

文章编号: 1000-0615(2006)05-0695-06

鳙肌原纤维三聚磷酸盐水解酶(TPPase)的活性

高瑞昌, 薛长湖, 李兆杰, 薛勇, 董平

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要 采用离子色谱方法检测添加的三聚磷酸盐(STPP)在新鲜碎鳙肉和鳙肌原纤维蛋白(Mf)所发生的水解。研究表明,添加到新鲜碎鳙肉中的STPP能被水解成焦磷酸盐(PP)和单磷酸盐(Pi),所生成的PP继续水解,最终产物为Pi。鳙肌原纤维蛋白具有三聚磷酸盐水解酶(TPPase)活性,能将STPP水解成PP和Pi。鳙肌原纤维蛋白TPPase水解STPP的最适温度为25℃,最适pH为5.5。低浓度的 Mg^{2+} 能够激活鳙肌原纤维蛋白TPPase,但 Mg^{2+} 超过 $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时却起到了抑制作用。鳙肌原纤维蛋白TPPase活性受到KCl的影响,在 $0.3\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl条件下活性最高。EDTA- Na_2 能够抑制鳙肌原纤维蛋白TPPase活性。

关键词 鳙肌原纤维;三聚磷酸盐水解酶

中图分类号: Q556.S917

文献标识码: A

Study on the tripolyphosphatase (TPPase) of myofibrils from *Aristichthys nobilis* muscle

GAO Rui-chang, XUE Chang-hu, LI Zhao-jie, XUE Yong, DONG Ping

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The hydrolysis of sodium tripolyphosphate (STPP) in the fresh *Aristichthys nobilis* minced meat and myofibrils (Mf) were studied by using ion chromatography (IC). The results showed that STPP was hydrolyzed to pyrophosphate (PP) and orthophosphate (Pi), whereas pyrophosphate was further hydrolyzed to orthophosphate in *Aristichthys nobilis* minced meat. In the case of myofibrils, STPP was also hydrolyzed to pyrophosphate and orthophosphate. Myofibrils from *Aristichthys nobilis* muscle had the activity of tripolyphosphatase (TPPase). The optimum temperature and pH for the TPPase activity of myofibrils from *Aristichthys nobilis* muscle were 25 °C, pH 5.5. The TPPase activity of myofibrils was activated at the condition of below $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Mg}^{2+}$, but was inhibited when the content of Mg^{2+} over $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. At the condition of $0.3\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl, the strongest activity was determined at $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Mg}^{2+}$. The TPPase activity of myofibrils from *Aristichthys nobilis* was also affected by KCl. The optimum consistence of KCl for the TPPase was $0.3\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ at the condition of $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Mg}^{2+}$. EDTA- Na_2 could inhibit activity of TPPase.

Key words: *Aristichthys nobilis*, myofibrils, tripolyphosphatase (TPPase)

三聚磷酸盐(sodium tripolyphosphate, STPP)作为食品添加剂已被世界各国广泛使用了约半个世纪,对食品品质的改良起到重要作用,尤其是在肉类工业中。在水产品加工中,三聚磷酸盐是一种重要的保水剂和蛋白质稳定剂^[1,2]。多聚磷酸

盐的功能特性主要是可以螯合金属离子、提高pH值、解离肌动球蛋白^[3,4]等。目前,对于多聚磷酸盐在肉类中的功能特性研究较多,而对其添加到肌肉中所发生的水解变化研究较少^[5-7]。Akinobu Matsunaga等利用高效液相色谱检测到多

收稿日期: 2005-09-13

资助项目: 国家863计划项目(2005AA625010); 国家十五重大专项课题(2001BA501A-26); 新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-04-0642)

作者简介: 高瑞昌(1976-),男,山东薛城人,博士研究生,主要从事食品化学研究

通讯作者: 薛长湖, Tel: 0532-82032468, E-mail: xuech@mail.ouc.edu.cn

聚磷酸盐在冷冻鲤鱼糜中发生水解^[8,9]。多聚磷酸盐在肌肉中发生水解会使其功能特性减弱甚至消失。这将显著降低多聚磷酸盐在肉制品中的保水性能和冷冻水产品中的保水抗冻性能,其结果是所添加的多聚磷酸盐没起到任何效果,反而提高了产品中总磷含量,影响了产品的安全性。如何在安全的范围内,使添加的多聚磷酸盐更好地发挥作用,使其在最低添加量的情况下达到最好效果,探索三聚磷酸在肌肉中的水解变得非常必要。目前,对于添加到新鲜鲮碎鱼肉的三聚磷酸盐的水解情况尚未研究,并且对具有水解三聚磷酸盐活性的酶仍未能确定。

早期对于多聚磷酸盐的测定一直使用化学的方法,但是这些方法本身特点限制了测定的准确性。离子色谱(IC)已被用于分离测定肌肉中多聚磷酸盐^[10,11],是一种准确快速的测定方法。本文利用离子色谱技术检测添加到新鲜碎鲮肉中的三聚磷酸盐,研究其水解变化过程,并对具有水解三聚磷酸盐活性的酶进行了初步探索,研究了肌原纤维蛋白 TPPase 活力的影响因素。本研究旨在探索多聚磷酸盐在水产品加工中发生的变化,寻求在生产过程中控制多聚磷酸盐水解的工艺,以期在使用最低添加量的条件下达到最佳使用效果。

1 材料与方法

1.1 材料

活鲮(*Aristichthys nobilis*)购于青岛水产品市场。ICS-2000 离子色谱仪,美国 Dionex 公司; Milli-Q 纯水发生器,美国 Millipore 公司;所用化学试剂均为分析纯。

1.2 方法

新鲜碎鲮肉样品的制备 活鱼经宰杀、放血、取背部肌肉搅碎,平均分取 4 g,加入 1 mL 6% STPP 混匀,调制成 5 mL 25℃水浴不同时间后,用 20 mL 6%的三氯乙酸(TCA)终止反应,超声波萃取 6 min,过滤,取 1 mL 滤液定容为 100 mL,调 pH>8,然后过 0.45 μm 的滤膜,上样测定。对照组为鱼肉在加入 1 mL 20%的 TCA 25℃水浴 10 min 后,再加入 STPP 测定水解过程。每个样品均取 3 个平行。

鲮肌原纤维蛋白的提取 参考文献[12],取 50 g 鱼肉与 4 倍重量的冰冷的 50 mmol·L⁻¹

KCl + 20 mmol·L⁻¹ tris-mealat(pH 7.0)缓冲液混合,用匀浆器匀浆,每匀浆 20 s 停 20 s,此步骤重复 3~4 次。随后 9 000 r·min⁻¹低温离心 10 min,将上清液倒出,得沉淀,重复 3 次。最后将所得沉淀用 6 倍体积的 0.6 mol·L⁻¹ KCl + 20 mmol·L⁻¹ tris-mealat(pH 7.0)的缓冲液混合匀浆,低温(4℃)提取 60 min 后 9 000 r·min⁻¹低温离心 30 min,所得上清液为鲮肌原纤维蛋白溶液。置于 4℃下保存备用。

蛋白浓度的测定 按双缩脲法进行^[13]。

鲮肌原纤维蛋白 TPPase 活性测定 将 0.2 mL 50 mmol·L⁻¹ tris-mealate(pH 7.0), 0.2 mL 50 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 0.08 mL 3 mol·L⁻¹ KCl, 1.22 mL H₂O, 0.2 mL Mf 溶液,再加入 0.1 mL 新配制的 20 mmol·L⁻¹ STPP(pH 7.0)混匀(终浓度为 1 mmol·L⁻¹) 25℃下孵育,用 1 mL 的 10% TCA 终止反应。残余的 STPP 使用离子色谱进行定量测定,以水解 1 μmol STPP·h⁻¹·mg⁻¹ Mf 为 1 个活力单位。对照为蛋白质溶液先加入 1 mL 的 10% TCA 25℃下孵育 10 min,然后再加入 STPP 进行反应。每个样品均设 3 个平行,每个平行测定 2 次,下列实验相同。温度对鲮肌原纤维蛋白质 TPPase 活性的影响 将反应体系(同上)分别在 2、6、20、25、30、35、40、45、50 和 60℃条件下反应 30 min,检测不同温度下 Mf 水解 STPP 活力的变化情况,活性测定同上。对照为蛋白质溶液先加入 1 mL 的 10% TCA 不同温度下孵育 10 min,然后再加入 STPP 进行反应。

pH 对鲮肌原纤维蛋白质 TPPase 活性的影响 不同 pH 缓冲液(pH 4~7 的 0.1 mol·L⁻¹ tris-acetate 和 pH 8~9 的 0.1 mol·L⁻¹ Tris-HCl), 5 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 0.3 mol·L⁻¹ KCl 条件下,加入 Mf 溶液,再加入新配制的 STPP(pH 7.0)终浓度为 1 mmol·L⁻¹,混匀,25℃下孵育 30 min,用 10% TCA 终止反应,测定 Mf 水解 STPP 活力变化。对照是 Mf 溶液先加入 10% TCA,25℃下孵育 10 min 后再加入 STPP 测定其水解。

鲮肌原纤维蛋白质 TPPase 对 Mg²⁺ 和 K⁺ 的依赖性 反应体系(同上)中分别加入不同浓度 Mg²⁺ 和 K⁺,其他条件同活性测定方法,测定不同离子浓度下 Mf 的 TPPase 活性变化。

EDTA-Na₂ 对鲮肌原纤维蛋白质 TPPase 的抑制性 反应体系(除 STPP 外)预先分别与 0.5

mmol·L⁻¹、1 mmol·L⁻¹、5 mmol·L⁻¹和 10 mmol·L⁻¹的 EDTA-Na₂ 在 25 ℃水浴中孵育 30 min, 然后再加入 STPP 进行反应, 其他条件同活性测定方法, 测定其残留活性。

离子色谱测定条件 仪器型号: ICS-2000, 色谱柱类型: IonPac AG11 保护柱(4 mm × 50 mm)+ AS11 分离柱(4 mm × 250 mm); 检测方式: 抑制型电导检测, 淋洗液组成: KOH 淋洗液发生器发生 KOH; 进样体积: 25 μL; 样品测定前先用 Ag 柱除去过多的 Cl⁻。所用溶液均用 18.2 MΩ·cm 纯水制备。

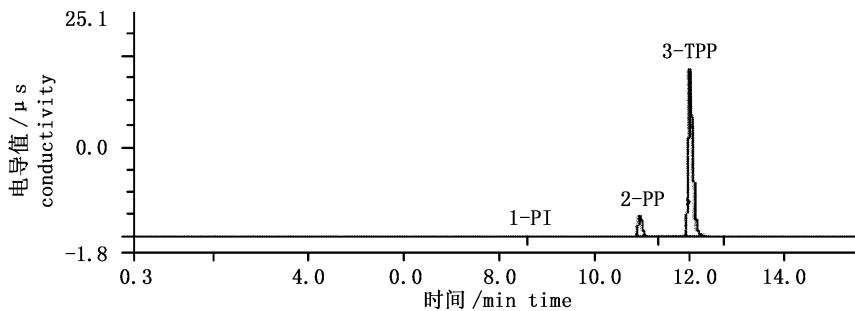


图 1 STPP 离子色谱图

Fig.1 Chromatogram of sodium tripolyphosphate

表 1 25 ℃下 STPP 的稳定性

Tab.1 The stability of 6% STPP at condition of 25 ℃

时间(h) time	0	12	24	36	48
TPP 含量(mg) content	19.70 ± 0.11	19.47 ± 0.31	19.28 ± 0.18	19.26 ± 0.15	19.05 ± 0.23

从表 1 可以看出 STPP 溶液在室温下放置发生水解, 但速度十分缓慢, 在配制 48 h 后仅水解了 3.17% ($P > 0.05$)。

STPP 在新鲜碎鲮肉中的水解 从图 2-a 可知, 新鲜的鲮肉本身含有较高的单磷酸 70 × 10⁻⁶。在室温条件下 STPP 被加到新鲜的碎鲮肉中后, 立即发生水解, 水解产物为 PP 和 Pi。图 2-b 是添加 10 min 后的结果, TPP 有原来的 19.38 mg 降低到 16.64 mg, 水解程度为 14.11%, 到 600 min 时(图 2-e)只有 1.13 mg 没有水解。在最初阶段 TPP 水解速度较快, PP 处于积累阶段, 在 270 min 时(图 2-d)达到 24.89 mg, 而到 600 min 时含量显著下降, 比 270 min 降低了 43.99%。由此可见, 生成的中间产物 PP 发生了水解, 其水解产物是 Pi。从结果可看出 STPP 在新鲜碎鲮肉中水解速度远远高于在室温下的自然水解, 并且对照组肌

2 结果

2.1 STPP 在新鲜碎鲮肉中的水解

STPP 的纯度和稳定性 本实验所使用 STPP 的离子色谱图如图 1 所示。由图可以看出试剂本身除三磷酸酸根(TPP)外, 还含有少量的焦磷酸根(PP)和单磷酸根(Pi)。Pi 的保留时间为 8.40 min, PP 的保留时间为 11.04 min, TPP 的保留时间为 12.15 min, 使用离子色谱可以完全分离不同形式的磷酸盐, 回收率为 98.5% ~ 106.2%。

肉在被 TCA 处理后不具备水解 TPP 的能力, 说明鲮肌肉中的确存在三聚磷酸盐水解酶(TPPase), 并且可能存在焦磷酸盐水解酶(PPase)。样品中添加的 TCA 保留时间比较靠后不影响各种磷酸盐的测定。

2.2 肌原纤维蛋白 TPPase 活性及影响因素

最适温度范围 图 3 为鲮肌原纤维 TPPase 活力在不同温度条件下的变化曲线。从图可以看出肌原纤维蛋白 TPPase 水解 STPP 的最适温度在 25 ℃附近。其活力在 6 ℃到 20 ℃时上升缓慢, 而在 20 ~ 25 ℃时上升较快。当温度超过 25 ℃后, 酶活力则急剧下降, 在 60 ℃时酶活力仅残留 22%, 表现为热失活。

最适 pH 值范围 图 4 表明 pH 对鲮肌原纤维 TPPase 活力的影响情况。从 pH—酶活力曲线可看出, 酶活力在 5.5 附近有一最高峰, 在 6.5

附近还有 1 个小峰。在 $\text{pH} < 5$ 和 $\text{pH} > 7$ 的条件下,酶活力显著降低,可知鳙肌原纤维蛋白 TPPase 的最适 pH 在 5.5 附近。

TPPase 活力对 Mg^{2+} 的依赖性 在 $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}^+$ 条件下,不同浓度的 Mg^{2+} 对鳙肌原纤维蛋白 TPPase 活力的影响程度如图 5 所示。 Mg^{2+} 的浓度在 $0 \sim 5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对鳙肌原纤维蛋白 TPPase 起激活作用,酶活力呈上升趋势,而在 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后酶活力却下降,表现出抑制作用,尤其当浓度超过 $7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时抑制作用显著增强。结果表明 Mg^{2+} 是 TPPase 的必需因子,在低浓度

时能激活 TPPase,但在较高浓度时又起到抑制作用。

K^+ 的影响 在 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Mg}^{2+}$ 条件下,不同浓度 K^+ 对鳙肌原纤维蛋白 TPPase 活力的影响程度如图 6 所示。结果表明在 $0.05 \sim 0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}^+$ 时酶活力缓慢上升,而在 $0.2 \sim 0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}^+$ 时酶活力急剧上升,随 K^+ 浓度再增加酶活力则逐步降低,在 $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}^+$ 浓度时活力最高。由结果可看出在 K^+ 能激活 TPPase 活性,促进 STPP 的水解,但是浓度高于 $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时又表现出一定的抑制作用。

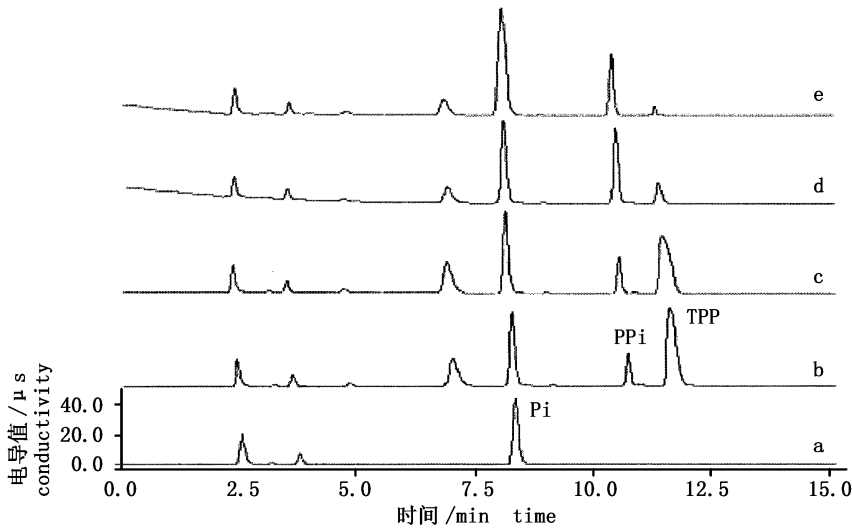


图 2 25 °C 下,STPP 在新鲜碎鳙肉中的水解离子色谱图

Fig.2 Chromatogram of the hydrolysis of STPP in the *Aristichthys nobilis* fresh minced meat at 25 °C

- a. 未加 STPP 的新鲜鳙肉 ; b. STPP 处理 10 min ; c. STPP 处理 30 min ; d. STPP 处理 270 min ; e. STPP 处理 600 min
- a. fresh *Aristichthys nobilis* minced meat ; b. STPP been added for 10 min ; c. STPP been added for 30 min ; d. STPP been added for 270 min ; e. STPP been added for 600 min

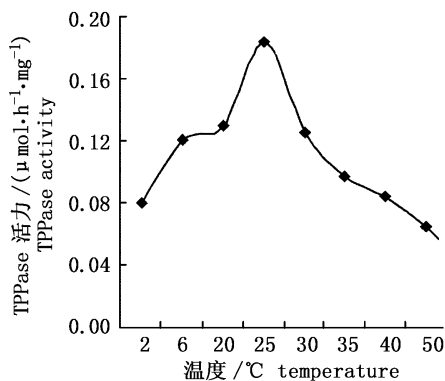


图 3 温度对鳙肌原纤维 TPPase 活力的影响

Fig.3 The effects of temperature on TPPase activity of *Aristichthys nobilis* myofibrils

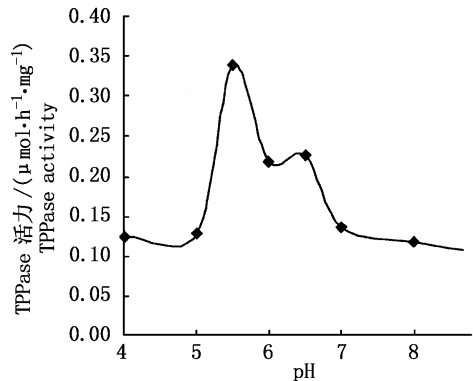


图 4 pH 对鳙肌原纤维 TPPase 活力的影响

Fig.4 The effects of pH on TPPase activity of *Aristichthys nobilis* myofibrils

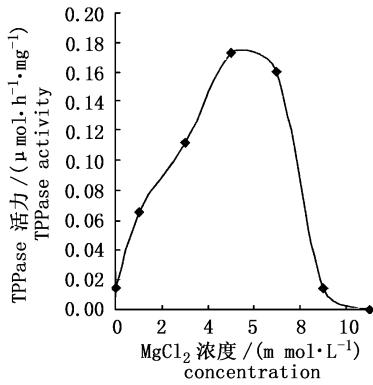


图 5 在 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl 条件下 Mg^{2+} 浓度对鳙肌原纤维蛋白 TPPase 活力的影响

Fig.5 The effects of Mg^{2+} on TPPase activity of *Aristichthys nobilis* myofibrils at the condition of $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl

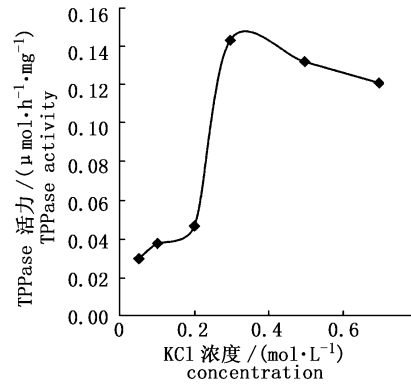


图 6 在 $5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl 条件下 Mg^{2+} 浓度对鳙肌原纤维蛋白 TPPase 活力的影响

Fig.6 The effects of Mg^{2+} on TPPase activity of *Aristichthys nobilis* myofibrils at the condition of $5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl

EDTA- Na_2 的抑制性 EDTA- Na_2 对鳙肌原纤维蛋白 TPPase 活力的抑制效果如图 7 所示。结果表明 EDTA- Na_2 能显著抑制 TPPase 活力。在 EDTA- Na_2 为 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时, TPPase 残留活力为 52.6%。在浓度为 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 TPPase 残留活力为 33.8%, 当浓度达到 $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时酶活力则完全被抑制。这也进一步证明了该酶是一种金属蛋白酶。

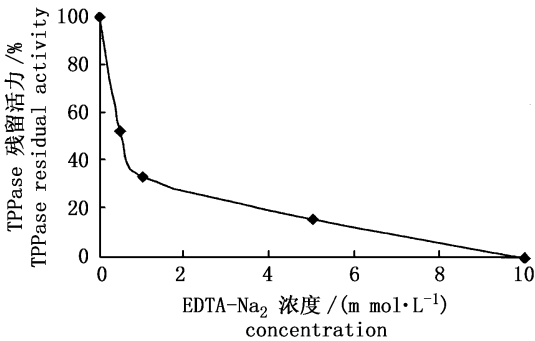


图 7 EDTA- Na_2 对鳙肌原纤维蛋白 TPPase 活力的抑制

Fig.7 The effects of EDTA- Na_2 on TPPase activity of *Aristichthys nobilis* myofibrils

3 讨论

3.1 STPP 在新鲜碎鳙肉中的水解

STPP 在添加到新鲜碎鳙肉中能迅速被水解, 其产物为 PP 和 P_i , 生成的 PP 能够继续被水解成 P_i 。而对照组用 TCA 处理后 TPP 基本不发生水解。结果表明在鳙肌肉中存在三聚磷酸盐水解酶, 并且也存在焦磷酸水解酶。本实验结果与 Akinobu Matsunaga 等^[8,9]对冷冻鱼糜制品生产过

程中多聚磷酸盐降解的研究结果相似, 其研究结果认为添加的 STPP 在盐腌的鲤鱼鱼糜的加工过程中会被水解成 PP 和 P_i , 但是生成的 PP 却很少发生进一步的降解。STPP 的水解速度受到鱼糜加工中漂洗次数的影响。Belton 等^[6]和 Li 等^[7]利用 ^{31}P 核磁共振技术检测到鸡胸肉中添加的三聚磷酸盐和焦磷酸盐均发生了水解。有研究^[14]推测, 具有水解 STPP 活性的蛋白质可能是肌原纤维蛋白, 但还不能肯定活性的具体部位, 对于具有水解 PP 活性的蛋白质更是不能确定。本研究经预实验发现, 制备的肌原纤维蛋白具有 TPPase 活性, 故以肌原纤维蛋白为 TPPase 的粗酶, 作为下一步的研究对象。

3.2 鳙肌原纤维蛋白 TPPase 活性及其影响因素

鳙肌原纤维蛋白具有 TPPase 活性, 很容易受到温度、pH 值、金属离子的影响, 并且被 EDTA- Na_2 抑制。鳙肌原纤维 TPPase 的最适温度在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 附近, 与鱼肉的 ATPase 最适温度比较接近。Akinobu 等^[8]测定冷冻鲤鱼鱼糜水解 STPP 的最适温度在 $27 \text{ }^\circ\text{C}$ 附近, 当温度超过 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, TPPase 活性迅速降低, 表现为热失活。

桥本^[15]的研究指出, pH 是影响肌肉中肌原纤维蛋白质稳定性的重要因素, 所以 pH 显著影响鳙肌原纤维蛋白 TPPase 活性。鳙肌原纤维蛋白 TPPase 活力在 pH 5.5 附近活力最高, 呈弱酸性。在强酸和强碱时酶活力显著下降, 这与肌原纤维变性有关。Akinobu^[8]测定冷冻鲤鱼鱼糜水解 STPP 的最适 pH 值在 6.0 附近; Neraal 和

Hamm^[16]测定牛肉中 TPPase 的最适 pH 为 5.7。

金属离子对酶的影响遵循离子对蛋白质影响的普遍规律,金属离子与活性中心的基团结合,对肌原纤维 TPPase 起到激活作用。本实验中, Mg^{2+} 和 K^+ 对鱈肌原纤维 TPPase 起激活作用,但在较高浓度时均起到抑制作用。Akinobu 等^[8]研究结果表明冷冻鲤鱼鱼糜 TPPase 在 Mg^{2+} 达到 $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时活力最高,但随 Mg^{2+} 浓度增加酶活力保持稳定。Neraal 和 Hamm^[16]研究指出 Mg^{2+} 能激活牛肉中 TPPase 活性。本研究的结果表明,鱈中的 TPPase 和鲤鱼肉及牛肉的 TPPase 性质比较相似。

EDTA- Na_2 能显著地抑制鱈肌原纤维 TPPase 的活性,随 EDTA- Na_2 浓度增加抑制率增大。这与 Li 等^[7]对 STPP 在鸡胸肉中水解的研究结果一致,鸡胸肉用 10% 的 EDTA- Na_2 处理后能显著抑制 STPP 和其他磷酸盐的水解。EDTA- Na_2 是较强的金属离子螯合剂,通过螯合 Mg^{2+} 等金属离子使酶失去活性,这也进一步证实了 Mg^{2+} 是 TPPase 的辅酶因子。

以上实验结果表明肌原纤维蛋白的确具有 TPPase 活性,并且受到温度、pH、金属离子及抑制剂等因素的影响,但是对于肌原纤维蛋白 TPPase 具体的活性部位有待于进一步的研究。

参考文献:

- [1] Park J W, Lanier T C, Green D P. Combined effects of phosphates and sugar or polyols on protein stabilization of fish myofibrils [J]. J Food Sci, 1987, 52(6):1509-1513.
- [2] Thorarinsdottir K A, Arason S, Bogason S G, et al. Effects of phosphate on yield, quality, and water-holding capacity in the processing of salted cod (*Gadus morhua*) [J]. J Food Sci, 2001, 66(6):821-826.
- [3] Lewis D F, Groves K H M, Holgate J H. Action of polyphosphates in meat products [J]. Food Microstruct, 1986, 5:53-62.
- [4] Offer G W, Trinick J. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils [J]. Meat Sci, 1983, 8:245-281.
- [5] Sutton A H. The hydrolysis of sodium triphosphate in cod and beef muscle [J]. J Food Technol, 1973, 8:185-195.
- [6] Belton P S, Packer K J, Southon T E. 31P NMR studies of the hydrolysis of added phosphates in chicken meat [J]. J Sci Food Agric, 1987, 40:283-291.
- [7] Li R R, William L K, Romeo T T, et al. 31P NMR analysis of chicken breast meat vacuum tumbled with NaCl and various phosphates [J]. Journal of the Science Food and Agriculture, 2001, 81:576-582.
- [8] Akinobu Matsunaga, Tooru Ooizumi, Atsushi Yamamoto, et al. Degradation of polyphosphates during manufacturing process of surimi-based products [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1990, 56(12):2077-2083.
- [9] Akinobu Matsunaga, Tooru Ooizumi, Atsushi Yamamoto, et al. Washing effect of minced fish muscle in water on degradation of polyphosphates during manufacturing process of surimi-based products [J]. Nippon Suisan Gakkaishi. 1992, 58(1):79-83.
- [10] Application Note 71, Dionex, Sunnyvale, CA, 1997.
- [11] Cui H, Cai F, Xu Q. Determination of tripolyphosphate in frozen cod and scallop adductor by ion chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 884:89-92.
- [12] 新井健一. 魚類筋肉クソベク質の特性の測定, 水産生物化学・食品学試験書 [M]. 恆星社厚生版, 1974. 189-202.
- [13] Gornall A G, Bardawill C J, David M M. Determination of serum protein by means of the biuret reaction [J]. J Biol Chem, 1949, 177:751-766.
- [14] Sutton A H. The hydrolysis of sodium triphosphate in cod and beef muscle [J]. J Food Technol, 1973, 8:159-168.
- [15] 桥本昭彦. 各種魚類の筋原纖維 Ca-ATPase の變性速度に及ぼす pH と温度影響 [J]. 水産學會誌, 1985, 51(1):99-105.
- [16] Neraal R, Hamm R. Enzymatic breakdown of added tripolyphosphate and diphosphate in meat [C]. Proc. 19th Europ Meat Res Workers Meeting, Pairs, 1973, IV, 1419-1427.