

离子色谱法测定肉及肉制品中多聚磷酸盐的研究进展

刘蓓蕾*, 贾海涛, 剧京亚

(河北出入境检验检疫局, 石家庄 050051)

摘要: 多聚磷酸盐是肉及肉制品中常用的品质改良剂, 但摄入过量的磷酸盐也会危害人体健康。离子色谱由于具有可对不同形态的多聚磷酸盐同时进行分离测定的优点, 目前研究较多, 然而多聚磷酸盐在肉制品中的分解给多聚磷酸盐的准确测定带来困扰。本文主要介绍了近年来国内应用离子色谱法测定肉及肉制品中多聚磷酸盐的研究成果, 对于准确、快速选择适于实际样品测定的方法具有一定意义。

关键词: 离子色谱法; 多聚磷酸盐; 肉; 肉制品

Research development on determination of polyphosphates in meat and meat products by ion chromatography

LIU Bei-Lei*, JIA Hai-Tao, JU Jing-Ya

(Hebei Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shijiazhuang 050051, China)

ABSTRACT: Polyphosphates are commonly used as food additives in meat and meat products, but excessive intake of phosphate may do harm to human health. Different forms of polyphosphates can be determined by ion chromatography method simultaneously. However, due to the rapid decomposition of polyphosphates in meat products, it is hard to detect the amount of polyphosphates in meat products. This paper introduces recent research achievements on ion chromatographic determination of polyphosphates in meat and meat products, which will have some practical significance to choose suitable method for the determination of actual samples.

KEY WORDS: ion chromatography; polyphosphates; meat; meat products

1 引言

磷酸盐是食品添加剂中用途最广泛、用量较大的一种品质改良剂。在肉、禽制品的加工过程更是不可缺少, 主要是以焦磷酸盐、三聚磷酸盐和六偏磷酸盐等碱式磷酸盐的复合形式广泛使用^[1,2]。其主要作用是增加产品的持水性, 减少滴液流失, 保留营养成分, 改善质地和减少蒸煮损失等^[3,4]。但摄入过量的磷酸

盐也会危害人体健康, 易导致体内钙、磷比例失衡, 严重时导致骨骼畸形、发育迟缓、骨质疏松、甲状腺肿大、钙化性机能不全及影响肝脏功能等^[5,6]。测定食品中磷酸盐的方法有分光光度法^[7]、高效液相色谱法^[8]、核磁共振法^[9,10]等。经典的测定磷酸盐的方法通常是将多聚磷酸盐转化为正磷酸盐^[7], 最终只能测定食品中的总磷, 无法区别多聚磷酸盐的形态。离子色谱可对不同形态的多聚磷酸盐同时进行分离测定,

*通讯作者: 刘蓓蕾, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全检测技术。E-mail: liubeilei321@126.com

*Corresponding author: LIU Bei-Lei, Hebei Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No. 138, Heping West Road, Shijiazhuang 050051, China. E-mail: liubeilei321@126.com

近年来,研究离子色谱法在多聚磷酸盐测定中应用的文章常见报道^[11-13]。本文对国内离子色谱测定肉及肉制品中多聚磷酸盐的方法进行了综述。

2 提取条件的选择

有研究证明,肌肉中存在使多聚磷酸盐水解的水解酶^[14],因此,要想准确地测定多聚磷酸盐的含量,需尽早阻断酶与多聚磷酸盐的反应。酶活性一般受温度和pH值等因素影响,通常通过温度控制或调节pH可使多聚磷酸盐水解酶失活,还可加入酶抑制剂降低酶的分解效应。

2.1 温度控制阻断多聚磷酸盐分解

陈笑梅等^[15]尝试通过化学方法和几种加热方式使试样中的活性物质失活,实验发现在试样中直接加入沸水可使让多聚磷酸盐分解的活性物质迅速失活,方法简单、安全,效果较好。实验比较了鳕鱼样品用沸水去活前后的稳定性,发现在不经去活的样品提取溶液中加入多聚磷酸盐,焦磷酸钠和三聚磷酸钠几乎完全水解,影响测定;而在经去活的样品提取溶液中加入多聚磷酸盐5h之内各磷酸盐测定结果无明显变化。徐莉等^[16]样品前处理采用80℃去离子水超声萃取10min,既保证了三聚磷酸盐不被分解,又有较好的回收率。韦小焯等^[17]通过温度控制和快速萃取阻止多聚磷酸盐降解,方法考察了0、25、60℃三个浸提温度和不同浸提时间对多聚磷酸盐稳定性的影响,最终选择0℃条件下浸提2h。孙亮等^[18]通过将称有样品和去离子水的离心管放入控温微波炉中加热至近100℃,微波加热10min达到阻断聚磷酸钠分解的目的。

2.2 调节pH值阻断多聚磷酸盐分解

凌约涛等^[19]建立了碱液提取水产品中多聚磷酸盐的方法,有效阻断了水产品中多聚磷酸盐的分解,回收率达90%以上。实验考察了氢氧化钠溶液的加入量对多聚磷酸盐提取效率的影响,最终选择加入0.5mL浓度为3mol/L的NaOH溶液,减少肉类样品放置过程中产生的酸性物质的影响,保证了较高的提取效率。

2.3 加入酶抑制剂抑制多聚磷酸盐分解

EDTA-Na₂具有较强的金属离子螯合能力,可

以螯合酶活性中心的金属离子,故可作为酶抑制剂^[14]。高瑞昌等^[20]研究发现EDTA-Na₂可以通过抑制鳕肌原纤维蛋白三聚磷酸盐水解酶活性达到抑制鳕鱼肉中三聚磷酸盐水解的目的。在EDTA-Na₂为0.5mmol/L浓度时,三聚磷酸盐水解酶残留活力为52.6%。在浓度为1mmol/L时三聚磷酸盐水解酶残留活力为33.8%,当浓度达到10mmol/L时,三聚磷酸盐水解酶活力完全被抑制。

此外,王飞等^[21]同时利用了高温和调节pH值对磷酸盐水解酶的失活作用,先在5g样品中加入约80mL煮沸后的超纯水后,迅速搅匀,于90℃的水浴锅中恒温8min,超声助溶10min,用氢氧化钠溶液调节其pH值至9.0~10.0后,定容至100mL。方法回收率在74.8%以上,实际样品检测结果令人满意。王莹莹等^[22]采用类似的方法,在5g样品中加入30mL煮沸的超纯水,用氢氧化钠溶液调节pH值至9.0~10.0,超纯水定容至50mL,混匀,超声萃取8min,检测方法的精密度高,准确度好,操作简便。

3 蛋白沉淀剂的选择

肉及其制品中常含有蛋白质和脂肪,如果在样品前处理时不进行去除,可能对色谱柱造成不可逆的伤害并对测定产生干扰,因此,沉淀样品中的蛋白质也是样品前处理过程中不可或缺的一步。陈笑梅等^[15]比较了三氯乙酸、三氟乙酸、三氯甲烷、NaCl、NaOH和醋酸铅沉淀蛋白质等杂质的效果,结果发现NaCl和NaOH无法沉淀蛋白,使用醋酸铅会产生混浊悬浮物,三氯乙酸、三氟乙酸、三氯甲烷均可沉淀蛋白,但三氟乙酸和三氯乙酸干扰多聚磷酸盐的色谱峰,三氯甲烷与水相分层较好,不带入任何杂质干扰,沉淀效果最好,最终选用三氯甲烷为沉淀剂。而韦小焯等^[17]则认为使用乙酸铅时产生絮状物可吸附溶液中蛋白质颗粒,通过高速离心后溶液分层效果好,无杂质干扰。因此,选用可去除样品中油脂的三氯甲烷与乙酸铅共同作用沉淀蛋白。吴轶等^[23]比较了乙酸锌和亚铁氰化钾、三氯乙酸和高氯酸沉淀蛋白的效果,也发现了三氯乙酸对磷酸根的色谱峰有干扰,而高氯酸的pH值容易使样品中多聚磷酸盐发生分解,影响定量测定结果;乙酸锌和亚铁氰化钾共同作用既可达到沉淀蛋白质和脂肪的效果又不影响测定结果。

4 仪器条件的选择

固定相亲和力相差较大的多种组分的分离常选用梯度洗脱方式, 梯度洗脱可以调整各组分的保留时间从而使分离效果达到最佳。由于不同形态的多聚磷酸盐离子的电荷数和离子半径相差较大, 所以各离子与固定相的亲合力也相差较大, 采用等浓度淋洗很难达到理想的分离度^[24]。因此离子色谱法检测多聚磷酸盐时多采用 AS11-HC 色谱柱, OH⁻ 梯度洗脱程序^[25-31]。钟志雄等^[32]还考察了温度对分离效果的影响, 温度升高, 离子的保留时间延长, 柱效增高, 分离效果较好。但当温度高于 35 °C 时, PO₄³⁻ 分离柱效开始下降, 且 PO₄³⁻、PO₃⁻ 和 P₂O₇⁴⁻ 3 种离子色谱峰的对称性变差, 实验最终选择在 35 °C 下进行分离测定。

吴建丰^[33]通过在淋洗液中添加有机溶剂建立了等度洗脱分离 PO₄³⁻ 和 P₂O₇⁴⁻ 的新方法。方法采用 METROSEP A Supp 5100 型分离柱, 36 mmol LiOH + 2% 乙腈作为淋洗液等度淋洗, 流速 0.7 mL/min, 8 min 内实现 SO₄²⁻、PO₄³⁻ 和 P₂O₇⁴⁻ 的完全分离。采用 LiOH 做淋洗液, 较常用的 NaOH 碱基淋洗系统, 具有缩短多聚磷酸盐在色谱柱上的保留时间、降低淋洗液碱度、延长分离柱和抑制器使用寿命等优点。淋洗液浓度及流速的不同对分离效果有很大影响, 一定浓度有机溶剂的加入改善了分离效果。相对于梯度洗脱, 该洗脱系统更为稳定。

5 小 结

由于离子色谱具有可对不同形态的多聚磷酸盐同时进行分离测定的优点, 目前, 越来越多的实验室选择离子色谱法对食品中的多聚磷酸盐含量进行测定。但是, 多聚磷酸盐在肉制品中的分解给多聚磷酸盐的准确测定带来困扰, 本文综述了应用离子色谱法测定肉及肉制品中多聚磷酸盐含量时阻断多聚磷酸盐分解的方法, 以及常用的蛋白沉淀剂和仪器条件, 对于准确、快速选择适于实际样品测定的方法具有一定意义。

参考文献

- [1] 靳红果, 彭增起. 肉中添加多聚磷酸盐的研究进展[J]. 肉类研究, 2009, 1: 74-77.
Jin HG, Peng ZQ. A review of addition of phosphates in food muscle induction [J]. Meat Res, 2009, 1: 74-77.
- [2] 丁武, 寇莉萍, 任建. 不同磷酸盐对猪肌肉嫩度及保水性的影响[J]. 食品科学, 2009, 30(21): 56-58.
Ding W, Kou L, Ren J. Effect of polyphosphates on tenderness and water-holding capacity of pork muscles [J]. Food Sci, 2009, 30(21): 56-58.
- [3] 刘鲁林, 鲍小丹, 许中敏, 等. 多聚磷酸盐在冷冻水产产品中的应用与法规情况的研究[J]. 中国食品添加剂, 2012, 2: 137-142.
Liu LL, Bao XD, Xu ZM, *et al.* Application of polyphosphates on frozen aquatic products and their regulations [J]. China Food Addit, 2012, 2: 137-142.
- [4] 王秀霞, 胡坤, 方少瑛, 等. 多聚磷酸盐对猪肉丸质构特性的影响研究[J]. 肉类工业, 2006, 3: 17-20.
Wang XX, Hu K, Fang SY, *et al.* Studies of effects on polyphosphates for pork meat ball qualities [J]. Meat Ind, 2006, 3: 17-20.
- [5] Weiner ML, Salminen WF, Larson PR, *et al.* Toxicological review of inorganic phosphates [J]. Food Chem Toxicol, 2001, 39(8): 759-786.
- [6] 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.
Wang LZ, Tan LY, Chen YH, *et al.* The quality status and development prospect of frozen seafood in China [J]. Marine Fisheries Res, 2002, 23(2): 83-88.
- [7] GB/T 5009.87-2003 食品中磷的测定[S].
GB/T 5009.87-2003 Determination of phosphorus in foods [S].
- [8] 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]. Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hyg, 2003, 94(2): 127-135.
- [9] Li RR, Kerr WL, Toledo RT, *et al.* 31P NMR analysis of chicken breast meat vacuum tumbled with NaCl various phosphates [J]. Sci Food Agric, 2001, 81(6): 576-582.
- [10] 高瑞昌, 彭增起, 陈德倡, 等. 多聚磷酸盐在鸡腿肉中水解的³¹P 核磁共振研究[J]. 食品科学, 2004, 25(7): 71-74.
Gao RC, Peng ZQ, Cheng DC, *et al.* ³¹P NMR Study on the Hydrolysis of Polyphosphate in Chicken Leg Meat [J]. Food Sci, 2004, 25(7): 71-74.
- [11] 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.
- [12] Sekiguchi Y, Matsunaga A, Yamamoto A, *et al.* Analysis of condensed phosphates in food products by ion chromatography with an on-line hydroxide eluent generator [J]. J Chromatogr A, 2000, 881(1/2): 639-644.
- [13] Kaufmann A, Maden K, Leisser W, *et al.* Analysis of polyphos-

- phates in fish and shrimps tissues by two different ion chromatography methods: implications on false-negative and -positive findings [J]. *Food Addit Contam*, 2005, 22(11): 1073–1082.
- [14] 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): 26–30.
Yuan L, Gao RC, Han GL, *et al.* Research advances on Hydrolysis of Polyphosphate in muscles [J]. *Agr Eng Technol*, 2008(3): 26–30.
- [15] 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.
Chen XM, Chi HC, Huang CQ, *et al.* Determination of polyphosphates in Aquatic products by ion chromatography after inhibition by boiling water [J]. *Chin J Anal Chem*, 2008, 36(10): 1403–1406.
- [16] 徐莉, 黄惠玲, 王玉健, 等. 离子色谱法测定三聚磷酸盐的方法[J]. *食品研究与开发*, 2010, 31(11): 156–158.
Xu L, Huang HL, Wang YJ, *et al.* Determination of polyphosphates in seafood products by ion chromatography [J]. *Food Res Dev*, 2010, 31(11): 156–158.
- [17] 韦小焯, 林文业, 邓卫利, 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.
Wei XY, Lin WY, Deng WL, *et al.* Determination of polyphosphate in aquatic product by ion chromatography [J]. *J Guangxi Acad Sci*, 2010, 26(3): 270–272.
- [18] 孙亮, 肖海龙, 王红青, 等. 微波加热阻断分解后测定冻水产品中多聚磷酸盐-离子色谱法[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(11): 2766–2768.
Sun L, Xiao HL, Wang HQ, *et al.* Determination of polyphosphates in frozen seafood - Ion chromatography after microwave heating [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2010, 20(11): 2766–2768.
- [19] 凌约涛, 郭坚, 王帆. 碱液提取离子色谱法测定水产品中多聚磷酸盐的研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 19(33): 301–303.
Ling YT, Guo J, Wang F. Determination of polyphosphates in aquatic products by alkali liquor extraction - ion chromatography [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 19(33): 301–303.
- [20] 高瑞昌, 薛长湖, 李兆杰, 等. 鳙肌原纤维蛋白三聚磷酸盐水解酶活性的研究[J]. *水产学报*, 2006, 30(5): 695–700.
Gao RC, Xue CH, Li ZJ, *et al.* Study on the tripolyphosphatase (TPPase) of myofibrils from *Aristichthys nobilis* muscle [J]. *J Fish China*, 2006, 30(5): 695–700.
- [21] 王飞, 曹彦忠, 张静, 等. 离子色谱法同时测定扇贝柱中多种磷酸盐[J]. *中国无机分析化学*, 2012, 2(3): 69–72.
Wang F, Cao YZ, Zhang J, *et al.* Determination of several kinds of phosphates in scallop by ion chromatography [J]. *Chin J Inorg Anal Chem*, 2012, 2(3): 69–72.
- [22] 王莹莹, 高华, 张辉珍, 等. 离子色谱法测定水产品中的多聚磷酸盐[J]. *青岛大学学报: 工程技术版*, 2011, 26(2): 74–78.
Wang YY, Gao H, Zh HZ, *et al.* Determination of polyphosphate in aquatic product by ion chromatography [J]. *J Qingdao Univ (E&T)*, 2011, 26(2): 74–78.
- [23] 吴轶, 徐红斌, 袁波. 冷冻调制食品中复合磷酸盐的测定[J]. *现代食品科技*, 2012, 28(3): 357–359.
Wu Y, Xu HB, Yuan B. Determination of phosphate compound in frozen prepared food [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2012, 28(3): 357–359.
- [24] 邓光辉, 胡炜, 黄科林, 等. 离子色谱法检测三聚磷酸盐中不同形态磷酸盐的研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(10): 153–155.
Deng GH, Hu W, Huang KL, *et al.* Ion Chromatography for Content Determination of Various Phosphate Forms in Tripolyphosphate [J]. *Food Sci*, 2009, 30(10): 153–155.
- [25] 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.
Yan J, Gao F, Zhang R, *et al.* Determination of Polyphosphates in Seafood Products by Ion Chromatography [J]. *Mod Sci Instrum*, 2007, (4): 108–111.
- [26] 李竹英, 朱艳俊, 汪琼, 等. 离子色谱法测定水产品中的多聚磷酸盐[J]. *现代科学仪器*, 2009, 4: 104–106.
Li ZY, Zhu YJ, Wang Q, *et al.* Determination of polyphosphates in aquatic product by ion chromatography [J]. *Mod Sci Instrum*, 2009, 4: 104–106.
- [27] 崔晗, 陈溪, 黄大亮, 等. 离子色谱法同时测定水产品中的柠檬酸盐和多聚磷酸盐[J]. *分析试验室*, 2009, 28: 67–69.
Cui H, Chen X, Huang DL, *et al.* Determination of polyphosphates and citrate in aquatic product by Ion chromatography [J]. *Chin J Anal Lab*, 2009, 28: 67–69.
- [28] 许迪明, 杨娟芬, 任飞. 免试剂离子色谱法测定肉制品中的多聚磷酸盐[J]. *中国卫生检验杂志*, 2008, 18(12): 2553–2554.
Xu DM, Yang JF, Ren F. Determination of polyphosphates in meat by free reagent ion chromatography [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2008, 18(12): 2553–2554.
- [29] 王丽, 张丽, 励建荣. 免试剂离子色谱法检测水产品及其制品中的多聚磷酸盐[J]. *中国食品学报*, 2011, 11(4): 203–210.
Wang L, Zhang L, Li JR. Determination of polyphosphates in aquatic Product by free reagent ion chromatography [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2011, 11(4): 203–210.
- [30] 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]. *分析试验室*, 2008, 27(7): 82–84.
Wang X, Chen XM, Zhu Y. Determination of polyphosphates in frozen aquatic Product by ion chromatography [J]. *Chin J Anal Lab*, 2008, 27(7): 82–84.

- [31] 高志亮, 李志煌, 范群艳, 等. 离子色谱法测定燕窝中的多聚磷酸盐[J]. 食品安全质量检测学报, 2012, 3(5):490-494.
Gao ZL, Li ZH, Fan QY, *et al.* Determination of polyphosphates in bird's nest by ion chromatography [J]. J Food Safe Qual, 2012, 3(5): 490-494.
- [32] 钟至雄, 李攻科. 离子色谱法测定海产品中磷酸盐、焦磷酸盐、偏磷酸盐和总磷[J]. 色谱, 2009, 27(4): 499-504.
Zhong ZX, Li GK. Determination of phosphate, pyrophosphate, metaphosphate and total phosphorus in seafoods by ion chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2009, 27(4): 499-504.
- [33] 吴建丰. 等度洗脱快速分离 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 和 $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ 的新方法[J]. 污染防治技术, 2007, 20(5): 87-89.

Wu JF. A New Method for Fast Separation of SO_4^{2-} , PO_4^{3-} and $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ by Isocratic Eluting [J]. Pollut Ion Contr Technol, 2007, 20(5): 87-89.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



刘蓓蕾, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全检测技术。
E-mail: liubeilei321@126.com

“功能性食品微生物”专题征稿

随着经济的发展和人们生活水平的不断提高,人们对食品的要求已从单纯的温饱转向了“功能、营养和健康”的新要求;膳食结构和组成是影响健康和疾病发生的重要因素,在人们多年以来追求中医、西医或中西医结合预防和治疗疾病模式外,渐渐转“医补”为“食疗”,期望利用食品的功能性达到促进健康和干预疾病的目的。因此,以功能性食品微生物为核心的功能性食品如益生菌、微生物源 PUFA、红曲等已逐渐深入人心,这也推动了功能性食品微生物资源开发与应用的发展。在 21 世纪生物技术大发展的时代背景下,利用食品微生物的特定功能性质,开发系列健康的功能食品成为重要的发展趋势。目前,以功能性微生物为核心的技术与产品已广泛用于食品、保健品、医药和饲料行业,应用前景十分广阔。

功能性食品微生物是一类通过菌体细胞或代谢产物能够赋予食品具有特定功能性质、或者显著改进和优化食品制造工艺的微生物。鉴于此,本刊特别策划了“功能性食品微生物”专题,由江南大学食品学院的陈卫教授担任专题主编,围绕(1)功能性食品微生物的资源发掘、高效筛选、分离鉴定,(2)功能性食品微生物的生物性质、功能机理与作用机制,(3)基于功能性食品微生物的食品生物加工与制造的基础和应用研究,(4)功能性食品微生物的评价与优化等或您认为本领域有意义的问题进行论述,计划在 2014 年 4 月份出版。

本刊编辑部及陈教授欢迎各位专家为本专题撰写稿件,以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可,请在 2014 年 3 月 15 日前通过网站或 Email 投稿。我们将快速处理并优先发表。

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

Email: jfoods@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部