

饮料牛磺酸检测不准？试试柱后衍生 - 液相色谱法

牛磺酸又称牛胆酸、牛胆碱，化学名称为 2-氨基乙磺酸，是一种含硫的非蛋白质氨基酸。牛磺酸是调节机体正常生理活动的活性物质，具有消炎、镇痛、维持机体渗透压平衡、维持正常视觉功能、提高机体免疫能力、增强细胞膜抗氧化能力、保护心肌细胞等广泛的生物学功能。

食品安全国家标准《GB 5009.169-2016 食品中牛磺酸的测定》明确了婴幼儿配方食品、乳粉、豆粉、豆浆、含乳饮料、特殊用途饮料、风味饮料、固体饮料、果冻中牛磺酸含量的测定方法。本应用案例参考标准中第一法邻苯二甲醛(OPA)柱后衍生高效液相色谱法,使用科诺美 Leaps 柱后衍生色谱系统,离子色谱柱分离,OPA 柱后衍生,荧光检测器检测,有效测定了饮料中牛磺酸的含量。

一、实验部分

1. 仪器

Leaps 高效液相色谱仪: 四元梯度泵 P40, 自动进样器 A10C, 柱温箱 C10, 荧光检测器 D50, 柱后衍生装置 R10

2. 牛磺酸标准溶液的配制

牛磺酸标准储备液 (1 mg/mL): 称取 100.0 mg 牛磺酸, 用水定容至 100 mL。

牛磺酸标准中间液 (100 µg/mL): 取 10mL 牛磺酸标准储备液 (1 mg/mL), 用水定容至 100 mL。

标准工作溶液配制: 取适量牛磺酸标准中间液 (100 µg/mL) 用水稀释, 分别得到浓度为



1.0 μ g/mL、5.0 μ g/mL、10.0 μ g/mL、15.0 μ g/mL、20.0 μ g/mL、25.0 μ g/mL 的标准工作溶液。

3. 样品前处理

饮料样品：取功能性饮料 2 mL 于 10 mL 容量瓶中，用水定容。准确称取稀释后的样品 5.0 g 于锥形瓶中，加入 50 mL 偏磷酸溶液，充分摇匀，超声提取 15 min，恢复到室温后，移入 100 mL 容量瓶中，用水定容并摇匀。在 5000 rpm/min 条件下离心 10 min，取上清液经 0.45 μ m 滤膜过滤后上机测试。

4. 色谱条件

色谱柱：Lotus-AAA-色谱柱 4.6 mm*150 mm

流动相：柠檬酸三钠溶液

流速：0.4 mL/min

进样量：5 μ L

柱温：55 $^{\circ}$ C

检测波长：激发波长 338 nm、发射波长 425 nm

衍生流动相：OPA 衍生液

衍生泵流速：0.3 mL/min

衍生温度：30 $^{\circ}$ C

二、实验结果

1. 标准谱图



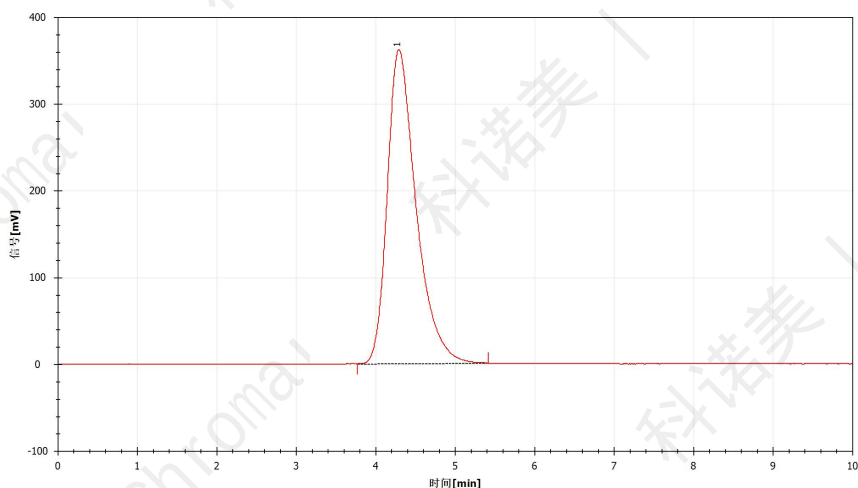


图 1 牛磺酸标准溶液色谱图

2. 线性关系

依次将标准工作溶液 1.0 μ g/mL、5.0 μ g/mL、10.0 μ g/mL、15.0 μ g/mL、20.0 μ g/mL、25.0 μ g/mL 按浓度从低到高进样，以浓度-峰面积绘制标准曲线。牛磺酸在线性范围内相关性好，相关系数大于 0.9999。

表 1 线性数据结果表

化合物名称	线性范围 (μ g/mL)	线性方程	相关系数
牛磺酸	1.0~25.0	$y = 1803.7x + 54.179$	1.0000

3. 重复性

将 1.0 μ g/mL 浓度的标准溶液重复进样 6 次，计算保留时间与峰面积的重复性，如表 2 所示。

表 2 重复性数据结果表

化合物	进样浓度	定性重复性	定量重复性
牛磺酸	1.0 μ g/mL	0.03%	0.09%



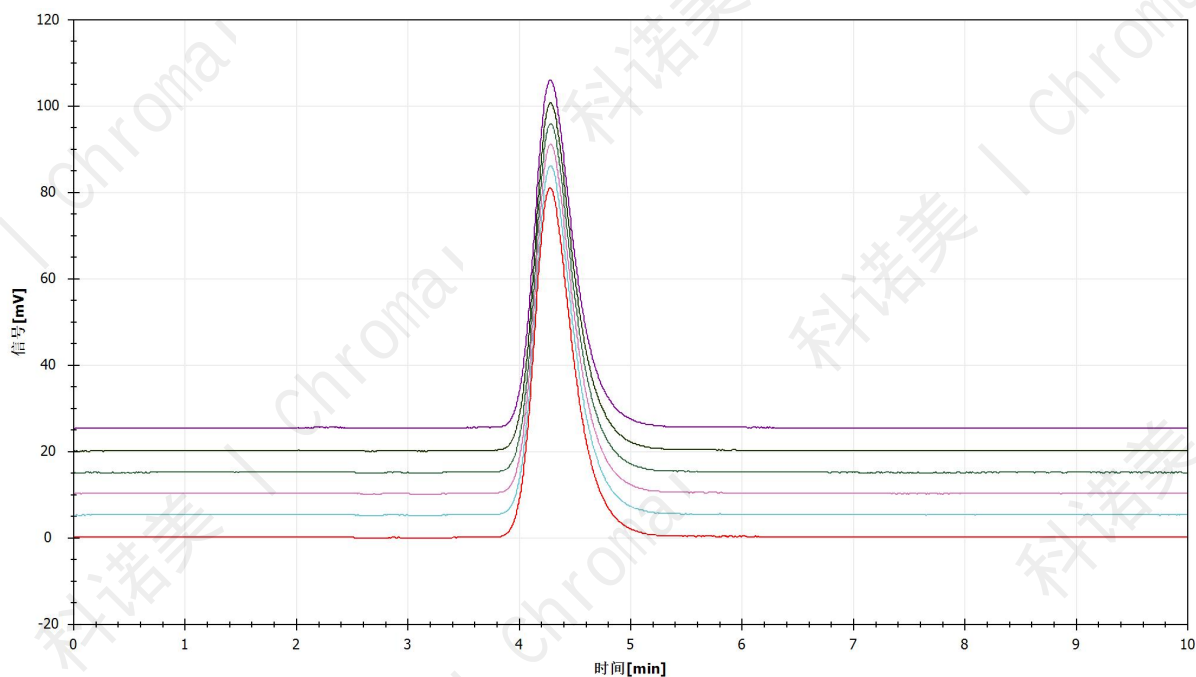


图 3 牛磺酸重复性色谱图

4. 检出限

将 $0.1\mu\text{g/mL}$ 浓度的溶液进样，以信噪比 $S/N=3$ 计算检出限。

表 3 检出限数据结果表

化合物	峰高 (mV)	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
牛磺酸	7.235	0.0062

5. 样品及回收率测试

按照样品前处理方法，分别将两个品牌的功能性饮料样品上机测试，测得饮料 1 中牛磺酸的含量为 $46.115\text{ mg}/100\text{g}$ ；测得饮料 2 中牛磺酸的含量为 $46.963\text{ mg}/100\text{g}$ 。

向饮料 1 样品中分别加入 $5\text{mg}/100\text{g}$ 和 $10\text{mg}/100\text{g}$ 牛磺酸标准品，加标回收率结果如表

4 所示。



表 4 加标回收率结果表

加标浓度 (mg/100g)	回收率
5	88.77%
10	99.51%

三、结论

本方案使用科诺美 Leaps 柱后衍生色谱系统, 参考《GB 5009.169-2016 食品中牛磺酸的测定》, 建立了饮料中牛磺酸的含量测定方法。经验证, 牛磺酸标准曲线线性良好, 相关系数为 1.0000; 保留时间重复性 0.03%, 峰面积重复性 0.09%; 检出限满足国家标准要求, 回收率在 85%-100%之间。本方案可作为饮料中牛磺酸含量测定的分析方法。

