

# 离子色谱法测定燕窝中的多聚磷酸盐

高志亮<sup>1,2</sup>, 李志煌<sup>1</sup>, 范群艳<sup>3</sup>, 黄丹艳<sup>3</sup>, 周 昱<sup>1</sup>, 刘光明<sup>2</sup>, 徐敦明<sup>1,2\*</sup>

(1. 厦门出入境检验检疫局, 厦门 361012; 2. 集美大学生物工程学院, 厦门 361021;  
3. 厦门市丝浓食品有限公司, 厦门 361101)

**摘要:** **目的** 利用离子色谱(IC)建立一种可以一次进样同时分离测定燕窝中的正磷酸盐、焦磷酸盐、三聚磷酸盐和三偏磷酸盐的分析方法。**方法** 将燕窝磨成粗粉,经超声萃取,再用氯仿沉淀蛋白,过 C<sub>18</sub> 柱后采用 AS11-HC 离子色谱柱(4 mm×250 mm),流动相为 NaOH 和超纯水,梯度洗脱,流速为 1.0 mL/min,电导抑制检测。**结果** 该方法在 0.5~100 mg/L 范围内有良好的线性关系,相关系数均大于 0.9996,在添加实验中,方法的回收率在 89.5%~106.3%之间,相对标准偏差为 0.9%~7.3%。正磷酸盐、焦磷酸盐、三聚磷酸盐和三偏磷酸盐的检测限分别为 0.2、0.05、0.05、0.1 mg/kg。**结论** 该方法检测限低,灵敏度和重现性高,抗干扰能力强,结果准确,操作方便快捷,适合燕窝中多聚磷酸盐的测定。

**关键词:** 离子色谱; 燕窝; 多聚磷酸盐

## Determination of polyphosphates in bird's nest by ion chromatography

GAO Zhi-Liang<sup>1,2</sup>, LI Zhi-Huang<sup>1</sup>, FAN Qun-Yan<sup>3</sup>, HUANG Dan-Yan<sup>3</sup>, ZHOU Yu<sup>1</sup>,  
LIU Guang-Ming<sup>2</sup>, XU Dun-Ming<sup>1,2\*</sup>

(1. Xiamen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Xiamen 361026, China; 2. Bioengineering College of Jimei University, Xiamen 361021, China; 3. Xiamen Seelong Food Co., Ltd., Xiamen 361101, China)

**ABSTRACT: Objective** An ion chromatography (IC) method was developed for simultaneous determination of orthophosphate, pyrophosphate, tripolyphosphate and trimetaphosphate in bird's nest. **Methods** Bird's nest was milled into powder, and the protein in Bird's nest was precipitated by chloroform after ultrasonic extraction. The extracts were cleaned-up by C<sub>18</sub> SPE cartridge, then separated by AS11-HC (4 mm × 250 mm) column, used NaOH and ultrapure water as the mobile phase, gradient elution with the flow rate of 1 mL/min, finally detected by conductivity inhibit detection. **Results** The linear range of the method was 0.5~100 mg/L with  $R^2 > 0.9996$ . The average recoveries of spiked samples were between 89.5% to 106.3% with the relative standard deviations (RSD) of 0.9%~7.3%. The limit of detections (LODs) were 0.2, 0.05, 0.05 and 0.1 mg/kg for orthophosphate, pyrophosphate, tripolyphosphate and trimetaphosphate, respectively. **Conclusion** The proposed method is rapid, sensitive and accurate for the determination of polyphosphates in the bird's nest.

**KEY WORDS:** ion chromatography; bird's nest; polyphosphates

基金项目: 厦门市科技计划项目(3502Z20121104)

\*通讯作者: 徐敦明, 博士, 高级工程师, 硕士生导师, 主要从事食品安全研究与检测。E-mail: Xudm@xmciq.gov.cn

## 1 引言

多聚磷酸盐是一类重要的功能性食品添加剂,主要包括正磷酸盐、焦磷酸盐、三聚磷酸盐和其他形式的多聚磷酸盐<sup>[1-3]</sup>,能有效提高水产品的持水能力,保持水产品的天然色泽和风味,抑制细菌,同时可以提高产品的出成率<sup>[4-6]</sup>。但过量的多聚磷酸盐会影响人体对钙、镁、铁、锌等多种矿物质的吸收,从而导致发育迟缓、骨骼畸形、骨质疏松症并可导致甲状腺肿大、钙化性机能不全及影响肝脏的功能<sup>[7,8]</sup>。韩国首尔大学的赵明汉曾在美国《呼吸与危重症医学》杂志上发表文章,指出磷酸盐可能诱发肺癌细胞的启动,并加速其生长<sup>[9]</sup>。

目前关于多聚磷酸盐检测方法主要有:钼蓝比色法<sup>[10]</sup>;高效液相色谱法(HPLC)<sup>[11]</sup>;核磁共振法(NMR)<sup>[12-15]</sup>;离子色谱法<sup>[16-20]</sup>等。上述方法中钼蓝比色法易造成样品损失,耗时多,回收率和重现性也不好,而且该法只能测定总磷含量,不能区别多聚磷酸盐的形态,所以应用性并不高。高效液相色谱法前处理繁琐费时且结果容易受柱后衍生的影响。核磁共振是一种快速、无损伤的检测方法,其检测多聚磷酸盐的结果令人满意,但是其价格昂贵,成本高,约束了在食品检测中的应用。离子色谱法是最近建立的一种较为简便的磷酸盐检测方法,它是根据不同阴阳离子在离子色谱柱中保留时间的不同进行分离检测。离子色谱法能同时分析多种阳离子或阴离子,配有高效的阴阳离子自身再生抑制器,灵敏度高;样品用量少,且一般不需做复杂的前处理;检测线性良好;无需人工配制淋洗液,消除人为因素和环境因素带来的误差,提高了方法的精密度和重现性。但是目前国内外主要利用离子色谱测定水产品 and 肉类中的多聚磷酸盐,而随着生活水平的提高,燕窝的消费量日益增加,近来发现一些商家在燕窝产品中添加多聚磷酸盐来改善色泽风味、保水及增重。因此建立一种燕窝中多聚磷酸盐的检测方法可有效打击掺假造假,确保燕窝的安全。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料与试剂

正磷酸钠标准液、焦磷酸钠标准液、三聚磷酸钠标准液、三偏磷酸钠标准液(1000 mg/L,以各磷酸根离子浓度计,广州齐云生物技术有限公司),氢氧化

钠(2 mol/L,广州齐云生物技术有限公司),所有试剂均为分析纯。VARIAN C<sub>18</sub>固相萃取小柱(500 mg, 6 mL,美国VARIAN公司),实验用水为Millipore超纯水。纯正燕窝(厦门市丝浓食品有限公司)。

### 2.2 仪器与设备

ICS 3000 离子色谱仪(美国Dionex公司),配有ASRSULTRA型抑制型电导检测器,NaOH淋洗液在线发生装置,CR-TC捕获柱,柱温箱,AS自动进样装置,Chromleon 6.70 英文版色谱工作站;分析天平(德国Sartorius公司,感量0.1 mg);离心机(上海飞鸽公司);KQ-700DE声波清洗器(苏州江东精密仪器有限公司);Millipore超纯水制备系统(美国Millipore公司)。

### 2.3 前处理方法

将燕窝研磨粉碎成粗粉,精密称取1.0 g于50 mL具塞比色管中,加入50 mL 80 °C超纯水,混匀,超声萃取8 min;取20 mL至离心管以4000 r/min离心5 min,上清液中加10 mL氯仿静置沉淀蛋白;分层后将水相上清液过C<sub>18</sub>固相萃取小柱,过0.22 μm滤膜后待测。

### 2.4 离子色谱测定条件

色谱柱:AS11-HC离子色谱柱(4 mm×250 mm);进样量:50 μL;流动相:氢氧化钠水溶液;运行时间:24 min。

## 3 结果与分析

### 3.1 色谱柱和淋洗梯度的选择

本研究对AS19,AS11和AS11—HC分析柱分离效果进行了比对,发现AS19,AS11和AS11—HC分析柱均可分离多聚磷酸盐,但是AS11—HC的分离效果最好,且容量大适合高浓度多聚磷酸盐的分析测定,因此最终选用AS11—HC分析柱。实验中不断改变淋洗液的浓度,考察对分离效果的影响,最终确定梯度洗脱程序。具体程序见表1,在该条件下混合标准溶液的离子色谱图如图1所示,峰形、分离效果都较好。

### 3.2 标准曲线、线性关系和测定限

将正磷酸钠、焦磷酸钠、三聚磷酸钠和三偏磷酸钠标准溶液在优化色谱条件下进样,以各磷酸根离子质量浓度(mg/L)为横坐标,其峰面积(μS·min)为纵

表1 梯度淋洗条件的选择  
Table 1 The condition of gradient elution

时间(min)	NaOH 淋洗液浓度(mmol/L)
0	35
5	35
8	70
15	70
18	35
20	35

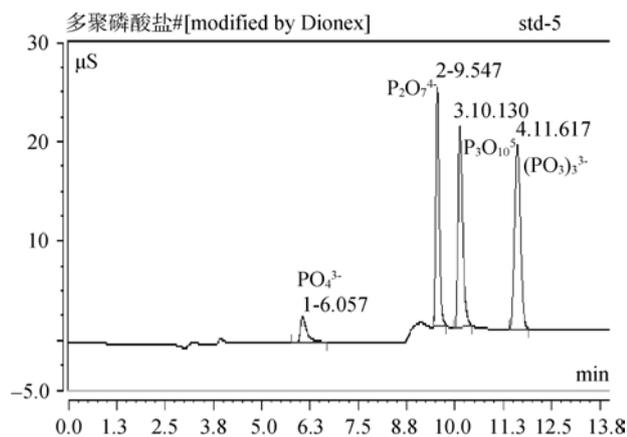


图1 5 mg/L 的混标溶液的离子色谱图

Fig. 1 Chromatography of standard solution of polyphosphates (5 mg/L)

坐标绘制标准曲线, 考察其线性范围、相关系数, 以3倍信噪比计算检测限, 通过添加实验, 以大于10倍

信噪比计算定量限。相关数据见表2。

### 3.3 精密度实验

在相同色谱条件下, 将10 mg/L多聚磷酸盐混标溶液重复进样6次, 测定各次  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ,  $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ ,  $(\text{PO}_3)_3^{3-}$  的峰面积, 计算RSD分别为1.50%、2.41%、1.50%、1.60%, 表明精密度良好。相关数据见表3, 对比谱图见图2。

### 3.4 加标回收率实验

将纯正燕窝磨成粗粉后, 分别添加不同量的多聚磷酸盐混标溶液, 按2.3前处理方法进行实验。在低、中、高三个添加量范围内的平均回收率(每个添加量平行测定6次)为89.5%~106.3%, 相对标准偏差为0.9%~7.3%, 加标回收率结果见表4。

## 4 结论

本文建立了一种离子色谱法快速、准确检测燕窝中多聚磷酸盐的含量。该方法一次进样可同时检测正磷酸盐、焦磷酸盐、三聚磷酸盐和三偏磷酸盐, 在线性范围内, 相关系数分别为0.9998、0.9997、0.9999和0.9996, 检出限分别为0.2、0.05、0.05、0.1 mg/L, 精密度相对标准偏差<3%, 在加标水平范围内, 回收率在89.5%~106.3%之间, 相对偏差为0.9%~7.3%。该方法简便、快速、准确、重复性好, 且方法的回收

表2 被测组分之间的线性关系、线性范围、检出限及定量限

Table 2 Linear equation, correlation coefficient, limit of detection (LOD) and limit of quantity (LOQ) of  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ,  $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$  and  $(\text{PO}_3)_3^{3-}$

被测组分	线性方程	相关系数 $R^2$	线性范围(mg/L)	LOD(mg/L)	LOQ(mg/kg)
正磷酸盐( $\text{PO}_4^{3-}$ )	$Y = 0.0875X + 0.0275$	0.9998	0.1~10	0.2	5
焦磷酸盐( $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ )	$Y = 0.3898X + 0.2028$	0.9997	0.02~10	0.05	1
三聚磷酸盐( $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ )	$Y = 0.4912X + 0.1538$	0.9999	0.02~10	0.05	1
三偏磷酸盐( $(\text{PO}_3)_3^{3-}$ )	$Y = 0.495X + 0.3329$	0.9996	0.04~10	0.1	2

表3 精密度实验峰面积及其相对标准偏差(n=6)

Table 3 Precision of the IC detection of polyphosphates(n=6)

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	RSD
$\text{PO}_4^{3-}$	0.9564	0.9342	0.9737	0.9691	0.9515	0.9653	1.50%
$\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$	4.3731	4.3105	4.4342	4.464	4.5454	4.6014	2.41%
$\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$	5.1752	5.1055	5.1919	5.2923	5.2759	5.3013	1.50%
$(\text{PO}_3)_3^{3-}$	5.7342	5.7329	5.8577	5.8861	5.9754	5.8431	1.60%

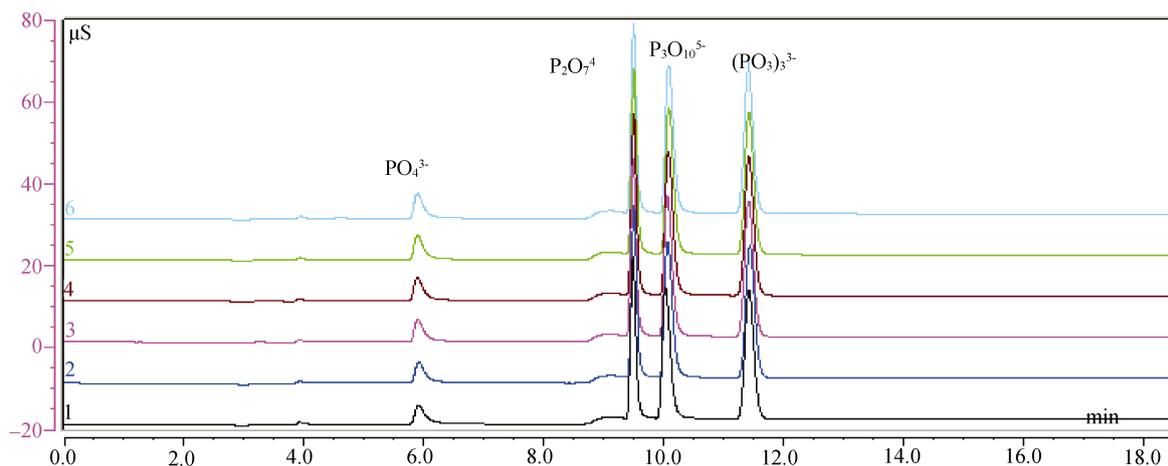


图 2 同一条件下 10 mg/L 混标溶液的色谱图比较(n=6)  
Fig.2 Comparison of chromatography of polyphosphates in 10 mg/L(n=6)

表 4 方法的加标回收率和相对标准偏差(n=6)  
Table 4 Spiked recovery and relative standard deviation for the method (n=6)

化合物	加标量(mg/kg)	平均回收率(%)	RSD(%)
正磷酸盐	5	95.3	7.3
	10	101.5	5.6
	20	91.2	6.3
焦磷酸盐	1	97.4	2.4
	5	102	1.7
	10	99.3	4.9
三聚磷酸盐	1	106.3	0.9
	5	92.7	5.3
	10	89.5	3.2
三偏磷酸盐	2	93.9	4.6
	4	98.6	1.3
	10	101.7	2.2

率、灵敏度和检出限均能满足《食品添加剂使用标准 GB2760-2011》所规定的限量检测。

参考文献

[1] 袁丽, 高瑞昌, 韩国良, 等. 肌肉中多聚磷酸盐水解的研究进展[J]. 农业工程技术: 农产品加工业, 2008, (3): 26-27.  
 [2] 余来普. 食品加工中的磷酸盐[J]. 精细与专用化学品, 1986, (10): 21-22.  
 [3] 王道营, 诸永志, 徐为民, 等. 复合磷酸盐在肉类加工中的应用[J]. 食品研究与开发, 2007, 28 (10): 167-1691  
 [4] Shen B, Hu XJ, Xu JH, *et al.* Antimicrobial effect of polyphosphate additives in fishery product[J]. Food Sci, 2010, 31 (21): 54-57.

[5] 李苗云, 张秋会, 柳艳霞, 等. 不同磷酸盐对肉品保水性的影响[J]. 河南农业大学学报, 2008, 42 (4): 439-443.  
 [6] 张坤生. 磷酸盐在肉制品中的作用[J]. 肉类工业, 1991, (3): 25-26.  
 [7] 王联珠, 谭乐义, 陈远惠, 等. 我国冷冻水产品质量状况及发展前景[J]. 海洋水产研究, 2002, 23(2): 83-88.  
 [8] Weiner ML, Salminen WF, Larson PR, *et al.* Toxicological Review of Inorganic Phosphates[J]. Food Chem Toxicol, 2001, 39(3): 759-786.  
 [9] Jin H, Xu CX, Lim HT, *et al.* High dietary inorganic phosphate increases lungtumor genesis and alters akt signaling[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 179(1): 59-68.  
 [10] GB/T 5009.87—2003 食品中磷的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.  
 [11] Dafflon O, Scheurer L, Gobet H, *et al.* Polyphosphate determination in seafood and processed cheese using high-performance anion exchange chromatography after phosphatase inhibition using microwave heat shock[J]. Mitteilungenaus Lebensmittel unter suchungund Hygiene, 2003, 94(2): 127-135.  
 [12] Li RR, Kerr WL, Toledo RT, *et al.* <sup>31</sup>P NMR analysis of chicken breast meat vacuum tumbled with NaCl various phosphates [J]. Sci Food Agric, 2001, 81(6): 576-582,  
 [13] 高瑞昌, 彭增起, 陈德倡, 等. 多聚磷酸盐在鸡腿肉中水解的 <sup>31</sup>P 核磁共振研究[J]. 食品科学, 2004, 25(7): 71-74,  
 [14] 彭增起, 周光宏, 徐幸莲, 等. 用 <sup>31</sup>P 核磁共振研究鸡腿肉中 4 种多聚磷酸钠的水解[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(4): 130-134.

- [15] 彭增起, 周光宏, 徐幸莲, 等. 四种多聚磷酸钠在鸡胸肉中水解的  $^{31}\text{P}$  核磁共振研究[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 61-65.
- [16] 闫军, 高峰, 张锐, 等. 海产品中多聚磷酸盐的离子色谱法测定[J]. 现代科学仪器, 2007, (4): 108-111
- [17] Cui H, Cai F, Xu Q. Determination of Tripolyphosphate in Frozen Cod and Scallop Adductor by Ion Chromatography [J] J Chromatogr A, 2000, 884(1): 89-92.
- [18] 陈笑梅, 池浩超, 黄超群, 等. 沸水阻断多聚磷酸盐分解离子色谱法检测水产品中的多聚磷酸盐[J]. 分析化学, 2008, 36(10): 1403-1406.
- [19] 王雪, 陈笑梅, 朱岩. 离子色谱法测定冷冻水产品中的多聚磷酸盐[J]. 分析实验室, 2008, 27(7): 82-84
- [20] 韦小焯, 林文业, 邓为利, 等. 离子色谱法测定水产品中多聚磷酸盐的含量[J]. 广西科学院学报, 2010, 26(3): 270-272.

(责任编辑: 孙媛媛)

### 作者简介



高志亮, 硕士研究生, 主要从事食品安全研究。



徐敦明, 博士, 高级工程师, 硕士生导师, 主要从事食品安全研究与检测。

E-mail: XuDM@xmciq.gov.cn