

文章编号:1671-1513(2011)06-0032-03

# 鸡精中呈味核苷酸二钠的高效液相色谱法测定

相丽新, 杨道兴, 魏彦梅, 颜丙霞

(济宁耐特食品有限公司, 山东 济宁 272075)

**摘要:**建立了高效液相色谱法测定呈味核苷酸二钠(IMP和GMP)含量的方法。以四丁基磷酸铵和磷酸二氢钾配以一定比例的乙腈为流动相,采用高耐水系 Waters RP 18 色谱柱,通过色谱条件的优化,获得了定性定量重复性相对标准偏差 < 2% 的标准品色谱图,其中,IMP 标准曲线在 60 ~ 600  $\mu\text{g/mL}$  范围内的线性相关系数为  $R = 1.0000$ ,GMP 标准曲线在 50 ~ 480  $\mu\text{g/mL}$  范围内的线性相关系数为  $R = 0.9999$ 。测得某品牌的鸡精内 IMP 质量含量为 0.54%,GMP 质量含量为 0.60%,两次测定结果的精密度 GMP 为 0.73%,IMP 为 1.17%。

**关键词:** 高效液相色谱; 呈味核苷酸二钠; 定性定量重复性; 相对标准偏差; 鸡精

**中图分类号:** TS264.2

**文献标志码:** A

呈味核苷酸二钠(IMP和GMP)一般是以淀粉为原料,经发酵法或酶解法制得的混合物,具有较强的增鲜作用,被广泛应用于各类食品中<sup>[1-3]</sup>。目前国内的IMP和GMP含量检测方法主要是紫外分光光度法<sup>[3]</sup>,此法在样品中含大量蛋白及其他核酸时,会造成检测结果与实际值偏差较大。采用高效液相色谱法,利用液液反复分配,并通过色谱条件的优化选择,可将几种核苷酸完全分离,同时获得定性定量重复性相对标准偏差 < 2% 的呈味核苷酸二钠中的5'-肌苷酸二钠(disodium 5'-inosinate, IMP)和5'-鸟苷酸二钠(disodium 5'-guanylate, GMP)的标准样品色谱图,本实验通过对鸡精进行必要的前处理,获得了鸡精中呈味核苷酸二钠的含量。与滴定法相比,高效液相色谱法的定量测定结果具有更高的重现性,该方法也可为香料生产提供一定的技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

甲醇、乙腈,色谱纯,美国 Fisher 公司;IMP、GMP 标准品,美国 Sigma 公司,IMP 和 GMP 水合物的纯度均为 99%,其中,IMP 水分含量 26%,GMP 水分含量 21%;四丁基磷酸铵,色谱纯,美国 Sigma 公

司;磷酸二氢钾,分析纯,天津市广成化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

e2695 型高效液相色谱仪(配有可变波长紫外检测器和示差检测器,Empower 色谱工作站),美国 Waters 公司;XS105DU 型分析天平,德国梅特勒·托利多公司;Symmetry shiled RP18 型分离柱,4.6 mm  $\times$  150 mm,5  $\mu\text{m}$ ,美国 Waters 公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 色谱条件

洗脱液:0.02 mol/L 磷酸二氢钾(0.02% 四丁基磷酸铵)的超纯水溶液;乙腈 = 97:3 ( $v/v$ );反相色谱柱(Symmetry shiled RP18,4.6  $\times$  150 mm,5  $\mu\text{m}$ );检测波长 254 nm;流速 0.8 mL/min;进样量 5  $\mu\text{L}$ 。

#### 1.3.2 标准液的配制

分别称取 IMP、GMP 标准品 0.040 24,0.030 81 g,置于 50 mL 容量瓶中,用超纯水超声溶解并定容至刻度,摇匀,冷藏于保鲜柜,作为标准储备液,该储备液每毫升相当于 IMP 干基 589.64  $\mu\text{g}$ ,GMP 干基 481.92  $\mu\text{g}$ ,进样前用 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤。

#### 1.3.3 样品溶液的制备

称取鸡精样品 0.2 g 左右(准确至 0.000 1 g),用超纯水超声溶解并定容至 25 mL,摇匀,用 0.45

$\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后待测。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法的线性范围与重复性

在  $50 \sim 480 \mu\text{g/mL}$  质量浓度范围内, HPLC 的响应峰面积与 GMP 的标准品浓度呈线性关系:  $y = 12\ 180x - 78\ 215$  (式中  $x$  为响应峰面积,  $y$  为 GMP 的标准品浓度), 相关系数  $R = 0.999\ 9$ ; 在  $60 \sim 600 \mu\text{g/mL}$  质量浓度范围内, HPLC 的响应峰面积与 IMP 的标准品浓度呈线性关系:  $y = 9\ 305.7x - 85\ 880$  (式中  $x$  为响应峰面积,  $y$  为 IMP 的标准品浓度), 相关系数  $R = 1.000\ 0$ 。实验建立的 GMP 与 IMP 的标准曲线图如图 1 和图 2; GMP 与 IMP 的 HPLC 色谱图如图 3 和图 4。

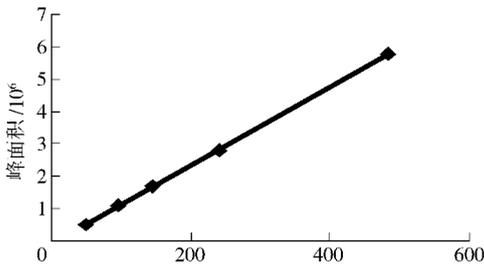


图1 GMP 标准曲线

Fig.1 GMP standard curve

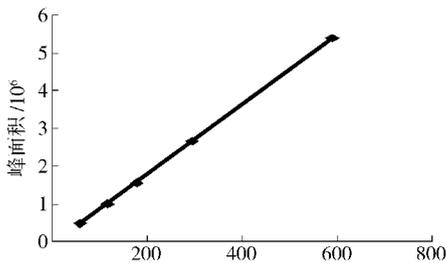


图2 IMP 标准曲线

Fig.2 IMP standard curve

表1 不同流动相组分对 IMP 和 GMP 分离效果的比较

Tab.1 Effects of mobile phase composition on IMP and GMP separation effect comparison

流动相组分	磷酸二氢钾的水溶液与乙腈	磷酸二氢钠的水溶液与乙腈	磷酸二氢钾(辛烷磺酸钠)的水溶液与乙腈	磷酸二氢钾(四丁基磷酸铵)的水溶液与乙腈
分离效果	分叉峰	基本分不开	样品无保留	双峰,较理想

优化后的呈味核苷酸二钠色谱分离条件可获得分离度较好的谱图,但由于流速过低,样品保留时间不稳定。通过更换色谱柱,采用 System RP18 反相柱,柱温提高到  $40\text{ }^\circ\text{C}$ ,流速提高到  $0.8\text{ mL/min}$ ,获得

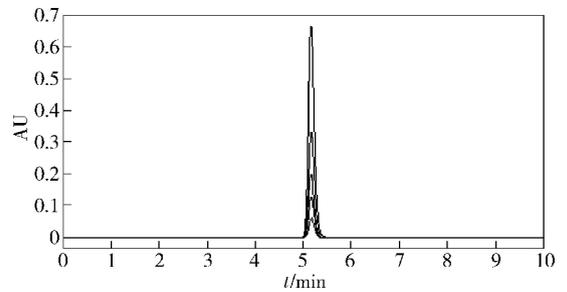


图3 GMP 不同浓度标准品色谱图

Fig.3 GMP chromatogram of different concentrations standard samples

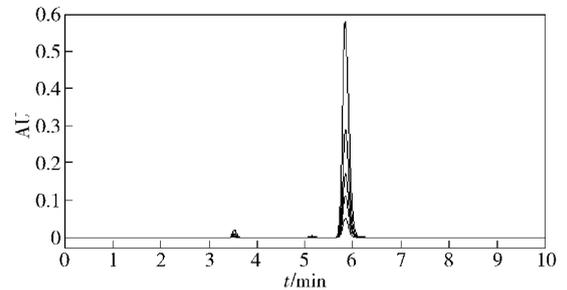


图4 IMP 不同浓度标准品色谱图

Fig.4 IMP chromatogram of different concentrations standard samples

### 2.2 流动相条件的确定

参阅目前国内外报道的呈味核苷酸二钠高效液相色谱分离条件<sup>[4-9]</sup>,先后采用了不同流动相对其分离效果进行了优化选择,结果如表 1。

由表 1 可知,用普通的磷酸盐缓冲液和碳十八色谱柱很难将二者完全分离,如图 5。而当选择辛烷磺酸钠为离子对试剂时,样品无保留,选择四丁基磷酸铵效果较好。另外,流动相中乙腈的含量对分离效果影响较明显,通过反复对比实验论证,流动相中添加  $0.02\%$  的四丁基磷酸铵,  $3\%$  的乙腈分离效果最好,样品分离效果的色谱图如图 6。

了定性重复性与定量重复性的相对标准偏差(RSD)  $<2\%$  的样品 IMP 和 GMP 的分离色谱图,获得了满意结果。

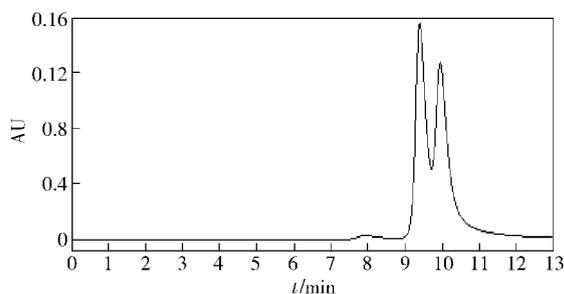


图5 流动相添加磷酸二氢钾时 IMP 和 GMP 产品的色谱图  
Fig. 5 Production chromatogram of IMP and GMP (mobile phase containing potassium dihydrogen phosphate)

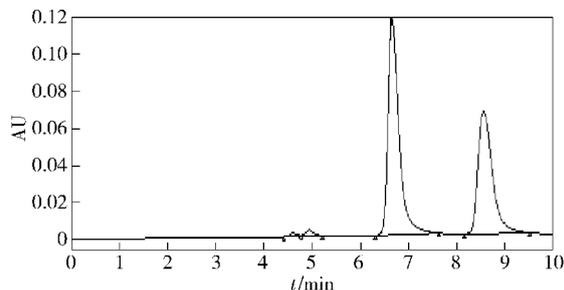


图6 流动相添加磷酸二氢钾和四丁基磷酸铵时色谱图  
Fig. 6 Production chromatogram of IMP and GMP (mobile phase containing potassium dihydrogen phosphate and tetrabutylammonium phosphate monobasic)

### 2.3 鸡精样品中 IMP 和 GMP 含量的检测分析

通过实验分析,获得了鸡精样品中呈味核苷酸二钠的含量即:IMP 质量含量为 0.54%,GMP 质量含量为 0.60%,两次测定结果的精密度 GMP 为 0.73%,IMP 为 1.17%,保留时间相对标准偏差 RSD 为 0.036% 和 0.047%。谱图如图 7。

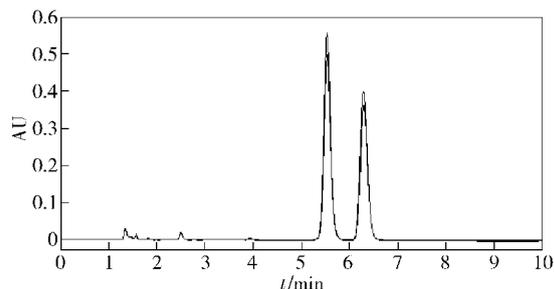


图7 优化后的 IMP 和 GMP 含量色谱图  
Fig. 7 Chromatogram of IMP and GMP concentration in chicken extract under optimal condition

例的乙腈为流动相,采用高耐水系 Waters RP 18 色谱柱,获得了定性定量重复性均较优的 IMP 和 GMP 分离方法,测得鸡精样品中呈味核苷酸二钠的总质量含量为 1.14%,其中 IMP 质量含量为 0.54%,GMP 质量含量为 0.60%;测定结果的精密度 GMP 为 0.73%,IMP 为 1.17%,检测结果满意. 使用该方法测定 IMP 和 GMP 的 HPLC 色谱图中,2 种物质的出峰时间均小于 8 min,分离度较高,测定结果快速、简单、准确可靠. 本检测方法的建立可为香精及其他食品添加剂中 IMP 和 GMP 的定性定量分析提供可靠的数据支持,同时可用于香精新配方中 IMP 和 GMP 的含量测定.

### 参考文献:

- [1] 赵云,毛凤君,尤忠义,等. 反相高效液相色谱法测定核苷酸代谢产物[J]. 色谱,1995,13(2):134-135.
- [2] 霍小敏,屠春燕,宋慧敏,等. HPLC 法测定酵母 RNA 降解的 4 种核苷酸[J]. 南京工业大学学报,2002(4):61-64.
- [3] 杜建中,杨春梅,李自信,等. 双波长比值光谱法测定 5'-鸟苷酸钠、5'-肌苷酸钠、5'-尿苷酸钠含量[J]. 食品科学,2008,29(1):225-227.
- [4] 中华人民共和国轻工行业标准. QB/T 2845—2007 食品添加剂 呈味核苷酸二钠[S].
- [5] 汪庆旗,陈青俊,丁献荣,等. 高效液相法测定调味品中 5'-鸟苷酸二钠和 5'-肌苷酸二钠[J]. 中国酿造,2007(9):53-56.
- [6] 任一平,黄百芬,连国义,等. 应用 HPLC 反相色谱快速测定增鲜味精中的鸟苷酸和肌苷酸[J]. 食品与发酵工业,1994(6):36-41,21.
- [7] 马兰,王竹天,杨大进,等. 婴幼儿配方奶粉中核苷酸含量的测定方法研究[J]. 中国食品卫生杂志,2003,15(6):496-499.
- [8] 张志兰,夏红,项苏留,等. 高效液相色谱法同时测定增味剂中 5'-肌苷酸二钠和 5'-鸟苷酸二钠[J]. 苏州大学学报:自然科学版,2004,20(4):75-77.
- [9] 温泉,吴轶. 采用高效液相色谱法测定猪肉中的呈味核苷酸[J]. 现代食品科技,2010,26(1):117-119,108.

(下转第 39 页)

## 3 结论

本文以四丁基磷酸铵和磷酸二氢钾配以一定比

## Development of Salad Sauce from by-products of *Pleurotus Nebrodensis* Processing

XUE Shu-jing, LI Lu, GUANG Jian, SHI De-fang, YANG De,  
GUO Peng, GAO Hong, ZHOU Ming

(*Institute of Processing of Agricultural Products and Nuclear Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences/Agricultural Product Processing Research Subcenter, Hubei Innovation Center of Agricultural Science and Technology, Wuhan 430064, China*)

**Abstract:** The objective of this study was to develop a salad sauce containing by-products from *Pleurotus Nebrodensis* processing. The orthogonality experiment was used to optimize the main four factors that influenced the the flavor and taste of the product. And then salad sauces that contain different concentration of xanthan gum were analyzed using sensory evaluation, optic microscope, chromameter, and texture analyzer. The optimum conditions were as follows: 355 g bean salad oil, 25 g/kg xanthan gum solution dissolved in the solution containing 3% by-products from *Pleurotus Nebrodensis* processing, 140 g egg yolk, 38 g sugar, 10 g salt, 90 g edible white vinegar, 9 g mustard, 1.0 g sodium glutamate, 1.2 g white, 0.05 g butyl hydroquinone, and 0.75 g potassium sorbate. The salad sauce obtained had better acceptance.

**Key words:** *Pleurotus Nebrodensis*; blanching water; comprehensive utilization; salad sauce

(责任编辑:叶红波)

(上接第34页)

## Quantitative Determination of Disodium 5'-Inosinate and Disodium 5'-Guanylate in Chicken Extract by HPLC

XIANG Li-xin, YANG Dao-xing, WEI Yan-mei, YAN Bing-xia  
(*Jining Nature Foods Co. Ltd., Jining 272075, China*)

**Abstract:** A high performance liquid chromatography method was established for quantitative determination of disodium 5'-inosinate and disodium 5'-guanylate (IMP and GMP). Using tetrabutylammonium phosphate monobasic and potassium dihydrogen phosphate mixed with a certain proportion of acetonitrile as the mobile phase, the standard samples were analyzed on Waters RP 18 column under the optimal conditions. The qualitative and quantitative reproducibility of RSD were below 2%. On the IMP standard curve, the linear range was 60 ~ 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , the correlation coefficient  $R$  being 1.000. On the GMP standard curve, the linear range was 50 ~ 480  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , the correlation coefficient  $R$  being 0.9999. The method was used to determine IMP and GMP content in a certain brand of chicken extract, which was 0.54% and 0.60%, respectively, the precision being 0.73% for GMP, 1.17% for IMP.

**Key words:** high performance liquid chromatography; disodium 5'-inosinate and disodium 5'-guanylate; qualitative and quantitative reproducibility; RSD; chicken extract

(责任编辑:叶红波)