

乙酰丙酮—甲醛分光光度法测定 肉与肉制品中挥发性盐基氮

张沛玲 李 薇 徐州市卫生防疫站(221003)

摘要 研究采用乙酰丙酮—甲醛分光光度法测定肉与肉制品中挥发性盐基氮。该方法简单,操作方便,氮的浓度在 10~80 $\mu\text{g}/25\text{ml}$ 呈线性,样品经 7 次重复测定,RSD 为 3.42%;平均回收率为 95.2%。

关键词 分光光度法 肉制品 挥发性盐基氮

判定肉与肉制品的新鲜程度,常以测定其挥发性盐基氮作为重要指标,通常采用半微量定氮蒸馏法^{[1][2]}。为免去蒸馏这一繁琐过程,本文介绍了乙酰丙酮—甲醛分光光度法测定氮的含量^[3],该方法无需蒸馏,准确度高、回收率高。

1 材料与方 法

1.1 方法原理

在醋酸盐缓冲液存在的条件下,pH 值控制在 5~6 时,乙酰丙酮—甲醛试剂与待测物反应,生成黄色化合物,颜色深浅与氮的含量在线性范围内成正比,与标准比较进行定量。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 实验仪器:721 型分光光度计;恒温水浴箱。

1.2.2 试剂:硫酸铵标准储备液的配制:精密称取 0.4720g 在 105℃ 干燥两小时的硫酸铵,加少量水溶解后移入 100ml 容量瓶中,加水至刻度摇匀。此溶液每毫升相当于 1mg 氮;硫酸铵标准使用液的配制:吸取 10.0ml 硫酸铵标准储备液置于 100ml 容量瓶中,加水至刻度,此溶液每毫升相当于 100 μg 氮;pH5.61 醋酸钠—醋酸缓冲溶液的配制:称取 8.2g 无水醋酸钠加适量水溶解,再加入 0.5ml 冰醋酸混匀加水稀释至 100ml;乙酰丙酮—甲醛溶液的配制:将 1.5ml 甲醛(360g/l)与 7.8ml 乙酰丙酮混匀,加醋酸钠—醋酸缓冲液稀释至 100ml。

1.3 操作方法

1.3.1 样品预处理

将样品去皮、骨、脂肪、结缔组织后取净肉切碎搅匀,称取 10.00g 置于锥形瓶中加水至 100.0ml,不时振摇,放置 30min 后过滤,吸取 5.0ml 滤液于 100ml 容量瓶中加水至刻度,混匀备用。

1.3.2 测定

吸取 1.00ml 滤液稀释液(约含氮 20~70 μg)置于 25ml 具色比色管中。吸取 0.00、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50、0.60、0.70、0.80ml 硫酸铵标准使用液(相当于 0、10、20、30、40、50、60、70、80 μg 氮),分别置于 25ml 具色比色管中,加水至 10ml。于样品测定管、标准系列管中各加 4ml 乙酰丙酮—甲醛溶液混匀,加水至 25.0ml,摇匀,置沸水浴中加热 15min,取出,置冷水浴中冷却至常温。用 1cm 比色杯,以 0 管调节零点,于波长 412nm 处测吸光度,绘制标准曲线比较。

1.3.3 结果计算

$$X = \frac{A}{m \times \frac{5}{100} \times \frac{V}{50} \times 1000} \times 100$$

X: 样品中挥发性盐基氮的含量(mg/100g)

A: 测得样品中挥发性盐基氮的含量(μg)

m: 样品质量(g)

V: 测定用样品体积(ml)

2 结果与讨论

2.1 溶液的最大吸收峰

按本实验操作,在 721 型分光光度计上,用 30 μg 氮的标准管,在波长 400~420 范围内每间隔 2nm 比色,测其最大吸收峰为 412nm。

2.2 条件试验

2.2.1 显色剂用量的选择

乙酰丙酮—甲醛溶液作为显色剂在加入 4.0ml 时吸收光度值最大。

2.2.2 溶液的发色及稳定性

该显色溶液随温度和时间的增加而加深,采用沸水浴 15min 可获最大吸光度,并保持恒定 30min。

2.2.3 显色剂的稳定性

显色剂不甚稳定,新配制显色剂为淡黄色,久放后颜色加深,测定时吸光度值降低。因此,显色剂配制好之后,应在1~2天内使用。比较结果见表(1)。

表1 显色剂放置天数与吸光度结果比较

时间(天)	1	2	3	4	5	6	7
30 μ g 氮吸光度	0.380	0.380	0.365	0.357	0.340	0.321	0.301

2.3 干扰物质

部分样品制备液中蛋白质可导致溶液混浊,影响比色,但测定过程中沸水加热15min后蛋白质凝固,放冷后用定量滤纸过滤可除去沉淀,定容后比色不影响结果。

2.4 乙酰丙酮—甲醛分光光度法同蒸馏法精密度和回收试验对比

取同一份样品,加入适量标准液(硫酸铵标准使用液20 μ g),经*t*检验结果表明无显著性差异($P > 0.05$)。见表(2)。

表2 分光光度法与蒸馏法精密度和回收试验比较结果

方法	测定次数(n)	测定均值(μ g)	样加标测得均值(μ g)	平均回收率(%)	S	RSD(%)
分光光度法	7	2.69	22.58	95.2	0.062	3.42
蒸馏法	7	2.67	22.54	95.0	0.065	3.60

3 小结

乙酰丙酮—甲醛分光光度法测定肉与肉制品中挥发性盐基氮,其方法简单快速、精密度高、最小检出量都能满足分析工作需要。与蒸馏法相比,测定结果一致。

参考文献

- [1]中华人民共和国国家标准. 食品卫生检查方法理化部分. 中国标准出版社,1998;169
- [2]翟永信. 现代食品分析手册. 北京大学出版社,1988;70
- [3]《水质分析大全》编写组编. 水质分析大全. 科学技术文献出版社重庆分社,1989

·信息窗·

法国新型非活性炭炭疽疫苗研究取得进展

法国巴斯德研究所日前宣告,该所研制的新型非活性炭炭疽疫苗已经过动物实验。目前他们正在寻找合作伙伴,以期尽快做人体实验。

据主持这项研究的法国专家米谢勒·莫克介绍,他们研制的疫苗是在一种特殊蛋白质的基础上生产的,这种蛋白质参与炭疽杆菌所分泌毒素的合成。这位专家解释说,炭疽杆菌所分泌的毒素是使人体发病甚至死亡的主要原因,而现有的抗菌素对其根本无法抵御。她表示,他们研制的非活性疫苗针对的正是这些毒素,在对感染炭疽杆菌的实验鼠做实验后,疗效非常显著。

关于这种疫苗的商业生产,这位专家表示,目前他们的研究还处于动物实验阶段,在商业化生产之前,还需要长期的人体实验。第一步是要保证疫苗对人体没有毒副作用,然后还要验证疫苗对人体的有效性。而所有的过程,至少还需要几年的时间才能完成。

法国专家表示,巴斯德体制改革的初步实验成功对炭疽疫苗研究意义重大,因为长期以来科学界一直没有获得过令人满意的人体疫苗,现有的疫苗不但药效时间短,对人体有许多毒副作用,而且对最威胁人类生命的肺吸入性炭疽疗效也不理想。

据介绍,科学家早在100多年前就已研制成功防治动物炭疽的疫苗,但这些疫苗全部是在弱化的炭疽杆菌的基础上生产的活性疫苗,给人接种后,有使某些人罹患弱化炭疽及出现其他不良反应的危险。因此,许多国家一直禁止在人类炭疽治疗中使用活性疫苗。