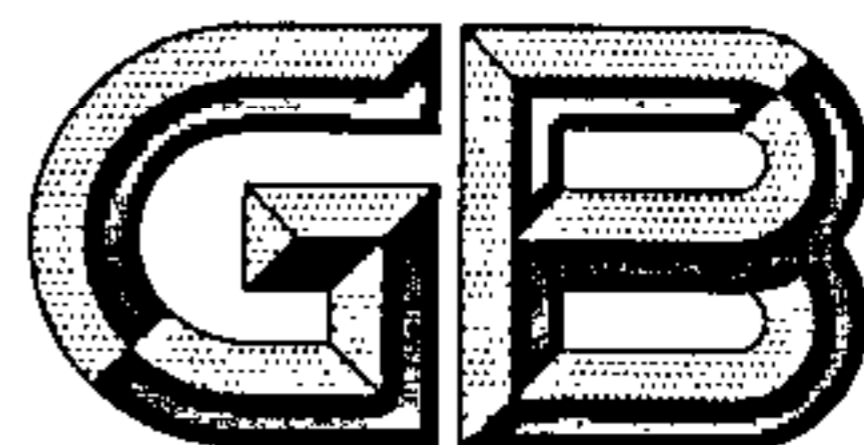


ICS 67.040
C 53



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.169—2003

食品中牛磺酸的测定

Determination of taurine in foods

MACY 美析仪器
MACY INSTRUMENT
专业光度计系列生产厂家
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准第一法负责起草单位：卫生部食品卫生监督检验所；参加起草单位：河南省卫生防疫站、长春市卫生防疫站、广东省深圳市宝安区卫生防疫站。

本标准第二法负责起草单位：卫生部食品卫生监督检验所；参加起草单位：北京市宣武区卫生防疫站、邯郸市卫生防疫站。

本标准第二法主要起草人：杨祖英、张平伟、祖如松、焦淑婷。

 美析仪器
MACY INSTRUMENT
专业光度计系列生产厂家
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686

引 言

牛磺酸(taurine)是一种具有广泛生理功能的含硫 β -氨基酸,化学名为2-氨基乙基氨基酸。我国于1993年批准牛磺酸在乳制品、婴幼儿食品及谷类制品、强化饮料中使用。

本标准部分包括高效液相色谱法和薄层色谱法两种方法。

 美析仪器
MACY INSTRUMENT
专业光度计系列生产厂家
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686

食品中牛磺酸的测定

1 范围

本标准规定了食品中牛磺酸的测定方法。

本标准适用于饮料,婴幼儿食品,谷类制品,奶粉中牛磺酸的测定。

本方法第一法仪器检出限 20.0 ng;检出浓度 80 mg/kg(L);线性范围:0 mg~0.05mg。第二法斑点检出限 0.2 μ g,检出浓度 80 mg/kg(L)。

第一法 高效液相色谱法

2 原理

试样中牛磺酸经提取后,用衍生剂衍生,衍生物经 C_{18} 柱分离,于其最大吸收波长 330 nm 检测,根据保留时间和峰面积进行定性定量。

3 试剂

3.1 60 g/L 磺基水杨酸溶液:称取 6.0 g 磺基水杨酸,加水溶解至 100 mL。

3.2 邻苯二甲醛(OPA)。

3.3 乙硫醇。

3.4 硼酸。

3.5 甲醇。

3.6 乙腈。

3.7 氢氧化钠。

3.8 牛磺酸:生化试剂。

3.9 0.4 mol/L 硼酸钠缓冲液:称取 2.48 g 硼酸和 1.41 g 氢氧化钠,用水溶解定容至 100 mL。

3.10 衍生剂:称取 0.1 g OPA 用 10 mL 甲醇溶解,加 0.1 mL 乙硫醇,0.4 mol/L 硼酸钠缓冲液定容至 100 mL。

3.11 牛磺酸标准溶液:精密称取 0.050 0 g 牛磺酸,用水溶解后移入 50 mL 容量瓶中,并用水稀释至刻度,混匀,此溶液每毫升含 1 mg 牛磺酸。

3.12 牛磺酸标准使用液:吸取牛磺酸标准溶液(3.11)1.0 mL 于 50 mL 容量瓶,加水至刻度,即得 0.020 mg/mL 牛磺酸标准使用液。

4 仪器

4.1 高效液相色谱仪(配有紫外检测器)。

4.2 离心机。

4.3 超声波清洗器。

4.4 容量瓶:5、25、100 mL。

4.5 微孔滤膜过滤器。

5 分析步骤

5.1 试样处理

5.1.1 饮料:准确吸取 1.0 mL 试样,用水稀释至 100 mL,待衍生用。

5.1.2 奶粉:称取 1.0 g 试样,用水定容至 25.0 mL,吸取 3.0 mL 于离心管中,再加 3.0 mL 60 g/L 磺基水杨酸,离心 15 min,吸取 2.0 mL 上清液于 5 mL 容量瓶中,滴加 1 mol/L 氢氧化钠调 pH 至中性,用水定容至 5.0 mL,待衍生用。

5.1.3 谷类食品:称取 1.0 g 试样,加水定容至 25.0 mL,充分搅匀后,静止 5 min,吸取 3.0 mL 上清液于离心管中,以下操作按 5.1.2 中自“再加 3.0 mL 60 g/L 磺基水杨酸,……”起,与奶粉类食品操作相同。

5.2 测定

5.2.1 衍生反应:吸取 2.5 mL 上述定容液于 5 mL 具塞离心管中,再准确加入 2.5 mL 衍生剂(3.10),摇匀,反应 2 min 后,经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,立即进样 20 μL,进行 HPLC 分析,测定其峰面积,所有试样及标准从反应至进样的时间应保持一致,并控制在 5 min 内,从标准曲线查得测定液中牛磺酸的含量。

5.2.2 HPLC 参考条件

分析柱:μ-Bondapak C₁₈ 3.9 mm×300 mm 10 μm;

流动相:甲醇+乙腈+水(10+10+80);

波长:330 nm;

流速:1 mL/min。

5.2.3 标准曲线:分别吸取牛磺酸标准使用液 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL,再加水至 2.5 mL,以下按 5.2.1 中“再准确加入 2.5 mL 衍生剂,……”起,操作。然后以峰面积-浓度作图,绘制标准曲线或回归方程。

色谱图见图 1 所示。



图 1 牛磺酸衍生物 HPLC 色谱图

6 结果计算

按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times V_2}{V_1 \times 1000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X——试样中牛磺酸的含量,单位为克每千克(升)[g/kg(L)];

c——经查图或计算得进样液中牛磺酸的含量,单位为毫克每毫升(mg/mL);

V₂——试样总的稀释体积,单位为毫升(mL);

V_1 ——试样的体积或质量,单位为毫升(克)[mL(g)]。

第二法 薄层色谱法

7 原理

试样中牛磺酸,经离子交换柱提纯后,以薄层色谱法定性、定量。

8 试剂

8.1 2%盐酸溶液:准确吸取 10.0 mL 盐酸,加水稀释至 500 mL。

8.2 40 g/L 氢氧化钠溶液:称取 4 g 氢氧化钠,加水溶解至 100 mL。

8.3 乙醇:分析纯。

8.4 展开剂:

8.4.1 正丙醇+冰醋酸+无水乙醇(5.2+2.2+0.8)

8.4.2 正丁醇+水+无水乙醇(4+1+1)

8.5 强碱性苯乙烯阳离子交换树脂:717 型,用乙醇浸泡过夜,再用水漂洗至水无色。

8.6 强碱性苯乙烯阳离子交换树脂:732 型,用乙醇浸泡过夜,再用水漂洗至水无色。

8.7 3 g/L 羟甲基纤维素钠溶液:称取 0.3 g 羟甲基纤维素钠溶液,加 100 mL 水,加热溶解,放置过夜后,过滤,取滤液备用。

8.8 硅胶 G:200 目,薄层色谱用。

8.9 显色剂:称取 0.5 g 茚三酮,用 50 mL 乙醇溶解,混匀。

8.10 牛磺酸标准溶液:精确称取 0.020 0 g 牛磺酸标准品,用水溶解后移入 100 mL 容量瓶中,并且用水稀释至刻度,即得 0.2 mg/mL 的牛磺酸标准液。

9 仪器

9.1 层析柱:1.4 cm~30 cm。

9.2 蒸发皿。

9.3 薄层板:5 cm~20 cm。

9.4 微量进样器:10 μ L。

9.5 展开槽。

9.6 水浴锅。

9.7 玻璃喷雾器。

9.8 电吹风。

10 分析步骤

10.1 离子交换柱的制备

阳离子交换柱:取已用水漂洗过的 717 强碱性阴离子树脂,填装 1.5 cm~10cm 的交换柱,填装时不要混入气泡,先用 30 mL 水洗(流出液为中性),然后用 10 mL 40 g/L 氢氧化钠溶液通过柱,将交换柱处理为强碱性,备用。

10.2 试样处理

10.2.1 饮料:吸取 5.0 mL 均匀试样通过阳离子交换树脂,调流速 30 滴/min,待液面降至树脂顶端

时,先加入 25 mL 水洗脱,再加入 25 mL 2% 盐酸溶液洗,弃去以上两次洗脱液,最后用 25 mL 2% 盐酸溶液洗脱牛磺酸,用旋转蒸发器蒸干洗脱液(温度 50℃),准确加入 5.0 mL 水,溶解残渣,溶液过滤入试管中,此液备作薄层分析用。

10.2.2 谷类食品:称取 2.0 g 均匀试样于具塞量筒中,分别用 25、10、10 mL 水提取三次,每次提取静置 15 min,用吸管将上清液转入二元离子交换柱,调流速为 30 滴/min,待流至树脂顶端时,加 50 mL 水淋洗柱子,接受全部上清液和水的洗液,并将其转入阴离子交换柱,以下操作按 10.2.1 中“调流速 30 滴/min……”。最后准确加入 2.0 mL 水溶解残渣,过滤后的滤液进行薄层分析,用过的两支交换柱弃去。

10.2.3 奶粉:称取 2.0 g 均匀试样于烧杯中,加 25 mL 水,加热 2 min,搅匀(勿使其沸腾),冷却后,转入二元柱,用 5 mL 水洗烧杯,洗液也转入二元柱,调流速为 30 滴/min,待流至树脂顶端时,加 50 mL 水洗柱,接收洗脱液,并将其转入阴离子交换柱,以下操作按 10.2.1 中“调流速 30 滴/min,……”。最后准确加入 2.0 mL 水溶解残渣,过滤后的滤液进行薄层分析,用过的两支交换柱弃去。

10.3 测定

10.3.1 薄层板的制备

称取 15 g 硅胶 G,加 47 mL 3 g/L 羟甲基纤维素钠溶液(如太稠,再加适量),研匀,铺成 0.25 mm 厚的 5 cm~20 cm 的薄层板,于 105℃±5℃(活化 1 h),取出,置干燥器中备用。

10.3.2 点样

在薄层板下端 2 cm 处,用微量注射器点 2 μL 试样溶液,同时点 1.0、2.0、3.0 mL 牛磺酸标准溶液三个点,各点间距离 1 cm。

10.3.3 展开与显色

将点好的薄层板放入盛有展开剂(8.4.1 或 8.4.2)的展开槽中,展开槽预先用展开剂饱和,展开至 12 cm(奶粉需 18 cm),取出薄层板,凉干,喷显色剂,于 80℃ 烘箱中烘 5 min,斑点呈粉色至紫红色,根据斑点大小及颜色深浅进行定量。

11 结果计算

按式(2)计算:

X = (A × V1 × 1 000 × 1 000) / (V2 × m × 1 000 × 1 000)(2)

式中:

X——试样中牛磺酸的含量,单位为克每千克(升)[g/kg(L)];

A——试样斑点相当牛磺酸的量,单位为微克(μg);

V1——水浴挥干后加入水的体积,单位为毫升(mL);

V2——点样体积,单位为微升(μL);

m——试样质量或体积,单位为克(毫升)[g(mL)]。