

# 离子色谱法同时测定水产品中的柠檬酸盐和多聚磷酸盐

崔 晗<sup>\*</sup>, 陈 溪, 黄大亮, 崔 妍, 曹文军, 杨 荟, 沈葆真  
(辽宁出入境检验检疫局庄河办事处, 庄河 116400)

**摘 要:** 建立了一种同时检测水产品中的柠檬酸盐和多聚磷酸盐含量的方法。方法基于待测组分被阴离子交换树脂吸附, 淋洗液自动发生装置产生 KOH 对其进行梯度淋洗, 再经抑制型电导进行最终检测的过程。方法加标回收率达到 86.4% ~ 108.5%。

**关键词:** 离子色谱; 梯度淋洗; 水产品; 柠檬酸盐; 多聚磷酸盐

多聚磷酸盐作为重要的食品添加剂, 被广泛地应用于食品工业中, 主要用作水分保持剂、品质改良剂、pH 调节剂和金属螯合剂等。由于多聚磷酸盐显著的持水性能, 被许多水产企业用于水产品的加工和保存过程中, 以增强其水分的稳定性, 同时保持肉质的新鲜。但是, 人体如过多地摄入磷酸盐, 则会降低钙吸收导致肌体钙磷失衡, 继而引发疾病, 因此各国对水产品中多聚磷酸盐含量作了明确的限量要求。针对这种情况, 许多不法经营者采用各种措施, 用不含磷酸盐成分的添加剂代替多聚磷酸盐, 向水产品中人为注水, 在提高利润的同时损害消费者利益, 柠檬酸盐即是这种无磷添加剂的主要成分, 由于其抗氧化性和稳定性, 与保湿剂等合用, 可用于延缓水产品的腐败, 并能保持肉的持水性, 增强结着力。

目前, 测定柠檬酸盐的方法主要有酶学分析、比色分析、高效液相色谱和气相色谱法等<sup>[2-4]</sup>, 测定多聚磷酸盐的方法多为离子色谱法与核磁共振法等<sup>[5,6]</sup>, 而针对水产品中的柠檬酸盐和多聚磷酸盐, 同时进行检测的方法还未见报导, 本文在闫军等<sup>[7]</sup>的基础上, 对水产品的前处理和梯度洗脱程序加以改进, 通过使用带有 KOH 淋洗液在线发生装置、阴离子交换柱和抑制型电导检测器的离子色谱, 建立了同时检测水产品中柠檬酸盐和多聚磷酸盐的分析方法, 该法选择性好, 线性范围宽, 回收率为 86.4% ~ 108.5%。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

ICS-2000 离子色谱系统(美国戴安公司), 该系统包括: KOH 淋洗液在线发生装置、CR-ATC 捕获柱、柱温箱、ASRS ULTRAI (4 mm) 抑制型电导检测器、AS40 自动进样装置、Chromleon 色谱工作站。3205 型食品加工机(德国博朗公司), KQ3200DV 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), TDZS-WS 低速离心机(湖南湘仪有限公司)。

所用试剂均为色谱纯或优级纯, 实验用水为法国密理博 Elix5 超纯水系统制得的二次去离子水(电阻率 18.2 M $\Omega$ /cm); 柠檬酸钠标准储备液(1.0  $\times 10^3$  mg/L) (SAFC); 正磷酸钠标准储备液(2.0  $\times 10^3$  mg/L) (SIGMA); 焦磷酸钠标准储备液(2.0  $\times 10^3$  mg/L) (SIGMA); 三聚磷酸钠标准储备液(2.0  $\times 10^3$  mg/L) (SIGMA); 三偏磷酸钠标准储备液(1.0  $\times 10^3$  mg/L) (SIGMA); 三氟乙酸(20%) (天津市科密欧化学试剂有限公司)。

### 1.2 色谱条件

分离柱: IonPac AS11-HC (4 mm); 保护柱: IonPac AG11-HC (4 mm); 温度: 30 $^{\circ}$ C; 淋洗液: 梯度洗脱; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 25  $\mu$ L; 抑制电流: 165 mA; 背景压力: 1800 psi; 运行时间: 22 min。

### 1.3 实验原理

首先用 KOH 淋洗液平衡阴离子交换分离柱,

<sup>\*</sup> 作者简介: 崔 晗 (1982 - ), 女, 硕士研究生; E-mail: hicuihan@163.com

当样品经过离子交换柱时,柠檬酸根、正磷酸根、焦磷酸根、三聚磷酸根和三偏磷酸根都从阴离子交换树脂上置换  $\text{OH}^-$ ,并暂时而选择地保留在固定相上,同时,保留的各种酸根又被淋洗液中的  $\text{OH}^-$  置换并从柱上被洗脱,最终进入电导池进行电导检测。对树脂亲和力较  $\text{OH}^-$  弱的阴离子校对阴离子交换位置亲和力强的阴离子通过柱子快,这个过程就决定了样品中阴离子之间的分离<sup>[8]</sup>。最终以各种酸根的浓度与峰面积变化的线性关系为定量依据建立同时测定柠檬酸盐和多聚磷酸盐的分析方法。

### 1.4 样品前处理

样品均质后,称取 5.0 g 于 150 mL 锥形瓶中,再加入 20 mL 去离子水,将锥形瓶放入超声波清洗器中超声萃取 10 min,再用 5000 r/min 的离心机离心 15 min,上清液倒于小烧杯中,加入 1.5 mL 20% 三氟乙酸,置于 0~4℃ 冰箱中沉淀蛋白质 30 min,取出后用 0.22 μm 尼龙膜(天津市富集科技有限公司)过滤,再将滤液经过 OnGuard RP 柱(美国戴安公司),最后稀释 50 倍,待测。

## 2 结果与讨论

### 2.1 淋洗液的选择

由于待测组分中  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  和  $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$  等多聚磷酸根价态高,半径大,与树脂的亲合力强,因此必须采用较强的淋洗液才能将其洗脱,得到合理的保留时间。如选择高浓度的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  等作为淋洗液,其化学抑制产物  $\text{H}_2\text{CO}_3$  会使本底电导增高,影响灵敏度。如选择  $\text{KOH}$  作为淋洗液,即可解决这一问题,因为其抑制产物是  $\text{H}_2\text{O}$ ,即使选用高浓度的  $\text{KOH}$ ,也可保持较低的本底电导,再经梯度淋洗后得到较高的分离度和灵敏度,所以本实验选用  $\text{KOH}$  作为最终的淋洗液。

### 2.2 淋洗液流速的选择

流速大,虽然保留时间短,但仪器的系统压力升高,可能导致漏液;而流速小又可能使保留时间增长,出现峰形拖尾等现象。综合考虑各种因素,本实验选择 1.0 mL/min 的流速进行淋洗,可以达到令人满意的效果。

### 2.3 淋洗梯度的选择

在分离过程中按一定的程序连续改变淋洗液的配比和浓度,从而改变被分离组分的分离因素,增加分辨能力,调整各个组分的保留时间,达到

最佳的分离效果。由于峰形的改善,梯度淋洗还可以提高最小检测量和定量分析的精度。本实验中待测组分的电荷数和离子半径相差较大,与固定相的亲合力也相差较大,等浓度淋洗很难达到理想的分离效果,所以最终选用梯度淋洗程序,具体操作如表 1 所示。

表 1 梯度淋洗程序

时间	KOH 淋洗液浓度/(mmol/L)
0	35
5	35
10	65
12	65
17	35
22	35

在最佳的淋洗液流速和淋洗梯度条件下,柠檬酸盐和多聚磷酸盐标准溶液的离子色谱图如图 1 所示,保留时间可接受,分离效果理想。

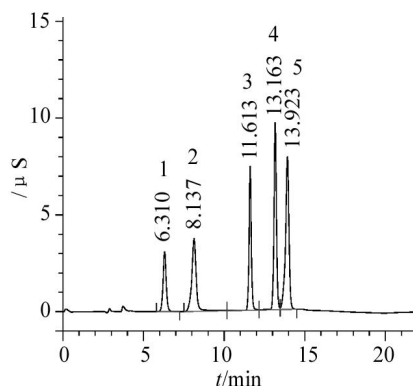


图 1 柠檬酸盐和多聚磷酸盐混合标准溶液的离子色谱图  
1 -  $\text{PO}_4^{3-}$ ; 2 - Citrate; 3 -  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ; 4 -  $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ ; 5 -  $(\text{PO}_3)_3^{3-}$

### 2.4 方法线性、检出限和精密度

配制一系列浓度的柠檬酸盐和多聚磷酸盐混合标准溶液,在最佳实验条件下制作标准曲线,线性良好。标准曲线拟合方程、线性范围、线性相关系数  $R^2$ 、方法检出限和精密度如表 2 所示。

### 2.5 实际样品测定

将实验方法用于同时检测水产品中的柠檬酸盐和多聚磷酸盐含量,以冻鲮鱼片为例,按样品预处理方法经超声提取、沉淀蛋白、过滤及稀释等操作后进样,再进行加标回收实验,测得值如

表 3 所示。

表 2 方法线性、检出限和精密度

待测组分	线性方程	线性范围 /(mg/L)	相关系数 $R^2$	检出限 /(mg/L)	精密度 RSD/ %
Citrate	$y = 0.0516x - 0.0114$	0.4 ~ 60	0.9992	0.12	2.4
$PO_4^{3-}$	$y = 0.0298x - 0.0223$	0.4 ~ 100	0.9993	0.15	1.6
$P_2O_7^{4-}$	$y = 0.0213x - 0.0327$	0.2 ~ 100	0.9997	0.08	2.7
$P_3O_{10}^{5-}$	$y = 0.0406x - 0.0154$	0.1 ~ 100	0.9997	0.04	1.2
$(PO_3)_3^{3-}$	$y = 0.0625x - 0.0093$	0.08 ~ 60	0.9996	0.02	3.3

表 3 水产品中柠檬酸盐和多聚磷酸盐含量的测定及回收率

待测组分	测量值 /(mg/L)	加标量 /(mg/L)	回收率 / %
Citrate	3.6	4.0	92.3
$PO_4^{3-}$	25.6	25.0	88.2
$P_2O_7^{4-}$	1.8	4.0	108.5
$P_3O_{10}^{5-}$	4.0	4.0	95.8
$(PO_3)_3^{3-}$	0.6	1.0	86.4

参考文献

- [1] 中国食品添加剂生产应用工业协会. 食品添加剂手册. 北京: 中国轻工业出版社. 2005. 172
- [2] Sharma S, Nath R. Scanning Microsc, 1993, 7(1): 431
- [3] 罗奇志, 戴开金, 马安德. 第一军医大学学报, 2004, 24(4): 458
- [4] 任清. 分析化学, 2002, 30(3): 304
- [5] 王大凯, 邹运香. 分析测试学报, 1995, 14(3): 97
- [6] 彭增起, 周光宏. 南京农业大学学报, 2005, 28(4): 130
- [7] 闫军, 高峰, 张锐等. 现代科学仪器, 2007. 4
- [8] 牟世芬, 刘克纳. 离子色谱方法及应用. 北京: 化学工业出版社. 2000. 28