

蛋白沉淀问题

婴幼儿乳品中含有大量的蛋白，在实际检测中，需要进行蛋白沉淀进行去除，蛋白沉淀过程对于回收率和净化结果有很大影响，如果沉淀不完全，会造成回收率下降和干扰过高；造成色谱柱的污染、堵塞，严重降低色谱柱的使用寿命。

婴幼儿食品有乳液状态的，也有固态的。液态食品传统的提取方法较为简单，通常是使用乙腈或缓冲液进行蛋白沉淀，离心后取上清液进行进一步净化。传统的乙腈净化方法容易造成蛋白沉淀不完全。一些含脂肪较高的样品在用乙腈进行蛋白沉淀时，乙腈易将样品中的脂肪提取出来，造成提取液浑浊，回收率下降、干扰过高和色谱柱污染。

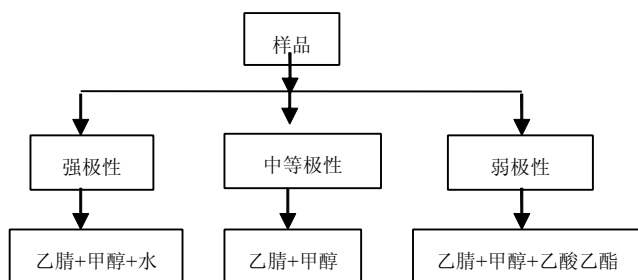
随着样品前处理技术的发展，蛋白质的去除引入了一些新的技术，如固相萃取方法、超滤膜技术。这些方法就可以很好的解决以上问题。

1 Cleanert™ MAS 方法

MAS (Multi-function Impurity Adsorption SPE)，即“多重机制杂质吸附萃取净化法”，该方法主要利用多官能化的复合吸附材料，以离子交换、反相、氢键等机理去除样品中的干扰物质，同时将目标物质留在样品溶液中，从而达到净化和富集的目的。

MAS 方法，对于无论中性、酸性或碱性的强极性化合物均具有较好的净化效果。Cleanert™ MAS 产品中的 MAS-WA, MAS-A 和 MAS-B，MAS-A 适用于酸性物质；MAS-B 适用于碱性物质。MAS-WA 适用于中性及两性物质。具体的选择方法为：

根据样品的极性选择洗脱溶剂，乙腈、甲醇的混合溶剂具有良好的沉淀蛋白效果，乙腈与甲醇的比例一般为 9: 1-1: 1。如果是强极性化合物，洗脱溶剂中可以添加适量的水，水的比例不应超过三分之一，不然会引起洗脱液浑浊的现象。如果是弱极性化合物，洗脱液可以添加适量的弱极性溶剂（如乙酸乙酯、二氯甲烷等）。



再根据样品的酸碱性选择产品和进一步优化洗脱溶剂。如果是中性、酸性或碱性化合物，洗脱溶剂可以选择中性溶剂（如乙腈、甲醇混合溶剂）。如果是两性化合物，溶剂应选择碱性溶剂（如含1% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ 的沉淀溶剂）

MAS 方法可以同时除去多种杂质而不吸附目标物质，具有较好的除磷脂、除蛋白效果，降低本底，提高方法的灵敏度。同时可与自动化萃取仪器兼容，便于高通量样品处理。

MAS 产品中特殊的疏水性筛板可以阻挡变性蛋白质，而乙腈等用于洗脱液的有机溶剂易于通过，从而使操作简便易行。其操作步骤为：

柱管形式：

1. Cleanert™ MAS 管和试管放置于固相萃取装置中；
2. 每管 1-2 ml 乙腈活化，负压抽干；
3. 每管加入 50-1000 μL 样品；
4. 每管快速加入适量的沉淀溶剂（乙腈与甲醇的混合溶剂效果更好），静置 3min，如果加入的样品量较大，请用振荡器振荡帮助样品与溶剂混合；
5. 加负压，溶剂从管上流下，收集于试管中。

96 孔板形式：

1. Cleanert™ MAS 板和 96 孔接收板放置于 96 孔板正压或负压装置中；
2. 每孔 1-2 ml 乙腈活化，负压抽干；
3. 每孔加入 50-200 μL 样品；
4. 每孔快速加入适量的沉淀溶剂（乙腈与甲醇的混合溶剂效果更好），静置 3min；
5. 加正压或负压，溶剂从板上流下，收集于 96 孔接收板中。

2 超滤膜技术

膜分离技术是用半透膜作为选择障碍层、在膜的两侧存在一定量的能量差作为动力，允许某些组分透过而保留混合物中其

他组分，各组分透过膜的迁移率不同，从而达到分离目的的技术。

超滤是一种能够将溶液进行净化、分离、浓缩的膜分离技术，超滤过程通常可以理解成与膜孔径大小相关的筛分过程。以膜两侧的压力差为驱动力，以超滤膜为过滤介质，在一定的压力下，当水流过膜表面时，只允许水及比膜孔径小的小分子物质通过，达到溶液的净化、分离、浓缩的目的。对于超滤而言，膜的截留特性是以对标准有机物的截留分子量来表征，通常截留分子量范围在 1000~300000，故超滤膜能对大分子有机物（如蛋白质、细菌）、胶体、悬浮固体等进行分离，可以用于蛋白质的去除。