

高效液相色谱法分析鉴定调味品及其原料中肌苷酸钠和鸟苷酸钠

戴 军 谷海先 陶冠军

(无锡轻工大学中央研究所,无锡 214036)

摘要 分别选用 NH₂柱和 ODS柱,采用两种高效液相色谱分离模式,建立了调味品及其原料中肌苷酸钠和鸟苷酸钠的定量分析和定性鉴定的方法。方法简便易行,准确可靠。

关键词 高效液相色谱;肌苷酸钠;鸟苷酸钠;调味品

分类号 TS201.2

0 前 言

5-肌苷酸钠(英文缩写为 IMP)和 5-鸟苷酸钠(英文缩写为 GMP)作为核苷类强力助鲜剂,在现代食品尤其是调味品中被广泛使用。由于这两种原料主要依靠进口,价格昂贵,因而市场上时有假冒伪劣品出现,给用户带来产品质量的损害和较大的经济损失。为此,需有一套准确可靠的分析鉴定方法。过去国内所用的分析方法主要是紫外光谱法^[1],此法准确度不高,若样品体系复杂,需先经柱层析等预处理,操作较繁琐。日本已采用高效液相色谱法(HPLC)分析 IMP和 GMP的含量^[2],所用色谱柱为阴离子交换树脂柱。作者选用的 ODS柱和 NH₂柱分别建立了两种简便、快速、准确的 HPLC方法,成功地应用于调味品中 IMP和 GMP的定量分析及其原料中的 IMP和 GMP的鉴定检测。

1 材料与方 法

1.1 试剂

标准品: 5-肌苷酸钠, Sigma公司产; 5-鸟苷酸钠, 味之素公司提供

样品: IMP+ GMP,特鲜味精,“鲜味王”,“鸡精”,酱油样都是市售品
其它试剂皆为分析纯。实验用水皆为超纯级,无锡华晶公司生产。

1.2 样品处理

对于原料样 IMP+ GM P或者 IMP,准确称取 30~ 50 mg于 100 mL容量瓶中,先加少量水,振摇,使其溶解后,再加水定容至刻度,摇匀,用 0.45 μ m微孔膜过滤,滤液用作进样

对于鸡精或特鲜味精样,称取 0.5~ 2 g于 100 mL容量瓶中,其操作同上。

对于酱油样,准确吸取 1 mL于 10 mL容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀后用 0.45 μ m 微孔膜过滤

1.3 色谱条件

分离模式	I 正相	II 反相
色谱柱	SpherisorbN H ₂ 4.6mm \times 15cm(5 μ m)	ZORBAX ODS, 4.6mm \times 25cm(5 μ m)
流动相	0.6% K ₂ HPO ₄ /CH ₃ OH, 90/10(v/v)	0.05% H ₃ PO ₄ /CH ₃ OH, 95/5(v/v)
流速	1.0 mL/min	
柱温	25 $^{\circ}$ C	
检测	UV 260(10) nm~ 380(60) nm MF1.0	
仪器	HP1050	

2 结果与讨论

2.1 回收率及检测限

以上述色谱条件分析部分样品得到色谱图,见图 1~ 4。作加标回收试验,得到方法准确度和精密度的有关数据,见表 1。用 IMP和 GMP的标准液逐级稀释进样,测其峰高及基线噪音强度。以 2倍信噪比计算得在上述色谱条件下进样体积为 10 μ L时,IMP和 GMP的最小检出质量浓度:模式I时,分别为 3.5 μ g/mL和 4.6 μ g/mL;模式II时,分别为 2.0 μ g/mL和 2.9 μ g/mL。

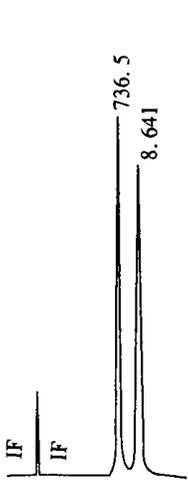


图 1 IMP+ GMP 色谱图

模式I t_R
IMP, 7.365 min;
GMP, 8.64 min

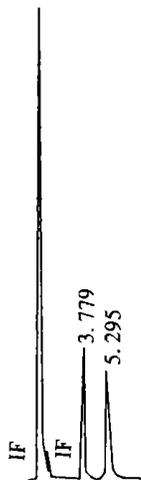


图 2 特鲜味精色谱图

模式II t_R
IMP, 3.779 min;
GMP, 5.295 min

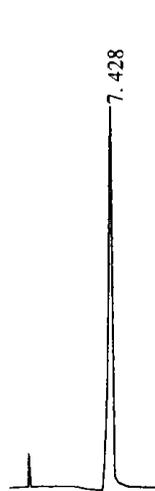


图 3 鸡精色谱图

模式I t_R
IMP, 7.428 min

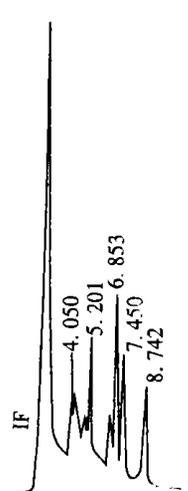


图 4 三星酱油色谱图

模式I t_R
IMP, 7.450 min;
GMP, 8.724 min

表 1 部分调味品中 IMP和 GMP的测定结果及其回收率

样品	欲测成分	公离模式	平均含量 (n=5)	变异系数 / %	加标量	测得量	回收率 / %
鸡精	IMP	I	15.94 mg/g	2.96	10.76 mg/g	26.63 mg/g	99.35
		II	16.89 mg/g	3.01	10.76 mg/g	27.50 mg/g	98.61
	GMP	I	/	/	/	/	/
		II	/	/	/	/	/
酱油	IMP	I	192.6 μ g/mL	3.51	152.35 μ g/mL	340.17 μ g/mL	96.9
		II	198.9 μ g/mL	3.87	152.35 μ g/mL	353.42 μ g/mL	101.4
	GMP	I	183.5 μ g/mL	2.94	181.60 μ g/mL	359.77 μ g/mL	97.1
		II	188.7 μ g/mL	3.66	181.60 μ g/mL	367.19 μ g/mL	98.3
鲜味王	IMP	I	25.15 mg/g	1.78	10.76 mg/g	35.64 mg/g	97.5
		II	24.97 mg/g	3.23	10.76 mg/g	35.28 mg/g	95.8
	GMP	I	/	/	/	/	/
		II	/	/	/	/	/

2.2 IMP和 GMP的定性

对于样品中 IMP和 GMP的鉴定,除用两者标准品的保留时间对照和以添加标样峰面积增大法初步定性外,还可用二极管阵列检测技术作进一步鉴定和峰纯度评估:若在峰顶及两侧腰分别采集光谱图,所得图谱的形状、吸收带位置及相对强度都与标准品谱图(图 5~6)一致,即可认为初步定性的 IMP和 GMP峰确实都为纯一的 IMP的 GMP.若峰不纯则需进一步改善分离条件,使其峰纯度符合定量要求

IMP和 GMP在模式I 流动相中的紫外光谱图见图 5~6. IMP和 GMP的最大吸收分别为 258 nm 和 262 nm,作者选择的检测波长兼顾两者,定为 260 nm,带宽 10 nm. 在模式II 的流动相中 IMP和 GMP的光谱图与在模式I 流动相中基本相同

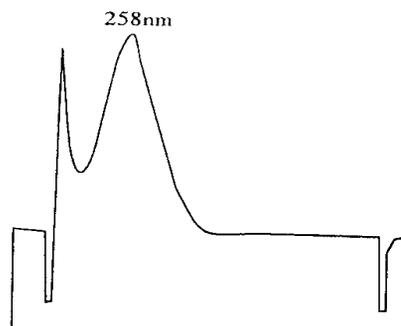


图 5 IMP光谱采集图

扫描范围: 220~ 400 nm

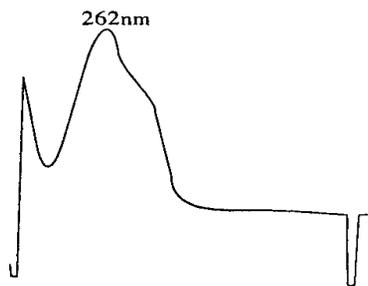


图 6 GMP光谱采集图

扫描范围: 220~ 400 nm

2.3 保留机理及影响因素

在色谱条件的探索、优化过程中,试验了流动相中盐浓度、酸度及甲醇比例对 IMP和 GMP保留值和分离的影响.上述色谱条件中模式I 的流动相 pH为 5左右,偏酸性,用酸进一步增加流动相酸度(减小 pH值),保留值会显著增大.盐(KH₂PO₄)浓度增大,保留值显著减小.这两种现象说明:在模式I 中,NH₂柱在弱酸性条件下,已有一定程度的质子化,因而呈现离子交换作用^[3].甲醇/水的比例对于保留值也有影响,增加甲醇浓度,保留值增大.另外,在化学结构上,GMP比 IMP多一个NH₂^[4],成氢键能力较强,出峰在后.这两点表明,正

相层析的机制在分离模式 I 中也同时存在。概言之, 模式 I 具有离子交换和正相层析两者混合协同作用的机理。

模式 II 为一反相色谱体系, 增加甲醇浓度, IMP 和 GMP 的保留值都显著减小, 且分离变差; 反之, 保留值显著增大。降低酸度或不加 H_2PO_4 , IMP 和 GMP 的保留值都减小, 分离变差, 甚至无法分离。这主要是因为 IMP 和 GMP 都是钠盐, 在中性介质中环上羟基和磷酸基电离成阴离子的倾向较强; 而在酸性条件下, 羟基和磷酸基受到“离子抑制”作用^[5], 且 GMP 上的 NH_2 在酸性介质中会与酸形成离子对, 这两点促使 IMP 和 GMP 的分子极性减弱, 空间结构差异增大, 因而两者保留值及其差值增大。

参 考 文 献

- 1 于信令. 味精工业手册. 北京: 中国轻工业出版社, 1995. 556~ 558
- 2 日本厚生省环境卫生局食品化学课编. 食品中添加剂的分析方法. 马家骧, 高鹤娟, 戴滢, 等译. 北京: 中国标准出版社, 1988. 475~ 488
- 3 戴军, 唐忠. 高效液相色谱法分析饲料中 V_{K_3} . 无锡轻工大学学报. 1996, 15(1): 50~ 52
- 4 凌关庭, 王亦芸, 唐述潮. 食品添加剂手册 (上册). 北京: 化学工业出版社, 1989. 44~ 45
- 5 王俊德, 商振华, 郁蕴璐, 等编. 高效液相色谱法. 北京: 中国石化出版社, 1992. 117~ 118

Determination of IMP and GMP in the Condiments and their Raw Materials by HPLC

Dai Jun Gu Haixian Tao Guanjun

(Center Research and Design Institute, Wuxi, 214036)

Abstract Two methods were developed for qualitative and quantitative analysis of IMP and GMP in condiments and their raw materials by reversed-phase (on the C_{18} column) and normal-phase (on the NH_2 column) high performance liquid chromatography. The techniques are characterized by their easy operation and precise determination.

Key words high performance liquid chromatography; disodium 5'-inosinate; disodium 5'-guanylate; condiments

(责任编辑: 秦和平)