

氨基酸自动分析仪测定食品中牛磺酸的方法建立

王洪健¹, 周兴起², 冯志强¹, 曾暖茜¹

(1. 广东省食品质量监督检验站, 广东广州 510308) (2. 广东省食品工业公共实验室, 广东广州 510308)

摘要: 本文利用氨基酸自动分析仪测定食品中牛磺酸的含量, 建立了氨基酸自动分析仪对食品中牛磺酸的测定方法, 并对此方法进行了精密度和准确度的验证实验, 该法的相对标准偏差为 0.27%, 回收率为 100.4~102.0%, 样品经预处理可防止其他氨基酸的干扰, 本法灵敏度高、专一性强, 其最低检出限为 10 pmol。

关键词: 牛磺酸; 氨基酸自动分析仪; 测定

文章编号: 1673-9078(2012)3-348-350

Determination of Taurine in Food Products by Amino Acid Autoanalyzer

WANG Hong-jian¹, ZHOU Xing-qi², FENG Zhi-qiang¹, ZENG Nuan-xi¹

(1. Guangdong Food Quality Supervision and Inspection Station, Guangzhou 510308, China)

(2. Guangdong Provincial Public Laboratory of Food Industry, Guangzhou 510308, China)

Abstract: This paper introduced a method of determining Taurine in foods by using amino acid auto-analyzer, and verified this method by the precision and accuracy experiment. The relative standard deviation of the method was 0.27 % and the recovery rate ranged from 100.4 % to 102.0 %. Samples should be pretreated to prevent the interference of other amino acids. The method has high sensitivity and strong specificity, the minimum detectable level can reach 10 pmol.

Key words: taurine; amino acid autoanalyzer; determination

牛磺酸^[1] (Taurine) 又称 α -氨基乙磺酸, 因最早由牛黄中分离出来而得名, 分子式为 $C_2H_6N_2O_3S$, 化学结构式为 $HN_2-CH_2-CH_2-SO_3H$, 分子量为125.15; 纯品为无色或白色斜状晶体, 无臭, 化学性质稳定, 溶于乙醚等有机溶剂, 是一种含硫的非蛋白氨基酸, 在体内以游离状态存在, 不参与体内蛋白的生物合成; 牛磺酸虽然不参与蛋白质合成, 但它却与胱氨酸、半胱氨酸的代谢密切相关^[2], 具有保护心血管系统、促进脂肪乳化、改善视功能和抗氧化等生理功能, 人体主要依靠摄取食物中的牛磺酸来满足机体需要。牛磺酸几乎存在于所有的生物之中, 哺乳动物的主要脏器, 如: 心脏、脑、肝脏中含量较高; 含量最丰富的是海鱼、贝类, 如墨鱼、章鱼、虾, 贝类的牡蛎、海螺、蛤蜊等。鱼类中的青花鱼、竹荚鱼、沙丁鱼等牛磺酸含量很丰富。

目前测定食品中牛磺酸的方法主要有 HPLC-荧光法^[3]、薄层色谱法^[4]、高效液相色谱法^[5] (HPLC)、超微量测定法、自动电位滴定法^[6]及衍生化高效液相色谱法^[7]等, 这些方法操作比较繁复, 且仪器不普及, 要求条件高, 离子色谱法所用的离子柱价格昂贵, 薄

层扫描仪要求质量较高的薄层板。柱前衍生法测定牛磺酸, 由荧光检测器检测定量, 此法灵敏度高, 但测定条件要求严格, 易受外界条件干扰, 不易操作。在现有的相关国家标准中, 没有使用氨基酸分析仪测定食品中牛磺酸的方法, GB/T 5009.124-2003 检测方法中检测的是 16 中氨基酸, 并没有包括牛磺酸。为此在国家标准 GB/T 5009.124-2003 的基础上, 进行了氨基酸自动分析仪对食品中牛磺酸测定方法的研究, 本法操作简单、具有较高的灵敏度和精密性、专一性强^[8,9], 可适用性强。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

氨基酸自动分析仪: 日立835-50型高效氨基酸自动分析仪, 连有自动数据处理机和记录仪、自动进样装置、梯度洗脱系统等; 电热恒温干燥箱; 牛磺酸标准溶液, 500 mg/mL; 盐酸, 6 mol/L; 茚三酮显色剂: 将26.67 g茚三酮溶于1000 mL乙二醇甲醚中, 加入333.33 mL醋酸缓冲液, 再加入2.3 mL三氯化钛, 低温保存。

1.2 色谱条件

分离柱: 26 mm i.d.×150 mm不锈钢柱; 交换树脂型号: No.2619, 日本公司生产的氨基酸分析专用树脂;

收稿日期: 2011-11-30

基金项目: 广东省科技计划项目 (2009B011300012)

作者简介: 王洪健 (1984-), 女, 本科, 助理工程师, 研究方向为食品检验

柱温: 53 °C; 泵流速: 0.225 mL/min; 泵压力: 8.8 MPa; 进样体积: 50 μL。

1.3 样品的处理

精确称取一定量均匀性好的样品如牡蛎、贝柱等于水解管中, 加12 mL的6 mol/L盐酸, 滴入几滴苯酚, 充氮后封管, 置于110 °C烘箱中保持22 h, 冷却后经滤纸过滤到50 mL容量瓶中, 用超纯水反复冲洗水解管及滤纸, 最后定容至刻度。取1 mL样液于蒸发皿中在蒸气浴上蒸干, 加超纯水重复三次, 残留物用0.02 mol/L盐酸溶液定容至10 mL, 0.45 μm滤膜过滤, 滤液上机备用^[10]。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线绘制

表1 浓度与峰面积

Table 1 Concentration and Peak Area

浓度/(mg/L)	峰面积
5.0	1409994
10.0	2799581
15.0	4209557
20.0	5533029
25.0	6814875

精确吸取牛磺酸标准溶液0.1 mL、0.2 mL、0.3 mL、0.4 mL、0.5 mL分别加入到25 mL容量瓶中, 用水稀释到刻度, 进氨基酸分析仪分析, 以峰面积和浓度绘制标准曲线可知: 线性回归方程 $y=677161x+90444$; 相关系数: $R^2=0.9996$ 。在牛磺酸浓度为5.0~25.0 mg/L范围内, 牛磺酸的质量浓度与峰面积之间具有良好的线性关系, 其最低检出限为10 pmol。

2.2 仪器精密度

配制牛磺酸标准溶液10 mg/L, 连续进样6次, 由表2可知, 峰面积相对标准偏差为0.27%。

表2 精密度实验

Table 2 The results of the precision test

测量次数	峰面积	平均值	标准偏差	RSD/%
1	2851824	2858242	7656	0.27
2	2855442			
3	2850963			
4	2861300			
5	2858199			
6	2871723			

2.3 实验方法精密度

取一定量的牡蛎样品, 按1.3的方法处理, 分别测定其牛磺酸含量, 由表3可知, 在重复条件下获得的6

次独立测定结果的相对标准偏差为0.35%。

表3 精密度实验 (10⁻² g/g)

Table 3 The results of the precision test

牡蛎	牛磺酸含量/(10 ⁻² g/g)	平均值/(10 ⁻² g/g)	标准偏差	RSD/%
1	5.42	5.40	0.0191	0.35
2	5.38			
3	5.38			
4	5.41			
5	5.40			
6	5.43			

2.4 加标回收率

取3种样品分别为牡蛎、贝柱、功能性饮料, 按1.3的方法处理, 分别测定其牛磺酸含量, 再在各样品中分别加入标准牛磺酸, 进行测定, 每一样品做2次平行试验。实验结果见表4。由表4可以看出, 回收率为101.3~102.0%, 平均回收率为101.4%。

表4 回收率测定结果

Table 4 Results of recovery

	本底值/mg	加入量/mg	加标测得值/mg	回收率/%
牡蛎	5.42	5.00	10.516	102.0
	5.37	5.00	10.451	101.6
贝柱	4.62	5.00	9.691	101.5
	4.62	5.00	9.636	100.4
功能性饮料	533.7	375.6	914.5	101.4
	527.5	375.6	908.2	101.3

2.5 样品的检测与分析

分别取市售不同的牡蛎、功能饮料、贝柱、氨基酸口服液、奶粉等样品, 按上述样品处理方法进行处理后进样, 测定不同样品中的牛磺酸含量, 结果见表5。

表5 样品测试分析结果

Table 5 Results of analysis of sample

样品名称	牛磺酸含量/(10 ⁻² g/g)
牡蛎 1	5.42
牡蛎 2	5.37
贝柱 1	4.62
贝柱 2	4.62
功能性饮料	5.33 mg/mL
功能性饮料	5.28 mg/mL
氨基酸口服液	0.36 mg/mL
奶粉	0.43 mg/g
饮料	0.49 g/L

结果表明, 牡蛎、贝柱, 功能性饮料(色谱图见图 1~5)等都含有牛磺酸, 天然水产制品中含有丰富的牛磺酸, 奶粉中含量极少。

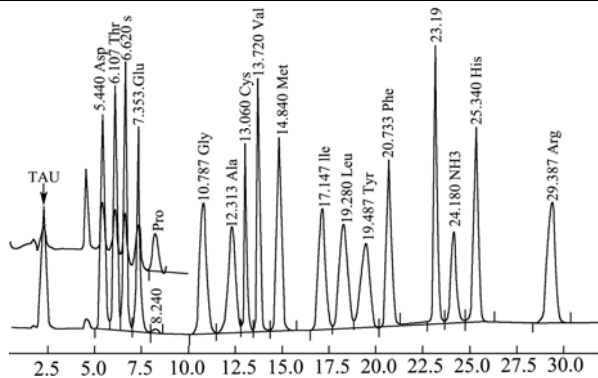


图1 混合氨基酸标准品色谱图

Fig.1 Chromatogram of mix amino acids standard

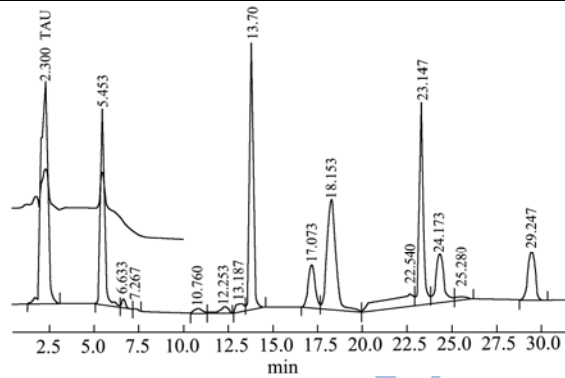


图5 功能性饮料样品水解牛磺酸分离图谱

Fig.5 Chromatogram of sample

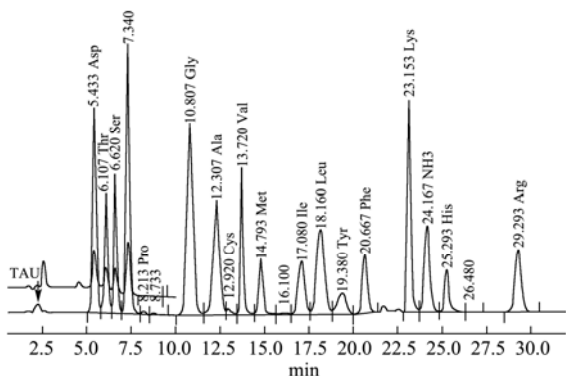


图2 样品水解氨基酸分离图谱

Fig.2 Chromatogram of sample

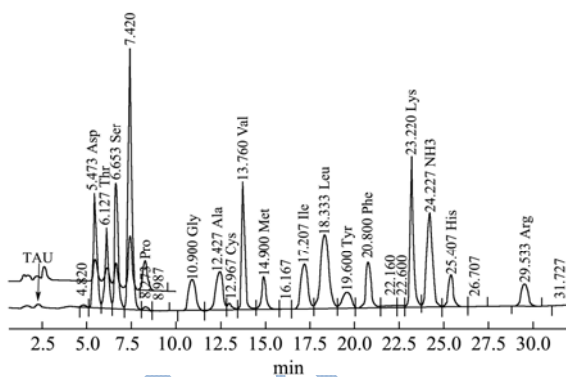


图3 牡蛎样品水解牛磺酸分离图谱

Fig.3 Chromatogram of sample

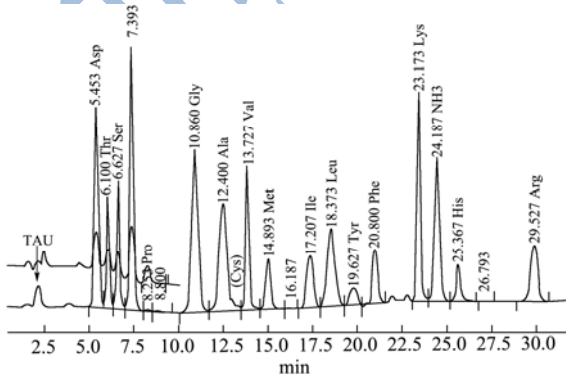


图4 贝柱样品水解牛磺酸分离图谱

Fig.4 Chromatogram of sample

3 结论

利用氨基酸自动分析仪能准确地测定食品中牛磺酸的含量，该方法样品处理简便易操作，可以对牛磺酸直接进行分析，避免了衍生产物的多样性，也不涉及样品中氨基酸衍生不彻底等问题，能快速、准确地测定出样品中的牛磺酸含量。

参考文献

- [1] 杨广会,周燕霞,徐晓莉,等. 鲑鱼中牛磺酸的提取工艺研究[J]. 食品工业科技,2010,(06)
- [2] 张刚,黄玉山. 牛磺酸与运动能力[J]. 四川体育科学,2003,1: 11-12
- [3] 刘国斌,李见春,人血清中牛磺酸的 HPLC-荧光法测定方法学研究[J]. 中国医药导报, 2009,2:42-44
- [4] 祖如松,食品中牛磺酸的测定方法-薄层层析法[J]. 中国卫生检验杂志,1998,5
- [5] 王晓莺,食品及保健食品中牛磺酸的 FMOC 柱前衍生-高效液相色谱测定方法研究[D]. 四川大学,2006
- [6] 张彤,山广志,陈思. 自动电位滴定法测定牛磺酸含量[J]. 首都医药, 2009, (10) :63-64
- [7] 任一平,黄百芬,胡红伟.应用 OPA 柱前衍生法测定食品中的牛磺酸[J]. 食品与发酵工业,1995,(01)
- [8] 曾暖茜,王洪健,周兴起,等. 氨基酸自动分析仪对乳制品中羟脯氨酸的测定方法研究[J]. 现代食品科技,2008,24(7): 719-721
- [9] 冯志强,周兴起,庄俊钰. 氨基酸分析仪测定含乳饮料中游离甘氨酸的方法研究[J]. 现代食品科技,2007,23(7):89-91
- [10] 中华人民共和国国家标准. 食品卫生检验方法:理化部分 (二)GB/T 5009.124-2003,食品中氨基酸的测定