

实验技术与方法

蒸发光散射-亲水作用色谱法测定味精和鸡精中的谷氨酸钠

汪辉^{1,2}, 徐睿鑫¹, 李晰晖¹, 胡丽俐¹, 彭新凯^{1,2}, 夏立新^{1,2}

(1. 长沙市食品质量监督检测中心, 湖南 长沙 410013;

2. 湖南省食品安全生产工程技术研究中心, 湖南 长沙 410013)

摘要:目的 建立了蒸发光散射-亲水作用色谱法测定味精和鸡精中的谷氨酸钠。方法 色谱柱为 Venusil HILIC(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温 30 °C; 流动相为 0.02 mol/L 醋酸铵(冰醋酸调 pH=3.5)-乙腈(80:20, V/V); 流速 1.5 ml/min; 检测器为蒸发光散射检测器(ELSD); 样品经水超声提取, 提取液过滤后供仪器分析。结果 谷氨酸钠在 6.0~20 g/L 浓度范围内线性良好, 味精和鸡精的平均回收率分别为 98.5% 和 94.7%, RSD 分别为 1.07% 和 2.14% (n=5)。结论 该方法适用于味精和鸡精中的谷氨酸钠的测定。

关键词:蒸发光散射检测器; 亲水作用色谱; 味精; 鸡精; 谷氨酸钠; 食品安全

中图分类号: R155; O657.7 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2015)03-0262-03

DOI: 10.13590/j.cjfh.2015.03.009

Determination of sodium glutamate in monosodium glutamate and chicken essence by evaporative light-scattering detector-hydrophilic interaction liquid chromatography

WANG Hui, XU Rui-xin, LI Xi-hui, HU Li-li, PENG Xin-kai, XIA Li-xin

(Changsha Center of Supervision and Inspection on Food Quality Safety, Hunan Changsha 410013, China)

Abstract: Objective A evaporative light-scattering detector (ELSD) -hydrophilic interaction liquid chromatographic method was developed for determination of sodium glutamate in monosodium glutamate and chicken essence. **Methods** A Venusil HILIC (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column at 30 °C was used to separate the target compound. 0.02 mol/L ammonium acetate (glacial acetic acid adjust pH=4.5) -acetonitrile (20:80, V/V) was used as mobile phase with the flow rate of 1.5 ml/min. The target compound was detected by ELSD. Water was used for ultrasonic extracting sodium glutamate in samples. The solution was analyzed by HPLC after filtration. **Results** Sodium glutamate showed good linearity with the detection range of 6.0-20 g/L. The spiked recoveries into monosodium glutamate and chicken essence were respectively 98.5% and 94.7% and relative standard deviations (RSDs) were respectively 1.07% and 2.14% (n=5). **Conclusion** The method could be used for determination of sodium glutamate in monosodium glutamate and chicken essence.

Key words: Evaporative light-scattering detector; hydrophilic interaction chromatography; monosodium glutamate; essence of chicken; sodium glutamate; food safety

谷氨酸钠是味精和鸡精中的主要呈味物质,也是反映产品鲜度的主要物质。不法分子为牟取更大的利润,在产品中掺入淀粉、蔗糖等物质,损害消费者的正当权益。

掺入的淀粉、蔗糖等物质会对现有的标准测定方法产生干扰^[1]。目前,测定谷氨酸钠的方法有旋光法^[2-3]、高氯酸非水溶液滴定法^[2,4]、甲醛值法^[5-7]、高效液相色谱法(HPLC)^[8-9]等。其中,以旋光法测定味精中谷氨酸钠含量,操作简便、快捷,数

据稳定,但测定鸡精时易受蔗糖和淀粉的干扰和影响^[3,10];高氯酸非水溶液滴定法和甲醛值法操作较复杂,且易受环境和人为因素影响^[3,10];高效液相色谱法均采用紫外检测器或二极管阵列检测器在低波长处检测,干扰较大^[11],将谷氨酸衍生后采用荧光检测器检测,虽然专一性较强,但对于高含量谷氨酸钠的味精和鸡精进行测定,衍生过程的不确定因素较多,最终导致测定结果误差较大^[12-13]。因此,建立一种适合于味精和鸡精中谷氨酸钠含量测定的新方法势在必行。

本研究以水直接提取,采用亲水性色谱柱分离,利于蒸发光散射检测器测定谷氨酸钠的含量,通过回收率、精密度和实际样品测定等试验,证明该方法准确、可靠,有一定的实际应用价值。

收稿日期:2014-12-15

基金项目:质检公益性行业科研专项项目(201310130)

作者简介:汪辉 男 工程师 研究方向为食品质量安全分析

E-mail: wanghui158@163.com

1 材料与amp;方法

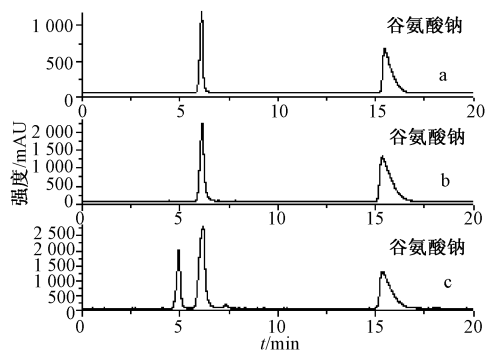
1.1 主要仪器与试剂

1200 型高效液相色谱仪(配有四元泵、自动进样器和柱温箱,美国 Agilent)、3300 蒸发光散射检测器(美国 Alltech)、SGW-2 自动旋光仪(上海仪电物理光学仪器有限公司)。L-谷氨酸钠一水化合物和醋酸铵的纯度均 $\geq 98\%$ 、冰醋酸(色谱纯)、盐酸(优级纯)均购自国药集团化学试剂有限公司,甲醛(分析纯,湖北奥生新材料科技有限公司),乙腈(色谱纯,德国 Merk)。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

称取约 3 g 样品于 100 ml 容量瓶中,加水溶解,超声 5 min,加水定容至刻度,摇匀。根据味精和鸡精中谷氨酸钠含量,取溶液适当稀释,过 0.22 μm 微孔滤膜,滤液待测,见图 1。



注:a. 标准溶液(10.0 mg/ml); b. 味精溶液(16.0 mg/ml); c. 鸡精溶液(16.0 mg/ml)

图1 标准溶液和样品溶液的色谱图

Figure 1 Chromatography of standard and sample solution

1.2.2 色谱条件

色谱柱为 Venusil HILIC (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 流速 1.5 ml/min, 流动相为 0.02 mol/L 醋酸铵(冰醋酸调 pH = 3.5)-乙腈混合溶液(80:20, V/V), 进样量 5 μl 。检测器漂移管温度 45 $^{\circ}\text{C}$, 载气为高纯氮, 载气流速 1.5 ml/min, 增益 1.0。

2 结果与分析

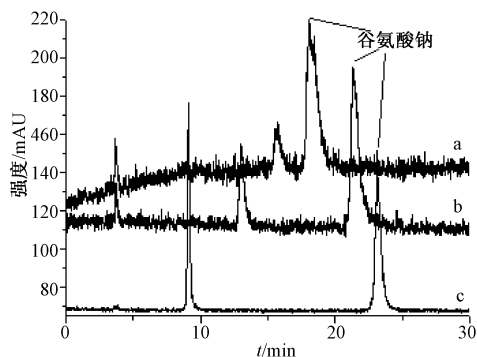
2.1 色谱柱的选择

谷氨酸钠极性较大,考虑到在 C_{18} 柱上保留值小,考察了可使用纯水的 Ultimate AQ- C_{18} 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm)对谷氨酸钠的分离效果,结果显示谷氨酸钠的保留值仍然较小,且干扰较严重;以分离模式与氨基柱相当的 Prevail Carbohydrate ES 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm)分离谷氨酸钠,虽然分离效果较好,但测定鸡精时有一定的干扰;而

Venusil HILIC 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm)的填料为强亲水性的极性吸附剂,适合分离极性大的化合物,因此选用 Venusil HILIC 柱分离目标化合物^[14-15]。

2.2 流动相的选择

考察了 0.02 mol/L 醋酸铵溶液(pH = 6.8)-乙腈、0.02 mol/L 醋酸铵(冰醋酸调 pH = 5.0)-乙腈、0.02 mol/L 醋酸铵(冰醋酸调 pH = 3.5)-乙腈 3 种流动相体系,结果显示基线噪音随着 pH 值降低而变小,峰宽也随之变窄,但目标化合物的保留值却随之增大,见图 2。这可能是流动相中 $[\text{H}^+]$ 与色谱柱固定相的中性的酰胺键合基团结合形成配位键的缘故。分析时间也是色谱条件优化的因素之一。增大流动相中水相比比例可以适当降低保留值,但基线噪音也会增大。因此,采用加大流速,将分析时间控制在 20 min 以内。最终选择 0.02 mol/L 醋酸铵(冰醋酸调 pH = 3.5)-乙腈(80:20, V/V)作为流动相,流速为 1.5 ml/min。



注:a. pH = 6.8; b. pH = 5.0; c. pH = 3.5

图2 谷氨酸钠(2.0 mg/ml)在不同 pH 值流动相中的色谱图

Figure 2 Chromatogram of sodium glutamate(2.0 mg/ml) by mobile phases with different pH values

2.3 检出限和线性考察

精密称取谷氨酸钠 5.0 g(精确至 0.01 mg)于 100 ml 容量瓶中,加水超声溶解,定容至刻度,制成每 1 ml 中含谷氨酸钠 50 mg 的溶液,作为对照品溶液。分别精密吸取 1.2、1.6、2.0、2.4、2.8、3.2、3.6、4.0 ml 溶液于 10 ml 容量瓶中,定容到刻度,摇匀后过滤,滤液注入高效液相色谱仪,以谷氨酸钠含量的自然对数为横坐标,峰面积的自然对数为纵坐标作标准曲线^[16],以 $S/N \geq 3$ 倍信噪比确定该方法的检出限为 0.1 g/kg,得回归方程为: $y = 1.1566x + 3.1344$, $r^2 = 0.9993$ 。结果表明,谷氨酸钠在 6.0 ~ 20 mg/ml 浓度范围内具有良好的线性关系。

2.4 精密度和稳定性试验

分别取按 1.2.1 样品前处理制备好的味精和鸡精溶液各 1 份,每份重复测定 6 次, RSD 分别为

1.22%和0.54%,说明该仪器具有良好的精密度。

分别取按1.2.1样品前处理制备好的味精和鸡精溶液各1份,分别在0、4、8、12 h测定,RSD分别为2.05%和2.86%,说明样品溶液在12 h内较稳定。

2.5 回收率试验

分别取市售味精(含量为99.8%)和鸡精(含量为50.1%)各3 g,平行取5份,加入含量相当的谷氨酸钠,按1.2.1样品前处理制备供试品溶液,稀释至2.3线性范围浓度,按1.2.2色谱条件测定含量,计算得味精的回收率为98.5%,RSD为1.07%;鸡精的回收率为94.7%,RSD为2.14%,结果见表1。

表1 样品中谷氨酸钠的加标回收率和相对标准偏差(n=5)

Table 1 Recoveries and relative standard deviations of sodium glutamate in samples

样品	测定量 /g	添加量 /g	实测值 /g	平均回 收率/%	RSD /%
味精	3.0	3.0	6.05,5.79,5.72,5.80,5.85	98.5	2.14
鸡精	1.5	1.5	2.93,2.96,3.00,3.00,3.00	94.7	1.07

注:味精3 g,本底99.8%,加入标准样品3.06 g,加标样品的谷氨酸钠的纯度98%;鸡精3 g,本底50.1%,加入标准样品1.53 g,加标样品的谷氨酸钠的纯度98%

2.6 与传统方法比较

分别取市售味精、加盐味精和鸡精各2批次按本方法测定谷氨酸钠的含量,结果显示有1批次谷氨酸钠含量不符合标准要求,其他均合格。任取味精、加盐味精和鸡精各1批次,味精按照GB/T 8967—2007《谷氨酸钠(味精)》^[2]规定的旋光法和GB/T 5009.43—2003《味精卫生标准分析方法》^[7]规定的甲醛值法测定,鸡精按照SB/T 10371—2003《鸡精调味料》^[5]规定的甲醛值法测定。由表2可知,本研究所建立方法与旋光法(测定味精)、甲醛值法(测定味精、鸡精)的两次独立测定结果的绝对差值均不超过算术平均值的10%,说明以该方法测定味精、鸡精中的谷氨酸钠含量可靠。

表2 3种方法的测定结果(%)

Table 2 Results of three methods

样品	HPLC	旋光法	甲醛值法
1#味精	99.9	99.3	97.8
2#味精	99.3	99.1	97.7
1#加盐味精	83.4	81.7	83.0
2#加盐味精	43.7	43.3	43.9
1#鸡精	48.4	—	44.9
2#鸡精	44.0	—	41.2

注:—为干扰较大,不采用此方法测定

3 小结

本研究建立的基于蒸发光散射-亲水作用色谱法测定味精和鸡精中的谷氨酸钠的含量。该方法稳定性好,回收率适宜,高浓度线性关系良好,适于味精和鸡精中的谷氨酸钠含量的测定。

参考文献

- [1] 陈晓军,肖冬梅. 掺杂味精中谷氨酸钠含量测定的探讨[J]. 发酵科技通讯,2006,35(3):49-50.
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 8967—2007 谷氨酸钠(味精)[S]. 北京:中国标准出版社,2007.
- [3] 胡玉赭. 关于味精中谷氨酸钠含量测定方法的探讨[J]. 科技信息,2011(21):620.
- [4] 管有根,叶群峰. 高氯酸滴定法测定掺杂味精中谷氨酸钠的含量[J]. 2003,11(3):35-36.
- [5] 中华人民共和国国家发展和改革委员会. SB/T 10371—2003 鸡精调味料[S]. 北京:中国商业出版社,2004.
- [6] 白剑青. 双指示剂甲醛滴定法测定味精中谷氨酸钠的探讨[J]. 2011,26(4):84-86.
- [7] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.43—2003 味精卫生标准的分析方法[S]. 北京:中国标准出版社,2004.
- [8] Rodriguez, Gonzalez, Centurion. Determination of monosodium glutamate in meat products[J]. 2003,91(4/6):41-45.
- [9] Garcia-sanchez F, Aguilar-gallardo A. Liquid chromatographic and spectrofluorimetric determination of aspartame and glutamate in foodstuffs following fluorescamine fluorogenic labeling[J]. Analytica Chimica Acta,1992(270):45-53.
- [10] 韩晓林. 味精中谷氨酸钠含量的测定[J]. 中国井矿盐,2010,41(5):35-36.
- [11] 陈悦,张叶萍. HPLC法测定氟氯西林钠颗粒中谷氨酸钠的含量[J]. 2003,17(11):693-695.
- [12] 朱玲英,孔铭,彭蕴茹,等. HPLC测定大鼠海马中谷氨酸、 γ -氨基丁酸的含量[J]. 中国现代应用药学杂志,2009,26(8):654-656.
- [13] 郑家概,马艳芳,苏流坤,等. HPLC法测定鸡精中谷氨酸钠的含量[J]. 广州化学,2009,34(4):35-38.
- [14] 汪辉,彭新凯,夏立新,等. 亲水作用色谱法快速筛查食品中违法添加的二氧化硫脲[J]. 分析测试学报,2014,33(7):804-809.
- [15] 李兵,吴国华,刘伟,等. 固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法检测甘蔗中3-硝基丙酸的方法研究[J]. 中国食品卫生杂志,2012,24(2):127-132.
- [16] 张彦飞,刘丹,张蕾,等. HPLC-ELSD法测定中药两头尖中竹节香附素A[J]. 中成药,2014,36(9):1930-1932.