

研究简报

用三甲胺特效电极对海产鱼虾作质量评定^{*}

USE OF A TMA-SPECIFIC ELECTRODE IN DETERMINING THE QUALITY OF MARINE FISH AND SHRIMP

郭大钧^{*} 万建荣^{*} 刘俊荣^{*}

Guo Dajun Wan Jianrong Liu Junrong

三甲胺氮(TMA-N)是评定海产鱼虾鲜度质量的指标之一,通常用苦味酸比色法测定(Dyer, W. J., 1945;桥本芳郎,1957;户沢晴己,1970;Ballard, F. A., 1980;美国公职分析家协会,1984),此法操作较繁琐且测定速度慢。Keay, J. M. *et al.* (1972)和 Ritskes, T. M. (1975)曾用气相色谱法进行测定,但该方法仪器昂贵,不易推广。本研究的目的是寻找一种简便快速且有一定精度的 TMA-N测定法。

七十年代以来离子选择性电极在食品检测中应用的研究为测定鱼体中的 TMA-N 提供了一项新技术。George, W. Chang, 等(1976)进行了三甲胺(TMA)特效电极在鱼类鲜度质量控制中应用的研究, Damoglou, A. P. (1980)用 TMA 特效电极法与其他鲜度测定法作了比较,郭大钧和奚印慈(1982)也曾对此测定法做过初步研究。在此基础上,本次研究选用带鱼(*Trichurus haumela*)、绿鳍马面鲀(*Novadom modestus*)鹰爪糙对虾(*Trachypenaeus cururostris*)为试料,以 Orion 95-12 型氨电极改装的 TMA 特效电极和 Orion 811 型 pH/mV 仪作为测试仪器,考察了 TMA 特效电极测定法的精密度、准确度、与苦味酸比色法的相关关系、回收率以及螯合剂的较适添加量。

材料与方 法

一、试验材料

(一) 冻带鱼 由东海水产研究所提供,1984年7月进冻,共测定了2批样品,分别于冻结后的第3、5、14个月取样。测定时先解冻,然后每种样品采肉剁碎混匀后,称取10克放入90毫升5%三氯醋酸溶液中以高速组织捣碎机捣碎后过滤,此滤液即为电极法和苦味酸比色法测定 TMA-N 的样品液。

(二) 冻绿鳍马面鲀 取80克剁碎的冻绿鳍马面鲀肉加320毫升5%三氯醋酸,用高速组织捣碎机捣碎后过滤,此样品液用于考察测定值的重现性和回收率。

(三) 鹰爪糙对虾 市购冰鲜品,鲜度较差,剥成虾仁洗净,沥水后分装在聚乙烯塑料袋中,每包50克,经-18°C速冻后定时取样测定,每次测定取冻虾仁50克加100毫升20%的三氯醋酸溶液,再加400毫升去离子水,用高速组织捣碎机捣碎后过滤,此滤液为电极法和苦味酸比色法测 TMA-N 的样品液。

收稿年月:1988年9月;1989年1月修改。

*: 张钟兴同志参加过本项研究,致谢意。

*: 上海水产大学 (Shanghai Fisheries University)

*: 东海水产研究所 (East China Sea Fisheries Research Institute)

*: 大连水产学院 (Dalian Fisheries College)

二、苦味酸比色法测定 TMA-N

参照上海商品检验局法(1979)分别采用岛津UV-120-02型分光光度计和上海第一分析仪器厂生产的751型分光光度计,测定标准品和样品液在波长410nm时的光密度,再计算鱼虾样品中的TMA-N含量。

三、TMA特效电极法测定

参照 George, W. Chang (1976)的方法采用 Orion 95-12型氨电极和pNH₃-I型氨电极改装成TMA特效电极,即以0.01M/L的盐酸三甲胺(TMA·HCl)和0.04M/L的氯化钾溶液取代氨电极中原有的内充液,改装成的TMA特效电极与 Orion 811型 pH/mV计以及78-1型磁力加热搅拌器配套使用。测定时采用已知浓度添加法,每次取鱼肉滤液5毫升和37%的甲醛1.5毫升,放入50毫升容量瓶中,用去离子水定容至刻度,倒入50毫升的烧杯中,滴加10N NaOH使pH达到11以上,读取电极电势值。测定过程中测定液始终处于磁力搅拌器的搅拌下。由添加标准液前后的两次毫伏值读数之差(ΔE)查表(Orion Research Incorporated, 1983)或按下式计算Q值,

$$Q = \frac{P}{(1+P)10^{\Delta E/S} - 1}$$

式中: Q——测定液浓度与标准液浓度之比值;

S——在测定液温度条件下电极的斜率;

P——标准液与样品液的体积之比。

由于Q为样品液浓度(C_s)与标准液浓度(C_o)的比值,即Q=C_s/C_o,故已知C_o和Q之后,即可计算C_s,再按下式计算每100克鱼虾肉中TMA-N的毫克数

$$TMA-N(\text{毫克}/100\text{克}) = C_s \times \frac{D}{W} \times 100 \times 14$$

式中: D——样品稀释倍数;

W——样品的重量(克);

14——氮的克当量。

四、相关系数的计算和检验

研究中苦味酸比色法和TMA特效电极法测定值之间相关系数(r)的计算、相关关系显著性检验(F检验)、相关系数显著性检验(t检验)以及标准差(σ_n)的考察均按惯用的数理统计方法(中华人民共和国卫生部,1979;贵州农学院,1980)进行。

五、回收率测定

TMA特效电极法和苦味酸比色法回收率的测定均以标准TMA水溶液添加到绿鳍马面鲷肉浆滤液中进行考察,测定液中含标准TMA-N浓度与肉浆中原含TMA-N浓度之比约为1:1,以已知的TMA添加量与实际测定结果回收量之比作为回收率(%)。

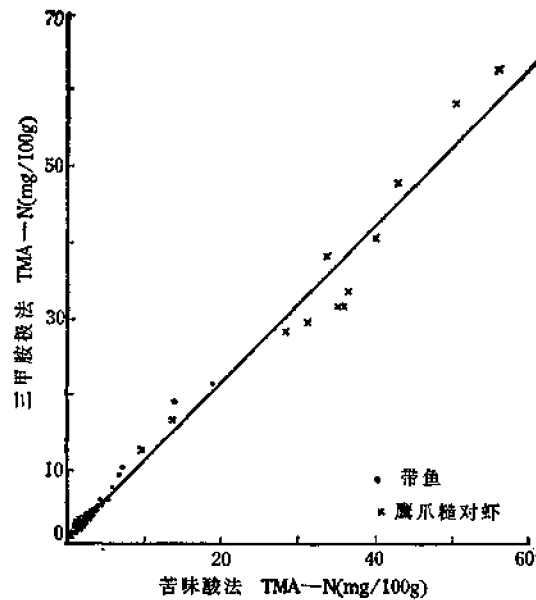
六、确定干扰物质螯合剂添加量的试验

将视作为干扰物的氨(NH₃)、二甲胺(DMA)、甲胺(MA)分别配制成一定浓度的溶液,每种干扰物质均配制6份,每份50毫升,其中分别含有0,0.5,1.0,1.5,2.0和3.0毫升37%的甲醛溶液,用TMA特效电极测其电势,由标准曲线查出其浓度下降的百分率作为螯合率。

结 果

一、TMA特效电极法与苦味酸比色法测定值的相关关系

用 TMA 特效电极法和苦味酸比色法平行测定了两批带鱼和一批鹰爪糙对虾的 TMA-N 值, 其相关关系绘于下图和列于表 1



附 图 三甲胺特效电极法和苦味酸法测定三甲胺氮的相关曲线

Attached fig. The correlation curve of TMA-N between determinations made with the TMA-specific electrode and those made with picric acid method

表 1 TMA 特效电极法和苦味酸法测定 TMA-N 的相关系数

Table 1 The correlation coefficient of TMA-N determined by the TMA-specific electrode and the picric acid methods

试验号	样本种类	样本含量	相关系数	相关关系的显著性检验 (<i>F</i> 检验)	相关系数的显著性检验 (<i>t</i> 检验)
41029	带 鱼	19	0.9974	极 显 著	极 显 著
41219	带 鱼	22	0.9926	极 显 著	极 显 著
5513	鹰爪糙对虾	12	0.9625	极 显 著	极 显 著

从表 1 可见, 不论用带鱼或者鹰爪糙对虾作为试料, 两种方法测定值的相关关系均很好, 两批带鱼试样的相关系数分别达到 0.9974 和 0.9926, 而鹰爪糙对虾的相关系数也达到 0.9625, 总体 3 批 53 组样品相关系数达到 0.9910, 进行相关关系显著性检验 (*F* 检验) 和相关系数显著性检验 (*t* 检验) 后发现, 两种方法所测定的 3 批样品测定值的相关均极显著。

二、实验结果差异性检验和精密度考察

为了检验 TMA 特效电极法的可靠性及考察其精密度,我们用 TMA 特效电极法和常规的苦味酸比色法对鹰爪糙对虾的 TMA-N 含量进行了 10 次平行测定,结果如表 2 所示,

表2 TMA特效电极法和苦味酸法测定鹰爪糙对虾 TMA-N 值(毫克/100克)的比较
Table 2 The comparison of TMA-N value(mg/100g) of *Trachypeneus cururostris* determined by the TMA-specific electrode and the picric acid methods

测定方法	平行测定的序号										标准差 σ_n	95%可信限的测定值范围
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
TMA 特效电极法	40.4	40.4	40.1	39.6	40.2	39.9	39.4	38.8	40.2	39.7	0.48	39.9±0.32
苦味酸比色法	39.9	40.8	40.2	39.6	40.5	44.4	39.7	39.3	41.1	40.2	1.88	40.6±0.86

由表 2 可见,TMA 特效电极法标准差为 0.48mg/100g,比苦味酸比色法标准差 1.88mg/100g 小,对实验结果进行差异性检验 (F 检验)后表明,两者差异显著,即 TMA 特效电极法比苦味酸比色法精密。

三、回收率的考察

为了进一步检验和比较 TMA 特效电极法和苦味酸比色法的准确度和样品引起的干扰程度并再次考察其精密度所进行的回收率测定结果列于表 3

表3 用 TMA特效电极法和苦味酸法测定 TMA-N 的回收率(%)
Table 3 The recovery ratio (%) determined by the TMA-specific electrode and the picric acid methods

测定方法	测定的序号														标准差 σ_n	95%可信限的测定值范围
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
TMA 特效电极法	94.2	94.2	97.0	98.6	99.3	100.9	100.2	101.1	101.1	103.4	105.4	105.5	106.4	106.4	3.98	101±2.08
苦味酸比色法	90.7	93.8	94.4	95.3	95.8	97.5	99.2	102.5	—	—	—	—	—	—	3.35	96.2±2.32

从表 3 的结果可见,苦味酸比色法回收率在 95% 可信限测定值范围为 96.2%±2.32%,而 TMA 特效电极法为 101%±2.08%,两者接近,对此两法进行实验结果差异检验 (F 检验)发现差异不显著,即精密度差别不大,表 3 的结果也表明 TMA 特效电极法的准确度稍好些。

四、螯合剂添加量的确定

与 George, W. Chang, et al. (1976) 的研究结果相似,我们发现 TMA 特效电极对 NH_3 、DMA 和 MA 均有响应,当浓度在 10^{-5} M/L 以下时,用 TMA 特效电极测定 DMA 和 MA 读数达到稳定的时间较长,在同样情况下,TMA 特效电极对 NH_3 的响应却快得多,当上述三种胺(氨)类溶液浓度升高到 10^{-3} M/L 以上时,TMA 特效电极对所有这些胺(氨)类的响应速度均快得多,在 1~2 分钟内读数就可稳定了。Donn, R. Ward, (1979) 和 J. R. Botta, et al. (1984) 均认为鱼虾肉中氨和其他挥发性盐基氮 (VBN) 随鲜度质量下降而增加,显然这些胺(氨)类会干扰 TMA 测定结果,故在用 TMA 特效电极法测

定 TMA 时,我们选用了37%甲醛溶液作为螯合剂,通过试验,其螯合效应如表 4 所示

表4 甲醛对氨(NH₃)、二甲胺(DMA)和甲胺(MA)的螯合效应
Table 4 The chelate effect on ammonia(NH₃),
dimethylamine (DMA) and methylamine (MA) by formaldehyde

测定液中37% 甲醛溶液的添加量(%)	螯 合 百 分 率 (%)		
	NH ₃	DMA	MA
1.0	98.0	99.8	99.6
2.0	98.5	99.6	99.8
>3.0	>99.0	>99.8	>99.8

由表 4 可见,在本研究所采用的测定液浓度范围 ($10^{-2}\text{M}\sim 10^{-5}\text{M/L}$)内, 添加 1.0%的甲醛溶液对 DMA 和 MA 的螯合率已达到99%以上,当甲醛溶液添加量为2.0%时,氨的螯合率也上升至98.5%,若甲醛溶液添加量在3.0%以上时,几种胺(氨)类的螯合率均在99%以上,故可以认为有效而经济的甲醛添加量为2.0~3.0%。

讨 论

1. 以 Orion 95-12型氨电极改制的 TMA特效电极对浓度为 $10^{-2}\text{M}\sim 10^{-4}\text{M/L}$ 的 TMA-N 溶液测定时,电极响应速度快,读数很快就稳定了,在测定液浓度为 $10^{-2}\text{M}\sim 10^{-5}\text{M/L}$ 时,浓度对数与毫伏值之间的线性关系很好,当对浓度为 10^{-1}M/L 的样品液测定时,有少量 TMA逸出而使测定值偏低,对浓度为 10^{-5}M/L 以下的TMA样品测定时,读数稳定较慢,故本法待测液最佳浓度应是 $10^{-2}\text{M}\sim 10^{-4}\text{M/L}$ 。郭大钧和王维嘉(1987)曾用国产氨电极与Orion 95-12型氨电极进行平行测定比较,结果是一致的,其相关系数为0.9968,故我们认为采用本法时也可选用国产氨电极进行改制。

2. 经 3 批53组带鱼和鹰爪糙对虾样品测定结果, TMA 特效电极法与苦味酸比色法测定值的相关系数为0.9625~0.9974,进行相关关系显著性检验(F 检验)和相关系数显著性检验(t 检验)后表明,两种方法测定值的相关极显著。

3. 两种方法平行测定的实验结果差异性检验表明, TMA特效电极法精密度略高于苦味酸比色法,回收率测定结果前者达101%,后者为96.2%,经实验结果差异检验,其精密度的差异性则并不显著,因此,我们认为, TMA特效电极法精密度应等于或略优于苦味酸比色法。

4. TMA特效电极对试样中含有的 NH₃、MA 和 DMA均可响应而干扰测定结果,当待测液中添加 2.0~3.0%的37%甲醛溶液作为螯合剂后,这类干扰可以排除。

5. 电极法测定时,样品经捣碎稀释后可直接用电极测定,也可先经三氯醋酸固定蛋白质后测定滤液,两者测定结果差别不大*。因此,与苦味酸比色法相比,本法简便得多,测定速度也快得多。

6. TMA 特效电极法不必使用苦味酸法测定时所必需使用的昂贵且对人体有害的甲苯,这一点是 TMA 特效电极法的最大优点之一。

综上所述,用 Orion 95-12型氨电极或国产氨电极改装的TMA特效电极测定海产鱼虾体中 TMA-N 含量作为质量指标,其精密度、准确度、回收率等均不比常规的苦味酸比色法差,电极法设备规模小,价

* 郭大钧, 1985. 用氨电极法测定粗氮氮评定鱼虾质量的初探。水产品保鲜加工技术科技攻关项目研究报告之九(鱼类鲜度测定法的研究), 4~23. 上海水产大学。

格便宜,操作简便易于掌握,故可作为鱼品生产质量控制的理化检验方法,也可在肉类鲜度质量研究中使用。这套小型测试设备可以一机多用,除可用于 TMA 测定外,尚可用于 NH_3 (郭大钧等,1988)、粗蛋白质(郭大钧、王维嘉,1987)和 pH 值等的测定。此外,若配以其他种类的离子选择性电极则使用范围还可以进一步扩大。

参 考 文 献

- [1] 上海商品检验局,1970。食品化学分析,215~217。上海科学技术出版社。
- [2] 中华人民共和国卫生部,1979。食品卫生检验方法——理化部分,221~227。技术标准出版社。
- [3] 贵州农学院,1980。生物统计附试验设计,43~53,114~121。农业出版社。
- [4] 美国公职分析家协会(AOAC,中国光学学会光谱专业委员会1986年译),1984。分析方法手册(第14版),607~608。中国光学学会。
- [5] 郭大钧、奚印慈,1982。鱼体中三甲胺含量的一新测定法——气敏电极测定法。水产科技情报,(4):24~25,32。
- [6] 郭大钧、王维嘉,1987。蛋白质简易测定法的研究。海洋渔业,9(1):13~17。
- [7] 郭大钧等,1988。氨电极在鲷鱼和鲑鱼鲜度质量评定上的应用。水产科技情报,(6):3~7。
- [8] 户沢晴巳、榎原和子、天野慶之,1970。DYER法によるトリメチルアミン測定値に対するジメチルアミンの影響。日本水产学会誌,36(6):606~611。
- [9] 桥本芳郎、岡市友利,1957。トリメチルアミン及びトリメチルアミンオキシドの定量法について—DYER法の検討。日本水产学会誌,23(5):269—272。
- [10] Botta, J. R. et al., 1984. Effect of Methodology on total volatile basis nitrogen (TVB-N) determination as an index of quality of fresh Atlantic cod. *J. Fd. Sci.* 49: 734-736, 750.
- [11] Bullard F. A.; Collins, J., 1980. An improved method to analyze trimethylamine in fish and the interference of ammonia and dimethylamine. *Fishery Bulletin*, 78(2), 465-473.
- [12] Damoglou A. P., 1980. *A comparison of different methods of freshness assessment of herring.* Advances in Fish Science and Technology, Edited by J. J. Connel, I, Published by Fishing News Books Ltd, Farnham, Surrey, England.
- [13] Donn R. Ward et al., 1979. Use of specific-ion electrode (ammonia) in determining the quality of shrimp. *J. Fd. Sci.* 44:1052-1057.
- [14] Dyer, W. J., 1945. Amines in fish muscle, 1. Colorimetric determination of trimethylamine as the picrate salt. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 6: 351-358.
- [15] George, W. Chang et al., 1976. Trimethylamine-specific electrode for fish quality control. *J. Fd. Sci.*, 41: 723-724.
- [16] Keay, J. N. and Hardy, R., 1972. The separation of aliphatic amines in dilute aqueous solution by gas chromatography and the application of this technique to the quantitative analysis of tri- and dimethylamine in fish. *J. Sci. Fd. Agric.*, 23: 9
- [17] Orion Research Incorporated Instruction Manual Ammonia electrode model 95-12, 1983.
- [18] Ritskes, T. M., 1975. The gas chromatographic determination of trimethylamine and dimethylamine in fish, fishery products, and other foodstuffs. *J. Fd. Technol.*, 10: 221.