



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109342136 B

(45) 授权公告日 2021.03.12

(21) 申请号 201811162488.2

G01N 1/40 (2006.01)

(22) 申请日 2018.09.30

G01N 33/535 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

审查员 李步骞

申请公布号 CN 109342136 A

(43) 申请公布日 2019.02.15

(73) 专利权人 台州中知英健机械自动化有限公司

地址 317000 浙江省台州市临海市邵家渡  
街道枫川村5-100号

(72) 发明人 谢宗宜

(74) 专利代理机构 广西中知科创知识产权代理有限公司 45130

代理人 韦莎

(51) Int. Cl.

G01N 1/28 (2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

一种茶叶重金属含量的检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种茶叶重金属含量的检测方法,涉及食品重金属检测技术领域。所述方法为:先将待测茶叶粉碎后加入水中超声处理,接着加入重金属絮凝剂析出沉淀,并向沉淀中加入糖苷酶,水浴酶解至沉淀完全溶解,得待测液,最后用酶联免疫检测法检测待测液的铅、铬、镉、铜含量。本发明通过优化前处理方法,得到不含酸的待测液,安全环保,可用于酶联免疫检测法。

1. 一种茶叶重金属含量的检测方法,其特征在于:包括以下步骤:

(1) 样品前处理:将待测茶叶粉碎,加入8-10倍量的水中,超声处理30-50min,得处理液,向处理液中加入所述处理液重量15-30%的重金属絮凝剂混合搅拌均匀,静置至絮状沉淀析出,离心,收集沉淀,用水洗涤至沉淀表面无粉末;

(2) 重金属待测液提取:向上述沉淀中加入所述沉淀重量0.5-1.5%的糖苷酶,于40-55℃下水浴酶解至沉淀完全溶解,高温灭酶活,即得待测液;

(3) 重金属含量检测:用酶联免疫检测法检测上述待测液的铅、铬、镉、铜含量;

步骤(1)中,所述重金属絮凝剂的制备方法为:向无菌培养液中接种0.2-0.8%的苏云金芽孢杆菌,于30-35℃温度下、100-180r/min转速下水浴摇床培养2-3天,得发酵液,将发酵液pH调整为7-9后,离心,取上清液,于50-60℃下蒸发浓缩至原体积的1/3,接着加入1-2倍量的体积浓度为5-8%的三氯乙酸,搅拌均匀,静置至沉淀析出,离心,去除沉淀,向上层液中加入2-4体积倍的质量浓度为90-95%的乙醇溶液,静置至沉淀析出,离心,用质量浓度为80-90%的乙醇溶液洗涤沉淀2-5次,冷冻干燥,即得所述重金属絮凝剂;

所述培养液包括以下重量份数原料:玉米粉100-150份、木糖20-50份、硝酸铵10-15份、硫酸镁0.5-1份、氯化钠0.1-0.3份、硝酸钾0.5-0.8份、氯化铁0.001-0.004份和水1000-1500份。

2. 根据权利要求1所述的一种茶叶重金属含量的检测方法,其特征在于:步骤(1)中,所述待测茶叶粉碎目数为60-80目。

3. 根据权利要求1所述的一种茶叶重金属含量的检测方法,其特征在于:步骤(1)中,所述超声功率为300-600W。

4. 根据权利要求1所述的一种茶叶重金属含量的检测方法,其特征在于:步骤(2)中,所述糖苷酶为 $\alpha$ -葡萄糖苷酶。

## 一种茶叶重金属含量的检测方法

### 【技术领域】

[0001] 本发明涉及食品重金属检测技术领域,具体涉及一种茶叶重金属含量的检测方法。

### 【背景技术】

[0002] 茶叶是世界上三大饮料之一,近年来,工业化和城市化的快速发展使许多地方的茶叶生产暴露于污染环境中,茶叶中铅、铬、镉、铜等重金属含量有上升的趋势,长期饮用污染物超标的茶叶会对人体健康产生危害,需进行重金属含量检测。

[0003] 茶叶重金属检测主要包括前处理和检测这两个步骤。现阶段常用的检测方法为:原子吸收分光光度法、电感耦合等离子体质谱分析、原子荧光光谱分析、酶联免疫检测法等,而前处理常用的为湿法消化法、干法灰化法和微波消解法等。其中,前处理均是将样品转变为液态溶液进行测定,而上述前处理方法获得的待测液具有强酸性,不但对环境不友好,人工操作也存在安全隐患,此外,强酸待测液也不能用于所有的检测方法,如酶联免疫检测法不能在强酸的环境下进行,所以传统的前处理方法得到的待测液无法直接应用于酶联免疫检测法,因此,申请人基于当前检测过程中前处理方法存在酸性强、无法用于酶联免疫检测法的缺陷,对前处理进行改进,以克服上述缺陷。

### 【发明内容】

[0004] 针对上述问题,本发明提供了一种茶叶重金属含量的检测方法,通过优化前处理方法,得到不含酸的待测液,安全环保,可用于酶联免疫检测法。

[0005] 为解决上述技术问题,本发明采用的技术方案如下:

[0006] 一种茶叶重金属含量的检测方法,包括以下步骤:

[0007] (1) 样品前处理:将待测茶叶粉碎,加入8-10倍量的水中,超声处理30-50min,得处理液,向处理液中加入所述处理液重量15-30%的重金属絮凝剂混合搅拌均匀,静置至絮状沉淀析出,离心,收集沉淀,用水洗涤至沉淀表面无粉末;超声处理加速细胞壁破碎,便于重金属分离;

[0008] (2) 重金属待测液提取:向上述沉淀中加入所述沉淀重量0.5-1.5%的糖苷酶,于40-55℃下水浴酶解至沉淀完全溶解,高温灭酶活,即得待测液;

[0009] (3) 重金属含量检测:用酶联免疫检测法检测上述待测液的铅、铬、镉、铜含量。

[0010] 进一步地,步骤(1)中,所述重金属絮凝剂的制备方法为:向无菌培养液中接种0.2-0.8%的苏云金芽孢杆菌,于30-35℃温度下、100-180r/min转速下水浴摇床培养2-3天,得发酵液,将发酵液pH调整为7-9后,离心,取上清液,于50-60℃下蒸发浓缩至原体积的1/3,接着加入1-2倍量的体积浓度为5-8%的三氯乙酸,搅拌均匀,静置至沉淀析出,离心,去除沉淀,向上层液中加入2-4体积倍的质量浓度为90-95%的乙醇溶液,静置至沉淀析出,离心,用质量浓度为80-90%的乙醇溶液洗涤沉淀2-5次,冷冻干燥,即得所述重金属絮凝剂。

[0011] 进一步地,所述培养液包括以下重量份数原料:玉米粉100-150份、木糖20-50份、硝酸铵10-15份、硫酸镁0.5-1份、氯化钠0.1-0.3份、硝酸钾0.5-0.8份、氯化铁0.001-0.004份和水1000-1500份。

[0012] 进一步地,步骤(1)中,所述待测茶叶粉碎目数为60-80目。

[0013] 进一步地,步骤(1)中,所述超声功率为300-600W。

[0014] 进一步地,步骤(2)中,所述糖苷酶为 $\alpha$ -葡萄糖苷酶。

[0015] 与现有技术相比,本发明具有如下有益效果:

[0016] 本发明前处理中,采用重金属絮凝剂吸附和富集茶叶中的重金属离子,将重金属离子从茶叶中分离出来,并用酶将重金属絮凝剂溶解,使重金属从絮凝剂中分离释放出来,得含重金属的待测液,由于不采用酸消解,得到的待测液不含酸,可用于酶联免疫检测法。

[0017] 本发明重金属絮凝剂为苏云金芽孢杆菌的代谢产物,其多糖含量超过95%,可吸附重金属,使重金属从茶叶中分离出来,同时本絮凝剂还能被酶降解,便于后续检测。采用此方法进行前处理,可得到温和的待测液,操作起来安全、环保、简便。

### 【具体实施方式】

[0018] 以下结合实施例对本发明的具体实施方式做进一步说明。

[0019] 实施例1

[0020] 本实施例一种茶叶重金属含量的检测方法,包括以下步骤:

[0021] (1) 样品前处理:将待测茶叶粉碎至60目,加入8倍量的水中,300W超声处理30min,得处理液,向处理液中加入所述处理液重量15%的重金属絮凝剂混合搅拌均匀,静置至絮状沉淀析出,离心,收集沉淀,用水洗涤至沉淀表面无粉末;

[0022] (2) 重金属待测液提取:向上述沉淀中加入所述沉淀重量0.5%的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶,于40℃下水浴酶解至沉淀完全溶解,120℃下高温灭酶活,即得待测液;

[0023] (3) 重金属含量检测:用酶联免疫检测法检测上述待测液的铅、铬、镉、铜含量。

[0024] 步骤(1)中,所述重金属絮凝剂的制备方法为:向无菌培养液中接种0.2%的苏云金芽孢杆菌,于30℃温度下、100r/min转速下水浴摇床培养2天,得发酵液,将发酵液pH调整为7后,离心,取上清液,于50℃下蒸发浓缩至原体积的1/3,接着加入1倍量的体积浓度为5%的三氯乙酸,搅拌均匀,静置至沉淀析出,离心,去除沉淀,向上层液中加入2体积倍的质量浓度为90%的乙醇溶液,静置至沉淀析出,离心,用质量浓度为80%的乙醇溶液洗涤沉淀2次,冷冻干燥,即得所述重金属絮凝剂。所述培养液包括以下重量份数原料:玉米粉100份、木糖20份、硝酸铵10份、硫酸镁0.5份、氯化钠0.1份、硝酸钾0.5份、氯化铁0.001份和水1000份。

[0025] 实施例2

[0026] 本实施例一种茶叶重金属含量的检测方法,包括以下步骤:

[0027] (1) 样品前处理:将待测茶叶粉碎至80目,加入10倍量的水中,600W超声处理50min,得处理液,向处理液中加入所述处理液重量30%的重金属絮凝剂混合搅拌均匀,静置至絮状沉淀析出,离心,收集沉淀,用水洗涤至沉淀表面无粉末;

[0028] (2) 重金属待测液提取:向上述沉淀中加入所述沉淀重量1.5%的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶,于55℃下水浴酶解至沉淀完全溶解,150℃下高温灭酶活,即得待测液;

[0029] (3) 重金属含量检测:用酶联免疫检测法检测上述待测液的铅、铬、镉、铜含量。

[0030] 步骤(1)中,所述重金属絮凝剂的制备方法为:向无菌培养液中接种0.8%的苏云金芽孢杆菌,于35℃温度下、180r/min转速下水浴摇床培养3天,得发酵液,将发酵液pH调整为9后,离心,取上清液,于60℃下蒸发浓缩至原体积的1/3,接着加入2倍量的体积浓度为8%的三氯乙酸,搅拌均匀,静置至沉淀析出,离心,去除沉淀,向上层液中加入4体积倍的质量浓度为95%的乙醇溶液,静置至沉淀析出,离心,用质量浓度为90%的乙醇溶液洗涤沉淀5次,冷冻干燥,即得所述重金属絮凝剂。所述培养液包括以下重量份数原料:玉米粉150份、木糖50份、硝酸铵15份、硫酸镁1份、氯化钠0.3份、硝酸钾0.8份、氯化铁0.004份和水1500份。

[0031] 实施例3

[0032] 本实施例一种茶叶重金属含量的检测方法,包括以下步骤:

[0033] (1) 样品前处理:将待测茶叶粉碎至70目,加入9倍量的水中,400W超声处理40min,得处理液,向处理液中加入所述处理液重量26%的重金属絮凝剂混合搅拌均匀,静置至絮状沉淀析出,离心,收集沉淀,用水洗涤至沉淀表面无粉末;

[0034] (2) 重金属待测液提取:向上述沉淀中加入所述沉淀重量1%的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶,于50℃下水浴酶解至沉淀完全溶解,130℃下高温灭酶活,即得待测液;

[0035] (3) 重金属含量检测:用酶联免疫检测法检测上述待测液的铅、铬、镉、铜含量。

[0036] 步骤(1)中,所述重金属絮凝剂的制备方法为:向无菌培养液中接种0.5%的苏云金芽孢杆菌,于33℃温度下、150r/min转速下水浴摇床培养2.5天,得发酵液,将发酵液pH调整为8后,离心,取上清液,于55℃下蒸发浓缩至原体积的1/3,接着加入1.5倍量的体积浓度为6%的三氯乙酸,搅拌均匀,静置至沉淀析出,离心,去除沉淀,向上层液中加入3体积倍的质量浓度为93%的乙醇溶液,静置至沉淀析出,离心,用质量浓度为85%的乙醇溶液洗涤沉淀3次,冷冻干燥,即得所述重金属絮凝剂。所述培养液包括以下重量份数原料:玉米粉130份、木糖40份、硝酸铵13份、硫酸镁0.7份、氯化钠0.2份、硝酸钾0.6份、氯化铁0.003份和水1200份。

[0037] 采用本发明方法和电感耦合等离子体质谱分析法检测同一批茶叶(某市售绿茶),其中,电感耦合等离子体质谱分析法采用的前处理方法为湿法消化法,对比两种方法检测结果,结果见表1:

[0038] 表1铅、铬、镉、铜、砷的含量

项目/组别	实施例 1	电感耦合等离子体质谱分析法
	(mg/kg)	(mg/kg)
[0039] 铅	0.79	0.74
铬	0.08	0.09
镉	0.38	0.32
铜	0.25	0.21
砷	0.01	0.01

[0040] 从表1可知,本发明方法检测结果与传统方法相当,且前处理不需引入强酸,安全、环保,便于操作,优于传统方法。

[0041] 上述说明是针对本发明较佳可行实施例的详细说明,但实施例并非用以限定本发明的专利申请范围,凡本发明所提示的技术精神下所完成的同等变化或修饰变更,均应属于本发明所涵盖专利范围。