

猪肺胶原蛋白含量的测定

李小勇 李洪军

(西南大学食品科学学院 重庆 400716)

摘要：胶原蛋白是细胞外基质(ECM)的主要成分，对维持皮肤、血管壁弹性，保持毛发、指甲柔软亮泽，提高软骨等的润滑性都有重要作用。由于其独特的理化性质、优良生物相容性，在许多领域得到了广泛应用。本文旨在通过测定猪肺中胶原蛋白含量的多少，看从猪肺中提取胶原蛋白是否具有可行性，为综合利用猪肺寻找一个新的途径。

关键字：猪肺；胶原蛋白

Abstract: Collagen is the main component of extra-cellular matrix (ECM). It is of very importance to maintain the flexibility of skin and blood vessel, keep hair and nail soft and lustrous, improve the lubricative property of cartilage, too. Collagen has gained an extensive application in various fields for its unique physiochemical property and excellent biocompatibility. This article's purpose is via measure the quantity of the collagen in pig lung to find the new approach to all-around utilize the pig lung.

Key Words: pig lung; collagen

胶原蛋白(也称胶原)是细胞外基质(ECM)的主要成分，约占胶原纤维固体物的85%，占体内蛋白质总量的25%~30%，相当于体重的6%。胶原蛋白中含有大量的甘氨酸，约占总氨基酸的27%，其一级结构均为“Gly-X-Y”重复序列，脯氨酸和羟脯氨酸的含量也特别高，分别占14%左右，后两种是胶原蛋白质的特有氨基酸，而色氨酸、酪氨酸以及蛋氨酸等必需氨基酸含量低，因此，胶原蛋白属不完全蛋白质^[1、2、3、4]。

由于胶原蛋白独特的理化特性、优良生物相容性，在医学、食品、保健品、化妆品等许多领

域得到了广泛应用。

我国是养猪大国，2004年猪肉产量为4827万吨，按猪肺占1%的比例计算，每年我国要产出48万吨左右的猪肺，而这些副产物目前主要是用来做饲料，有许多屠宰场甚至根本没有利用这部分副产物，既浪费资源，又污染环境。

从猪皮中提取胶原蛋白已经研究得很多了，而从猪肺中提取胶原蛋白还从未见报道，因此，本文就旨在通过测定猪肺中胶原蛋白含量的多少，看从猪肺中提取胶原蛋白是否具有可行性，为综合利用猪肺寻找一个新的途径。

1 材料与方法

1.1 原料

猪肺 购自重庆北碚天生农贸市场

1.2 主要试剂与药品

高氯酸 四川成都化学试剂厂(AR)

异丙醇 重庆川东化工集团有限公司(AR)

正丙醇 天津市光复精细化工研究所(AR)

氯胺T 天津天泰精细化学品有限公司(AR)

氢氧化钠 重庆川东化工集团有限公司(AR)

盐酸 国营重庆无机化学试剂厂(AR)

L(-)-羟脯氨酸 上海康达氨基酸厂(AR)

柠檬酸 重庆川东化工集团有限公司(AR)

无水乙醚 上海马陆制药厂(AR)

对二甲氨基苯甲醛 上海试剂三厂(AR)

其它为实验室常规试剂

1.3 主要仪器设备

数显恒温水浴锅 金坛市富华仪器有限公司

722S紫外分光光度计 上海分析仪器厂

电热鼓风干燥箱 重庆银河试验仪器有限公司

其它为实验室常规仪器设备

1.4 试验方法

蛋白质含量的测定^[5]：凯氏定氮法；

总脂肪含量的测定^[6]: 索氏抽提法;

水分含量的测定^[7]: 直接干燥法;

猪肺胶原蛋白含量的测定^[8]: 按 GB9695.23-90《肉和肉制品中 L(-)-羟脯氨酸含量测定》进行测定, 此标准等效于 ISO3496-1978《肉和肉制品中 L(-)-羟脯氨酸含量测定》。

2 试验结果与分析

2.1 猪肺基本组成成分含量测定

经测定猪肺基本组成成分如表 1。

表 1 猪肺基本组成成分

测定指标	测定值 (湿重计)	参考值 ^[9]
总蛋白	12.09%~12.92%	12.2%
粗脂肪	2.85%~3.26%	3.9%
水分含量	82.84%~83.49%	83.1%

从测定结果来看, 总蛋白含量和水分含量与参考值差别不大, 而粗脂肪含量略低于参考值, 分析其主要原因可能是因为, 从猪肺的结构来看, 肺叶部分脂肪含量较少, 而气管部分周围包裹得有较多脂肪, 本试验从市场购买的猪肺都不含有猪肺上部的气管部分, 从而使得测定结果比参考值略低, 属于正常现象。

2.2 猪肺胶原蛋白含量的测定

胶原蛋白的定量包括很多方法, 如: 化学法、物理法、组织化学法、免疫化学法、氨基酸分析仪器分析法^[1、10]。因胶原蛋白含大量的羟脯氨酸是这类蛋白质特有的性质, 所以常以定量羟脯氨酸的方法来定量胶原蛋白。本试验按 GB9695.23-90《肉和肉制品中 L(-)-羟脯氨酸含量测定》来定量猪肺中胶原蛋白的含量。

测定原理是: 猪肺在氯化亚锡的盐酸溶液中水解, 释放出羟脯氨酸, 经氯胺 T 氧化, 生成含有吡咯环的氧化物, 用高氯酸破坏过量的氯胺 T。羟脯氨酸氧化物与对二甲氨基苯甲醛反应生成红色化合物, 在波长 558nm 处进行比色测定。

一般羟脯氨酸占胶原蛋白干重的 14% 左右, 但随组织来源、部位甚至测定方法而改变, 如软骨中就约占 10% 左右^[11], 人们对陆生动物常用 7.1 作为换算系数^[12], 水生动物则多采用 11.1^[13], 而秦玉青研究鱿鱼皮胶原蛋白时则用 14.1 作为换算

系数^[10]。

2.2.1 L(-)-羟脯氨酸标准曲线的绘制

吸取 5ug/ml 的 L(-)-羟脯氨酸标准工作液 0.00、10.00、20.00、30.00、40.00ml 分别置于 100ml 容量瓶中, 定容摇匀。浓度分别为 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0 μg/ml。取不同浓度的上述溶液 4.00ml, 分别加入 20ml 具塞试管中, 加氯胺 T 溶液 2ml, 摇匀后于室温放置 20min。加入显色剂 2ml, 摇匀, 塞上塞子于 60℃ 恒温水浴锅中保温 20min 后取出, 迅速冷却, 在波长 558nm 处测定吸光值, 绘制标准曲线。吸光度(y)与 L(-)-羟脯氨酸浓度(x)的线性关系为 $y=0.2136x-0.0052$ ($R^2=0.9993$), 标准曲线如图 1。

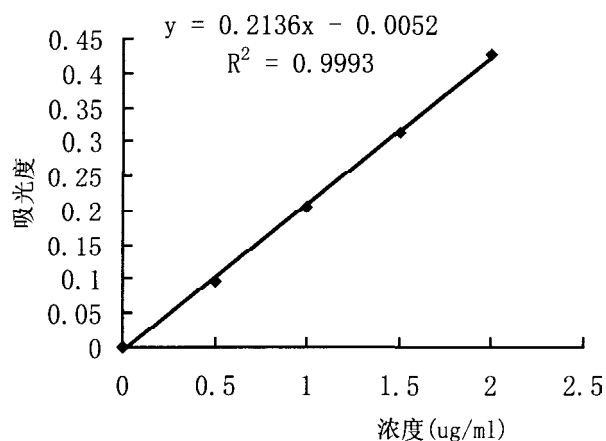


图 1 L(-)-羟脯氨酸标准曲线

2.2.2 猪肺中胶原蛋白含量的测定

根据公式 $C = \frac{5x}{mV_1}$ 计算出猪肺中 L(-)-羟脯氨酸的含量在 0.428%~0.451% 之间, 乘以换算系数 7.1 得本试验方法条件下测得的猪肺中胶原蛋白含量为: 3.04%~3.20%。

x — 从标准曲线上查得相应的 L(-)-羟脯氨酸量, (ug/ml)

m — 称取猪肺的质量, (g)

V_1 — 从 200ml 容量瓶中吸取滤液的体积 (ml)

从目前查阅的资料来看, 目前还没人专门测定过猪肺中胶原蛋白的含量, 根据《食物成份表 (全国代表值)》提供的猪肺中甘氨酸的值为 1226mg/100g^[9], 胶原蛋白中甘氨酸约占 1/3, 由此推出猪肺中的胶原蛋白含量为 3.678%。本试验测得的值与该值有一定的出入, 可能的主要原因是因为, 本试验从市场购买的猪肺都不

含有猪肺上部的气管部分,而气管部分属软骨组织,其胶原蛋白含量占干重的70%以上,从而使得总的测定值略偏低。

3 结论

从本试验条件下的试验结果来看,猪肺胶原蛋白含量在3.04%~3.20%之间,虽与猪皮相比有很大的差距,但如果猪肺用来提取胶原蛋白,按50%的提取率计算,一个1kg重的猪肺能提取出15g左右的胶原蛋白,而提取成本却非常低,对其基本理化特性进行研究之后,用在保健品、医疗产品或化妆品中,增值至少在10倍以上,提取之后的残渣还可再次用来加工成各种饲料,从而真正的达到综合利用猪副产物,又减少环境污染;猪肺基本组成成分的测定又为猪肺胶原蛋白提取的除脂肪与杂蛋白等前处理提供了依据,因而从猪肺在提取胶原蛋白具有可操作性。

参考文献

- [1] 周光宏.畜产品加工学[M].中国农业出版社 2003.
- [2] 永井 裕.藤本大三郎(编)刘平(译).胶原

蛋白实验方法[M].上海中医学院出版社,1992.

- [3] 蒋挺大,张春萍.胶原蛋白 [M],化学工业出版社,2001.1.
- [4] 刘成海.肝脏胶原蛋白检测进展与评析[J],世界华人消化杂志,2003.6 : 679~692.
- [5] GB/T 5009.5-2003《食品中蛋白质的测定》[S].
- [6] GB/T 5009.6-2003《食品中脂肪的测定》[S].
- [7] GB/T 5009.3-2003《食品中水分的测定》[S].
- [8] GB9695.23-90《肉和肉制品中L(-)-羟脯氨酸含量测定》[S].
- [9] 中国预防医学科学院,营养与食品卫生研究所.《食物成份表(全国代表值)》[M],人民卫生出版社,1991.8:30~31 & 74~75.
- [10] 秦玉青.鱿鱼皮胶原蛋白的提取和利用研究[D].上海水产大学,2002.6.
- [11] 穆畅道.胶原蛋白的提取及其生物膜材料研究[D].四川大学,2003.5.
- [12] Robert E. Etherington Trevor J. Sims. Detection and Estimation of Collagen[J] Sci Food Agricul,1981,32:539~546.
- [13] 日本食品工业学会《食品分析法》编辑委员会编,郑州粮食学院《食品分析法》翻译组译.《食品分析方法(下)》[M],四川科学技术出版社,1986.3:74~77.

“无抗”猪肉广州走俏

近日,湖南双峰县利源生态发展有限公司一辆装有120头“无抗”生猪的加长货车,缓缓驶进了广州天星河食品有限公司屠宰场,这批“无抗”猪肉首次在当地各大超市上市,成为市民争相购买的抢手货,这是湘粤两省互利合作、共同打造生猪绿色品牌得到的回报。这一成果也为湖南生猪的发展提供了一个典范。

作为农业产业化龙头企业的双峰县利源生态发展有限公司,经农业部批准为娄底市无公害生猪生产基地,在第98届广州交易会 and 湘粤农产品经贸洽谈会上,该公司先后与广州天星河食品有限公司、广州维康佳饲料有限公司签订合作协议,联合开展“无抗”(不喂任何抗生素和违禁药物)生猪生产技术和市场开发,采用广东省畜牧技术推广总站林树斌博士精心研制的“无抗”预混饲料喂猪,

联手打造年产80万头“无抗”猪生产基地,并与各养殖户签订产销协议书,经广东省农业部门批准,该公司“双利”牌无抗生猪已取得在广东销售的市场准入资格。

“无抗”猪肉在广州销售形势很好,仅麦德龙超市一家,就销售了1000多公斤。

市畜牧水产局局长王中平在接受记者采访时说,娄底市“无抗”生猪实行品种、饲料、防疫、检测、价格和收购“六统一”,目前立足于广州市场,今后将拓展深圳和港澳市场,每年有近10亿元的销售收入,可带动20万农民脱贫致富。

近一段时间来,湖南生猪瘦肉精超标的事件屡屡被曝光,给当地生猪的发展蒙上了阴影,娄底市“无抗”猪肉成功入穗的做法无疑给该省养猪业的发展上了生动的一课。