

# 高效液相色谱法定量测定牛肉中的风味物质 肌苷酸

LC-339

**摘要：**本文建立了高效液相色谱仪分析牛肉中肌苷酸的分析方法。结果表明：仪器定量限低于 0.02  $\mu\text{g/mL}$ ；0.55-221.28  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内，校准曲线线性良好，相关系数为 0.9999；11.06  $\mu\text{g/mL}$  标样连续 6 针测试结果显示，肌苷酸保留时间和峰面积 RSD 值分别不高于 0.20% 和 0.22%，仪器精密度良好；牛肉样品加标（50  $\mu\text{g/mL}$  肌苷酸）平行测定三次，平均回收率为 104.5%，相对标准偏差为 1.58%。该方法快速简单，灵敏度高，重复性和回收率好，适合牛肉中肌苷酸含量的检测。

**关键词：**高效液相色谱仪 牛肉 肌苷酸

肌苷酸 (Inosinic acid, IMP) 又名次黄嘌呤核苷酸或次黄苷酸，英文简称 IMP，是一种在核糖核酸 (RNA) 中发现的核苷酸。肌苷酸属核苷酸的一种，广泛参与细胞构成、供能、代谢等生命过程，是机体不可缺少的重要成分，同时肌苷酸也是重要的风味物质，增加鲜味的能力比谷氨酸钠强 40 倍。其提高风味的原理主要由于肌苷酸是芳香杂环化合物，当嘌呤环上的 6 - 羟基与核糖上的 5' - 磷酸基团发生酯化反应时，就会

产生风味。肌苷酸是衡量肉质鲜味的重要指标之一，肌苷酸含量越高，肉质味道越鲜美。GB 1866.97-2015 《食品安全国家标准 食品添加剂 5'-肌苷酸二钠》给出使用紫外分光光度法测定肌苷酸含量，但由于有基质干扰，目前常使用高效液相色谱仪来检测肌苷酸含量。

本文使用高效液相色谱仪分析牛肉中肌苷酸的分析方法。该方法快速简单，灵敏度高，重复性好，适合牛肉中肌苷酸含量的检测。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 Nexera Bio 高效液相色谱仪系统，配置信息如下：

系统控制器：CBM-20A

自动进样器：SIL-20ACXR

柱温箱：CTO-20A

输液泵：LC-20ADXR ×2

脱气机：DGU-20A 5R

紫外检测器：SPD-20A

色谱工作站：Labsolutions Ver. 6.102

### 1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18-AQ (250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )，  
P/N: 227-30042-08，岛津（上海）实验器材有限公司

流动相 A：0.04 mol/L 磷酸二氢钾溶液 -0.06 mol/L 磷酸氢二钾溶液

流动相 B：甲醇

柱温：25°C

流速：1.0 mL/min

检测波长：254 nm

进样体积：20  $\mu\text{L}$

洗脱方式：梯度洗脱

表 1 梯度洗脱时间程序

Time (min)	Module	Command	Value
0	Pump	B.Conc	0
8	Pump	B.Conc	0
9	Pump	B.Conc	30
13	Pump	B.Conc	30
14	Pump	B.Conc	0
20	Controller		

### 1.3 样品处理

称取样品 1.25 g，置于 10 mL 离心管中分次加入 5 mL 6% 高氯酸，用电动匀浆机匀浆，取 2 mL 16% 高氯酸洗涤匀浆仪，6000 rpm 离心 10 min，取上清液于 50 mL 离心管中，再加 2 mL 16% 高氯酸于沉淀中涡旋振荡 5 min 后，再次离心合并上清液，用 5 mol/L 和 0.5 mol/L 氢氧化钠调节 pH 至 7，转移至 25 mL 容量瓶中，过滤后上样。

### 1.4 标准溶液的制备

肌苷酸标准系列工作液：移取一定量的标准中间液，用流动相 A 稀释定容，配置成浓度分别为 0.5 µg/mL、1 µg/mL、5 µg/mL、10 µg/mL、50 µg/mL、100 µg/mL、200 µg/mL 的标准系列工作溶液。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准溶液色谱图与定量限

定量限 0.5 µg/mL 肌苷酸标准溶液色谱图如图 1 所示，同空白比较，出峰位置未有干扰。

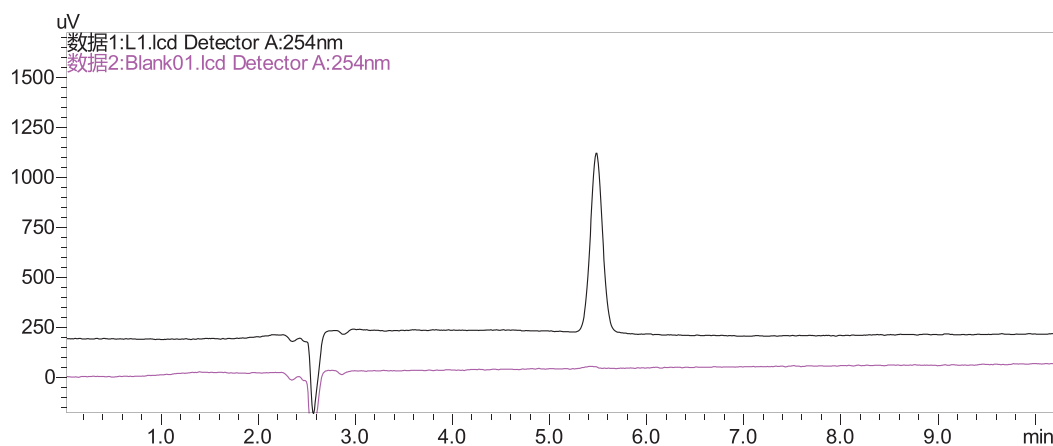


图 1 0.55 µg/mL 肌苷酸标准溶液和空白溶剂色谱图

### 2.2 校准曲线

如图 2 所示，肌苷酸标准样品在 0.5-200 µg/mL 的浓度范围内，外标法校准曲线线性良好。其中线性方程为  $Y=14689.7X+578.608$ ，线性相关系数 R 为 0.9999。准确度在 99.2%~102.3% 之间。将 0.5 µg/mL 浓度标准工作液按 1.2 中的分析条件下进行测定，通过 LabSolutions Ver.6.102 软件计算信噪比（采用 ASTM 计算方式），检出限和定量限分别为 0.05 µg/mL，和 0.16 µg/mL。

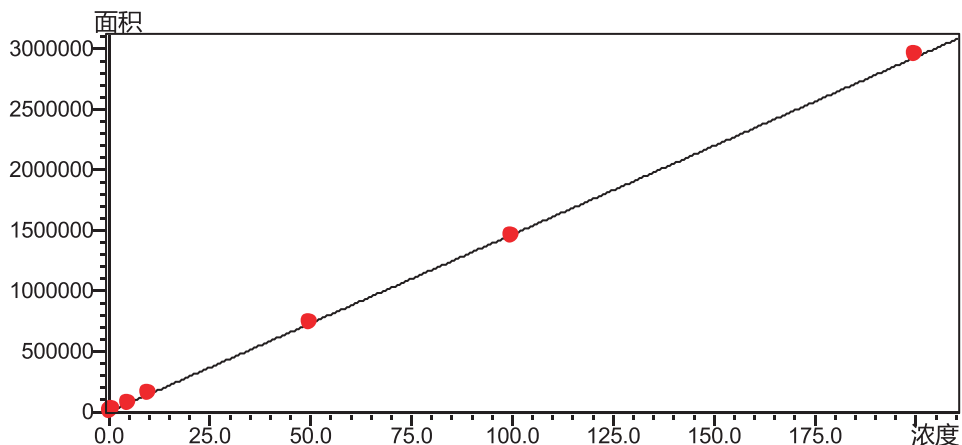


图 2 肌苷酸校准曲线

### 2.3 精密度

取 11.06  $\mu\text{g/mL}$  肌苷酸加标样品重复进样 6 次, 考察保留时间和峰面积的重复性, 结果如表 2 所示。结果显示: 肌苷酸保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.20%, 0.22%, 表明仪器精密度良好。

表 2 肌苷酸保留时间和峰面积重复性

No.	保留时间 (min)	RSD(%)	峰面积	RSD(%)
1	5.478	0.20	150729	0.22
2	5.479		150761	
3	5.482		150603	
4	5.480		150324	
5	5.479		150251	
6	5.506		149927	

### 2.4 加标回收率

取肌苷酸样品, 添加 50  $\mu\text{g/mL}$  肌苷酸标准物质, 平行测定三次, 测得平均回收率为 104.5%, 相对标准偏差为 1.58%, 回收率良好, 如下表 3 所示。

表 3 肌苷酸样品加标回收率

样品浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	加标浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	保留时间 (min)	实测浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	回收率 %	平均回收率 %	RSD(%)
		5.476	77.39	102.6	104.5	1.58
26.07	50.00	5.479	78.57	105.0		
		5.483	78.98	105.8		

### 2.5 样品分析

将所建立的方法用于实际样品分析, 10 批未知样品处理后各自进样分析, 其色谱图和测定结果分别如图 3 和表 4 所示, 不同牛肉样品中肌苷酸差异较大。

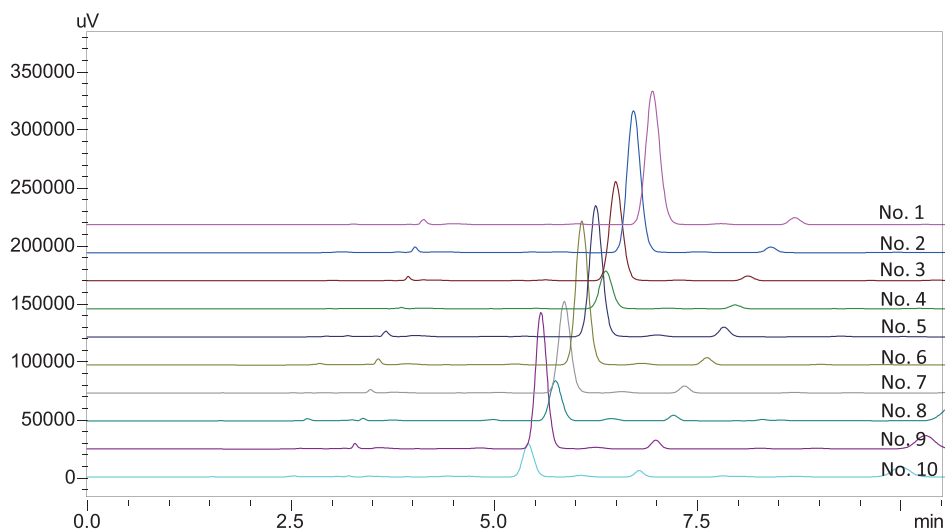


图3 10批样品色谱图

表4 牛肉中肌苷酸含量

样品 No.	称样量 (g)	定容体积 (mL)	检测浓度 (μg/mL)	样品含量 (μg/g)
1	1.3292	25	84.01	158.01
2	1.5032	25	88.05	146.43
3	1.3304	25	61.07	114.77
4	1.2580	25	23.38	46.47
5	1.2712	25	82.69	162.62
6	1.3567	25	91.58	168.76
7	1.2739	25	57.59	113.01
8	1.3042	25	26.07	49.97
9	1.3755	25	87.00	158.12
10	1.2908	25	21.21	41.07

## ■ 结论

本文采用岛津高效液相色谱仪建立了牛肉中肌苷酸的分析方法，该方法快速简单，灵敏度高，线性、重复性和回收率良好。并使用该方法对10批牛肉样品进行含量检测。实验表明，该方法满足适合牛肉中肌苷酸含量的检测。

岛津应用云

