

紫外光度法测定增鲜味精中 呈味核苷酸二钠的含量

徐 玮¹, 谭 红², 宋光林², 何锦林²

(1. 贵州大学, 贵州贵阳 550002;

2. 贵州省理化测试分析研究中心, 贵州贵阳 550002)

摘 要: 5'-肌苷酸二钠 (Inosine-5'-monophosphate, 简称 IMP) 和 5'-鸟苷酸二钠 (Guanosine-5'-onophosphate, 简称 GMP) 在 250nm 处有较强吸收, 运用紫外分光光度法测定增鲜味精中呈味核苷酸二钠 (I + G) 的含量。当 HCl 浓度在 1mol/L 以下, 样品浓度为 0.01~0.25g/L 时, 标准曲线在 250nm 处的相关系数达到 0.999, 平均回收率为 97.4%, RSD 为 3.59%。结果表明, 该法是一种简单、方便、快捷的测定方法。

关键词: 呈味核苷酸二钠, 5'-肌苷酸二钠, 5'-鸟苷酸二钠, 紫外分光光度法

Determination of disodium 5'-ribonucleotide (I + G) in the monosodium glutamate by UV spectrophotometry

XU Wei¹, TAN Hong², SONG Guang-lin², HE Jin-lin²

(1. Guizhou University, Guiyang 550002, China;

2. GuiZhou Research Center of Physical Test And Chemical Analysis, Guiyang 550002, China)

Abstract: Disodium 5'-Inosine (IMP) and disodium 5'-guanosine (GMP) have a strong absorption at 250nm, using UV spectrophotometry to determine the content of disodium 5'-ribonucleotide (I + G) in the monosodium glutamate. When the concentration of HCl was lower than 0.01mol/L, and the sample solution contained 0.01~0.25g/L, The correlation co-efficient of standard curve reached 0.999 at 250nm. The average recovery was 97.4%, the RSD was 3.59%. The results indicated that the method was simple, rapid and convenient.

Key words: disodium 5'-ribonucleotide (I + G); disodium 5'-inosinate (IMP); disodium guanosine 5'-monophosphate (GMP); UV spectrophotometry

中图分类号: TS264.2⁺3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2010)12-0344-03

呈味核苷酸二钠 (I + G) 是一种新型的高级调味剂, 主要包括 5'-肌苷酸二钠 (Inosine-5'-monophosphate, 简称 IMP) 和 5'-鸟苷酸二钠 (Guanosine-5'-onophosphate, 简称 GMP), 与味精 (谷氨酸钠 MSG) 混合时产生协同效应 (又称相乘作用), 使鲜度提高数倍至数十倍; 同时核苷酸二钠对甜味、肉味有增效作用, 对咸、酸、苦味及腥、焦味有抑制作用, 在食品工业生产中越来越受到重视和欢迎^[1]。但由于检测手段不完善, 检测仪器昂贵、操作复杂等原因, 用户很难快速准确地判定产品质量。GMP 和 IMP 在 250nm 处有较强吸收, 我们采用紫外分光光度法, 测定标准溶液的吸光度, 得出 GMP、IMP 和 I + G 在一定浓度范围内的标准曲线方程, 通过标准曲线计算增鲜味精中 GMP、IMP 和 I + G 的含量, 并对其测量条件进行了一些探讨, 为用户提供一定

的参考^[2-4]。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

盐酸 分析纯, 成都科龙化工试剂厂; 5'-肌苷酸二钠标准物 (IMP) I0036, 梯希爱 (上海) 化成工业发展有限公司; 5'-鸟苷酸二钠标准物 (GMP) G3877, TOKYO CHEMECAL INDUSTRY CO LTD; 味精市售; 所用水 均为蒸馏水。

紫外-可见分光光度计 (Agilent 8452)。

1.2 实验方法

1.2.1 试剂的制备 称取 GMP 标准物 0.2g (精确至 0.1mg) 于烧杯中, 用适量水溶解并用 0.01mol/L HCl 定容至 100mL, 作为 GMP 标准液。同样, 配制 IMP 标准液。取少量, 按 1:1 将 GMP 和 IMP 标准液混合, 得到 G + I 标准液。

1.2.2 标准曲线方程的确定 采用溶液倍数稀释法, 用 0.01mol/L HCl 分别将 GMP、IMP 和 G + I 标准液于 50mL 容量瓶中稀释, 配制成稀释倍数为 1、2、4、

收稿日期: 2010-02-01

作者简介: 徐玮 (1984-), 男, 硕士, 从事化学分析与检测方面的研究。

表1 重现性实验结果

时间间隔(h)	0				4			8	
G + I 浓度(g/L)	0.13	0.063	0.032	0.13	0.063	0.032	0.13	0.063	0.032
吸光度(250nm)	2.109	1.038	0.5564	2.029	1.014	0.5334	2.009	1.012	0.5264

8、16、32、64、128 的系列溶液,测量其吸光度。当浓度在 0.01~0.25g/L 时,各曲线有较好的相关性。用浓度对吸光度作图(如图 1~图 3),得到标准方程:250nm 时, $Y_{G+I} = 14.98X_{G+I} + 0.0749$, $R = 0.999$; $Y_G = 12.258X_G + 0.0283$, $R = 0.999$; $Y_I = 17.827X_I + 0.013$, $R = 0.999$ 。

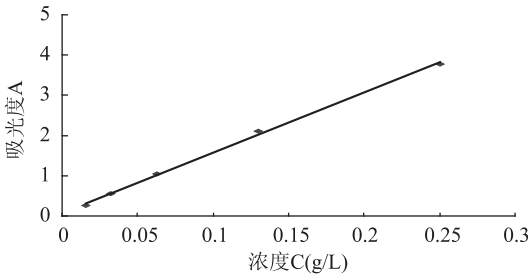


图1 G + I 在 250nm 时的标准曲线

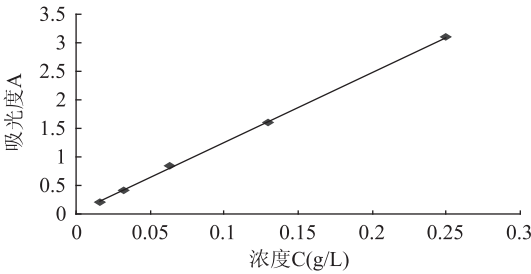


图2 GMP 在 250nm 时的标准曲线

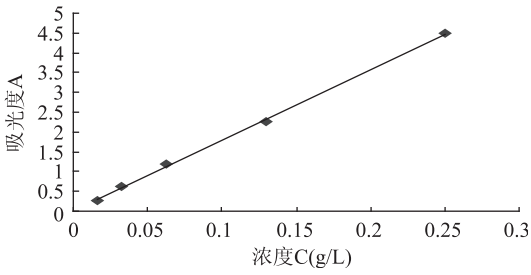


图3 IMP 在 250nm 时的标准曲线

2 结果与讨论

2.1 可行性分析

精确称取 I + G、IMP、GMP 适量,用 0.01mol/L 的 HCl 溶液将其稀释至一定的浓度,以 0.01mol/L HCl 溶液作空白,在 200~350nm 范围内扫描(见图 4)。由图 4 可知,在 250nm 时,I + G、IMP、GMP 都有较强的吸收,选用 250nm 作为本实验的吸收波长。同时,GMP 在 280nm 处也有着明显的吸收,当测定 GMP 时也可选用 280nm,其标准曲线方程为: $y = 8.0209x - 0.0491$, $R^2 = 0.9992$ 。

2.2 加和性实验

分别测定线性浓度范围内的 GMP 和 IMP 标准液在 250nm 处的吸光度,相应波长处的吸光度之和为 A_0 ,再配制按不同比例混合的两种溶液的混合液,测定其在 250nm 处的吸光度 A,通过计算, $|A - A_0|/A$ 均小于 0.1,表明体系吸光度加和性较好。

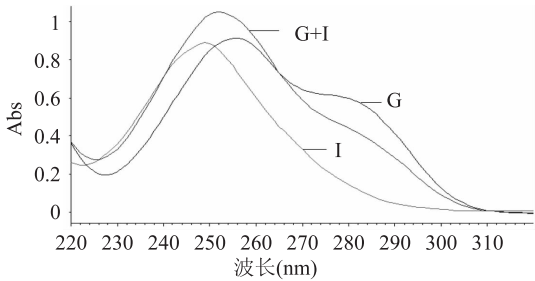


图4 紫外吸收光谱图

2.3 重现性实验

取浓度为 0.13、0.063、0.032g/L 的混合标准液,于不同时间段测定其吸光度,其变化较小(表 1),说明实验在 0~8h 内有较好的重现性。

2.4 回收率实验

取 50mg 谷氨酸钠(MSG)作为杂质。加入不定量的 G + I 标准物,使其占整个样品的质量分数为 2%~5%,用 0.01mol/L HCl 将其溶解并定容至 50mL,测量其吸光度(如表 2),平行测量三次,平均回收率为 97.4%,RSD 为 3.59%,结果较为满意。

表2 回收率实验结果

加入量 (mg)	回收量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1.0	0.94	94.0	97.4	3.59
1.5	1.45	96.7		
2.0	1.89	94.5		
2.5	2.48	99.2		
3.0	3.08	102.7		

2.5 样品测定

取三个批次的味精样品,精确称量 0.5000g,用 HCl 溶解并定容至 100mL。每批样品平行测定 3 次,在 250nm 处测量其吸光度,计算结果见表 3。

表3 味精样品测定结果(n = 3)

样品编号	含量(%)			RSD(%)		
	IMP	GMP	G + I	IMP	GMP	G + I
20090618a	1.16	1.13	2.13	1.33	2.56	1.12
20091028b	1.63	1.05	2.89	1.67	2.38	1.23
20091117a	1.22	1.28	2.26	1.45	2.81	1.18

3 结论

通过本实验可知,溶剂浓度和样品浓度对实验有很大影响。当 HCl 浓度为 0.01mol/L,样品浓度在 0.01~0.25g/L 时,得到标准方程:250nm 时, $Y_{G+I} = 14.98X_{G+I} + 0.0749$, $R = 0.999$; $Y_G = 12.258X_G + 0.0283$, $R = 0.999$; $Y_I = 17.827X_I + 0.013$, $R = 0.999$ 。通过回收率实验可得,平均回收率为 97.4%,RSD 为 3.59%,实验具有较好的准确性。实验在 0~8h 内有较好的重现性。 $|A - A_0|/A$ 均小于 0.1,表明体系吸光度加和性较好。因此,该方法不失为一种简单、方便、快捷的测定手段。

(下转第 348 页)

表1 加标回收实验结果

测定成分	样品量 (μL)	加入标准品量 (μL)	样品量 (μg)	加入标准品量 (μg)	测得值 (μg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
Ab	100	10	6.63	1	7.66	100.3	99.12	0.84
	100	20	6.63	2	8.52	98.7		
	100	30	6.63	3	9.59	99.6		
	100	40	6.63	4	10.50	98.8		
	100	50	6.63	5	11.42	98.2		
Bb	100	10	6.40	1	7.35	99.3	98.86	0.98
	100	20	6.40	2	8.21	97.7		
	100	30	6.40	3	9.26	98.2		
	100	40	6.40	4	10.42	100.2		
	100	50	6.40	5	11.28	98.9		

测器(检测波长为205nm)干扰较大,一个很好的方法是采用紫外检测器与蒸发光散射检测器对照。蒸发光散射检测已经成功地应用于酸枣仁皂苷^[13]、人参皂苷^[14]的定量分析与检测。通过本实验摸索结果证明监测基线相对比较稳定,蒸发光散射对于大豆皂苷的监测效果很好,通过紫外检测与蒸发光散射检测器并用对比,能够使检测结果更加准确。

在各类大豆皂苷中,E类皂苷含量很低,通过Ab标准曲线可以用来定量乙酰化和去乙酰化的A类皂苷,通过Bb标准曲线可以用来定量B类皂苷。用高效液相色谱定量常采用外标法,但实际测试过程中很难保证每次色谱条件完全相同,本文选用马蔺雌酮为内标物,采用内标法,使测试结果更加可靠。

Decroos^[14]测定大豆胚芽中A组皂苷总含量的变化范围在 $1.5\% \pm 0.1\%$ 到 $2.8\% \pm 0.2\%$,B组大豆皂苷总含量的变化范围在 $1.2\% \pm 0.1\%$ 到 $2.0\% \pm 0.1\%$,总皂苷含量最高约为4.4%,本文结果比其结果偏低。谷利伟^[15]等用大豆皂苷直接比色法测定脱脂胚芽中皂甙的含量为4.82%。陆世荣^[4]报道大豆胚芽中皂甙的含量约3%~4%。Shiraiwa^[16]报道的大豆皂苷含量范围0.62%到6.16%,本实验测得大豆胚芽中大豆皂苷含量比文献[7,9]报道偏低,但在Shiraiwa报道的范围内。

参考文献

- [1] 全吉淑,尹学哲,田中真实,等.大豆胚轴中B类、E类和DDMP类大豆皂甙的分离纯化[J].食品科学,2003,24(2):107-109.
- [2] Kudou S, Tonomura M, Tsukamoto C, et al. Food Phytochemicals for Cancer Prevention I [C]. American Chemical Society, Washington DC, USA, 1994:340.
- [3] Kitagawa I, Wang H K, Taniyama T, et al. Saponin and sapogenol A, soy sapogenol B, and soy sapogenol E from soybean Glycine-Max. Structures of soy saponin

I, saponin II, saponin III [J]. Chem Pharm Bull, 1988, 36: 153-161.

- [4] 陆世荣.大豆皂甙的制备及其应用[J].中国油脂,1993(3):41-44.
- [5] 刘大川,汪海波.大豆胚芽中大豆皂甙异黄酮甙的提取工艺研究[J].食品科学,2000,21(10):29.
- [6] 谷利伟,谷文英,陶冠军,等.HPLC-ESIMS法分析大豆胚芽中的异黄酮[J].中草药,2000,31(11):821-823.
- [7] 朱克瑞,陆启玉.大豆叶子中大豆皂甙总配糖体的提取工艺研究[J].郑州工程学院学报,2003,24(1):66-70.
- [8] 师文添,于学雷,袁建,等.从大豆胚芽中分离纯化大豆皂甙的研究[J].中国粮油学报,2009,24(1):25-29.
- [9] 董怀海,谷文英.比色法测定大豆总皂甙的研究[J].中国油脂,2001,26(3):57-59.
- [10] 杨华明,祁宏伟,于秀芳.紫外分光光度法测定糖肽黄酮素中大豆总皂甙含量[J].中国饲料,2004(22):24-25.
- [11] 滕燕平,张玉梅,刘颖,等.分光光度法测定大豆总皂甙含量[J].中国食品卫生杂志,2002,12(4):10-13.
- [12] 兰跃德.市售传统豆制品中大豆皂甙的提取及含量测定[J].山东医药工业,2001,20(6):14-15.
- [13] 李会军,李萍.高效液相色谱法蒸发光散射检测器测定酸枣仁中酸枣仁皂甙A及B的含量[J].药物分析杂志,2000,20(2):82-84.
- [14] Decroos K, Vincken JP, Heng L, et al. Simultaneous quantification of differently glycosylated, acetylated, and 2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one-conjugated soyasaponins using reversed-phase high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection [J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1072:185-193.
- [15] 谷利伟,谷文英.比色法测定大豆中的总皂甙[J].中国粮油学报,2000,15(6):38-42.
- [16] Shiraiwa M, Harada K, Okubo K. Composition and content of saponins in soybean seed according to variety, cultivation year and maturity [J]. Agric Biol Chem, 1991, 55(2):323-331.

(上接第345页)

参考文献

- [1] 杜琨,张亚宁,方多.呈味核苷酸及其在食品中的应用[J].中国酿造,2005(10):50-52.
- [2] 黄亚光,黄永嫦,王焕章,等.双波长分光光度法测定呈味

核苷酸二钠混合物含量[J].食品与发酵工业,2004,30(7):108-111.

- [3] 郑胜彪,唐婧.紫外分光光度法同时测定鸡精中谷氨酸钠和呈味核苷酸[J].中国调味品,2009,34(5):92-94.
- [4] GB/T 10795-1989,食品添加剂呈味核苷酸二钠[S].