

质量检测

高效液相色谱法测定肉食品中肌苷酸的含量

张燕婉 鲁红军 王津生

(中国肉类食品综合研究中心, 北京 100075)

一、前言

肌苷酸(5'-IMP)是一种重要的呈味核苷酸,主要存在于动物性食品中,是生物体中生命物质核酸的水解产物。肌苷酸在肉类食品中含量丰富,它不仅具有显著的增鲜作用,而且对于肉类食品的各种滋味具有一定的增减作用。故测定肉类食品中肌苷酸含量对研究肉食品风味及呈味物质之间的相互关系有着重要的意义。目前,测定样品中游离核苷酸的方法多采用离子交换剂法^[1]。虽然离子交换剂法灵敏度高,能分离多种核苷酸,但色谱柱需要充分平衡,分析时间比较长,尤其对肉类食品来说,它除了存在呈味的一磷酸核苷酸外,还存在二磷酸和三磷酸等其它种核苷酸,如用离子交换柱进行肉样品中的核苷酸分离,则必须采用线性梯度洗脱技术^[2],使色谱分析变得复杂化,而且对其组分定量也带来一定的影响。为适应肉类食品风味研究的需要,我们采用 ODS 柱反相液相色谱法,进行了游离核苷酸分析方法的研究,并对几种有代表性的肉类食品进行了方法验证实验;建立了一种简便、快速测定肉食品中(5'-IMP)肌苷酸含量的分析方法。此方法由于能很快地将肉中全部核苷酸、碱基等洗脱下来,故缩短了分析时间,并能得到满意的重复性,使方法具有较高的精密度和准确度,为食品的风味研究提供了可靠的分析手段。

二、实验部分

(一) 仪器与试剂

1. 岛津高效液相色谱仪 LC-4A, SPD-2AS 紫外-可见分光光度检测器。

2. 标准品:

(1) 5'-肌苷酸(5'-IMP)

(2) 5'-一磷酸腺苷(5'-AMP)

(3) 次黄嘌呤(Hypoxanthine)

以上三种标准品均系日本ヤマサ醤油株式会社生产。

(4) 三磷酸腺苷(ATP),由中国科学院上海生物化学研究所生产。

3. 流动相用试剂: NaH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 均为优级纯。

4. 前处理用试剂: HClO_4 , 为分析纯。

(二) 样品制备

将市售新鲜生猪肉、鸡肉、海虾和火腿肉修整后绞碎,混匀。称取适量放入 100ml 烧杯中,加入冷的 5% HClO_4 溶液约 30ml,混匀,4℃ 冰箱放置一小时。取出后,均质,将匀浆液移入 50ml 容量瓶中,用 5% HClO_4 溶液定容。纸过滤,取滤液 5.0ml 移入 10ml 容量瓶中,用 3M KOH 溶液调 pH 到中性,用水定容到刻度。离心,上清液用 0.45μ 的滤膜过滤,滤液上 HPLC 仪分析。

(三) 色谱条件

1. 色谱柱: ZORBAX, ODS, Ø4.6mm × 25cm

2. 流速: 0.5ml/min

3. 检测波长: 260nm

4. 流动相: 0.1M 磷酸缓冲液(pH3.20)

三、结果与讨论

(一) 标准图谱: 见图 1

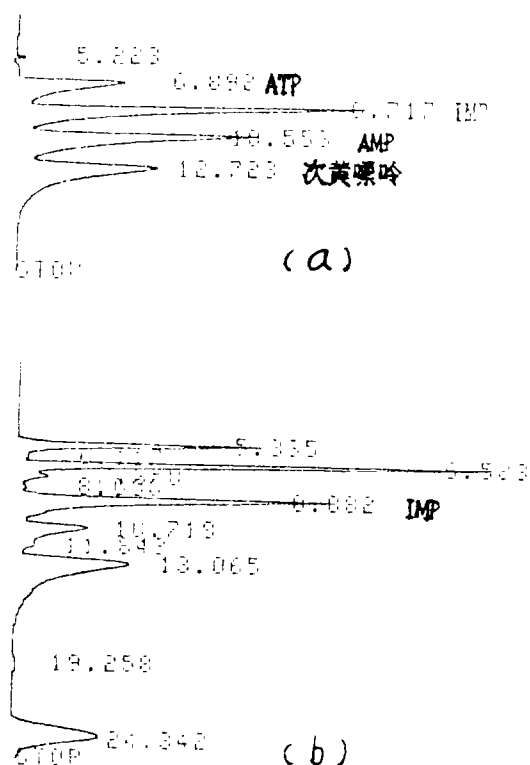


图1 (a) 标准品色谱图
(b) 火腿肉样品色谱图

(二) 标准曲线

5'-IMP 以 0.10、0.20、0.30、0.40、0.50 μ g 不同浓度的标准溶液分别进样。计算峰面积和含量的回归方程为： $Y=2.73 \times 10^5 X - 3.18 \times 10^2$, $r=0.9993$ 。标准曲线见图2。

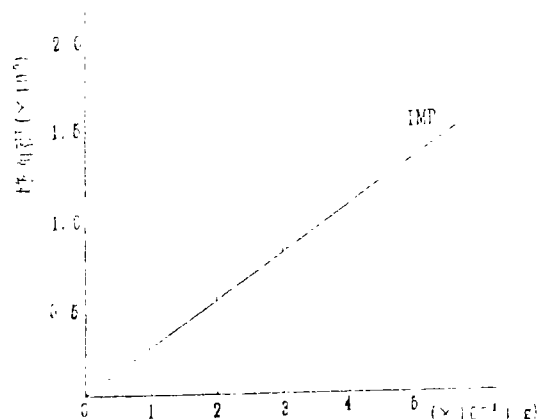


图2 标准曲线

(三) 回收率和重现性

实验结果如表1和表2所示。可见回收率和重现性都较好,说明此方法的准确度和精密度都较高。

表1 回收试验

项目	5'-IMP		
加入量 (mg) (n=3)	1.000	3.000	5.000
回收量 (mg)	1.031	2.975	5.040
回收率 (%)	103.1	99.17	100.8
平均回收率 (%) (n=9)	101.0 $\pm$ 1.97 CV=1.95 (%)		

表2 四种肉食品中 5'-IMP 的含量

项目 \ 品 肉	鲜 虾		火 腿		生 鸡 肉		鲜 猪 肉	
单次值	2.198	2.353	0.9807	1.003	1.420	1.484	0.9758	1.066
(mg/g)	2.217	2.486	0.9653	1.072	1.503	1.469	1.062	1.010
均值 $\pm$ S.D (n=4)	2.31 $\pm$ 0.13		1.01 $\pm$ 0.047		1.469 $\pm$ 0.036		1.03 $\pm$ 0.043	

(四) 讨论

1. 肉类食品中的游离核苷酸除肌苷酸 IMP 外,还存在 AMP、ADP、ATP 等。我们在方法的条件实验中,通过对流动相种类、不同离子强度和 pH 值的反复选择,确定了一套将肉类食品中 IMP 很好地与其它几种核苷

酸、碱基分离的最佳色谱条件,使此方法不仅能将 IMP 很好的分离,还能使其它核苷酸很快洗脱下来,使结果的重现性好,方法的精密度高,而且操作简单、快速,容易掌握。

2. 反相色谱与离子交换的洗脱机理不同,

(下转第46页)

四川肉食一绝——张飞牛肉

郑 和 (四川省食品总公司, 成都 610031)

提起四川阆中, 人们便会想起张飞。蜀汉名将张飞在此驻兵多年, 为了纪念他, 后人修建了名闻中外的桓侯祠, 又称张飞庙, 巍然屹立在这座历史文化名城。因此, 独具民族特色的风味食品——张飞牛肉, 在这里也堪称美食一绝。

近几年来, 随着旅游业的迅速发展, 阆中礼拜寺街 19 号个体户马华珍, 开设了一家“华珍”张飞牛肉店, 专门制作销售旅游美食佳肴张飞牛肉。

最近笔者有机会途径阆中市, 经人介绍走进了“华珍”张飞牛肉店。一进店, 使人惊讶! 二楼一底的店堂全部满座, 店铺外边还排着队长龙, 数辆大小汽车停放在街道两旁, 美食爱好者们正在争购张飞牛肉。一打听, 方知其中不少人来自重庆、成都、西安、南充、达川等地。有的人还是美食文化欣赏者, 专程来此地采购或品尝张飞牛肉的。

店主马华珍老人一眼瞧见陪同我的是当地同仁高德政先生, 便敏捷地拨开人群, 热情地把我俩引进了楼上的贵宾室, 并立刻吩咐为我

们准备牛肉。当把牛肉端上桌后, 我拿起一片观察: 外表墨黑, 内中红色油润, 富有光泽。将牛肉送入口中, 慢品细尝, 口感极佳, 香嫩可口, 味道好极了。

我边品尝边询问店主, 为何这黑湖湖的东西就叫“张飞牛肉呢”? 老人作了简单介绍。张飞名将在阆中县城驻守 7 年多, 他的忠勇为世人所仰慕。根据历代相传, 张飞的塑像脸谱以面黑心红为特征。制作张飞牛肉, 一则为了纪念他, 二则借用他的名创牌子。谈及制作工艺, 那当然是绝招不可外露。但基本方法是这样的: 选用新鲜黄牛肉腿子的部位(又叫腱子肉)为原料, 分割成型, 每块重在 0.25kg 左右。再配以食盐、海椒、八解、三奈、红糖、味精、花椒、回香、草果等数十种辅料, 经过 15 日腌渍, 抹以由数种中草药研制而成的黑色“百草霜”, 煮熟装袋即可。张飞牛肉系热性熟制品, “百草霜”则具有清热、凉血的功能。故“张飞牛肉”系美容、强身、滋补的保健食品。从美学角度讲, 红黑相交错, 更烘托出美的图案, 给人既饱眼福, 又饱口福的效果。

(上接第 43 页)

虽然反相色谱法不需要使分离柱充分平衡(再生)和梯度淋洗, 比离子交换法更适用于肉食品的核苷酸分析, 但流动相的 pH 值、离子强度也会明显地影响待测组分的分离, 故要严格控制流动相的 pH 值等条件, 配制的磷酸缓冲液不宜久存。

3. 本方法的样品预处理技术是在前人比较研究的基础上建立起来的^[3]。预处理方法不仅操作简便, 而且非常适用于液相色谱法分析肉类食品中的核苷酸。由于预处理步骤少, 减

少了由样品处理带来的组分损失, 使此法能够获得满意的回收率。本方法对生熟肉食品的肌苷酸分析均都适用。

参考文献

- [1] 马家骥等译: 食品中添加剂的分析方法, 中国标准出版社, 475 页, 1988
- [2] RICHARD A. HARTWICK et al: J. Chromatogr. 112, 651~662, 1975
- [3] Herman W. Shmukler: J. Chromatogr. Sci., Vol. 10, 38~40, 1972