

ICS 67.040
X 04



GB/T 9695.23—2008/ISO 3496:1994

——为计算公式增加了编号。

本部分代替 GB/T 9695.23—1990《肉与肉制品 L(—)-羟脯氨酸含量测定》。

本部分与 GB/T 9695.23—1990 相比主要修改如下：

GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第4部分：化学分析方法》进行了结构调整和文字修改；

- 用硫酸溶液代替氯化亚锡盐酸溶液水解样品；
- 修改了氯胺 T 溶液和显色剂的配制；
- 改动了试样前处理和测定操作；
- 用第 10 章“精密度”及其内容代替第 9 章“允许差”及其内容；
- 增加了“试验报告”一章。

本部分由全国肉禽蛋制品标准化技术委员会提出并归口。

本部分起草单位：中国商业联合会商业标准中心、国家加工食品质量监督检验中心(广州)、广州市产品质量监督检验所。

本部分主要起草人：郭新东、邓穗兴、罗海英、洗燕萍、杜志峰、吴玉鉴、靳晓蕾。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 9695.23—1990。

肉与肉制品 羟脯氨酸含量测定

1 范围

GB/T 9695 的本部分规定了肉与肉制品中羟脯氨酸的测定方法。

本部分适用于肉与肉制品中含量低至 0.5% (质量分数) 的羟脯氨酸的测定。

下列术语和定义适用于 GB/T 9695 的本部分。

2.1

肉与肉制品羟脯氨酸含量 hydroxyproline content of meat and meat products

在本部分规定的条件下测定的羟脯氨酸的含量。

羟脯氨酸含量用质量分数表示。

3 原理

用硫酸于 105 °C 水解试样, 过滤、稀释水解产物。羟脯氨酸经氯胺 T 氧化后, 与对二甲氨基苯甲醛反应生成红色化合物, 在 550 nm 处进行比色测定。

4.5 羟脯氨酸标准溶液

4.5.1 标准储备液

称取 50 mg 4-羟基- α -吡咯甲酸(羟脯氨酸)于 100 mL 容量瓶中,用水溶解,加一滴硫酸溶液(4.1),用水定容。该溶液于 4 °C 下可稳定存放 1 个月。

4.5.2 标准工作液

称取 5.00 mL 上述标准储备液至 500 mL 容量瓶中,用水定容。分别吸取该溶液 10.00 mL

20.00 mL、30.00 mL、40.00 mL 于 100 mL 容量瓶中,用水定容,所得标准工作液浓度依次为 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、1.5 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 。临用前配制。

5 仪器和设备

实验室常规仪器及下列仪器。

- 5.1 电动绞肉机:带水平刀片,能高速旋转。
- 5.2 圆底或平底烧瓶:容量约为 200 mL,宽颈。
- 5.3 干燥箱:可控温于 105 °C \pm 1 °C。
- 5.4 圆形滤纸:直径为 12.5 cm。
- 5.5 pH 计。
- 5.6 铝箔或不透明塑料薄膜。
- 5.7 水浴锅:可控温于 60 °C \pm 0.5 °C。

8 分析步骤

8.1 试样

称取 4 g 试样(精确至 0.001 g)于烧瓶(5.2)中,避免试样粘在烧瓶壁上。

8.2 水解

8.2.1 量取 30 mL±1 mL 硫酸溶液(4.1),加入烧瓶中,用表面皿(5.12)盖住,于 105 °C 干燥箱内(5.3)恒温 16 h。

8.2.2 用圆形滤纸趁热将水解产物过滤至 250 mL 容量瓶(5.11)中。用 10 mL 硫酸溶液(4.1)分三次洗涤烧瓶和滤纸,合并至上述容量瓶中。用水定容,摇匀。

8.3 测定

8.3.1 用移液管移取一定体积(V)的水解产物(8.2.2)至 250 mL 容量瓶(5.11)中,定容后羟脯氨酸的浓度在 0.5 μg/mL~2 μg/mL 之间。

注:移取体积取决于样品中结缔组织的含量。通常情况下,移取的水解产物体积(V)在 5 mL~25 mL 之间。

8.3.2 移取 4.00 mL 上述溶液(8.3.1)于比色管中,加入 2.00 mL 氯胺 T 试剂(4.3),混合后于室温下放置 20 min±1 min。

8.3.3 加入 2.00 mL 显色剂(4.4)于比色管中,充分混合,用铝箔或塑料薄膜(5.6)将比色管封口。

8.3.4 将比色管迅速放入 60 °C 水浴(5.7)中,加热 20 min。

8.3.5 取出比色管,用流动水冷却比色管至少 3 min,在室温下放置 30 min。

8.3.6 用水作参比,于 558 nm±2 nm 处用分光光度计或光电比色计(5.8)测定吸收值。

8.3.7 扣除空白溶液的吸收(8.4),从 8.5 所得标准曲线查得水解产物中羟脯氨酸的含量。

8.4 空白测试

用水代替稀释溶液,重复 8.3.2 至 8.3.7 的操作。

注:若空白溶液的吸收值超过 0.040,则需重新配制显色剂(4.4),如有必要,需纯化对二甲氨基苯甲醛液(见 4.4)。

8.5 标准曲线

8.5.1 用 4.00 mL 羟脯氨酸标准工作液(4.5)依次代替稀释后的水解产物,进行 8.3.2 至 8.3.7 的操作。

8.5.2 以扣除了空白的标准工作液的吸光度为纵坐标,以相应的浓度为横坐标,绘制标准曲线。

再次分析应重新绘制标准曲线。

9 计算

试样中羟脯氨酸的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{6.25c}{m \times V} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X——试样中羟脯氨酸的含量,%;

c——由标准曲线得到的试样溶液中羟脯氨酸的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

m——试样质量,单位为克(g);

V——从 250 mL 容量瓶中吸取滤液的体积(见 8.3.1),单位为毫升(mL);

计算结果保留至小数点后两位。

10 精密度

方法的精密度是根据 ISO 5725 组织的联合实验室测试获得的。对于重复性限 *r* 和再现性限 *R*,置信度均为 95%。

10.1 重复性

同一分析者在同一实验室、采用相同的方法和相同的仪器、在短时间间隔内对同一样品独立测定两

次。两次测试结果的绝对差值不超出由式(2)求得的重复性限 r ：

$$r = 0.0131 + 0.0322\bar{X} \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中：

r ——重复性限，%；

\bar{X} ——两次测试结果的平均值，%。

如果两次测试结果的绝对差值超过重复性限值，舍弃这两个结果，重新测定两次。

10.2 再现性

不同的分析者采用相同的方法、在不同的实验室用不同的仪器、对同一样品独立测定两次。两次测试结果的绝对差值不超出由式(3)求得的再现性限 R ：

$$R = 0.0195 + 0.0529\bar{X} \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中：

R ——再现性限，%；

\bar{X} ——两次测试结果的平均值，%。

11 试验报告

试验报告应说明：

——取样方法；

——所采用的方法；

——测试结果；

——如果检验了重复性，列出最终结果。

试验报告也应说明本部分未规定或未列为可选的所有操作，以及可能影响测试结果的其他因素。

试验报告还应包括所有与识别样品有关的必需信息。

参 考 文 献

- [1] GB/T 9695.19 肉与肉制品 取样方法
 - [2] GB/T 6379.1—2004 测量方法与结果的准确度(正确度和精密度) 第1部分:总则与定义 (ISO 5725-1:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 1; General principles and definitions, IDT)
 - [3] GB/T 6379.1—2004 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第2部分:确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法 (ISO 5725-2:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 2; Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method, IDT)
-