

文章编号: 1673 1689(2011)03-0359-04

基于尸胺含量变化的猪肉新鲜度评价方法

钮伟民^{1,2}, 皓小波², 孙秀兰^{2,3}, 张银志³

(1. 无锡市疾病预防控制中心, 无锡 214020; 2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122; 3. 食品科学与技术国家重点实验室 江南大学, 江苏 无锡 214122)

摘要: 新鲜猪肉在贮藏过程中会由于微生物的生长而产生尸胺, 从而使其新鲜度下降甚至致毒, 评价肉的新鲜度对于保护消费者的安全有重要意义。本文建立了一种检测猪肉中尸胺的高效液相色谱方法。采用二元梯度洗脱、荧光检测器进行检测。结果显示该方法线性良好, 最低检出质量浓度为 0.005 mg/L, 检出结果与国际方法报道一致。表明该方法检测尸胺含量可用于猪肉新鲜度的实际评价。

关键词: 猪肉, 微生物, 尸胺, T-VBN

中图分类号: TS 251

文献标识码: A

Evaluation of Freshness of Pork Based on the Different of Cadaverine

NIU Wei-min^{1,2}, HAO Xiao-bo², SUN Xiu-lan^{2,3}, ZHANG Yin-zhi³

(1. Wuxi Center for Disease Prevention and Control, Wuxi 214023, China; 2 School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122 China; 3. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: During the storage of meat, the number of microorganisms and the content of cadaverine were increased with increasing of the storage time. In this study, the fresh meat was putted in the condition of 4 °C for one week, and the curve of the number of microorganism and cadaverine content were detected. The result showed that the cadaverine increases instantly during the storage. The evidence increased begins at the third day, the meat change from fresh to hypofresh. At the fifth day it increased faster, the meat decayed. It shows that cadaverine content has a good relation with T-VBN and microbiology.

Key words: meat, microbiology, cadaverine, T-VBN

猪肉新鲜度的降低主要是由于微生物的分解作用。生猪屠宰后, 猪肉在运输、贮存过程中的微生物数量不断增加。这些微生物可将肉中的蛋白质分解为蛋白胨、多肽, 进一步分解成组氨酸、赖氨酸、鸟氨酸等氨基酸, 进而通过脱氨基作用生成有

臭味的组胺、尸胺、腐胺等生物胺^[1], 从而使人体产生头痛、呼吸紊乱、心血管系统损伤等中毒现象^[2]。检测猪肉的新鲜度, 控制猪肉中微生物和生物胺含量, 有助于市场向消费者提供优质、放心的猪肉。

目前, 用于评价猪肉新鲜度的常用方法是测定

收稿日期: 2010-05-12

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2007BAK36B06)。

作者简介: 钮伟民(1954-), 男, 江苏无锡人, 主任技师, 主要从事卫生理化检验工作。Email: wxcdcnwm@126.com

猪肉中的挥发性盐基氮,这也是国标方法。其它还有电化学法^[3]、生物传感器^[4]、气体传感器^[5]、色彩色差计^[6]等。这些方法大多与国标法检测结果相一致,可用于评价猪肉的新鲜度。本文用液相检测尸胺含量的方法来评价猪肉的新鲜度,结果表明其与国标方法有很好的-致性,而且与肉中的细菌总数变化也有很好的对应性,是一种更为灵敏和全面的新鲜度评价方法。测定尸胺含量可以使用高效液相色谱仪。检测时可以使用紫外检测器或荧光检测器^[7]。考虑到荧光检测器的灵敏度高于紫外检测器,本文采用了带荧光检测器的高效液相色谱法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

尸胺标准品,邻苯二甲醛:购于 sigma 公司,甲醇,乙腈:色谱纯;2-巯基乙醇,四氢呋喃,三乙胺,高氯酸,醋酸钠,氧化镁,硼酸,甲基红,次甲基蓝,盐酸,其他试剂均为分析纯。

猪里脊肉购于江苏无锡石塘街农贸市场,置于 4℃冰箱冷藏,于 1、2、3、4、5、6、7 d 后取样,测定尸胺质量浓度挥发性盐基氮质量分数细菌总数并做感官评定。

1.2 尸胺标准溶液及衍生试剂的配制

标准储备液:称取尸胺标准品 50 mg,用 0.4 mol/L HCl 定容至 50 mL 棕色容量瓶中,配置成 1 mg/mL 的标准储备液,并于 4℃冰箱中储存。取标准储备液,用 0.4 mol/L HCl 配置成终质量浓度为 10 μg/mL 的标准工作液,于 4℃冰箱中储存。

衍生试剂:精确称取 100 mg 邻苯二甲醛溶于 1 mL 乙腈,加入 130 μL 2-巯基乙醇,用 0.06 mol/L 四硼酸钠(pH 11.5)定容至 10 mL,混匀。

流动相:A:醋酸钠-三乙胺-四氢呋喃,体积比为 500:0.12:2.5。

B:醋酸钠-甲醇-乙腈,体积比为 1:2:2。

1.3 样品处理

称取 5 g 猪肉样品,加入 20 mL,0.4 mol/L HCl,匀浆机匀浆,置于冷冻离心机中 4℃,3 500 r/min 离心 10 min,沉淀部分如上法再提取一次,将两次的上清液用 0.4 mol/L HCl 定容至 50 mL^[8]。

1.4 色谱条件

HP Hypersil ODS 柱(125 mm×4.6 mm×5 μm),G1314A 四元泵,G1321A 荧光检测器,激发波长 340 nm,发射波长 450 nm 柱温 40℃,进样量 1 μL,流动相体积流量为 1.0 mL/min,采取二元梯度

洗脱方式,流动相 B 比例在 1~19 min 为(体积分数) 20%,19~20 min 为 80%,20~24.5 min 为 100%,24.5~25 min 为 0%。

1.5 挥发性盐基氮(T-VBN)质量分数测定

按照 GB/T 5009.44-96 使用微量定氮仪测定提取液中的 T-VBN 含量与新鲜猪肉质量比,另取 1 mL 提取液,用纳氏试剂法做定性实验。

1.6 细菌总数测定

无菌操作取样 10 g,用无菌剪刀剪碎到粒径小于 3 mm 的小粒,放入 90 mL 灭菌生理盐水中,用无菌玻璃棒搅拌,配成体积比 1:10 的均匀稀释液。再取 1 mL 上清液,进行 10 倍稀释,选择 3 个合适的稀释度,每个稀释度做一个平行,倾注平板,于 37℃培养 48 h 后取出,进行计数。

2 结果与讨论

2.1 尸胺测定方法的评价

图 1 是样品的梯度洗脱液相色谱图。从图 1 中可以看出,在保留时间 12.987 min 处出现了尸胺色谱峰,通过对尸胺标准工作液进行检测,将尸胺色谱峰面积对其相应浓度进行线性回归计算,得出用荧光检测器测定尸胺的相关系数为 0.999 7,回归方程为 $y = 0.039 7x + 9.583 4$,检出限为 0.005 mg/L。

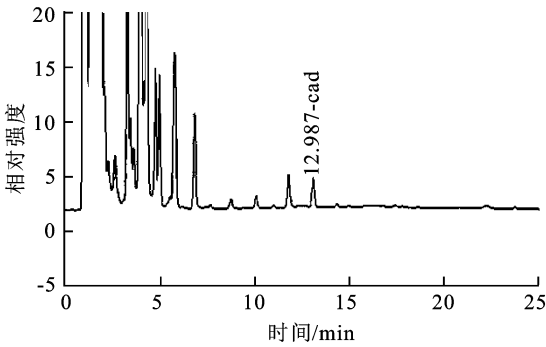


图 1 尸胺样图谱

Fig. 1 Chromatogram of cadaverine

2.2 尸胺测定结果与挥发性盐基氮测定结果的比较

尸胺为蛋白质腐败时赖氨酸在脱羧酶的作用下发生脱羧反应生成。与精氨酸、鸟氨酸的脱羧产物——腐胺都是尸体腐败产生气味中的成分。肉类中尸胺的质量浓度变化可以表示肉类的腐败程度。

图 2 表示了从第 1 天到第 7 天,猪肉中的尸胺质量浓度变化。可以看出,在储藏过程中,尸胺质量浓度不断升高,在第 3 天和第 5 天,猪肉中的尸胺

有突跃式的增加, 可以将第 3 d 和第 5 d 看做猪肉腐败过程中的分界点。

图 3 表示了 7 d 中猪肉中挥发性盐基氮的含量变化趋势, 根据国家标准的规定, 当每 100 g 猪肉中的 T-VBN < 15 mg 时, 为新鲜肉; 当 T-VBN < 25 mg 时, 为次新鲜肉; 当 T-VBN > 25 mg 时, 为变质肉^[10]。从图中可以看出, 第 3 天的 T-VBN < 15 mg, 而第 4 天开始 T-VBN > 15 mg, 所以第 3 天是新鲜肉和次新鲜肉的分界点, 与尸胺的测定结果吻合。

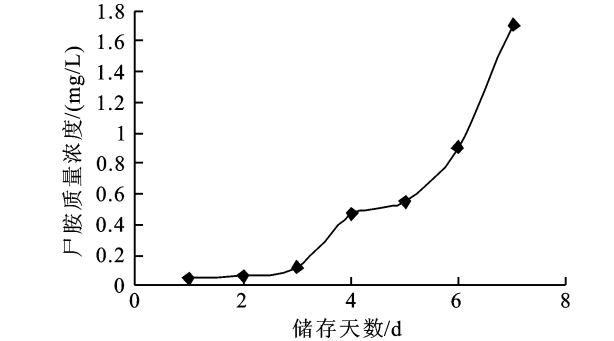


图 2 一周内的尸胺质量浓度变化

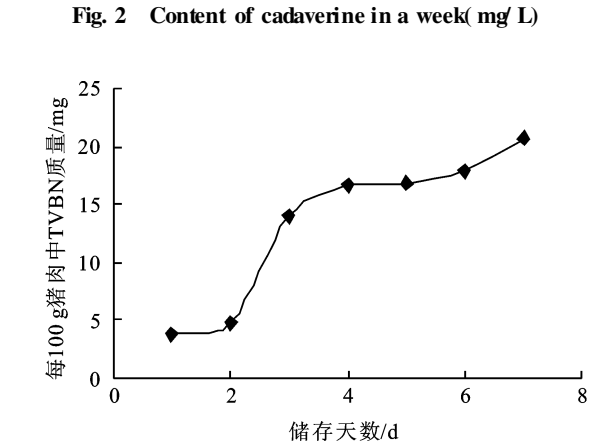


图 3 一周内的 TVBN 质量变化

2 3 尸胺测定结果与微生物测定结果的比较

腐败细菌是猪肉腐败变质的主要因素, 因此细菌总数与猪肉的质量有着密切的关系。

当细菌总数超过 10^5 后, 猪肉开始出现酸味、氨味等品质下降的现象; 当细菌总数超过 10^7 后, 猪肉开始出现腐臭气味、发粘、脂肪变灰等不可食用的感官特征^[11]。图 4 表示了一周内猪肉中细菌总数的变化。

由图 4 可以看出从储存的第 5 天开始, 细菌总数迅速增加, 与图 1 中, 尸胺在第 5 天大幅升很好的对应起来。而图 2 中 T-VBN 的值在第 5 天后并没有明显的增幅, 可见在与微生物数量的对应关系上, 尸胺值比 T-VBN 值更为准确。

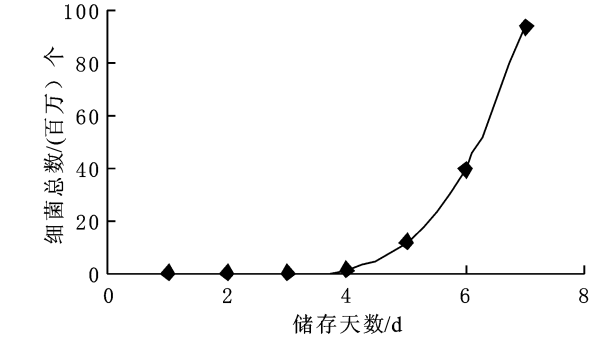


图 4 一周内的微生物含量变化

Fig.4 Total bacterial count of meat in a week
2 4 尸胺测定结果与感官指标的比较

纳氏试剂法是测试氨氮最常用的一种方法, 其基本原理是碘化汞和碘化钾的碱性溶液与氨反映生成淡红棕色胶态化合物, 其色度与氨氮含量成正比, 通常可在波长 410~ 425 nm 范围内测其吸光度, 计算其含量。表 1 给出了样品在一周内普通感官和纳氏试剂法后的感官表现。

表 1 猪肉 4 ℃ 贮藏 7 d 感官指标的变化

Tab. 1 Oranoreptic indicator of meat in a week (stored in 4 ℃)

时间	感官指标	纳氏试剂法
1d	红色均匀, 指压后凹陷立即恢复, 脂肪洁白, 无异味	滴入 10 滴纳氏试剂后, 色微黄, 无混浊和沉淀
2d	红色略有不均, 脂肪洁白, 指压后凹陷恢复慢, 无异味	滴入 10 滴纳氏试剂后, 色微黄, 有微小沉淀
3d	红色不均, 脂肪无光泽, 指压后凹陷不完全恢复, 肌肉色稍暗, 无异味	滴入 10 滴纳氏试剂后色微黄, 有少量沉淀
4d	肌肉色暗, 脂肪无光泽略发黄, 指压后有明显痕迹, 有酸味, 氨味	滴入 10 滴纳氏试剂后, 色黄, 少量沉淀
5d	肌肉色暗, 脂肪色暗, 指压后有明显痕迹, 有氨味和酸味	滴入 5 滴纳氏试剂后, 开始出现少量沉淀, 10 滴后有絮状沉淀
6d	部分脂肪灰白色, 有明显氨味, 脂肪略有臭味	滴入 2 滴纳氏试剂后开始出现沉淀, 10 滴后有较多絮状沉淀
7d	脂肪灰白色, 有臭味, 新切面粘手, 有明显氨味	滴入 2 滴纳氏试剂后有沉淀, 5 滴后沉淀量多, 10 滴后出现较大絮状沉淀溶液为黄色

根据一周内对猪肉的感官评定结果, 从第 4 天开始出现酸味、氨味、肌肉色暗等不宜食用的感官特征, 新鲜的猪肉成为次鲜肉。从第 6 天开始出现臭味、脂肪灰白色、发粘等不可再食用的感官特征, 次鲜肉成为变质肉。尸胺含量在第 4 天和第 6 天的

迅速升高也可以反应这一过程。

3 结 语

利用高效液相色谱柱前自动衍生的方法可以测定猪肉中的尸胺质量浓度,检测限为 0.005 mg/

L,尸胺的质量浓度随猪肉储存时间的延长而增加。尸胺变化趋势与挥发性盐基氮、细菌总数和感官指标的变化都有很好的相关性,本方法的检测灵敏度高、准确度好,是评价猪肉新鲜度更为准确和快速的指标。

参考文献(References):

[1] 薛慧文.肉品卫生监督与检验手册[M]. 北京,金盾出版社. 2003: 437.

[2] 徐振,孟勇,朱志远等. 反相高效液相色谱法(RP- HPLC)测定冷却猪肉中生物胺[J]. 江西农业学报, 2008, 20(8) : 82 – 84.

XU Zhen, MENG Yong, ZHU Zhi yuan, et al. Determination of biogenic amines in chilled pork by reverse phase high performance liquid chroma tography[J]. **Acta Agriculturae Jiangxi**, 2008, 20(8): 82– 84. (in Chinese)

[3] Carsol M A, Volpe G, Mascini M. Amperometric detection of uric acid and hypoxanthine with Xanthine oxidase immobilized and carbon based screen printed electrode. Application for fish freshness determination[J]. **Talanta**, 1997(44) : 2151– 2159.

[4] Ivo Frebort, Lenka Skoupa, Pavel Pec. Amine oxidase based flow biosensor for the assessment of fish freshness[J]. **Food Control**, 2000(11): 13– 18.

[5] Naomi Funazaki, Akihide Henmi, Satoshi Ito, etal. Application of semiconductor gas sensor to quality control of meat freshness in food industry[J]. **Sensors and Actuators B**, 1995(24– 25): 797– 800.

[6] 丁武,魏益民. 色彩色差计在肉品新鲜度检测中的应用[J]. 肉类工业, 2003: 22– 24.

DING Wu, WEI Yi ming. The application of spectrophotometer in meat fresh detection[J]. **Meat Industry**, 2003: 22– 24. (in Chinese)

[7] 孙宁,赵新淮. 高效液相色谱快速测定干酪中 5 种生物胺的改进方法[J]. 中国乳品工业. 2008, 36(7): 50– 53.

SUN Ning, ZHAO Xin huai. Improved method for rapid determination of 6 biogenic amines in cheese with HPLC[J]. **Dairy INDUSTRY**, 2008, 36(7): 50– 53. (in Chinese)

[8] Vinci G, Antonelli M L. Biogenic amines: quality index of freshness in red and white meat[J]. **Food Control**, 2002: 519– 524.

[9] 陈家华. 畜禽及其产品质量和安全分析技术[M]. 北京, 化学工业出版社, 2007: 81.

[10] 刘同岩. 半微量蒸馏法用于肉新鲜度检验[J]. 试验研究, 1995(5): 4.

LIU Tong yan. Semimicro distillation in meat fresh detection[J]. **Test and research**, 1995(5): 4. (in Chinese)

[11] 彭勇, 娄飞, 陈尚武等. 流动注射 化学发光法快速评价冷却猪肉新鲜度[J]. 肉类研究, 2008: 32– 35.

PENG Yong, LOU Fei, CHEN Shang wu. The method of flow injection analysis chemiluminescence to evaluate the fresh degree of chilled pork[J]. **Meat Research**, 2008: 32– 35. (in Chinese)