

柱前衍生高效液相色谱法测定红牛维生素功能饮料中牛磺酸含量

Taurine in RedBull Super Vitamin Drinks Determined by Pre-column Derivatization and HPLC

黄岛平, 陈秋虹, 劳燕文

HUANG Dao-ping, CHEN Qiu-hong, LAO Yan-wen

(广西分析测试中心, 广西南宁 530022)

(Guangxi Research Center for Analysis and Test, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要:用邻苯二甲醛(OPA)柱前衍生高效液相色谱法,运用 C₁₈色谱柱为固定相,甲醇+0.05mol/L NaAc 溶液(45+55)为流动相,检测波长 330nm,测定红牛维生素功能饮料的牛磺酸。结果衍生化反应迅速,分离效果好,在 10~50μg/ml 的浓度范围内,牛磺酸色谱峰面积与浓度之间的线性相关系数为 0.9999,加标回收率为 97.48%~101.0%,RSD 为 2.5%。

关键词:高效液相色谱法 牛磺酸 饮料

中图分类号:O657.72 文献标识码:A 文章编号:1002-7378(2006)S0-0419-03

Abstract: Taurine in RedBull Super Vitamin Drinks was determined by OPA pre-column derivatization and High Performance Liquid Chromatography (HPLC), using C₁₈ column as fixed phase, methyl alcohol+0.05mol/L NaAc as mobile phase(45+55 by volume), with wavelength 330nm. The separation effect is satisfactory; derivatization reaction is rapid; the linear correlation coefficients of peak areas and concentration is 0.9999 in the range of 10~50g/ml respectively; the recoveries of the Taurine were 97.48%~101.0%, RSD were 2.5%. This method is accurate and suitable for quality control of Tongluoxiaru Koufuye.

Key words: HPLC, taurine, drinks

牛磺酸又称牛胆碱,其化学名为 2-氨基乙磺酸,以游离形式存在,具有抗劳功效。红牛维生素功能饮料中牛磺酸是主要功效成分,为了保证产品的质量,需要检测产品中的牛磺酸含量。目前牛磺酸测定方法是柱后衍生离子交换色谱法,需要氨基酸分析仪等专用仪器,价格较贵、运行成本较高,不适合一般实验室分析。有关柱前衍生高效液相色谱法测定牛磺酸含量已有资料报道^[1~3],但邓思珊等^[1]采用梯度洗脱测定,费时较长;国家现行标准^[4]中,流动相为甲醇+乙腈+水(10+10+80)时牛磺酸很难洗脱。本文在综合前人的基础上,对该测定方法进行改进,改进后的方法具有简便快速、结果准确等优

点。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

美国 Waters2695 高效液相色谱仪及色谱工作系统, Waters2996 列阵检测器, 溶液过滤器。甲醇、乙腈(色谱纯,天津四友);邻苯二甲醛(OPA, FLUKA);乙硫醇(FLUKA);磷酸二氢钾,磷酸氢二钾,乙酸钠,氢氧化钠,硼酸均为分析纯。牛磺酸对照品(sigma),红牛维生素功能饮料为市场购买得到。

1.2 色谱条件

色谱柱 C₁₈ (SymmetryShield 4.6 × 250mm 5μm);流动相:甲醇+0.05mol/L NaAc 溶液(45+55),流量:1.0ml/min;检测波长 330nm。进样体积

10 μ l。

1.3 衍生试剂制备

称取 0.1g 邻苯二甲醛用 10ml 甲醇溶解,加 0.1ml 乙硫醇,0.4mol/L 硼酸钠缓冲液(pH 值 9.4)定容至 100ml。

1.4 标准溶液制备

准确称取牛磺酸对照品 30mg 置 50L 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即为含牛磺酸 0.600mg/ml 的储备液。取储备液 2.5ml 放入 50ml 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得含牛磺酸 30.0 μ g/ml 的工作液。标准溶液的色谱图如图 1 所示。

1.5 样品溶液制备

精密吸取口服液 2.5ml 于 50ml 容量瓶内加蒸馏水定容至刻度,摇匀即得样品溶液。样品溶液的色谱图如图 2 所示。

1.6 样品测定

精密吸取牛磺酸工作液 0.5ml,衍生剂 0.5ml 摇匀,在 4min 内取混合液 10 μ l 注入色谱柱内,记录标准液和样品峰面积,由峰面积外标法定量,测定结果见表 1。

表 1 样品测定结果

批号	含量(mg/100ml)
0508	57.4
0501	56.0
0322	54.2

2 结果与分析

2.1 衍生试剂选择

目前柱前衍生色谱法所用衍生化试剂有 2,4-二硝基氟苯^[5]、邻苯二甲醛^[1]等,选用邻苯二甲醛实验条件最简便。曾试验了含邻苯二甲醛 0.1g/100ml、0.2g/100ml 和 0.5g/100ml,和乙硫醇加入量 0.1%、0.2%、0.4% 的情况。结果含邻苯二甲醛 0.1g/100ml 和 0.1% 乙硫醇就能满足实验要求,溶液在室温下放置 3d 不影响测定。不加乙硫醇时,邻苯二甲醛溶解度差,说明乙硫醇有助溶作用。

2.2 流动相选择

根据文献[2,3],由去离子水、0.05mol/L 乙酸钠溶液、KH₂PO₄ 溶液、KH₂PO₄ 和 K₂HPO₄ 溶液与甲醇调成不同比例进行试验,在流量为 1ml/min 下,0.05mol/L 乙酸钠溶液+甲醇(55+45)的流动相出峰时间为 10min 左右,分离效果最佳(见图 1 和图 2)。水+甲醇(30+70)、KH₂PO₄ 溶液+甲醇(50+50),KH₂PO₄+K₂HPO₄ 溶液+甲醇(50+50),都在 10min 左右出峰,但分离效果相对差些。而新鲜配

制的 0.05mol/L 乙酸钠(NaAc)溶液 pH 值为 6.5,可直接使用。乙腈可改变出峰时间,但乙腈毒性大,本实验不选用。

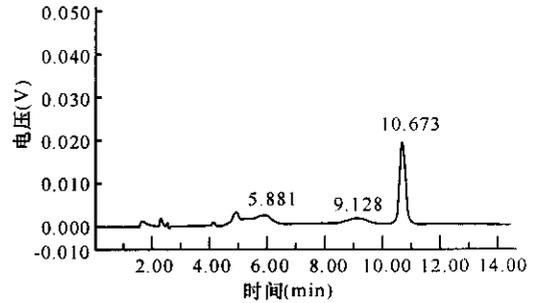


图 1 牛磺酸标准溶液色谱图(牛磺酸 10.7min)

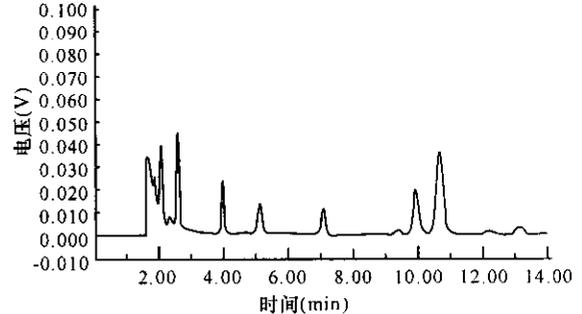


图 2 样品溶液色谱图

2.3 波长选择

根据文献[1],波长为 330nm 有最大吸收值,所以本实验的检测波长选择 330nm。

2.4 衍生物的稳定性试验

在上述色谱条件下,测定牛磺酸工作液衍生后 1min、2min、3min、4min、5min 的峰面积,结果在第 5min 时峰面积有明显变化,所以选择在 4min 内进样。

2.5 工作曲线

按标准溶液项配成质量浓度为 10.00 μ g/ml、20.00 μ g/ml、30.00 μ g/ml、40.00 μ g/ml、50.00 μ g/ml 的牛磺酸标准溶液。每种浓度测定 3 次,取峰面积平均值。结果得到牛磺酸的质量浓度(X , μ g/ml)与色谱峰面积(Y)之间的回归方程式为 $Y = 3200X - 9133$, $r = 0.9999$ 。在 10~50 μ g/ml 的质量浓度范围内,牛磺酸浓度与色谱峰的峰面积成良好的线性关系。

2.6 重复性试验

取质量浓度为 30.00 μ g/ml 标准溶液,连续测定 6 次,牛磺酸峰面积的 RSD 为 1.8%。取同一批样品,按样品溶液项制备 6 份,测定牛磺酸含量,其 RSD 为 2.5%。

2.7 稳定性试验

按样品溶液项制得溶液,在常温下放置 2h、4h、

6h、8h 后测定,牛磺酸含量 RSD 为 2.8%。

2.8 加标回收率试验

在已知含量的样品中加入 3 个浓度水平的标准溶液,测定得到的加标回收率见表 2。表 2 结果说明本方法较准确。

表 2 回收率试验结果

样品原含量 (mg)	加入量 (mg)	测定值(mg)			回收率 (%)
		1	2	3	
0.574	0.600	0.578	0.586	0.588	97.48
0.574	0.300	0.295	0.298	0.297	98.89
0.574	0.200	0.205	0.199	0.202	101.0

3 结论

用改进后的柱前衍生高效液相色谱法测定红牛

维生素功能饮料中牛磺酸的含量,较为简便,分离效果好,测定结果准确可靠,满足分析要求。适合一般实验室分析和用于该产品的质量控制在。

参考文献:

- [1] 邓思珊,林绥,郑晓萍. HPLC 测定金绒莲口服液中牛磺酸含量[J]. 海峡药学,2000,12,(4):29-30.
- [2] 郑纲,林少彬. 高效液相色谱法测定食品中的牛磺酸[J]. 卫生研究,1998,27(4):266-268.
- [3] 杨祖英,张平伟. 高效液相色谱法测定食品中的牛磺酸[J]. 卫生研究,1998,27(3):192-194.
- [4] GB/T 5009. 食品中牛磺酸的测定[S]. 169-2003.
- [5] 何照范,张迪清. 保健食品化学及其检测技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,1998:131-132.

(上接第 418 页)

- [2] 闵知大,覃开活. 海南冬青中的一个新三萜甙[J]. 药学学报,1984,19(9):691-696.
- [3] 赵登飞. HPLC 测定山绿茶胶囊中芦丁的含量[J]. 中成药,2002,24(9):724-725.
- [4] 陈一,黄凤娇,钟正贤,等. 山绿茶的降压作用[J]. 中草药,1983,14(4):27-30.
- [5] 陈凌,秦永文. 山绿茶降压片的降压疗效观察[J]. 中国中西医结合杂志,2001,21(2):134-135.
- [6] 惠元诚,束志勤. 山绿茶降压片逆转高血压左室肥厚的疗效观察[J]. 南京医科大学学报,2001,21(6):564-565.
- [7] 董泽民. 复方山绿茶缓释袋泡剂的研究[J]. 中成药,1993,15(12):7-9.
- [8] 藏吾,马明彦. 山绿茶降压片治疗原发性高血压的疗效观察[J]. 中成药,1997,19(12):21-22.
- [9] 赵铁良,胡文忠,邢春清. 山绿茶降压片治疗高血压病疗效观察[J]. 北京中医,1999,18(6):55-56.
- [10] 廖国营. 中族山绿茶降压片治疗高血压病 120 例疗效观察[J]. 河北医药,2001,23(4):268-269.
- [11] 毛晓刚. 山绿茶降压片治疗老年高血压病 56 例临床观察[J]. 浙江中西医结合杂志,2002,12(12):760.
- [12] 刘健. 山绿茶降压片治疗原发性高血压 101 例临床观察[J]. 安徽中医临床杂志,2002,14(5):339-340.
- [13] 唐耀平,刘鹰,方显明. 山绿茶治疗老年单纯收缩期高血压 80 例分析[J]. 中医学刊,2004,22(8):1502-1503.