

1987. 1—6

〔4〕 联合专家委员会报告, FAO/IAEA/WHO, 1981, 日内瓦。

〔5〕 食品辐照情报, FAO/IAEA, 1985, 维也纳

〔6〕 上海亚太食品辐照国际会议资料, IAEA—SR—

129, 1986。

〔7〕 Hoel F. Sommor, *Hortscience*, 21(3), 1986, 246

〔8〕 Kiss J, *Food Irradiation Newsletter*, 6(2), 1982, 13—16

肉和肉制品中羟脯氨酸含量的测定

中国肉类食品综合研究中心 张燕婉

肉和肉制品中羟脯氨酸(Hydroxyproline, 简称 Hypro)的含量是评价肉品质的重要指标。羟脯氨酸主要存在于肌肉中的结缔组织中。实践已经表明, 对于成年牲畜的肉结缔组织含量与肉的嫩度密切相关, 例如, 含有大量结缔组织的大腿部肉嫩度较差, 而含结缔组织较少的肋肉和腰肉嫩度较高。不同品种之间和不同部位肌肉间的结缔组织含量也存在着很大差异。影响肌肉嫩度的结缔组织主要是由胶原蛋白组成, 而羟脯氨酸又是胶原蛋白中的一种重要氨基酸。所以研究肌肉中羟脯氨酸含量对分析不同牲畜肉的食用价值具有重要的意义。国外研究表明, 羟脯氨酸含量与肌肉嫩度呈负相关性, 最嫩的肌肉背最长肌(俗称通脊肉)中含羟脯氨酸最少, 而在半腱肌中含量要比背最长肌高九倍, 故其嫩度较差^{〔1〕}。

关于肉和肉制品中羟脯氨酸的研究, 国外早有报道, 不少国家都已制定出了检测标准。我国在这方面的研究才刚刚开始, 对于肉嫩度的评价, 目前还是以感官为主, 缺乏严谨的科学手段。本文参考了国外关于检测肉和肉制品中羟脯氨酸含量的先进方法,^{〔2〕}通过对几种肉食品的测定, 综合提出了一种简单易行的测定肉和肉制品中羟脯氨酸含量的方法, 可供有关科研和生产部门使用, 这将为提高我国肉食品质量, 促进肉类工业的发展起到一定的积极作用。

本文介绍的方法, 是先将样品用含有氯化亚锡的盐酸溶液进行水解, 使样品中的羟脯氨酸释放出来。用氯胺 T 将羟脯氨酸氧化, 形成

含有吡咯环的氧化物。再用高氯酸破坏过量的氯胺 T, 中止氧化过程。同时, 使羟脯氨酸氧化物与对二甲氨基苯甲醛反应, 生成红色化合物, 进行比色测定。本方法操作简便, 灵敏度高, 干扰少, 稳定性强, 回收率在 95~105%。

材料与方法

一、样品: 猪胴体不同部位的肌肉, 鲜牛肉及肉制品。

二、试剂与标准溶液: 试剂均用分析纯

1. 6 N 盐酸溶液(含 SnCl_2 0.75%)

2. 10 N 氢氧化钠溶液

3. 1 N 氢氧化钠溶液

4. pH 6 缓冲液: 称取 50g 柠檬酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{D}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 26.3g 氢氧化钠和 146.1g 醋酸钠 [$\text{Na}(\text{CH}_3\text{CO}_2) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$], 用蒸馏水溶解, 并定容到 1000ml。在此混合液中再加入 200ml 蒸馏水, 加入 300ml 正丙醇。此溶液在 4℃ 下可保存几周。

5. 氯胺 T 试剂: 称取 1.41g 氯胺 T($\text{CH}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2 \cdot \text{NClNa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 用 10ml 水溶解, 依次加入 10ml 正丙醇和 80ml pH 6 缓冲液。此溶液用时现配。

6. 显色试剂: 称取 10g 对二氨基苯甲醛, 用 35 ml 高氯酸溶解, 然后缓慢地加入 65 ml 异丙醇。此溶液用时现配。

7. 羟脯氨酸标准溶液:

(1) 标准贮备液: 准确称取 L-羟脯氨酸 50.0mg, 放入 100ml 容量瓶中, 用蒸馏水溶解, 加一滴浓盐, 再用水定容到刻度。此溶液在 4℃

下可保存一个月。

(2)标准应用液:准确吸取5ml标准贮备液,置于500ml容量瓶中,用蒸馏水定容到刻度。混匀后,准确吸取此液10ml,20ml,30ml和40ml,分别置于100ml容量瓶中,用蒸馏水定容,制成四种浓度的标准溶液,其羟脯氨酸的浓度分别为:0.5、1.0、1.5和2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

三、仪器和设备:

1.水解加热装置:水浴器、电热套、电热板

2.恒温加热装置:恒温水浴、恒温烘箱

3.分光光度计:波长范围可在 $558\pm 2\text{nm}$

四、实验步骤:

1.工作曲线的绘制:在四组具塞试管中依次加入不同浓度的羟脯氨酸标准溶液4ml,同时做空白。然后再加入氯胺T2ml,混匀后,在 25°C 左右的温度下反应20分钟。反应后,加入2ml显色剂,盖上盖子,于 60°C 恒温下反应20分钟。反应后,迅速将试管冷却,3分钟后在 $558\pm 2\text{nm}$ 处进行比色测定,绘制工作曲线(见图1)。

2.样品测定

(1)水解:将肉样品反复绞碎,充分混匀。称取4.000g样品,放入250ml三角瓶中,加入6N盐酸(含 SnCl_2)100ml,在加热器上加热,使液面轻沸,接上冷凝管,水解回流16小时,可分两天进行。

(2)转化和测定:将水解完的水解液用滤纸滤入200ml容量瓶中,用蒸馏水定容到刻度。混匀后,吸取5~25ml滤液(V)于烧杯中,用10N、1N氢氧化钠调滤液pH值为8.0(用精密试纸)。将调好的滤液用滤纸滤入250ml容量瓶中(注:滤液一定要透明),用蒸馏水定容到刻度。准确吸取此溶液4ml于具塞试管中,以下操作同工作曲线绘制。根据测得的吸光值,从工作曲线上查得相应羟脯氨酸量,然后按下式计算样品中羟脯氨酸的含量:

$$\text{羟脯氨酸}(\%) = \frac{5C}{W \cdot V}$$

式中: C—从工作曲线中查得相应的羟脯氨酸

含量($\mu\text{g}/\text{ml}$)

V—从200ml容量瓶中吸取滤液的体积数(ml)

W—试样重量(g)

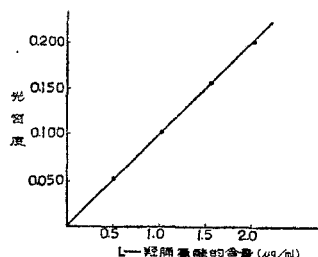


图1 L-羟脯氨酸的工作曲线

结果与讨论

现将羟脯氨酸标准液和几种肉样品的回收率试验结果列于表1。

表1 L-羟脯氨酸测定的回收试验

样 品	样品 Hypro 含量 (mg)	标准 Hypro 加入量 (mg)	测得 Hypro 量 (mg)	标准 Hypro 回收量 (mg)	回收率 (%)
羟脯氨酸标准		5.0		4.9	98.0
鲜 牛 肉	4.7	5.0	9.4	4.9	98.0
鲜猪通脊肉	2.8	5.0	7.8	5.0	100.0
鲜猪股二头肌	5.5	5.0	10.3	4.8	96.0
鲜猪半膜肌	5.1	5.0	10.2	5.1	102.0
火 腿 肠	9.4	5.0	14.3	4.9	98.0

从表1可以看出,此方法测得的羟脯氨酸回收率比较理想,都在95%以上。这说明,样品中的羟脯氨酸在此水解条件下很稳定,不易被破坏。

现将几种肉样品通过进行多次重复测定,对测定数据进行精密度计算的结果列于表2。

从表2可以看出,此方法的精密度较高,结果的重现性较好。

本实验对样品的均匀度要求较高。由于羟脯氨酸在肌肉蛋白质中含量很少,较其他常见的18种氨基酸含量都低,主要存在于结缔组织中为了保证结果的准确性,样品必须充分混匀,特别是对结缔组织多的生肉样品必要时可在

表 2 几种肉样品的重复定量的精密度

样 品	各次测定值 (克/100克样品)	平均值 (%)	标准差	变异系数 (%)
鲜猪通脊肉	0.055 0.053 0.057	0.056	0.002	3.57
	0.057 0.056 0.058			
鲜猪腹横肌	0.197 0.199 0.203	0.202	0.004	1.98
	0.198 0.204 0.208			
鲜猪半膜肌	0.095 0.097 0.101	0.099	0.003	3.03
	0.102 0.097 0.104			
腓 肠 肌	0.334 0.342 0.340	0.339	0.006	1.77
	0.324 0.348 0.345			
火 腿 肠	0.185 0.188 0.189	0.188	0.002	1.06
	0.189 0.185 0.190			

70℃以上加热半小时，使结缔组织充分软化，易于绞碎匀质。

实验发现氧化时的不同温度对本实验结果有一定的影响。我们通过改变氧化时的温度，进行羟脯氨酸含量的测定，其结果见图 2

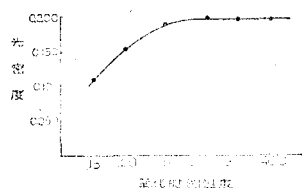


图 2 氧化温度影响曲线

从图 2 可以看出，当氧化时的温度低于 20℃ 以上时，测得的结果较平行，反应最完全。

实验还发现显色反应时的不同温度对本实验结果也有一定的影响。我们通过改变显色时的温度，对羟脯氨酸含量进行了测定，结果见图 3。实验表明，显色时的温度低于 58℃ 时，实验结果明显偏低，温度高于 58℃ 时，结果较平行，反应最完全。

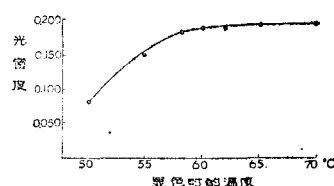


图 3 显色温度影响曲线

关于肉和肉制品中羟脯氨酸的测定，目前国内研究甚少，其测定方法还需进一步探讨和研究。这对提高我国肉食品质量，推动食品科学的发展具有一定的促进作用。

参 考 文 献

- (1) 徐永平译：国外畜牧科技 4:42, 1985
- (2) ISO3496—1978

以改良苯酚酮比色法测定食品中的锡

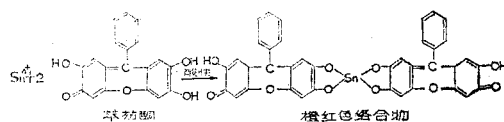
江苏省阜宁县卫生防疫站 高 峻

食品中锡的测定最常用的是苯酚酮化学比色法。但笔者在实验中发现，该法 pH 值不易控制，结果重现性较差。故参考有关资料^[1,2,3]，对原法进行了改进，即以醋酸—醋酸钠缓冲液代替氨水与硫酸来调节、控制 pH 值；以聚乙烯醇代替明胶作为胶体保护剂。经实验证实，改良法的灵敏度、精密度、准确度均较原法为好，且有操作简便、快速等优点。

方法与实验

一、原理：四价锡离子(Sn^{4+}) 在酸性溶液

中与苯酚酮生成微溶性橙红色络合物，在保护性胶体存在下与标准比较定量。



二、仪器与试剂

(一) 仪器

1. 721 型分光光度计 (上海第三分析仪器厂)。

2. 25 毫升比色管。