

自动定氮仪测定水产品中的挥发性盐基氮

陈培基, 李刘冬, 黄 珂

(中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300)

摘要: 采用自动定氮仪测定法研究了罗非鱼 (*Tilapia niloticus*)、蓝圆鲈 (*Decapterus manausi*)、凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 和近江牡蛎 (*Crassostrea rivularis*) 4 种水产样品处理的高氯酸溶液浓度和浸提时间及其蒸馏前样液放置时间对挥发性盐基氮 (TVBN) 测定的影响。结果表明: 以 $0.6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 高氯酸溶液均质样品 2 min 后测定 4 种水产品中 TVBN, 样品加标回收率在 98.42% ~ 100.18% 之间, 相对标准偏差在 1.40% 以下。其测定结果与 GB/T 5009.44 蒸馏法相比, 不存在显著性差异, 且操作简便、快速。

关键词: 自动定氮仪; 水产品; 挥发性盐基氮; 测定

中图分类号: S985.1⁺1; O657

文献标识码: A

文章编号: 1673-2227-(2005)06-0050-05

Determination of total volatile basic nitrogen in aquatic products by nitrogen auto analyzer

CHEN Pei-ji, LILiu-dong, HUANG Ke

(South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China)

Abstract: Four species of aquatic products as *Tilapia niloticus*, *Decapterus manausi*, *Litopenaeus vannamei* and *Crassostrea rivularis* were pretreated by perchloric acid (HClO_4) solution to extract the total volatile basic nitrogen (TVBN), which was determined by nitrogen auto analyzer. The influence of different concentration of HClO_4 solution, extracting time and keeping time of the extract before distillation on determination was studied. The results showed that the recovery was between 98.42% and 101.18%, RSD was below 1.40%, by determining the TVBN in aquatic products after the samples had been homogenized for 2 minutes at $0.6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HClO_4 solution. The result of this method had no significant difference compared with the distillation in GB/T 5009.44, and the operation was easy and rapid.

Key words: nitrogen auto analyzer; aquatic products; TVBN; determination

挥发性盐基氮 (TVBN) 通常作为蛋白性食品新鲜度的化学指标, 鱼类等水产品在腐败过程中, 由于细菌的生长繁殖和酶的作用, 使蛋白质分解而产生胺类及氨等具挥发性的碱性含氮物质, 这些挥发性盐基氮与水产品腐败程度之间有明显的对应关系。因此, 测定水产品中 TVBN 的含量, 有助于判定水产品的新鲜度和确定水产品质量^[1,2]。目前, 水产品中 TVBN 的测定大多采用半微量蒸馏

法^[2-4], 该方法有操作手续繁琐、费时的缺点, 其次在加样蒸馏时, 碱的作用会使反应室内样液剧烈沸腾而发泡, 带有氧化镁颗粒的泡沫往往会污染反应室顶部使其难以清洗。自动定氮仪具有自动加液、蒸馏、吸收和滴定等功能, 操作简单、省时快速、结果准确, 被广泛应用于各类食品和饲料等的蛋白质测定, 而用于水产品中 TVBN 的测定则很少报导。本文通过对 TVBN 自动定氮仪测定法及样品

收稿日期: 2005-07-25; 修回日期: 2005-09-02

作者简介: 陈培基 (1954 -), 男, 副研究员, 从事渔业环境及水产品质量监督检测。E-mail: cpjcx@126.com

处理条件的探讨, 从而建立适合于批量水产品的 TVBN 测定的一种快速而准确的检测方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 高速均质机, 2200 凯氏自动定氮仪和自动滴定仪 (瑞典福斯特卡托公司)。

1.1.2 试剂 高氯酸溶液 (浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8 mol·L⁻¹), 硼酸吸收液 (20 g·L⁻¹), 氢氧化钠溶液 (30 g·L⁻¹), 硅油消泡剂, 混合指示剂 (1份 2 g·L⁻¹甲基红乙醇溶液与 1份, 1 g·L⁻¹次甲基蓝乙醇溶液混合), 硫酸标准溶液 (0.01 mol·L⁻¹), 硫酸铵标准溶液 (含氮量为 100 mg·L⁻¹), 所用试剂均为分析纯, 实验用水为蒸馏水。

1.1.3 样品 罗非鱼 (*Tilapia niloticus*), 蓝圆鲈 (*Decaplenus manadsi*), 凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 和近江牡蛎 (*Crassostrea rivularis*), 全部购于广州市水产市场, 除蓝圆鲈为冷冻品外, 其他为鲜活水产品。

1.2 测定方法

1.2.1 样品处理 将鱼类去鳞、去皮, 沿背脊取肌肉部分切碎; 对虾去头、去壳取肌肉切碎; 牡蛎去壳后取肉和体液一起放入捣碎机内捣碎。称取混匀样品 20.00 g 于均质杯中, 加入 100 mL 不同浓度高氯酸溶液或蒸馏水均质提取, 然后用滤纸过滤或离心分离的方法分离样液。

1.2.2 仪器分析条件 吸收液 (1 L 吸收液含

混合指示剂 8.5 mL) 加入量 30 mL; 加水量 50 mL; 加碱量 20 mL; 蒸馏时间 3 min; 延时 5 s。

1.2.3 蒸馏滴定 准确吸取 20.00 mL 样液于消化管中, 加入硅油消泡剂 2 滴, 将消化管和接收瓶分别插入自动定氮仪上, 关闭安全门, 系统将会按照设定的分析程序, 自动完成吸收液、碱和水的加入, 完成蒸馏和排空消化管的全过程。蒸馏完成后, 降下接收瓶, 用蒸馏水冲洗冷凝管末端。吸收液用 0.01 mol·L⁻¹硫酸标准溶液滴定至溶液呈蓝紫色。同时用 20.00 mL 高氯酸溶液 (其浓度与该样品处理时相同) 或蒸馏水代替样液进行空白试验。

1.2.3 计算方法

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 14}{m \times 20 / 100} \times 100$$

式中: X 为样品中 TVBN 的含量, mg·100 g⁻¹; V_1 为样品消耗硫酸标准溶液体积, mL; V_2 为试剂空白消耗硫酸标准溶液体积, mL; c 为硫酸标准溶液的浓度, mol·L⁻¹; m 为样品的质量, g; 14 为与 1.00 mL 硫酸标准溶液 [c (1/2 H₂SO₄ = 1 mol·L⁻¹)] 相当的氮质量, mg。

2 结果与讨论

2.1 高氯酸溶液浓度的影响

按照 1.2.1 样品处理的方法, 在水产品样品中加入不同浓度的高氯酸溶液, 均质 2 min 进行提取、过滤, 然后测定样品的挥发性盐基氮, 结果见表 1。

表 1 高氯酸浓度对水产品中 TVBN 的测定的影响

Tab. 1 Influence of HClO₄ concentration on TVBN content in muscles of four species

HClO ₄ /mol·L ⁻¹	罗非鱼 <i>T. niloticus</i>		蓝圆鲈 <i>D. manadsi</i>		凡纳滨对虾 <i>L. vannamei</i>		近江牡蛎 <i>C. rivularis</i>	
	过滤效果 filterability	TVBN /mg·(100 g) ⁻¹	过滤效果 filterability	TVBN /mg·(100 g) ⁻¹	过滤效果 filterability	TVBN /mg·(100 g) ⁻¹	过滤效果 filterability	TVBN /mg·(100 g) ⁻¹
0	困难	8.50	困难	19.85	困难	6.55	困难	7.48
0.2	较困难	9.20	较困难	21.60	较困难	7.10	困难	8.01
0.4	较容易	10.15	容易	23.82	较容易	7.95	较困难	8.58
0.6	容易	10.24	容易	23.85	容易	8.10	较容易	8.62
0.8	容易	10.25	容易	23.84	容易	8.12	较容易	8.60

根据表 1, 水产品在水中经均质后, 由于蛋白质等可溶性物质的大量溶出, 在提取液中形成很强

的胶粘性, 影响了提取液的过滤和阻碍了水产品肌肉中 TVBN 析出。随着高氯酸的加入, 样品溶液中

的蛋白质随之发生变性而沉淀, 降低了提取液的粘稠性, 有利于样品过滤及其 TVBN 的溶出。当高氯酸的浓度升至 $0.6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 各种水产品的样品均过滤容易, 而且对 TVBN 的提取也达到了很好效果。

2.2 浸提时间的影响

按照 1.2.1 样品处理的方法, 在水产品样品中加入 $0.6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 高氯酸溶液, 均质 2 min 后再浸提不同时间, 测得的挥发性盐基氮见表 2。

结果显示, 在高氯酸存在下, 样品均质 2 min 就基本上将其全部 TVBN 提出, 所以浸提时间的长短对水产品中挥发性盐基氮的测定结果影响甚小, 因此采用 $0.6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 高氯酸溶液均质样品 2 min

的方法进行样品处理, 可满足不同水产品测定的要求。

2.3 提取液放置时间的影响

提取液中含有丰富的可溶性蛋白质, 在存放过程中因细菌和酶的作用, 容易分解成胺等含氮物质, 使样液中的挥发性盐基氮增高, 从而影响了样品测定结果的准确性, 其影响大小除了与水产品品种有关外, 也与样品提取液的提取方法、放置时间和温度有关。本实验选择罗非鱼、蓝圆鲈 2 种水产品为实验对象, 用 $0.6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 高氯酸溶液均质提取或水浸提的方法处理样品, 所得样品提取液在不同的温度下放置保存, 然后测定不同放置时间 2 种水产品挥发性盐基氮, 结果见表 3。

表 2 浸提时间对水产品中 TVBN 含量测定的影响

Tab. 2 Influence of extracting time on TVBN content in muscles of four species $\text{mg}\cdot(100 \text{ g})^{-1}$

浸提时间 /min extracting time	罗非鱼 <i>T. niloticus</i>	蓝圆鲈 <i>D. manadsi</i>	凡纳滨对虾 <i>L. vannamei</i>	近江牡蛎 <i>C. rivularis</i>
0	10.20	23.95	8.06	8.65
15	10.22	24.00	8.05	8.68
30	10.25	24.04	8.07	8.66

表 3 提取液放置时间对水产品中 TVBN 测定的影响

Tab. 3 Influence of keeping time on TVBN content in aquatic products $\text{mg}\cdot(100 \text{ g})^{-1}$

样品 sample	方法 method	温度 / temperature	放置时间 /h keeping time										
			0	1	2	4	12	24	48	96	144	192	
罗非鱼 <i>T. niloticus</i>	酸法 HClO_4	5	10.30	10.30	10.31	10.33	10.36	10.41	10.50	10.64	10.83	11.40	
		20	10.30	10.32	10.34	10.37	10.52	10.78	11.30	12.42			
		30	10.30	10.35	10.42	10.56	10.75	11.25	12.40				
	水浸提 H_2O	5	10.22	10.24	10.27	10.30	10.45	10.66	11.12	12.78			
		20	10.22	10.32	10.46	10.78	16.63						
		30	10.22	10.38	10.62	11.40							
蓝圆鲈 <i>D. manadsi</i>	酸法 HClO_4	5	23.56	23.57	23.59	23.62	23.72	23.85	24.10	24.67	25.25	26.52	
		20	23.56	23.60	23.66	23.77	24.15	24.73	26.15				
		30	23.56	23.64	23.72	23.91	24.66	25.86	28.43				
	水浸提 H_2O	5	23.50	23.54	23.59	23.68	24.02	24.58	25.74	28.10			
		20	23.50	23.77	24.10	24.81	27.46						
		30	23.50	23.89	24.52	26.06							

注: 提取液中的 TVBN 增加 10% 后不再作测定

Note: TVBN content in extract is not determined after increased by 10%.

由表 3 结果可知, 无论采用高氯酸提取或水浸提的方法处理样品, 2 种水产品的 TVBN 变化是随提取液的放置温度升高和放置时间延长而增高, 且

2 种水产品在放置过程中 TVBN 的变化趋势和速度有类似的规律。但样品处理方法不同, 其提取液的 TVBN 变化差异甚大。如用酸提取的样液在 5 放

置 144 h, 2 种鱼类的 TVBN 分别增加 5.14% 和 7.17%, 而用水浸提的样液在此温度下放置仅 48 h, 2 种鱼类的 TVBN 则分别增加了 8.81% 和 9.53%, 2 种方法的 TVBN 变化速度至少相差 3 倍, 尤其在高温保存时, 这种变化差别更加明显。所以样液在同等温度和条件下保存, 采用酸法提取的 TVBN 的变化速率远比水浸提法的慢, 这表明高氯酸能有效地抑制细菌对样液中蛋白质的分解, 从而达到延长放置时间的目的。本实验按照国标对 2 样测定的相对相差允许 10% 的规定确定样液的放置时间, 即 5 时的放置时间可达 6 d, 20~30 的温度下也可放置 1~2 d。

2.4 准确度

在不同的水产品样品中, 分别加入一定量的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 标准溶液, 按照 1.2 测定方法和实验确定的条件测定加标前后样品的 TVBN 含量, 然后计算其回收率 (表 4)。结果样品的加标回收率在 98.42% ~ 101.18%, 平均回收率为 99.47%, 其方法的准确度符合分析的要求。

2.5 精密度

按照 1.2 测定方法和实验确定的条件对不同水产品样品的 TVBN 含量分别进行 6 次平行测定 (表 5), 结果 6 次测定的标准偏差在 6.80×10^{-2} ~ 12.04×10^{-2} , 相对标准偏差在 1.40% 以下, 其方法的精密度符合分析的要求。

表 4 样品加标的回收率

Tab. 4 Recovery of standard addition material in sample

样品 sample	样品含量 / $\text{mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ content in sample	标准加入量 / $\text{mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ addition of standard material	样品加标后含量 / $\text{mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ content of standard addition material in sample	回收率 /% recovery
罗非鱼 <i>T. niloticus</i>	10.16	20	30.07	99.55
		40	50.26	100.24
		100	108.78	98.62
蓝圆鲈 <i>D. manadsi</i>	23.60	20	43.84	101.18
		40	63.53	99.83
		100	122.70	99.10
凡纳滨对虾 <i>L. vannamei</i>	7.83	20	27.80	99.87
		40	47.60	99.43
		100	106.61	98.79
近江牡蛎 <i>C. rivularis</i>	8.68	20	28.61	99.65
		40	48.24	98.90
		100	107.10	98.42

表 5 样品测定的精密度

Tab. 5 The precision of sample determination

样品 sample	TVBN / $\text{mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$						标准偏差 $S \times 10^{-2}$	相对标准偏差 RSD /%	
	测定值 determine value								
	平均值 average								
罗非鱼 <i>T. niloticus</i>	10.16	10.10	10.28	10.12	10.16	10.23	10.18	6.80	0.67
蓝圆鲈 <i>D. manadsi</i>	23.74	23.60	23.50	23.46	23.70	24.68	23.61	11.36	0.48
凡纳滨对虾 <i>L. vannamei</i>	7.80	7.82	7.95	7.77	7.88	7.96	7.86	7.97	1.01
近江牡蛎 <i>C. rivularis</i>	8.65	8.70	8.52	8.46	8.42	8.68	8.57	12.04	1.40

2.6 方法比较

为进一步验证方法的可靠性。采用 GB/T 5009.44 蒸馏法分别测定水产品中的 TVBN 6 次, 然后与本法测定结果比较, 2 种方法的 TVBN 平均

含量及标准偏差列于表 6。经 t 检验^[5], 4 种样品的检验结果均 $t < t_{0.95}$, 说明 2 种测定方法不存在显著性差异。

表 6 2 法测定样品中 TVBN 含量的比较

Tab. 6 Comparison of TVBN content in sample determined by two methods

样品 sample	方法* method	TVBN /mg·(100 g) ⁻¹	$S \times 10^{-2}$	检验 t -test	显著性 significance
罗非鱼 <i>T. niloticus</i>	本法 GB/T 5009.44	10.18 10.13	6.80 8.02	$t = 1.16 < t_{0.95} = 2.23$	不显著 no significant
蓝圆鲈 <i>D. manadsi</i>	本法 GB/T 5009.44	23.75 23.61	11.36 14.10		$t = 1.89 < t_{0.95} = 2.23$
凡纳滨对虾 <i>L. vannamei</i>	本法 GB/T 5009.44	7.86 7.83	7.97 8.50	$t = 0.63 < t_{0.95} = 2.23$	不显著 no significant
近江牡蛎 <i>C. rivularis</i>	本法 GB/T 5009.44	8.57 8.46	12.04 13.30	$t = 1.50 < t_{0.95} = 2.23$	不显著 no significant

注: 用 GB/T 5009.44 的方法测定时, 由于过滤困难, 改用离心分离的方法分离样液

Note: When the TVBN was determined by the distillation in GB/T 5009.44, the centrifugal separation was used to separate the extract from the sample solution because of the difficulty of filtration.

本法是借助仪器的快速、准确定氮方法, 且在样品处理和样液蒸馏上作了相应的改进, 故本法除了具有较高的测定准确度和精密度外, 还具有如下优点。

(1) 样品处理时间短, 仅均质 2 min 就基本上能使样品中的 TVBN 提取完全。

(2) 过滤容易, 用滤纸直接过滤就能达到很好的过滤效果。

(3) 样液放置时间长, 样液在 5 放置 6 d 或在 20~30 放置 1~2 d 后测定, 几乎不影响测定结果。

(4) 操作简便、快速, 自动定氮仪具有自动加液、蒸馏、吸收和滴定等功能, 测定一份样品只需 5 min 即能得出结果。

(5) 蒸馏改用氢氧化钠溶液加消泡剂, 既能保证样品中挥发性盐基氮的蒸出效果, 又能起到减少或消除泡沫的作用, 不存在氧化镁颗粒污染反应室顶部而造成清洗困难。

性盐基氮的最佳样品处理条件和测定条件, 从而建立了一种适合于水产品中挥发性盐基氮测定的新方法。应用该法测定水产品中的挥发性盐基氮含量, 样品加标回收率在 98.42%~101.18% 之间, 变异系数在 1.40% 以下。其测定结果与 GB/T 5009.44 蒸馏法基本一致, 且操作简便、快速, 更适合于大批量样品的处理和检测。

参考文献:

- [1] 王秉栋. 动物性食品卫生理化检验手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989. 290 - 292.
- [2] 刘福岭, 戴行钧. 食品物理与化学分析方法 [M]. 北京: 轻工业出版社, 1987. 508 - 512.
- [3] GB/T 5009.44-2003. 肉与肉制品卫生标准的分析方法 [S].
- [4] Commission Decision of EC. Fixing the total volatile basic nitrogen (TVB-N) limit values for certain categories of fishery products and specifying the analysis methods to be used [J]. Official J, 1995, L97, 84 - 87.
- [5] 邓勃. 数理统计方法在分析测试中的应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1984. 11.

3 结论

通过试验确定了自动定氮仪测定水产品中挥发