

## 便携式病害猪肉速测仪的研制与应用

张丽梅<sup>1</sup> 王强<sup>1</sup> 余彬彬<sup>1</sup> 胡浩<sup>2</sup> 陈曦\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(厦门大学化学化工学院化学系现代分析科学教育部重点实验室, 厦门 361005)

<sup>2</sup>(厦门纳精技术开发有限公司, 厦门 361003)

**摘要** 基于健康与病害猪肉中过氧化物酶 (POD) 的活性不同的原理, 研制出便携式的病害猪肉速测仪, 用于病害猪肉的检验与鉴别, 以评判猪肉的品质。仪器的工作系统由检测系统和软件系统两部分组成。该检测仪具有操作简便, 检测快速, 可进行现场检测等优点。在对市场猪肉的检测中, 利用测定体系与 POD 的反应动力学曲线, 可快速准确地完成病害猪肉的鉴别, 健康猪肉和病害猪肉的符合率分别为 100% 和 96%。

**关键词** 病害猪肉检测, 便携式速测仪, 酶活性

### 1 引言

我国是世界上最大的肉类生产国和消费国, 其产量和消费量约占全球产量的 1/4。随着生活水平的提高, 肉类食品在人们日常食品消费中所占比例逐渐增加, 同时人们对其质量和卫生要求也进一步增强。目前我国肉类卫生质量状况不容乐观, 市场上的各种肉类来源复杂, 有相当一部分的肉类存在着不同程度的质量和污染问题, 而对有关病害猪肉的检测和鉴别手段还相当欠缺。现今检验和测定市场肉类质量, 特别是对病害猪肉的现场判断, 主要靠市场检疫人员感官检验和定性检测的方法, 如 pH 值测定法<sup>[1]</sup>、硫酸铜沉淀法<sup>[2]</sup>、细菌毒素氧化呈色法<sup>[3]</sup>等, 但这些方法具有较大的主观性和经验性, 缺乏充分的科学依据和数据。因此, 需要研制一种快速的检测猪肉品质的仪器。

为快速准确地进行猪肉健康性的现场检测, 并为猪肉品质判断提供准确的定量依据, 有必要研制便携快速的病害猪肉速测仪。由于健康猪肉和病害猪肉中的过氧化物酶 (POD) 含量存在明显的差异, 病害猪在疾病过程中由于体能的消耗和减弱, 其肉体中的 POD 减少。因此, 通过 POD 含量的检测可以作为猪肉健康与否的重要判据。研究工作利用猪肉浸液中的 POD 与 3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺 (TMB) 相互作用显色<sup>[4]</sup>, 通过研制的便携快速病害猪肉速测仪, 测定吸光度与时间的关系曲线, 获得肉浸液中 POD 的活性, 并依此判断猪肉的品质。利用速测仪进行了市场健康猪肉和饲养场的病死猪肉实际样品的检测, 取得了较高的符合率, 每份样品检测只需要 3 min。同时, 该速测仪还具有便携、功耗低的特点, 适用于市场上猪肉的现场检测。

### 2 实验部分

#### 2.1 试剂与仪器

3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺 (德国默克试剂公司); H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、柠檬酸均为分析纯; 健康猪肉选用合佳生态猪肉 (厦门民惠食品有限公司); 病害猪肉取自福建省内某生猪饲养场; 实验用水为一次蒸馏水。

飞利浦搅拌机 (珠海经济特区飞利浦家庭电器有限公司); 电子天平 (北京塞多利斯天平有限公司); UV7500紫外可见分光光度计 (上海天美仪器有限公司); 自制病害猪肉速测仪 (如图 1 所示)。

2006-08-03 收稿; 2006-09-29 接受

本文系福建省科技计划重点项目 (No. 2004Y012) 资助

\* E-mail: xkher@xmu.edu.cn

## 2.2 仪器的操作流程

仪器的操作流程如图 2 所示。首先是仪器的开启, 仪器接入计算机 USB 口, 初始化 POWER 灯亮后, 进入 PM1010 光度分析系统, 联机后进入开始采集状态。然后进行调零和调标, 调零可采用关闭 LED 灯或在比色槽中放入挡光块, 开 LED 灯放入空白溶液即完成调标。最后, 待完成反应准备阶段且时间到 20 s 时, 按保存按钮开始记录反应动力学曲线, 记录 3 min 停止并自动保存到数据库。

## 2.3 肉浸液的制取和检测

取肉样 50 g 去除脂肪和筋腱, 绞肉机中绞碎。称取 5.00 g 后加入去离子水 50 mL, 搅拌 2 min 后将肉浸液抽滤即得待测样原液<sup>[5]</sup>。

取肉浸液 0.50 mL, 加入 pH 4.80 的  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (0.2 mol/L) - 柠檬酸 (0.1 mol/L) 缓冲溶液 2.0 mL, 0.016 mol/L TMB 0.05 mL, 最后加入  $6 \times 10^{-3}$  mol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$  0.30 mL。加入的同时开始计时, 反应物快速充分混合后, 立即转移至 1 cm 比色皿, 并置于病害猪肉速测仪中, 静置几秒以保证反应物混合至开始测定的时间为 20 s。记录显色过程的动力学曲线, 至 3 min 结束, 对所得动力学曲线进行分析处理。



图 1 病害猪肉速测仪外观图

Fig 1 Appearance of the instrument

## 3 结果和讨论

### 3.1 仪器的结构和仪器的测定原理

仪器由检测系统和软件系统两部分组成。检测系统包括电源、发光二极管、比色槽、光电池、数据采集卡等部件, 软件系统主要包括对数转换、数据处理及保存等部分。

反应过程中, 使用 UV7500 紫外可见分光光度计在 320~700 nm 波长范围内进行波长扫描。在波长扫描范围内出现两个吸收峰, 分别在波长 372 nm 和 670 nm 处, 溶液颜色为蓝绿色, 且吸收峰随时间不断增大, 蓝绿色逐渐加深。反应 3 min 时, 紫外可见吸

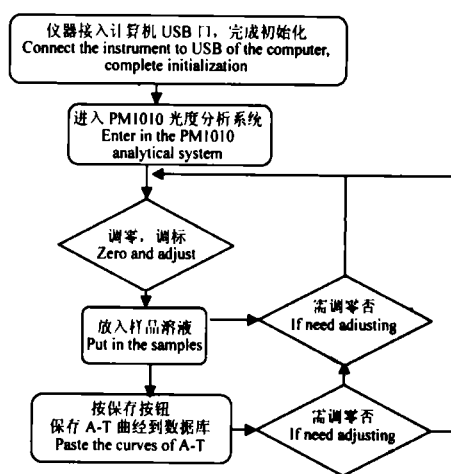


图 2 操作流程图

Fig 2 Procedures of operation

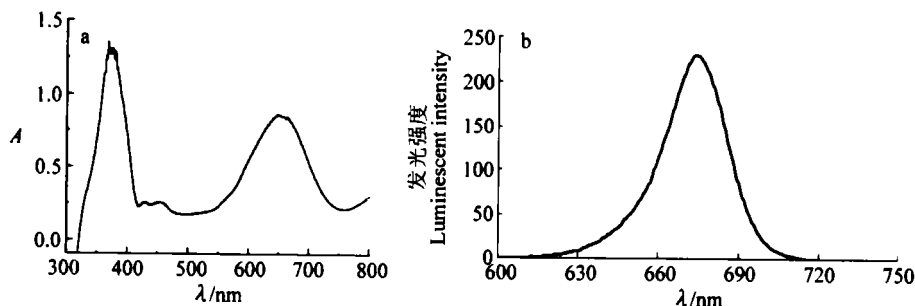


图 3 反应产物吸收光谱和 LED 发光谱图

Fig 3 UV-V is absorption spectrum and low emitting diode (LED) luminescence spectrum

a 反应 3 min 时紫外-可见吸收光谱 (UV-V is absorption spectrum for 3 min in reaction); b. 发光二极管发光特性曲线 (luminescence character of LED)。

收扫描谱图如图 3a 所示。虽然所选定的反应体系的产物在 372 nm 有比较灵敏的吸收峰, 但考虑目前尚无该波长商品化的 LED 器件, 同时选用紫外波段, 对试剂、溶剂的纯度以及测定的比色容器均有较高的要求, 因此仪器选用 670 nm 作为测定波长。速测仪中选用发光角度小, 半峰宽为 40 nm、发射光波长为 670 nm 的高亮度发光二极管, 并通过仪器中的恒流供电, 以进一步提高发光强度的稳定性。光通过

比色槽照射到光电池上,光电池产生的光电流信号由前端放大部分放大,输出  $0 \sim 1\text{ V}$  电压信号,输出的信号由 AD 采集电路采集转化,通过单片机控制,由 USB 接口模块传送到计算机。计算机软件对接收到的信号进行处理、作图并保存。计算机软件通过 USB 接口模块与单片机进行通讯,控制发光二极管的点亮与熄灭,数据传送的开始与停止。速测仪使用的发光二极管发射波长特征曲线如图 3 b 所示。

### 3.2 仪器的性能

由于健康猪肉与病害猪肉中含有的 POD 量有明显的差异,所获得的 POD 与 TMB 反应产物的吸收动力学曲线也有明显的差别。图 4 为实验所得健康与病害猪肉的酶反应动力学曲线图。由图可见,健康猪肉浸液与 TMB 作用产物的量随反应时间的增加而明显增加,其  $670\text{ nm}$  处的吸收值也明显增大;病害猪肉样品反应产物的吸收值的变化不大。反应时间与 POD 活性的关系方程分别为:  $A_1 = 0.2840 + 0.5877T$ ,  $r_1 = 0.9968$ ;  $A_2 = 0.0100 + 0.0010T$ ,  $r_2 = 0.9996$ 。实验发现,前  $1\text{ min}$  内吸光值的变化与时间呈较好的线性关系。若以直线斜率的数值表示 POD 活性,则健康猪肉和病害猪肉的 POD 的活性分别为  $0.5877$  和  $0.0010$ 。检测结果表明,该病害猪肉速测仪对肉样的检测判断可在  $3\text{ min}$  内完成,易于进行现场操作。

便携式病害猪肉速测仪对猪肉 POD 活性的测定有较好的重现性。对同一肉样进行 6 次连续测定,其结果相对标准偏差为  $4.6\%$ 。取 10 份不同的健康猪肉样品,分别使用紫外可见分光光度计 (UV-7500) 和便携式病害猪肉速测仪进行检测对比,由所得的曲线分别获得它们的 POD 活性,结果 POD 活性大小基本相同。以 UV-7500 测得的 POD 活性为标准,计算所得结果的相对标准偏差小于  $3.6\%$ 。

### 3.3 测定条件的优化

**3.3.1 样品处理的方法** 实验考察了脂肪和筋腱中的 POD 的活性。结果表明:脂肪和筋腱中 POD 的活性接近零。由于不同样品所含脂肪和筋腱的量差异很大,对测定结果存在明显的影响,使得测定结果不稳定。因此对样品要先进行前处理,除去脂肪和筋腱。

**3.3.2 pH 及底物浓度** 考察了测定体系的 pH 对 POD-TMB 反应的影响。实验结果表明,POD 活性随着 pH 的变化有明显的改变。pH 高于  $5.50$  或低于  $4.00$  时,POD 活性较小,检测效果差。实验测定多批次不同部位的新鲜健康猪肉浸液的 pH 值,发现肉浸液的 pH 与宰杀方式和肉样部位有明显的关系<sup>[6,7]</sup>,其 pH 的变化范围为  $5.40 \sim 8.00$ 。由于 pH 值显著影响 POD 活性测定以及仪器的检测结果,测定选用 pH 为  $4.80$  的  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  柠檬酸缓冲溶液,以避免肉样 pH 变化带来测量误差。

同时,底物 (TMB) 的浓度对 POD 肉浸液的活性测定也有明显的影响。从图 5 可以看出,对同一肉样,当 TMB 浓度为  $2.80 \times 10^{-4}\text{ mol/L}$  时,测定获得的 POD 活性最高。TMB 浓度继续增大时,获得的 POD 活性略有降低。说明 TMB 浓度过高将抑制 POD 的活性。因此选择 TMB 浓度为  $2.80 \times 10^{-4}\text{ mol/L}$ 。

**3.3.3 测定温度的影响** 温度是影响猪肉 POD 活性的主要因素。酶反应对温度比较敏感,温度既能影响化学反应速度本身,也能影响酶的稳定性,还可能影响酶的构象和酶的催化机制。低温下酶活不能完全表现,而过高的温度又会使酶蛋白变性,丧失酶活<sup>[8]</sup>。由于实验检测的时间较短,温度对反应体系的影响很小,因此所有的实验都在较易控制的室温  $25^\circ\text{C}$  条件下进行。

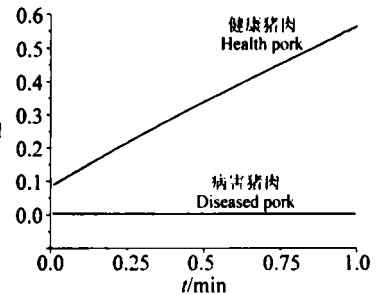


图 4 健康和病害猪肉的酶反应动力学曲线

Fig 4 Progress curves of healthy pork and diseased pork

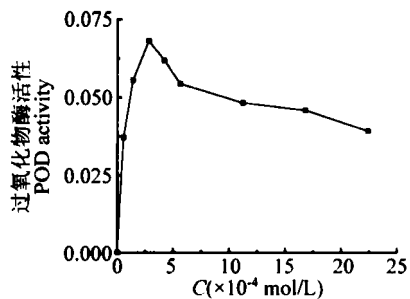


图 5 TMB 浓度与获得的过氧化物酶 (POD) 活性关系

Fig 5 Relationship between the concentration of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) and the activity of peroxidase (POD)

### 3.4 样品检测

利用研制的病害猪肉速测仪样机对 10 批共 50 份病害猪肉和 50 份健康猪肉进行判断, 测得健康和病害猪肉的 POD 活性平均值分别为 0.5198 和 0.00215, 结果的相对标准偏差分别为 2.6% 和 5.7%。检测结果如表 1 所示。样机对健康猪肉检测的符合率为 100%; 病害猪肉检测的符合率为 96%。由于健康猪肉样品中 POD 含量一般都维持在较高的水平, 在检测中所获得的吸光值变化明显, 吸光值的动力学曲线斜率值较大, 因此判断的准确率高。对于病害猪肉样品, 可能由于某些疾病种类的差异, 导致少数病害猪肉样品中 POD 含量的减少不够明显, 引致病害猪肉样品判断的准确率略低于对健康猪肉的判断。

表 1 实际猪肉样品的检测

Table 1 Determination results for pork samples

样品 Sample	检测数(份) Detecting amounts	符合数(份) Nicety amounts	准确率(%) Nicety rate	样品 Sample	检测数(份) Detecting amounts	符合数(份) Nicety amounts	准确率(%) Nicety rate
健康猪肉 Healthy porks	50	50	100	病害猪肉 Diseased porks	50	48	96

### References

- 1 Yin Zhongping(尹忠平), Xia Yanping(夏延平). *Food Safety*(食品安全), **2005**, 26(7): 86~88
- 2 Zhu Jiyin(朱继银), Xu Chao(徐超), He Liangfa(胡良法). *Animal Husbandry And Veterinary Medicine*(检疫检验), **2000**, 21(2): 36~36
- 3 Sun Shuqing(孙淑清). *Meat Hygiene*(肉品卫生), **2003** (11): 23~25
- 4 He Yanan(何亚楠), Chen Hongyuan(陈洪渊). *Chem. J. Chinese Universities*(高等学校化学学报), **1997**, 18(8): 1306~1308
- 5 Jia Songqing(贾松清). *Meat Hygiene*(肉品卫生), **2004** (6): 14~14
- 6 Chen Shigen(陈时根), Zhou Runqi(周润琦). *Enzymology*(酶学). Shanghai(上海): Fudan University Press (复旦大学出版社), **2001**: 221~237
- 7 Leah A. Marquez H. *Brin Dunford. Biochemistry*, **1997**, 36(31): 9349~9355
- 8 Zhou Yueming(周远明), Liu Junhong(刘均洪). *Analysis and Detection*(分析与检测), **2003** (1): 41~44

## Development and Application of the Portable Diseased Pork Detector

Zhang Limei<sup>1</sup>, Wang Qiang<sup>1</sup>, Yu Bin-Bin<sup>1</sup>, Hu Hao<sup>2</sup>, Chen Xi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(Department of Chemistry and the Key Laboratory of Analytical Sciences of Ministry of Education,  
College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005)

<sup>2</sup>(Nanjing Technical Limited Company of Xiamen, Xiamen 361003)

**Abstract** Based on the differences of enzyme activity in the muscles of healthy and diseased pork, a portable analytical instrument for the detection of pork quality was developed. The instrument composed with hard and softwares has been applied to the detection of pork in the market. According to the response curves obtained, the diseased pork could be identified fast and accurately. The coincident rate with the actual facts was around 100% and 96% for the healthy and diseased pork, respectively.

**Keywords** Diseased pork detection, portable instrument, enzyme activity

(Received 3 August 2006; accepted 29 September 2006)