

在线超滤-离子色谱法检测鱼子酱中的多聚磷酸盐

徐佳文^{1*}, 雷美康¹, 祝子铜¹, 俞志春², 李东¹, 余琪¹

(1. 衢州出入境检验检疫局, 衢州 324002; 2. 衢州市文和企业管理咨询有限公司, 衢州 324002)

摘要: **目的** 建立在线超滤-离子色谱法检测鱼子酱中多聚磷酸盐的方法。**方法** 利用超纯水超声提取鱼子酱中的多聚磷酸盐, 经在线超滤装置自动在线净化样品, 由电导检测器检测样品中的多聚磷酸盐含量。**结果** 该方法检出限(LOD)为 10 mg/kg。标准加入法测定所有被测物的高、中、低三个浓度加标水平的回收率范围分别为正磷酸盐 95%~120%、焦磷酸盐 68%~75%、三聚磷酸盐 85%~88%、三偏磷酸盐 100%~107%, 相对标准偏差(RSD)在 0.38%~1.36%之间。4 种被测物在 1~80 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性良好, R^2 均大于 0.999。**结论** 该方法稳定、快速、精密度高、线性范围宽, 适合鱼子酱中多聚磷酸盐的含量测定。

关键词: 离子色谱法; 在线超滤; 多聚磷酸盐; 鱼子酱

Determination of polyphosphates in caviar using ion chromatography-inline ultrafiltration

XU Jia-Wen^{1*}, LEI Mei-Kang¹, ZHU Zi-Tong¹, YU Zhi-Chun², LI Dong¹, YU Qi¹

(1. Quzhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Quzhou 324002, China; 2. Quzhou Wenhe Enterprise Management Consulting Co., Ltd., Quzhou 324002, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of polyphosphates in caviar using ion chromatography-inline ultrafiltration. **Methods** The polyphosphates in caviar was determined by ion chromatography with inline ultrafiltration, and the conductivity detector was used to detect polyphosphates in caviar. **Results** The method detection limit was 10 mg/kg. Recoveries of orthophosphate, pyrophosphate, tripolyphosphate and three metaphosphate were between 95%~120%, 68%~75%, 85%~88% and 100%~107%, respectively. The precision RSD were in the range of 0.38%~1.36%. The lineal range in 1~80 $\mu\text{g/mL}$ was with high correlation coefficients ($R^2 > 0.999$). **Conclusion** The method is sensitive, accurate and reproducible, and it is suitable for the determination of polyphosphates in caviar.

KEY WORDS: ion chromatography; inline ultrafiltration; polyphosphates; caviar

1 引言

鱼子酱(caviar)是世界公认的三大最昂贵食品之一, 其食用已有两千多年历史, 是欧美上流宴会桌上

的“黑色黄金”。多聚磷酸盐是一类重要的品质改良剂, 具有保持水分、改善口感、调节 pH 的作用, 被广泛应用于水产品的保存和运输当中^[1-3]。在鱼子酱的生产过程中添加多聚磷酸盐可以有效地防止其冷冻过

基金项目: 衢州市科技计划项目(2013J023)

Fund: Supported by the Science and Technology Project of Quzhou(2013J023)

*通讯作者: 徐佳文, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 1240597512@qq.com

*Corresponding author: XU Jia-Wen, Assistant Engineer, Quzhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Quzhou 324002, China. E-mail: 1240597512@qq.com

程中水分的流失^[4]。但过量的多聚磷酸盐不仅会影响鱼子酱的品质,也不利于消费者的身体健康。研究表明,人体摄入过量多聚磷酸盐会促进血液凝结,其降解产物可能增加摄入者心脑血管疾病的发生率^[5]。因此,许多国家都对食品中多聚磷酸盐的允许添加量做了明文规定。欧盟要求水产品中多聚磷酸盐含量不超过 5 g/kg^[6]。

传统的多聚磷酸盐检测方法有分光光度法^[7]、容量法^[8]等。离子色谱法作为一种快速灵敏的检测方法,其应用领域不断扩大^[9]。离子色谱法在阴离子检测方面的技术已非常纯熟,国内已有用离子色谱法检测水产品中多聚磷酸盐的报道^[10,11],但前处理操作繁琐,需要加入具有一定毒性的蛋白沉淀剂^[12,13]。本文采用离子色谱法同时分离测定鱼子酱中四种磷酸盐的含量,结合在线超滤技术直接在线净化样品,减少了前处理沉淀蛋白等复杂操作,达到满意效果。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

850 型离子色谱仪(瑞士万通); 850 Professional IC 1 电导检测器、858 Compact Autosampler 自动进样器、在线前处理净化超滤单元及 IC(瑞士万通); Metrosep A Supp 5-150/4.0 分离柱、Metrosep A Supp 4/5 保护柱(瑞士万通); Net2.3 色谱工作站(瑞士万通); MS 3 digital 漩涡混合器(德国赛多利斯); Multifuge Xir 高速离心机(美国赛默飞); KQ3200B 型超声波清洗器(昆山超声仪器)等。

实验用鱼子酱由某水产品公司提供; 焦磷酸钠(纯度 99%)、三聚磷酸钠(纯度 85%)和三偏磷酸钠(纯度≥95%), 均购自美国 Sigma 公司; 正磷酸盐标准溶液(浓度 1000 μg/mL, 美国 O₂Si); 实验用水为超纯水(18.2 mΩ·cm); 硫酸(纯度 95%~98%, 浙江三鹰化学试剂)、一水合氢氧化锂(纯度≥95.0%, 广东光华科技), 两者均为分析纯。

2.2 溶液的配制

2.2.1 多聚磷酸盐标准储备液的配制

正磷酸盐直接购买浓度为 1000 μg/mL 的磷酸根离子单标储备液, 焦磷酸盐、三聚磷酸盐、三偏磷酸盐取适量用 45 mmol/L 的氢氧化锂水溶液溶解稀释成质量浓度为 1000 μg/mL 的储备液。

2.2.2 多聚磷酸盐标准溶液的配制

吸取适量单标储备液用 45 mmol/L 的氢氧化锂水溶液稀释成质量浓度为 100 μg/mL 的混合标准中间液。吸取适量多聚磷酸盐标准中间液配制成质量浓度为 1、5、8、10、50、80 μg/mL 的标准质量浓度系列备用。

2.3 实验方法

2.3.1 鱼子酱实验前处理

称取 2.00 g 捣碎的试样于 50 mL 具塞塑料离心管中, 准确加入 20.0 mL 超纯水提取, 涡旋混匀后超声提取至少 15 min, 以 6000 r/min 离心 5 min。准确移取 10 mL 上清液于另一 50 mL 的具塞塑料离心管中, 用 45 mmol/L 的氢氧化锂水溶液定容至 20 mL, 待测。

2.3.2 色谱条件

色谱柱为 Metrosep A Supp 5-150/4.0 分离柱、Metrosep A Supp 4/5 保护柱; 检测器为电导检测器; 流动相为 45 mmol/L 的氢氧化锂水溶液; 柱温 30 ℃; 流速 0.7 mL/min; 进样量 100 μL。在此条件下, 以保留时间定性, 外标法定量。

3 结果与讨论

3.1 提取剂的选择

实验比较了四种磷酸盐在不同溶剂(热水、去活水、冰水、水、45 mmol/L 的氢氧化锂水溶液)中的稳定性。分别以不同的溶剂配制 10 ppm 的多聚磷酸盐混标, 于 0、1、2、3 h 进样。结果表明, 四种磷酸盐在 45 mmol/L 的氢氧化锂水溶液中的稳定性略优于其他溶剂, 可用于系列标准工作溶液的配制并置于冰箱中保存待用。由于本实验前处理过程简单, 可在半小时内完成, 无论使用哪种溶剂作为提取试剂均可忽略此过程中磷酸盐的降解。在此基础上用上述各种溶剂作为提取剂提取鱼子酱中的多聚磷酸盐, 以氢氧化锂做为最终稀释定容的溶剂。结果表明, 不同提取剂对鱼子酱中的多聚磷酸盐的提取效率相当, 从经济便捷等方面考虑可直接选择超纯水作为提取试剂。

3.2 净化方法

鱼子酱中存在大量的蛋白质和脂肪, 直接用水提取多聚磷酸盐的同时也会将这些杂质带入提取液中。这些物质的存在不仅会对测定结果产生影响, 还

易造成分离柱的堵塞, 缩短其使用寿命。目前国内许多方法采用氯仿、三氯乙酸等沉淀剂去除蛋白等杂质的干扰, 但是这些有机试剂具有一定毒性, 且前处理操作繁琐^[12,13]。在线超滤技术可以全自动高效地在线处理样品, 去除杂质干扰, 保护色谱柱。该技术通过标准螺旋超滤膜在线过滤样品, 整个过滤时间约 3~6 min, 离心过的样品体积只需 10 mL, 最大限度降低了繁琐的手工操作步骤, 省时省力, 提高了结果的准确性和精确度。

3.3 色谱分离

在 2.3.2 色谱条件下分别对标准溶液及鱼子酱样品进行分析, 10 μg/mL 标准混标溶液色谱图见图 1。由图 1 可知, 正磷酸盐的保留时间为 5.20 min, 焦磷酸盐的保留时间为 6.16 min, 三聚磷酸盐的保留时间为 10.35 min, 三偏磷酸盐的保留时间为 13.25 min, 且四种磷酸盐可以很好地分离, 为定量测定样品中的多聚磷酸盐含量提供依据。实际样品的检测分析中, 四种磷酸盐的出峰时间与标准样品一致, 偏差在±0.5 之间且峰形良好, 为样品定性提供依据。

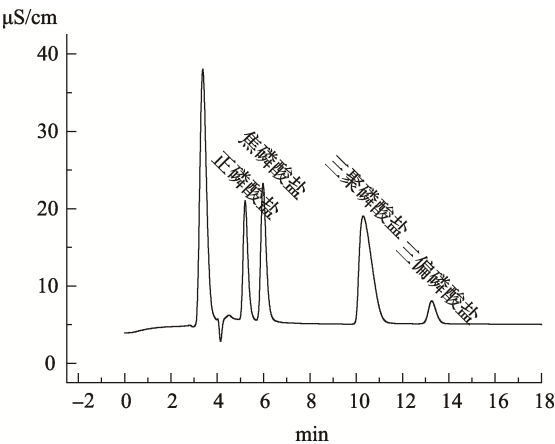


图 1 10 μg/mL 标准混标溶液色谱图
Fig. 1 The chromatogram of standard sample at 10 μg/mL

3.4 方法的线性关系和测定低限

在本研究色谱条件下, 测定四种多聚磷酸盐在 1~80 μg/mL 质量浓度范围的系列混合工作液中的响应值, 以峰面积 A 对多聚磷酸盐的质量浓度 Q 作线性回归, 线性方程及相关系数见表 1。由表 1 可知, 4 种被测物在该范围内线性良好, R^2 均大于 0.999, 色谱峰面积的相对标准偏差<5%, 可用于实际样品中磷

酸盐的定量分析。以实际检测时的信噪比($S/N>10$) 确定方法定量限为 10 mg/kg。

3.5 回收率和精密度

取研磨至均匀糊状 的鱼子酱样品, 用于实验分析。选择 10、50、100 mg/kg 三个添加水平进行样品加标回收率实验, 每个水平重复 6 次, 样品空白重复 3 次, 测定平均回收率及精密度, 结果见表 2。由表 2 可知, 正磷酸盐平均加标回收率为 95%~120%, 焦磷酸盐平均加标回收率 68%~75%, 三聚磷酸盐平均加标回收率 85%~88%, 三偏磷酸盐平均加标回收率 100%~107%。四种磷酸盐的相对标准偏差(RSD)均小于 2%, 精密度较高, 符合测定要求。

表 1 线性方程及相关系数
Table 1 Linear equation and correlation coefficient

组分	线性方程	相对标准偏差 /%	相关系数
正磷酸盐	$A=0.166118+3.56984E^{-3}*Q$	1.65	0.9999
焦磷酸盐	$A=-5.94942E^{-3}+4.85738E^{-3}*Q$	2.17	0.9998
三聚磷酸盐	$A=-0.117181+8.47463E^{-3}*Q$	1.49	0.9999
三偏磷酸盐	$A=-0.135932+2.12112E^{-3}*Q$	1.65	0.9999

表 2 样品加标回收率和重复性(n=6)
Table 2 Recovery and RSD of products(n=6)

组分	添加水平 mg/kg	平均回收率 %	相对标准偏差(RSD) %
正磷酸盐	10	95	0.79
	50	99	0.90
	100	120	0.53
焦磷酸盐	10	68	1.10
	50	69	0.75
	100	75	0.69
三聚磷酸盐	10	88	0.72
	50	85	0.96
	100	88	0.58
三偏磷酸盐	10	100	1.04
	50	107	0.38
	100	101	1.36

4 结论与讨论

该研究采用超纯水超声提取鱼子酱中的多聚磷酸盐,提取时间短、提取效率高,样品经超滤单元全自动在线净化,减少了前处理过程中复杂的蛋白沉淀操作,且无需预浓缩或过滤,提高了实验效率。本研究色谱条件易于掌握,测试数据重现性良好,精密度较高,可用于生产过程中鱼子酱的质量控制和市场产品监管检测。通过实际样品的加标回收率实验可以发现:正磷酸盐、三聚磷酸盐、三偏磷酸盐回收率都在85%以上,只有焦磷酸盐回收率为68%~75%,但其稳定性较好,RSD小于2%,不影响常规检测工作的顺利进行。

参考文献

- [1] 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): 17-19.
Wang XX, Hu K, Fang SY, *et al.* Studies of effects on polyphosphates for pork meat ball qualities [J]. Meat Ind, 2006, (3): 17-19.
- [2] 沈飏, 胡兴娟, 徐君辉, 等. 水产品中添加剂多聚磷酸盐抑菌效果的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 54-57.
Shen B, Hu XJ, Xu JH, *et al.* Antimicrobial effect of polyphosphate additives in fishery product [J]. Food Sci, 2010, 31(21): 54-57.
- [3] 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.
Li MY, Zhang QH, Liu YX, *et al.* Effect of phosphates on meat water-holding capacity [J]. J Henan Agric Univ, 2008, 42(4): 439-443.
- [4] 刘锐萍, 裴庆润, 张铁军, 等. 食品中磷酸盐的应用现状及存在问题分析[J]. 综述与述评, 2007, 10(2): 9-11.
Liu RP, Pei QR, Zhang TJ, *et al.* On status quo of use of phosphate in food and problems concerned [J]. Surv Rev, 2007, 10(2): 9-11.
- [5] 张双灵. 水产加工品中几种安全性因素危害分析、残留量检测与控制手段展望[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2005.
Zhang SL. Hazard analysis, the residual monitor and control technology prospect of several safety factors in aquatic product processing [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2005.
- [6] Europa Food Safety-Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). EU. <http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/archive-en.htm>. 2014-08-19.
- [7] 王庆霞, 苏苓. 孔雀绿体系流动注射光度法测定水中正磷酸盐[J]. 环境监测管理与技术, 2006, 18(6): 28-33.
Wang QX, Su L. Determination of trace amounts of phosphate in water by flow injection spectrophotometry with malachite green system [J]. Admin Tech Environ Monit, 2006, 18(6): 28-33.
- [8] 周利敏. 容量法测定洗衣粉中的磷酸盐含量[J]. 宁夏石油化工, 2002, 1(1): 24-25.
Zhou LM. Capacity determination of detergent phosphate content [J]. Ningxia Petrol Chem, 2002, 1(1): 24-25.
- [9] 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.
- [10] 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, 2647.
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, 2647.
- [11] 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]. 分析测试实验室, 2008, 27(7): 82-84.
Wang X, Chen XM, Zhu Y. Determination of polyphosphates in frozen seafood using ion chromatography [J]. Chin J Anal Lab, 2008, 27(7): 82-84.
- [12] 吴玉萍, 李天飞, 王东丹, 等. 离子色谱法测定食品添加剂三聚磷酸盐中的杂质含量[J]. 色谱, 2003, 21(3): 291-293.
Wu YP, Li TF, Wang DD, *et al.* Ion chromatographic method for determination of impurities in tripolyphosphate [J]. Chin J Chromatogr, 2003, 21(3): 291-293.
- [13] 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.
Cheng 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.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



徐佳文, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 1240597512@qq.com