. Int J Epidemiol,2005,34:454-460.

[10] NDSC. Gastroenteritis in Ireland, North and South-A Telephone Survey[M]. Dublin: National Disease Surveillance Centre,2003:18-45.

调查研究

市售进口婴幼儿配方奶粉中乳铁蛋白含量的检测

刘青, 庞世琦, 潘丙珍, 韦晓群, 梁瑞婷

(广东出入境检验检疫技术中心, 广东 广州 510623)

摘要:目的 根据国家进口婴幼儿配方奶粉全项目检测的需求,采用酶联免疫方法对市售的多个品牌的进口婴幼儿配方奶粉中的乳铁蛋白含量进行了定量测试,为相关乳品企业、检测部门和消费者提供有益参考。方法 采用实验室建立的酶联免疫方法,方法操作方便、灵敏度高、可同时定性定量检测多个样品。结果 对市售 16 种进口婴幼儿配方奶粉中乳铁蛋白的含量进行检测,检测出乳铁蛋白的含量从 16 ~ 167 mg/100 g。结论 乳铁蛋白作为高端进口婴幼儿奶粉中添加的一种营养强化剂,在不同品牌的奶粉中的含量有一定的差异,提醒有关部门、乳品企业和消费者关注。

关键词:ELISA; 婴幼儿配方奶粉; 乳铁蛋白; 进口

中图分类号:Q51 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2012)05-0460-04

The content of lactoferrin in imported baby formula on the market

Liu Qing, Pang Shiqi, Pan Bingzhen, Wei Xiaqun, Liang Ruiting

(Guangdong Inspection & Quarantine Technology Center, Guangdong Guangzhou 510623, China)

Abstract: Objective Using ELISA method to test the content of lactoferrin in a number of brands of imported baby formula on the market and providing useful reference for dairy industries, inspection departments and consumers. **Methods** The in-house ELISA method is fast and simple, with high sensitivity, repeatability and practicability, could develop quality and quantity test at the same time. **Results** 16 kinds of imported baby formula were tested and the range of detectable lactoferrin content is between 16 to 167 mg/100 g. **Conclusion** As one of the nutrition enhancer of high-end baby

formula, the content of lactoferrin has some differences between deferent brands. Relevant departments, dairy industries and customers should pay more attention to it.

Key words: ELISA; baby formula; lactoferrin; imported

乳铁蛋白(lactoferrin)是人及哺乳动物中乳汁中分泌的一种极其重要的非血红素铁结合天然糖蛋白糖。最早在1939年由Sorensen等人在分离乳清蛋白时得到,直至1959年Groves用色谱测定了这种纯的红色物质后,才确认是一种与铁结合的糖蛋白,称之为乳铁蛋白。这种属于先天免疫系统的成分物质,具有广谱抗菌抗病毒、促进铁元素的吸收和铁的平衡、消炎、抑制肿瘤细胞生长及调节机体免疫反应等多种生理功能^[1]。婴儿出生后,自身免疫系统没有完全建立以前,母乳中的乳铁蛋白是婴幼儿赖以生存和维系生命健康的重要物质,尤其是可以调节免疫和对病原微生物的抵御功能。母乳中乳铁蛋白的含量通常为1~7 mg/ml,牛奶中相对较低为0.02~0.2 mg/ml。

随着乳铁蛋白作用机制的不断阐明,其在食品方面的应用已得到许多国家和地区法律的承认,其在疾病防治、营养补充、食品和药品防腐、化妆品等方面都有广阔的应用前途。我国最新的国家标准GB 14880—2012将乳铁蛋白列为营养强化剂,规定婴幼儿食品、调制乳、风味发酵乳和含乳饮料中乳铁蛋白的含量要 ≤ 1.0 g/kg^[2],其他国家如美国、韩国、日本等通常的限量标准为0.5 mg/g。基于众多的研究成果和试验,在婴幼儿配方食品中添加乳铁蛋白,既可满足婴儿生长发育的需要,同时又对婴儿的健康起到保护作用。目前在全球的农业发达国家像新西兰、瑞士、澳大利亚、荷兰等,不仅拥有全球优质的奶源,而且,更加注重免疫作用和吸收情况。在这些国家的高端婴幼儿配方奶粉中,多数添加有乳铁蛋白。

目前常用的乳铁蛋白的检测方法有免疫扩散法、高效液相色谱法、电泳法等^[3-8]。但由于我国一直没有对婴幼儿食品中乳铁蛋白设定明确的限量值,国内对乳铁蛋白含量的检测关注度不高。从2012年开始,国家质检总局为保证进口婴幼儿配方奶粉的质量,要求首次进口的婴幼儿奶粉,每个季度都需向检验检疫部门提供具备检测资质的第三方实验室全项目检测报告,因此婴幼儿配方奶粉中各种营养素(包括乳铁蛋白)含量的检测受到了各大乳品企业、检测机构的高度重视。目前尚未见到有关进口婴幼儿配方奶粉中乳铁蛋白含量检测调查的文献报道。本文报道了进口的16种婴幼儿配方奶粉中乳铁蛋白含量的检测结果。

1 材料与方法

1.1 样品

选取6个品牌共16种市售进口婴幼儿配方奶粉样品(罐标显示有添加乳铁蛋白,含量范围为5~100 mg/100 g),产地来源分别为瑞士6个、新西兰7个、荷兰2个、韩国1个。采样方案参照GB/T 5009.1—2003中有关样品的要求^[9]。

1.2 仪器与试剂

CHEMWELL全自动酶标仪。

包被有抗牛乳铁蛋白(LT)的特异性多克隆抗体96孔微孔板(Bio-X Diagnostic);洗涤液;缓冲溶液;乳铁蛋白-过氧化物酶结合物;乳铁蛋白标准品;单组份TMB底物,1 mol/L磷酸终止液。

1.3 实验方法

1.3.1 试剂制备

配制洗液:用蒸馏水20倍稀释浓缩洗液,即用1 ml浓缩洗液,加入到19 ml蒸馏水中,并确定稀释前没有结晶。于2~8℃冷藏。

配置稀释缓冲液:用蒸馏水5倍稀释浓缩稀释缓冲液,即1 ml浓缩洗液,加入到4 ml蒸馏水中。于2~8℃冷藏。

配制PBS缓冲液:分别称取8g NaCl、0.2 g KCl、1.44 g Na_2PO_4 、0.24 g KH_2PO_4 、溶解于800 ml蒸馏水中,调pH值至7.4,加蒸馏水定容至1 L。高压灭菌至少20 min。

配制乳铁蛋白标准液:精确称取100 mg标准品置于一个小烧杯中,加入10 ml PBS缓冲溶液,用电磁搅拌器混匀,完全溶解后转入200 ml容量瓶,用PBS缓冲液定容至200 ml,充分混匀。溶液浓度为50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。再根据实验需要分别配置成585、878、1 317、1 975、2 963、4 444、6 667、10 000 ng/ml的溶液。

配制酶联结合物:稀释缓冲液50倍稀释结合物,即取100 μl 结合物,加入4.9 ml稀释缓冲液。每次在使用前根据用量取相应体积结合物进行稀释。

1.3.2 样品制备

称取1.00 g婴儿配方奶粉样品,用PBS缓冲液逐级稀释至100~500 ml(使其浓度处于585~10 000 ng/ml之间)。

1.3.3 检测方法

在已经包被的微孔中,分别加入8个乳铁蛋白标准液和样品溶液各100 μl ,并各做一个平行。在

每孔中加入 100 μ l 酶结合物,注意在添加过程中不要碰到微孔中标准品或样品。室温下 (21 $^{\circ}$ C + / - 3 $^{\circ}$ C) 避光孵育 1 h 后,洗板 3 次。在每孔中加入 100 μ l TMB 底物。室温下 (21 $^{\circ}$ C + / - 3 $^{\circ}$ C) 避光孵育 10 min, 在每孔中加入 50 μ l 终止液后,立即用酶标仪 450 nm 条件下读取吸光值。

2 结果

2.1 标准曲线

为准确计算乳铁蛋白浓度,利用专业分析软件,采用 4 - 参数法构建标准曲线,以标准品乳铁蛋白的浓度作为标准曲线 X 轴,标准品浓度的吸光值作为 Y 轴。乳铁蛋白标准系列吸光度平均读数见表 1;标准曲线见图 1,相关系数为 0.990 7。

表 1 乳铁蛋白标准系列吸光值平均读数表

Table 1 Average absorbance of lactoferrin standards

标准浓度 (ng/ml)	平均吸光值
585	3.2765
878	3.2029
1317	2.5806
1975	2.1080
2963	1.4102
4444	1.0979
6667	0.9247
10000	0.7293

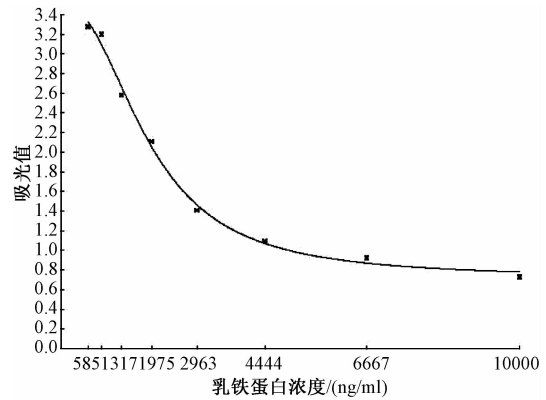


图 1 乳铁蛋白标准曲线图

Figure 1 Standard curve of lactoferrin

2.2 样品结果

16 种市售进口婴幼儿配方奶粉按上述步骤进行试验,乳铁蛋白含量结果见表 2。

3 讨论

3.1 检测方法

由于婴儿配方奶粉中添加的乳铁蛋白含量差别较大,建议进行试验前先按奶粉罐上标示的含量,估算需要稀释的倍数(一般为 400 ~ 600),采取 2 ~ 3 级逐级稀释的方法,使最终的浓度最好处于标准曲线 1 317 ~ 2 963 ng/ml 的范围之间。如果结果

表 2 16 种市售婴幼儿配方奶粉乳铁蛋白含量检测值

Table 2 Lactoferrin content of 16 kinds of market baby formula

样品编号	样品名称	平均吸光值	稀释因子	乳铁蛋白含量 (mg/100g)
1	优装婴儿配方奶粉	1.3254	500	167
2	优装较大婴儿配方奶粉	1.4163	500	154
3	优装幼儿配方奶粉	1.6850	500	126
4	金装婴儿配方奶粉	1.3733	500	160
5	金装较大婴儿配方奶粉	1.4485	500	150
6	金装幼儿配方奶粉	1.8026	500	116
7	金装婴儿配方奶粉	2.2580	500	87
8	金装较大婴儿配方奶粉	1.5134	100	28
9	金装幼儿配方奶粉	2.2346	100	18
10	金装儿童成长配方奶粉	2.3586	100	16
11	金装婴儿奶粉(第一阶段)	1.9230	500	107
12	金装婴儿奶粉(第二阶段)	1.9863	500	103
13	金装幼儿奶粉	2.1388	500	94
14	初生婴儿配方奶粉 1 号	1.2150	100	37
15	婴儿配方奶粉	3.1278	1	<5.0
16	初生婴儿配方奶粉	3.0804	1	<5.0

显示浓度偏离,则需要根据实际检测的情况调整稀释的倍数重新测试。

酶联免疫方法有敏感性高,特异性强,操作简单,结果容易观察的特点,但也容易受到试剂盒、实验人员的操作经验和熟练程度等因素的影响。此外,由于婴幼儿配方奶粉含有的营养素较多,干扰因素也较多,为减少误差,所以每次实验时均要进

行标准对比,并最好同时进行添加回收试验。

3.2 相关管理规定

乳铁蛋白在中性和碱性条件下容易受热失活,由于受到奶粉加工工艺过程的影响,以及其中多种营养素的干扰,不同品牌、不同批次的奶粉中乳铁蛋白的实际检测含量可能会存在一定的差异。总体上看,奶粉中乳铁蛋白的添加会随着婴幼儿年龄

的增加而酌量减少(详见表3)。根据国家标准 GB 13432—2004 中“标示强化营养素或天然存在的固有营养素的实际含量不得低于标示值的80%”的规定^[10],提醒有关乳品企业、检测部门和管理部门关注婴幼儿配方奶粉中乳铁蛋白含量食品营养标签符合性问题。

表3 不同类别婴幼儿奶粉乳铁蛋白含量检测结果

样品类别	检测样品数量	乳铁蛋白含量范围 (mg/100g)
第一阶段(0~6个月)	6	37~167 ^a
第二阶段(6~12个月)	4	28~154
第三阶段(1~3岁)	5	18~126
第四阶段(3~7岁)	1	16

备注:^a 不包括未检出乳铁蛋白的两个品牌的抽检样品。

3.3 对机体的影响

乳铁蛋白作为一种高端婴幼儿配方奶粉中添加的食品营养强化剂,由于可以促进婴幼儿对奶粉中铁的吸收,常被当作产品的卖点,含有乳铁蛋白的奶粉在市场上通常价格不菲。但乳铁蛋白属于蛋白质的一种,人体对于蛋白质的需求虽然比较多,可如果过量太多,可能会对婴幼儿的肝、肾造成一些额外的负担。因此建议消费者购买婴幼儿配方奶粉时,注意查看其罐标值,根据自己的需要选择性价比高的商品。

调查研究

2005—2011年广西食物中毒事件流行病学特征分析

李永红,蒋玉艳

(广西壮族自治区疾病预防控制中心,广西南宁 530028)

摘要:目的 了解广西食物中毒事件的流行病学特征,为制定防控策略提供科学依据。方法 应用描述性流行病学方法分析2005—2011年广西食物中毒事件的流行病学特征。结果 2005—2011年广西共报告食物中毒事件256起、中毒6099例、死亡99例,中毒原因以微生物性和有毒动植物为主(75.39%),第二、三季度为高发季节(61.33%),存在明显地区差异(桂西、桂北较多,桂南、桂东较少),中毒场所以农村家庭、学校和餐饮服务单位为主(78.13%)。结论 加强学校食堂与社会餐饮服务单位食品安全监督与管理及农村地区食品安全知识宣传教育,是减少广西食物中毒事件的关键。

关键词:食物中毒;流行病学;食品安全

中图分类号:R155.3 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2012)05-0463-05

Epidemiological characteristics of food poisoning events in Guangxi during 2005—2011

Li Yonghong, Jiang Yuyan

(Guangxi Center for Disease Prevention and Control, Guangxi Nanning 530028, China)

Abstract: Objective To understand the epidemiological characteristics of food poisoning events in Guangxi and provide

收稿日期:2012-05-30

作者简介:李永红 男 副主任医师 研究方向为突发公共卫生事件应急管理 E-mail:bigglee@yahoo.com.cn

参考文献

- [1] ADLEROVA I L, BARTOSKOVA I A, FALDYNA M. Lactoferrin: a review [J]. Veterinarni Medicina, 2008, 53(9): 457-468.
- [2] 中华人民共和国卫生部. GB14880—2012 食品营养强化剂使用标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [3] CAMPANELLA L, MARTINI E, PINTORE M, et al. Determination of lactoferrin and immunoglobulin G in animal milks by new immunosensors[J]. Sensors, 2009, 9: 2202-2221.
- [4] DRA ĀKOVÁ M, BORKOVČOVÁ I, JANŠTOVÁ B, et al. Determination of Lactoferrin in Goat Milk by HPLC Method[J]. Czech J Food Sci, 2009, 27(S): S102-S104.
- [5] PALMANO K P, ELGAR D F. Detection and quantization of lactoferrin in bovine whey samples by reversed-phase high-performance liquid chromatography on Polystyrene-divinylbenzene [J]. J Chromatogr A, 2002, 947: 307-311.
- [6] LI Jia, DING Xiaojing, CHEND Yongyan, et al. Determination of bovine lactoferrin in infant formula by capillary electrophoresis with ultraviolet detection[J]. J Chromatogr A, 2012, 1244: 178-183.
- [7] 杜凌, 任璐, 苏米亚. 婴儿奶粉中乳铁蛋白的检测方法的研究[J]. 乳业科学与技术, 2008(3): 121-122.
- [8] 张英华. 酶联免疫法测定牛初乳中乳铁蛋白的含量[J]. 中国乳品工业, 1997, 27(6): 19-20.
- [9] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.1—2003 食品卫生检验方法理化部分总则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB134320—2004 预包装特殊膳食食用食品标签通则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.