

陈修红,冀鹏,何国亮,等. 离子色谱-脉冲安培法同时测定牛肉水解产物中 6 种糖组分的含量 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(11): 267-275. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070122

CHEN Xiuhong, JI Peng, HE Guoliang, et al. Simultaneous Determination of Six Sugars in Beef Hydrolysates by Ion Chromatography with Pulsed Amperometric Detection[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(11): 267-275. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070122

· 分析检测 ·

离子色谱-脉冲安培法同时测定牛肉水解产物中 6 种糖组分的含量

陈修红^{1,2}, 冀鹏³, 何国亮¹, 夏然¹, 李祖明³, 刘佳^{1,2,*}

(1. 国贸食品科学研究院有限公司, 国家副食品质量监督检验中心, 北京 102209;

2. 中粮营养健康研究院有限公司, 营养健康与食品安全北京市重点实验室, 北京 102209;

3. 北京联合大学生物化学工程学院, 北京 100023)

摘要: 旨在建立一种能够同时测定牛肉水解产物中葡萄糖、果糖、阿拉伯糖、半乳糖、甘露糖、核糖的离子色谱检测方法。对样品的前处理与色谱条件进行优化, 采用 1% 三氯乙酸溶液沉淀蛋白和 4 mol/L 硫酸溶液水解条件, 选择 CarboPacTM PA20 离子色谱柱, 用 5 mmol/L 氢氧化钠溶液为淋洗液进行洗脱, 用脉冲安培检测器 PAD 进行测定分析。结果表明, 6 种糖在上述条件下能够完全分离, 葡萄糖在 0.25~2.50 $\mu\text{g/mL}$ 、其他糖在 0.025~0.25 $\mu\text{g/mL}$ 区间内线性良好, 相关系数 r 均大于 0.998。方法精密度 RSD 在 2.3%~5.5%, 回收率在 79.6%~116.5% 之间。该方法操作简便、分离度好, 能够准确、快速地测定牛肉水解产物中糖的含量。

关键词: 离子色谱, 脉冲安培法, 牛肉, 水解产物, 单糖

中图分类号: TS254.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)11-0267-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070122

本文网刊:



Simultaneous Determination of Six Sugars in Beef Hydrolysates by Ion Chromatography with Pulsed Amperometric Detection

CHEN Xiuhong^{1,2}, JI Peng³, HE Guoliang¹, XIA Ran¹, LI Zuming³, LIU Jia^{1,2,*}

(1. Internal Trade Food Science Research Institute Co., Ltd., National Non-staple Food Quality Supervision and Inspection Center, Beijing 102209, China;

2. COFCO Nutrition and Health Research Institute Co., Ltd., Beijing Key Laboratory of Nutrition Health and Food Safety, Beijing 102209, China;

3. College of Biochemical Engineering, Beijing Union University, Beijing 100023, China)

Abstract: The aim of this study is to establish an ion chromatography method for simultaneous determination of glucose, fructose, arabinose, galactose, mannose and ribose in beef hydrolysates. The pretreatment and chromatography conditions were optimized. Finally, the protein was precipitated by 1% trichloroacetic acid and polysaccharide was hydrolyzed by 4 mol/L sulfuric acid. The CarboPacTM PA20 column was selected for separation. 5 mmol/L sodium hydroxide solution was used as the eluent for gradient elution, with the detection of pulse amperometric detector (PAD). The results showed that the six sugars could be separated completely under the above conditions, the linear relationship of glucose and other sugars within the range of 0.25~2.50 $\mu\text{g/mL}$ and 0.025~0.25 $\mu\text{g/mL}$, respectively, was good. And the correlation coefficient was more than 0.998. The RSD of method was within 2.3%~5.5%, and the recovery was within 79.6%~116.5%. The method has the advantages of simple operation, high sensitivity and good resolution, and can be used to determine the content of sugars in beef hydrolysates accurately and rapidly.

收稿日期: 2021-07-09

基金项目: 2020 年北京市高等学校高水平人才交叉培养“实培计划”项目。

作者简介: 陈修红 (1987-), 女, 硕士, 工程师, 研究方向: 食品质量与安全, E-mail: xiuhong2006@163.com。

* 通信作者: 刘佳 (1986-), 男, 硕士, 工程师, 研究方向: 食品质量与安全, E-mail: liujial@cofco.com。

Key words: ion chromatography; pulsed amperometric detection; beef; hydrolysates; monosaccharides

牛肉富含蛋白质、氨基酸和多种矿物质,脂肪含量相对较低,是西方发达国家的主要消费肉食之一^[1-2],其价格远远高于鸡肉、鸭肉、猪肉等^[3]。随着人们生活水平的提高以及饮食结构的改变,我国居民对牛肉的需求量也在日益攀升,对牛肉的品质指标和食品安全指标提出了更高要求。近年来,随着食品安全监管部门检测技术的不断完善和更新,食品掺假手段也在日益“进化”,不法商贩通过将食用胶与水混合注入待宰动物体内的方式来增重以谋取暴利^[4],这些食用胶是一类高分子植物多糖,含有大量的氢键,能与蛋白质结合形成巨大的网状结构,并易与水结合形成膜从而锁住水分阻止水分迁移^[5-6],这会导致按 GB 5009.3-2016《食品安全国家标准食品中水分的测定》第三法蒸馏法测定水分含量的结果偏低,达到牛肉水分含量指标外观合格的目标而躲过市场监管,导致市场上出现了“注水”牛肉的升级版“注胶”牛肉,严重损害消费者的利益并威胁民众的生命健康。

根据国家标准 GB 2760-2014《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》,允许使用于食品的食用胶约有 40 种,其中肉制品使用最为广泛的食用胶多为卡拉胶、瓜尔胶、黄原胶、魔芋胶等^[7]。目前,畜禽肉中仅有卡拉胶一种食用胶的标准检测方法, BJS201804《畜肉中卡拉胶的测定》和 NY/T 3876-2021《猪肉中卡拉胶的检测 液相色谱—串联质谱法》,无法实现食用胶注胶掺假的通用型检测。由于食用胶多为碳水化合物,由不同的单体(如葡萄糖、半乳糖、果糖、甘露糖、阿拉伯糖等)以 β 糖苷键、 α 糖苷键及二者混合的不同链接方式而成的多糖大分子^[8-9],通常可通过化学酸解或生物酶解为小分子糖进行测定^[10-11]。目前检测食品中糖含量的方法主要有滴定法、高效液相色谱法、液质连用法、离子色谱法等^[12-15],滴定法操作步骤繁琐,前处理耗时较长;液相色谱法示差检测法灵敏度低,平衡时间长;液质联用仪设备昂贵,结果易受基质效应影响;离子色谱法测定糖具有样品前处理简单,无需衍生,且专一性强、灵敏度高的特点,应用于糖类的测定被广泛关注^[13-14]。

本研究样品水提取物经蛋白沉降后,利用化学酸解的方式水解为单糖,通过离子色谱-脉冲安培检测器,同时分离测定牛肉水解产物中阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、果糖、核糖等 6 种糖组分。旨在建立一种操作简便、灵敏度高、分离度好,能够快速、准确地测定 6 种糖组分方法,积累牛肉水解产物中 6 种糖组分的本底数据,为实现“注胶牛肉”的掺假检测提供一种新的思路 and 方向。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

牛肉 北京市各大型农产品市场;瓜尔豆胶 浙江一诺生物科技有限公司;阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、果糖、核糖 标准品,中国计量科学

研究院;50% 氢氧化钠溶液 德国 Merck 公司;硫酸、无水乙醇 分析纯,国药集团;三氯乙酸 分析纯,阿拉丁试剂公司;广谱 pH 试纸 NEWSTAR 新星;实验室用水是符合国家标准 GB/T6682-2008 规定的一级水,使用前制备。

ICS-5000⁺离子色谱仪(脉冲安培检测器, Au 工作电极, Ag/AgCl 参比电极, Chromenleon6.80 SR15 色谱工作站) 美国 ThermoFisher 公司;GM2000 刀式研磨仪 德国 Retsch 公司;HS4 磁力搅拌器 德国 IKA 公司;Allegra 64R 高速冷冻离心机 美国贝克曼公司;SR-2DS 振荡器 日本 TAITEC 公司;KQ-500DB 型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器;SWT-100 恒温水浴摇床 杭州米欧仪器;BPG-9070A 精密鼓风干燥箱 上海一恒科学仪器;BSA 224-CW 天平(感量 0.0001 g) 美国 Sartorius 公司;Milli-Q 超纯水系统 德国 Merck 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液配制 精密称取阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、果糖、核糖等标准品 10 mg(精确至 0.0001 g),加水溶解定容至 10 mL,得浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液。精密吸取适量,配制成葡萄糖浓度为 10 μ g/mL、其他单糖浓度为 1 μ g/mL 的混合标准溶液。混合标准溶液加水逐级稀释成标准系列工作液,获得葡萄糖浓度为 0.25、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50 μ g/mL,其他单糖浓度为 0.025、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 μ g/mL 的溶液,临用现配。

1.2.2 注胶牛肉制备 牛肉样品经刀式研磨仪捣碎,备用。本研究以瓜尔豆胶为例,自制注胶牛肉。精密称取 0.5 g 瓜尔豆胶,加入 1 mL 无水乙醇在磁力搅拌器上搅拌分散,在搅拌状态下倒入 4 $^{\circ}$ C 冰箱预冷水 10 mL,室温条件下 100 r/min 充分搅拌 2 h 以上制备瓜尔豆胶水溶液。精密称取样品 5 g(精确至 0.001 g)于 50 mL 离心管中,加入 2 mL 制备好的瓜尔豆胶水溶液,充分涡旋混匀模拟制备注胶牛肉样品。

1.2.3 样品前处理 精密称取测试样品 5 g(精确至 0.001 g)于 50 mL 离心管中(注胶牛肉按 1.2.2 制备),加入质量浓度为 1% 三氯乙酸溶液至 50 mL,振荡器震荡 10 min,4 $^{\circ}$ C 条件下 10000 r/min 离心 5 min,转移上层溶液放入 80 $^{\circ}$ C 水浴锅中加热 5 min^[16-18]继续沉淀,冰水迅速冷却,4 $^{\circ}$ C 条件下 10000 r/min 离心 5 min,转移 10.0 mL 上清液到 20 mL 水解管中,加入浓度为 4.0 mol/L 硫酸溶液 1.8 mL,封盖摇匀,置于鼓风干燥箱中 100 $^{\circ}$ C 加热水解 2 h^[19],冷却至室温,转移至 100 mL 比色管中,并用 20 mL 超纯水清洗水解管合并至比色管,用少量 4.0 mol/L 氢氧化钠调节 pH 至 6.0~8.0,加水定容,摇匀后移取 2.0 mL 至 10 mL 容量瓶中,用水定容。过 0.22 μ m 水系滤

膜,待测。

1.2.4 前处理条件优化 精密称取测试样品 5 g(精确至 0.001 g)于 50 mL 离心管中,对蛋白质沉淀:沉淀剂(水和 1% 三氯乙酸溶液)、沉淀温度(60、80、90 °C);水解条件:水解时间(1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h)、水解酸度(1.4、1.6、1.8、2.0、2.2 mL 的 4.0 mol/L 硫酸溶液)等进行单因素实验。

1.2.5 色谱条件 色谱柱: Dionex CarboPac™ PA20 保护柱(3 mm×30 mm)、Dionex CarboPac™ PA20(3 mm×150 mm);柱温: 30 °C;流速: 0.5 mL/min;进样量: 10 μL;流动相: 淋洗液 A(0.2 mol/L 氢氧化钠溶液),淋洗液 B(5 mmol/L 氢氧化钠溶液);洗脱程序: -30~0 min 淋洗液 A(色谱柱再生); 0~20 min 淋洗液 B(等度洗脱);检测器: 脉冲安培 PAD 检测器(Au 工作电极, Ag/AgCl 参比电极),检测器温度 30 °C,检测器四电位波形见表 1;采集时间: 20 min。对标准溶液和样品溶液按以上色谱条件进样分析,依据保留时间定性,采用外标法定量。

表 1 糖测定的积分安培检测波形

Table 1 Integrated pulsed amperometric detection waveforms for sugars

时间(s)	电位(V)	积分
0.00	+0.1	
0.20	+0.1	开始
0.40	+0.1	结束
0.41	-2.0	
0.42	-2.0	
0.43	+0.6	
0.44	-0.1	
0.50	-0.1	

1.3 数据处理

采用 Thermo Chromenleon 6.80 SR15 色谱工作站进行数据采集,并利用 Excel 进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件的优化

食品基质复杂,杂质不仅会对目标峰产生干扰,还容易对进样针、色谱柱及检测器等造成不良影响^[7],在样品前处理过程中对沉淀蛋白质的方法进行了优化,同时还考察了不同的酸度、时间等水解条件。

2.1.1 蛋白质沉淀 常见的除蛋白的方法有金属复合盐法^[15]、有机试剂法^[20-21]、pH 沉淀法^[22-23]、加热变性法^[24]等。本研究样品前处理过程分别考察了将超纯水和 1% 三氯乙酸作为提取溶剂时的溶液澄清度,发现 1% 三氯乙酸能通过降低提取液 pH 而使蛋白质变性提高澄清度;在此基础上考察了 60、80、90 °C 等不同温度下的蛋白质沉淀情况,结果表明,80 °C 条件下提取液基本能达到澄清透明状态。因此,确定 1% 三氯乙酸溶液作为蛋白沉淀剂并辅助 80 °C 加热沉淀效果较好满足离子色谱分析测试要求,如图 1 所示。

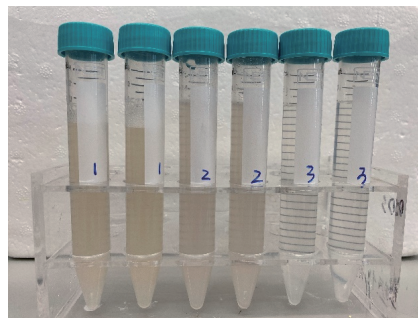


图 1 蛋白沉淀效果图

Fig.1 Efficacy of protein precipitation

注: 1: 水提物; 2: 1% 三氯乙酸提取物; 3: 1% 三氯乙酸提取物在 80 °C 加热沉淀, 双平行。

2.1.2 水解条件 为了考察不同条件对样品中多糖水解能力的影响,本文以样品中添加一定量的瓜尔豆胶为考察物,选取瓜尔豆胶的分子组分半乳糖和甘露糖以及牛肉糖原的分子组分葡萄糖含量为目标结果,优化了水解酸度、水解时间等条件,结果如图 2 所示。

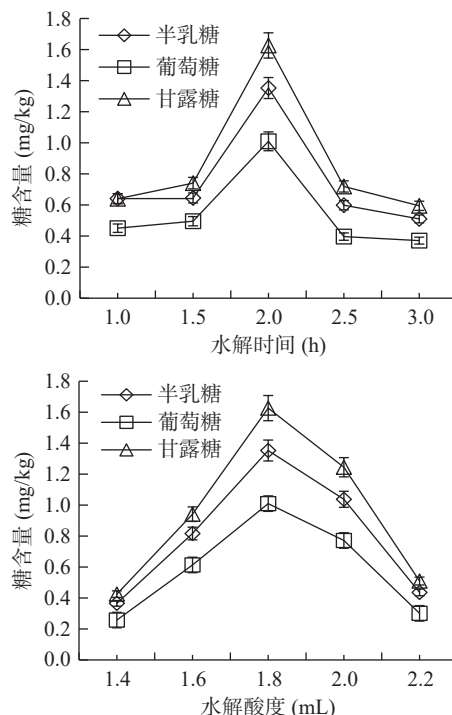


图 2 不同水解时间和加酸体积对糖含量的影响

Fig.2 Effects of different hydrolysis time and acid volume on sugar contents

由图 2 可以看出,随着时间的增长,半乳糖、甘露糖、葡萄糖含量先升高后降低,水解 2.0 h 时三种单糖含量最高,为最佳水解时间;水解时间低于 2.0 h,多糖分子水解不完全,导致单糖含量较低;水解时间超过 2.0 h,高温液态水中单糖易发生脱水反应,生产糠醛或其衍生物^[25-26]。随着酸用量的增加,半乳糖、甘露糖、葡萄糖含量先升高后降低,酸用量为 1.8 mL 即水解酸度 $[H^+]$ 为 1.2 mol/L 时三种单糖含量最高,为最佳水解酸度,继续增加酸用量单糖会在高温和酸性条件下会显现糠醛副反应,即单糖开始转化为羟甲基糠醛^[27-28],三种单糖浓度开始下降。因此,本实验选

择最佳的水解条件为 1.8 mL, 100 °C 加热时间为 2 h。

2.2 色谱条件优化

糖类物质一般为弱酸性, 其 pK_a 值约在 12~14 之间。在碱性溶液中其存在形式为阴离子状态, 可选用氢氧化钠淋洗液洗脱, 通过阴离子交换色谱柱实现分离^[29-31]。试验用葡萄糖浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 、其他单糖浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液考察了用 CarboPac™ PA20 色谱柱不同的淋洗液浓度、流速、柱温等色谱条件。

2.2.1 淋洗液浓度的筛选 本研究对比了在 10、5、3 mmol/L 等三种不同浓度氢氧化钠溶液作为淋洗液 B 对色谱分离情况的影响, 平行进样三次, 如图 3 所示。实验表明, 淋洗液的氢氧化钠溶液浓度的高低对分离效果和分离时间有直接影响, 过高浓度 10 mmol/L 淋洗液色谱出峰过快导致半乳糖和葡萄糖无法完全分离, 如图 3a 所示; 过低浓度 3 mmol/L 淋洗液色谱峰能给完全分离, 但会增加色谱峰保留时

间甚至发生保留时间漂移, 如图 3c 所示。综合以上因素, 选取分离度较好和出峰时间适宜的 5 mmol/L 氢氧化钠作为淋洗液 B 进行洗脱, 色谱图见图 3b。

2.2.2 流速的筛选 本研究考察了在 0.2、0.5、0.8 mL/min 等三种不同流速对色谱分离情况的影响, 如图 4 所示。实验表明, 随着流速的提高, 出峰时间提前, 色谱峰型变窄响应值增大; 当流速设为 0.2 mL/min 时, 如图 4a 所示, 出峰较慢、色谱峰展宽、响应值低, 采集时间需要延长为 40 min; 当流速提升至 0.8 mL/min 时, 如图 4b 所示, 系统压力有明显提高, 基线不平稳波动较大; 当流速设为 0.5 mL/min 时, 如图 4c 所示, 色谱峰分离度良好。选取 0.5 mL/min 流速进行测定。

2.2.3 柱温的筛选 本研究对比考察了 25、30 和 35 °C 三个不同的柱温对色谱分离度和灵敏度方面的差异, 如图 5 所示。结果表明, 随着柱温的升高, 出峰时间提前, 响应值增大。当柱温为 25 °C 时, 如图 5a 所

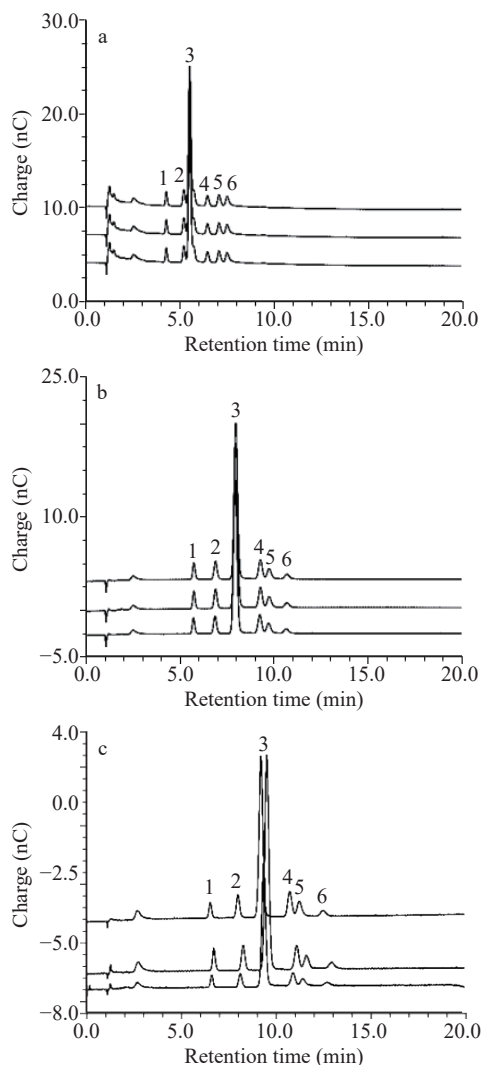


图3 不同淋洗液浓度下的色谱图

Fig.3 Chromatograms at different eluent concentrations

注: 1: 阿拉伯糖; 2: 半乳糖; 3: 葡萄糖; 4: 甘露糖; 5: 果糖; 6: 核糖; 图 4~图 6 同; a: 10 mmol/L 淋洗液; b: 5 mmol/L 淋洗液; c: 3 mmol/L 淋洗液。

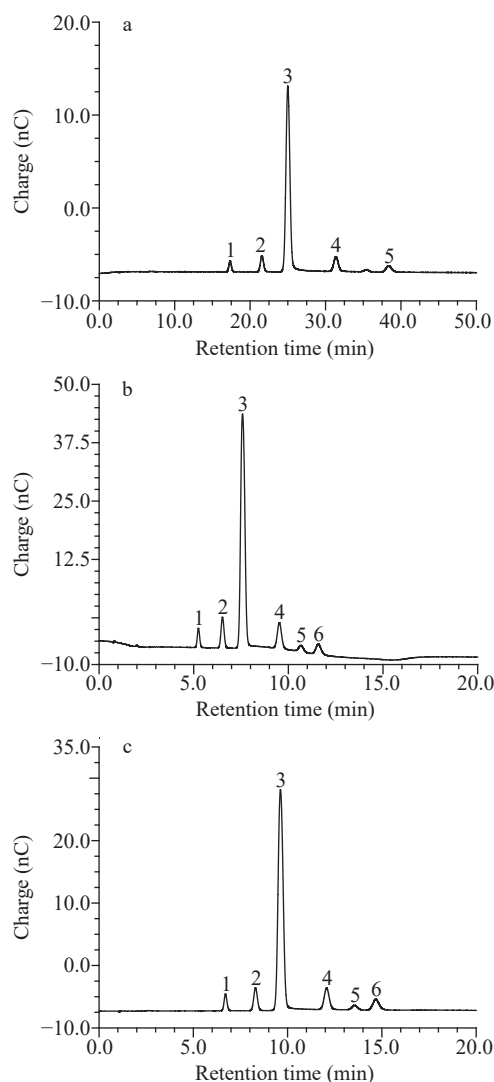


图4 不同流速下的色谱图

Fig.4 Chromatograms at different eluent flows

注: a: 0.2 mL/min 流速; b: 0.8 mL/min 流速; c: 0.5 mL/min 流速。

示, 出峰较慢、色谱峰展宽、响应值低, 采集时间需要延长; 增加柱温至 35 ℃, 如图 5c 所示, 虽然目标物灵敏度无明显变化, 果糖和核糖分离度比柱温为 30 ℃ (如图 5b 所示) 稍差, 考虑到色谱柱的使用温度越低使用寿命越长这个因素, 最终选择测定柱温为 30 ℃。

综上, 在 30 ℃ 柱温条件下, 以 0.5 mL/min 流速用 5 mmol/L 氢氧化钠作为淋洗液 B 进行洗脱能够实现 6 种糖较好地分离, 色谱图如图 6 所示。

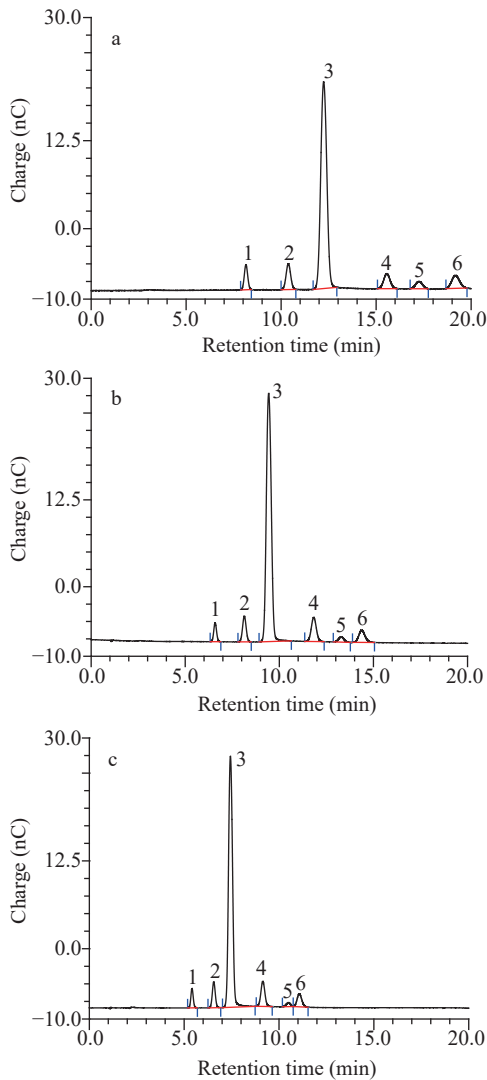


图 5 不同柱温下的色谱图

Fig.5 Chromatograms at different column temperatures
注: a: 25 ℃ 柱温; b: 30 ℃ 柱温; c: 35 ℃ 柱温。

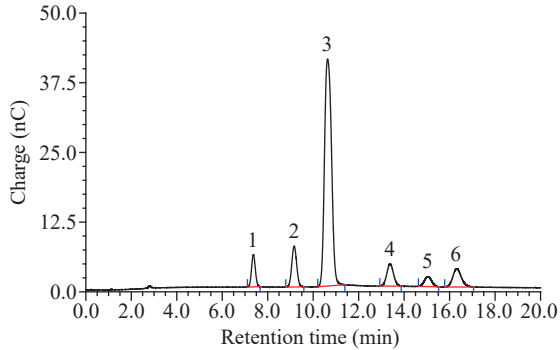


图 6 混合糖标准溶液色谱图

Fig.6 Chromatogram of mixed sugar standards

2.3 方法学考察实验

2.3.1 标准曲线与检出限 将系列标准工作液按优化色谱条件进样分析, 分别以浓度和峰面积为横、纵坐标绘制标准曲线, 并计算线性回归方程和相关系数。对标准溶液进行逐级稀释, 以信噪比 S/N 等于 3 时的溶液浓度为检出限。结果表明, 葡萄糖在 0.25~2.50 μg/mL; 阿拉伯糖、半乳糖、甘露糖、果糖、核糖在 0.025~0.25 μg/mL 范围内线性关系良好, 各中糖组分线性范围、回归方程、相关系数 *r*、检出限等见表 2。

2.3.2 方法重复性 取牛肉样品 6 份, 按 1.2.3 样品前处理方法进行操作, 在优化的色谱条件下上机进样分析测试, 计算样品中 6 种糖组分含量和相对标准偏差, 结果见表 3。结果表明, 相对标准偏差 RSD 介于 2.3%~5.5%, 该方法重复性良好。

2.3.3 方法加标回收率 牛肉样品 12 份, 均分成 4 组, 每组 3 个平行样。其中, 1 组为本底测定, 另外 3 组按低、中、高三个浓度水平加入混合标准品溶液, 按方法要求操作并测定, 分别计算 6 种糖组分的回收率, 测定结果见表 4。结果显示, 6 种糖组分的回收率良好, 范围在 79.6%~116.5% 之间, 具有较高的准确度。

2.3.4 市售样品检测 为了验证方法的适用性, 本次实验选取市售 30 份牛肉样品对其以已建立的方法对阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、果糖、核糖 6 种糖组分含量进行测定, 结果见表 5。测定结果显示, 本次实验收集的市售牛肉均检出半乳糖、葡萄糖、甘露糖、果糖、核糖等, 这与早年英国科学家梅西等人验证的牛肉中存在葡萄糖、果糖、甘露糖和核

表 2 6 种化合物的线性范围、回归方程、检出限(S/N=3)、定量限(S/N=10)

Table 2 Linear ranges, regression equations, LODs (S/N=3) and LOQs (S/N=10) of the six compounds

化合物	线性范围(μg/mL)	回归方程	相关系数 <i>r</i>	检出限(μg/mL)	定量限(μg/mL)
阿拉伯糖	0.025~0.25	Y=1.6389X	0.9986	0.005	0.015
半乳糖	0.025~0.25	Y=2.3734X	0.9994	0.006	0.020
葡萄糖	0.25~2.50	Y=2.2939X	0.9985	0.005	0.015
甘露糖	0.025~0.25	Y=1.8137X	0.9975	0.009	0.030
果糖	0.025~0.25	Y=0.851X	0.9998	0.025	0.075
核糖	0.025~0.25	Y=2.2952X	0.9998	0.007	0.020

表 3 重复性测定结果(n=6)
Table 3 Repeatability test results (n=6)

化合物	1	2	3	4	5	6	均值(mg/kg)	RSD(%)
阿拉伯糖	/	/	/	/	/	/	/	/
半乳糖	4.98	5.14	5.16	4.87	5.07	5.14	5.04	2.3
葡萄糖	326.83	346.19	336.26	367.45	354.42	328.31	346.2	4.6
甘露糖	21.15	20.46	21.68	20.61	21.33	21.79	21.05	2.6
果糖	62.17	65.84	62.17	69.24	61.86	69.30	64.26	5.5
核糖	202.9	224.8	203.9	212.1	202.2	204.2	209.2	4.3

注: “/”表示未检出;表4~表5同。

表 4 加标回收率测定结果(n=3)
Table 4 Recovery test results (n=3)

化合物	本底值(mg/kg)	加标量(mg/kg)	平均测定值(mg/kg)	平均回收率(%)	RSD(%)
阿拉伯糖	/	5	4.472	88.4~90.4	1.1
		10	9.590	95.0~96.9	1.0
		25	23.14	90.8~94.4	1.9
半乳糖	4.981	5	9.074	80.6~83.1	0.7
		10	13.04	79.6~81.5	0.7
		25	28.12	92.3~92.8	0.2
葡萄糖	183.0	100	273.2	81.9~98.5	3.0
		200	403.0	105.9~114.2	2.1
		500	703.0	103.9~104.1	0.0
甘露糖	19.18	20	37.24	88.4~92.2	1.0
		40	65.38	114.5~116.5	0.6
		100	118.7	91.0~108.0	7.2
果糖	4.31	5	8.830	90.3~90.5	0.1
		10	13.75	85.6~103.3	6.4
		25	31.44	108.1~109.0	0.3
核糖	170.0	100	260.0	80.3~99.7	3.7
		200	390.0	108.0~112.1	1.1
		500	690.2	103.0~105.1	0.8

表 5 市售牛肉样品 6 种糖组分测定结果
Table 5 Determination results of six sugars in commercial beef samples

样品名称	含量(mg/kg)							甘露糖/总糖
	阿拉伯糖	半乳糖	葡萄糖	甘露糖	果糖	核糖	总糖	
牛腱子肉	/	10.28	161.9	39.39	15.96	156.24	383.8	0.10
牛霖肉	/	6.14	653.4	44.94	12.82	135.92	853.2	0.05
牛肋肉	/	10.19	56.8	26.79	11.14	28.67	143.6	0.19
牛肉	/	4.87	820.1	67.35	58.58	204.20	1155	0.06
精品牛上脑	/	9.66	475.8	38.69	37.76	169.52	731.5	0.05
澳洲牛腩块	/	3.50	550.1	45.32	82.73	158.40	840.1	0.05
牛后腿肉	/	8.54	1034.5	289.9	138.4	281.2	1753	0.17
牛外脊肉	/	11.97	1983.5	217.7	131.2	204.9	2549	0.09
牛上脑肉	/	13.12	546.9	83.71	29.42	183.80	857.0	0.10
牛肋条肉	/	11.24	160.2	56.53	11.81	107.32	347.1	0.16
牛后腿肉	/	12.32	276.7	190.5	10.12	272.20	763.1	0.24
牛肉	/	7.81	694.4	79.24	51.41	212.06	1045.0	0.08
牛腱子肉	/	26.12	556.9	73.46	21.17	150.53	828.2	0.09
牛上脑肉	/	17.11	74.18	15.83	10.56	138.78	256.5	0.06
牛腿肉	/	22.55	326.8	41.12	17.42	138.76	546.7	0.08
牛腱子肉	/	4.98	266.5	21.15	0.00	173.01	465.6	0.05
牛肉	/	5.72	597.8	46.20	46.43	203.89	900.0	0.05
牛腩肉	/	5.80	682.3	48.34	42.18	169.23	947.8	0.05
牛腩肉	/	6.41	541.4	57.52	47.54	146.14	799.0	0.07
牛前腿腱	/	6.60	875.9	86.16	102.42	118.81	1189.9	0.07
牛腩	/	4.20	595.6	42.24	36.72	107.9	786.7	0.05

续表 5

样品名称	含量(mg/kg)							甘露糖/总糖
	阿拉伯糖	半乳糖	葡萄糖	甘露糖	果糖	核糖	总糖	
牛肉	/	3.76	1129	34.50	39.55	114.2	1321.0	0.03
肥牛肉片	/	7.12	695.4	59.24	50.08	123.5	935.3	0.06
牛腰窝肉	/	6.56	457.2	20.61	11.97	137.3	633.6	0.03
牛上脑肉	/	4.39	887	70.22	49.69	155.9	1167.2	0.06
澳洲牛腩	/	3.16	637.5	32.32	69.3	169.4	911.7	0.04
牛腩肉	/	9.07	975.1	102.41	53.77	202.2	1342.6	0.08
牛腩肉	/	8.64	912.2	86.12	104.2	232.7	1343.9	0.06
牛腱子肉	/	5.14	782.7	95.05	62.17	237.6	1182.7	0.08
A	/	6.14	653.4	44.94	59.92	135.92	900.3	0.05
A+瓜尔豆胶 ^a	5.9	227.9	712.2	377.00	54.3	142.4	1519.7	0.25

注: “a”表示向编号为A的牛肉中添加10 mg瓜尔豆胶后的测定结果。

糖等结论基本一致^[32-35], 并未检出阿拉伯糖。同时, 往其中一份牛肉样品中添加少量(约 0.2%)的瓜尔豆胶, 对其按已建立的方法进行糖组分含量的测定, 发现半乳糖、甘露糖的含量明显提高, 其中, 甘露糖占总糖占比由 0.05 提高至 0.25, 明显高于另外 29 份市售牛肉样本的 0.03~0.19。这是由于样品中添加的瓜尔豆胶是一种半乳甘露聚糖^[36], 分子由半乳糖和甘露糖(1:2)组成, 经前处理水解后势必增加瓜尔豆胶特征单糖甘露糖的占比。仅 1 份市售样本的甘露糖占总糖占比为 0.24, 与添加的瓜尔豆胶的阳性样本基本一致。由此表明, 可以通过添加不同类型的食用胶(卡拉胶、黄原胶、瓜尔胶、魔芋胶等)至牛肉样品中, 通过本研究所建立的检测方法, 积累获得各种食用胶的特征单糖甘露糖占比, 为实现“注胶牛肉”的掺假检测提供了一定的可行性。

3 结论

本文建立了离子色谱-脉冲安培检测方法同时测定牛肉水解产物中阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、果糖、核糖 6 种糖组分的含量, 并对样品的前处理及色谱条件进行了考察和优化, 使其可用于市售样品的检测。结果表明, 6 种糖在本方法条件下能够完全分离, 葡萄糖在 0.25~2.50 μg/mL、其他 5 种糖在 0.025~0.25 μg/mL 之间线性关系良好, 精密度 RSD 在 2.3%~5.5%, 回收率在 79.6%~116.5% 之间。该方法便于操作、灵敏度高、分离度好, 能够准确、快速地测定牛肉水解产物中糖组分含量, 为实现注胶肉的检测提供一种新的思路和方向。

参考文献

[1] 麻海峰, 常征, 杨光辉. 牛肉的营养价值及排酸、速冻工艺研究[J]. 农业科技与装备, 2010(7): 34-36. [MA Haifeng, CHANG Zheng, YANG Guanghui. Value of beef and its acid discharge and quick-freeze techniques[J]. Agricultural Science & Technology and Equipment, 2010(7): 34-36.]

[2] 董建国. 超高压及谷氨酰胺转胺酶对牛肉肠品质的影响[D]. 洛阳: 河南科技学院, 2013. [DONG Jianguo. Effects of high hydrostatic pressure and microbial transglutaminase treatment on the qualities of beef sausage[D]. Luoyang: Henan Institute of Science

and Technology, 2013.]

[3] 金萍, 丁洪流, 李培, 等. 2013 年苏州地区肉及其制品掺假情况调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(2): 168-172. [JIN Ping, DING Hongliu, LI Pei, et al. Analysis of meat products adulterated in Suzhou area in 2013[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2014, 26(2): 168-172.]

[4] 程灵豪, 焦永亮. 白肌肉、注水肉、注胶肉的鉴别检验方法[J]. 中国动物检疫, 2015, 32(4): 28-31. [CHENG Linghao, JIAO Yongliang. Inspection methods of the PSE meat, water-injected meat and gel-injected meat[J]. China Animal Health Inspection, 2015, 32(4): 28-31.]

[5] 赵改名, 孟子晴, 祝超智, 等. 不同食用胶与牛肉糜结合力及凝胶性能的比较[J]. 现代食品科技, 2020, 36(4): 7. [ZHAO Gaiming, MENG Ziqing, ZHU Chaozhi, et al. Comparison of the binding and gel properties between different edible gums and beef paste[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(4): 7.]

[6] 徐宏蕾, 王亚珍, 谢晶, 等. 壳寡糖对壳聚糖—明胶复合膜的牛肉保鲜性能影响[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(10): 46-51. [XU Honglei, WANG Yazhen, XIE Jing, et al. Effect of chitosan oligosaccharide on preservation of beef of gelatin-chitosan composite films[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2018, 37(10): 46-51.]

[7] 白明, 尹金兰. 肉制品中常见食用胶及其应用[J]. 食品安全导刊, 2010(1): 50-52. [BAI Ming, YIN Jinlan. Common edible glue in meat products and its application[J]. China Food Safety Magazine, 2010(1): 50-52.]

[8] 张奇, 冯峰, 杨淑玲, 等. 不同产地霸王花粗多糖的单糖组成及体外抗氧化活性[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2019, 37(2): 83-89. [ZHANG Qi, FENG Feng, YANG Shuling, et al. Studies on monosaccharide composition and antioxidant activity of crude polysaccharide from *Hylocereus undatus* (Haw.) Urril. et. Rose of different regions[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science), 2019, 37(2): 83-89.]

[9] 张文平. 植物乳杆菌 LPC-1 胞外多糖发酵, 结构解析及诱导水稻抗逆性研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2019. [ZHANG Wenping. Fermentation, structural characterization and induction of stress resistance in rice of exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* LPC-1[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2019.]

- [10] 饶君凤, 吕伟德, 章卓梁, 等. 离子色谱-脉冲安培法分析西红花多糖的单糖组成[J]. 浙江大学学报(理学版), 2015, 42(3): 330-333, 346. [RAO Junfeng, LYU Weide, ZHANG Zhuoliang, et al. Monosaccharide composition analysis of polysaccharides in safflower by ion chromatography pulsed amperometric detection[J]. Journal of Zhejiang University (Science Edition), 2015, 42(3): 330-333, 346.]
- [11] 柴银, 王虹, 刘雅萌, 等. 离子色谱测定多糖的单糖组成的方法学研究及其应用[J]. 药物生物技术, 2016, 23(4): 332-336. [CHAI Yin, WANG Hong, LIU Yameng, et al. Methodology study of monosaccharide composition by HPAEC-PAD and its application[J]. Pharmaceutical Biotechnology, 2016, 23(4): 332-336.]
- [12] 李国强, 尹平河, 赵玲, 等. 离子色谱-积分脉冲安培检测法测定大蒜多糖的单糖组成[J]. 分析测试学报, 2007(3): 401-403, 408. [LI Guoqiang, YIN Pinghe, ZHAO Ling, et al. Determination of monosaccharides in garlic polysaccharide by ion chromatography-integrated pulsed amperometric detection[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2007(3): 401-403, 408.]
- [13] 徐佳佳, 刘玉峰, 孔凡华, 等. 离子色谱-脉冲安培法检测食品中功能性低聚异麦芽糖[J]. 食品工业科技, 2021, 42(13): 262-267. [XU Jiajia, LIU Yufeng, KONG Fanhua, et al. Determination of isomalt oligosaccharide in foods by ion chromatography-pulsed amperometric detection[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(13): 262-267.]
- [14] JASZCZAK E, KOZIOL K, KIELBRATOWSKA B, et al. Application of ion chromatography with pulsed amperometric detection for the determination of trace cyanide in biological samples, including breast milk[J]. Journal of Chromatography B, 2019, 1110-1111: 36-42.
- [15] 彭丽诗, 陈琼, 黄盼, 等. 离子色谱-脉冲安培法同时测定食品中9种糖和糖醇的含量[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 250-254, 259. [PENG Lishi, CHEN Qiong, HUANG Pan, et al. Simultaneous determination of 9 sugars and sugar alcohols in foods by Ion chromatography with pulsed amperometric detection[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(9): 250-254, 259.]
- [16] 陈越, 宋振康, 张海悦. 三氯乙酸法脱除龙葵果多糖中蛋白质的工艺优化[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(24): 198-203. [CHEN Yue, SONG Zhenkang, ZHANG Haiyue, et al. Study on optimization of response surface for the removal of protein from polysaccharide of *Solanum nigrum* fruit by chloroacetic acid method[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(24): 198-203.]
- [17] 刘瑀, 方志强, 刘宇馨, 等. 虾夷扇贝多糖提取及纯化方法的优化[J]. 食品科学, 2017, 38(18): 208-213. [LIU Yu, FANG Zhiqiang, LIU Yuxin, et al. Optimization of extraction and purification of polysaccharides from *Patinopecten yessoensis*[J]. Food Science, 2017, 38(18): 208-213.]
- [18] 市场监管总局. 市场监管总局关于发布《畜肉中卡拉胶的测定》食品补充检验方法的公告[2018年第10号][J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(4): 1. [General Administration of Market Supervision. Announcement of General Administration of Market Supervision on Issuing supplementary food inspection methods for determination of carrageenan in animal meat [2018 No.10][J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2018, 30(4): 1.]
- [19] 孔俊豪, 史劲松, 孙达峰, 等. 瓜尔胶及其衍生物最新研究进展[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(4): 167-170. [KONG Junhao, SHI Jinsong, SUN Dafeng, et al. Recent research progress in guar gum and its derivative[J]. Food Research and Development, 2009, 30(4): 167-170.]
- [20] ZHU Zuoyi, ZHANG Yu, WANG Junhong, et al. Characterization of sugar composition in Chinese royal jelly by ion chromatography with pulsed amperometric detection[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2019, 78(5): 101-107.
- [21] VERONIQUE S, SEAN A, KOMMER B, et al. Determination of fructans in infant formula and adult/pediatric nutritional formula by anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection after enzymatic treatment: Collaborative study, final action 2016.14[J]. Journal of AOAC International, 2020(5): 1301-1317.
- [22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.89-2016 食品安全国家标准食品中烟酸和烟酰胺的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. GB 5009.89-2016 National Standard of the People's Republic of China Determination of niacin and nicotinamide in food[S]. Beijing: China Standards Press, 2016.]
- [23] HAGERMAN A E, BUTLER L G. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 1978, 26(4): 568-569.
- [24] 李秀琴, 杨总, 张庆合. 测定肉制品中6种食品添加剂的样品前处理方法[J]. 理化检验(化学分册), 2013, 49(2): 186-189. [LI Xiuqin, YANG Zong, ZHANG Qinghe. Pretreatment of samples of meat products for simultaneous determination of 6 food additives[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2013, 49(2): 186-189.]
- [25] 阎智锋, 连洁, 赵舟, 等. 亚临界水中葡萄糖转化生成5-羟甲基糠醛的理论研究[J]. 燃料化学学报, 2021, 49(8): 1122-1131. [YAN Zhifeng, LIAN Jie, ZHAO Zhou, et al. Theoretical insight into the conversion of glucose to 5-hydroxymethylfurfural in subcritical water[J]. Journal of Fuel Chemistry and Technology, 2021, 49(8): 1122-1131.]
- [26] 孙欣, 张承明, 时川, 等. 红枣黑变前后感官特性及功能和香气成分的比较[J]. 中国食物与营养, 2019, 25(1): 4. [SUN Xin, ZHANG Chengming, SHI Chuan, et al. Comparison of sensory characteristics, function and aroma components between red jujube and black jujube[J]. Food and Nutrition in China, 2019, 25(1): 4.]
- [27] 路鹏, 江滔, 李国学. 木质纤维素乙醇发酵研究中的关键点及解决方案[J]. 农业工程学报, 2006, 22(9): 237-240. [LU Peng, JIANG Tao, LI Guoxue. Key points of ethanol fermentation of lignocellulose and resolving methods[J]. Transactions of the CSAE, 2006, 22(9): 237-240.]
- [28] MARTIN C, JONSSON L J. Comparison of the resistance of industrial and laboratory strains of *Saccharomyces* and *Zygosaccharomyces* to lignocellulose-derived fermentation inhibitors[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2003, 32(3): 855-858.
- [29] 宋卫得, 苏征, 惠希东, 等. 离子色谱-积分脉冲安培检测法

- 同时测定酱油中 20 种氨基酸和 5 种糖[J]. *色谱*, 2019, 37(9): 996–1003. [SONG Weide, SU Zheng, HUI Xidong, et al. Simultaneous determination of twenty amino acids and six carbohydrates in soy sauce by ion chromatography with integrated pulsed amperometric detection[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2019, 37(9): 996–1003.]
- [30] 朱伟, 宁啸骏, 杜茹芸. 高效离子色谱法检测婴幼儿配方奶粉中的功能性低聚糖[J]. *食品科学*, 2017, 38(24): 224–228. [ZHU Wei, NING Xiaojun, DU Ruyun. Determination of functional oligosaccharides in infant formula milk powder by high performance ion chromatography[J]. *Food Science*, 2017, 38(24): 224–228.]
- [31] 黎小兰, 陈彩云, 蔡伟江, 等. 液相色谱-质谱法测定保健食品乳清蛋白粉类中叶酸含量的前处理条件的优化[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(8): 3085–3091. [LI Xiaolan, CHEN Caiyun, CAI Weijiang, et al. Optimization of pretreatment methods for determination of folic acid content in health food of whey protein powder by liquid chromatography-mass chromatography[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2017, 8(8): 3085–3091.]
- [32] KOUTSIDIS G, ELMORE J S, ORUNA-CONCHA M J, et al. Water-soluble precursors of beef flavour: I. Effect of diet and breed[J]. *Meat Science*, 2008, 79(1): 124–130.
- [33] MACY R L, NAUMANN H D, BAILEY M E. Water-soluble flavor and odor precursors of meat. (I) Qualitative study of certain amino acids, carbohydrates, non amino-acid nitrogen compounds and phosphoric acid esters of beef, pork, and lamb[J]. *Journal of Food Science*, 1964, 29: 136–141.
- [34] MACY R L, NAUMANN H D, BAILEY M E. Water-soluble flavor and odor precursors of meat. (II) Effects of heating on amino nitrogen constituents and carbohydrates in lyophilized diffusates from aqueous extracts of beef, pork and lamb[J]. *Journal of Food Science*, 1964, 29: 142–148.
- [35] MACY R L, NAUMANN H D, BAILEY M E. Water-soluble flavor and odor precursors of meat. 5. Influence of heating on acidextractable non-nucleotide chemical constituents of beef, lamb and pork[J]. *Journal of Food Science*, 1970, 35: 83–87.
- [36] 范田慧, 孙延平, 乔威杰, 等. 半乳甘露聚糖的提取纯化, 结构特征以及应用研究进展[J]. *化学工程师*, 2021, 35(5): 5. [FAN Tianhui, SUN Yanping, QIAO Weijie, et al. Progress in extraction, purification, structural characteristics and application of galactomannan[J]. *Chemical Engineer*, 2021, 35(5): 5.]