

# 南海不同产地近江牡蛎中牛磺酸含量检测

高加龙<sup>1,2,3</sup>, 章超桦<sup>1,2,3,\*</sup>, 邱伟佳<sup>2</sup>, 曹文红<sup>1,2,3</sup>, 秦小明<sup>1,2,3</sup>

(1.水产品深加工广东普通高校重点实验室, 广东 湛江 524088; 2.广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088; 3.国家贝类加工技术研发分中心(湛江), 广东 湛江 524088)

**摘要:**建立牡蛎中牛磺酸含量检测的高效液相色谱方法。近江牡蛎样品经超声波处理, 所得样液采用丹磺酰氯柱前衍生后C<sub>18</sub>色谱柱分离, 紫外检测器定量检测, 方法检出限 $1.2 \times 10^{-5} \mu\text{g/mL}$ , 牛磺酸质量浓度在0.2~2.2 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好,  $R^2$ 为0.9932, 方法加标回收率92.24%~96.73%。样液采用Amino-Na色谱柱分离, 邻苯二甲醛(OPA)柱后衍生后荧光检测器检测, 方法检出限0.022 $\mu\text{g/mL}$ , 牛磺酸质量浓度在0.2~2.2 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好,  $R^2$ 为0.9905, 方法加标回收率为92.14%~96.73%。两种方法均具有较高的重现性和稳定性, OPA柱后衍生法精密度(RSD为0.81%)高于丹磺酰氯法(RSD为6.42%)。采用这两种方法分别检测南海不同产地近江牡蛎中的牛磺酸含量, 结果无显著性差异, 说明两种方法均适用于牡蛎等贝类样品中牛磺酸的检测。

**关键词:** 近江牡蛎; 牛磺酸; 高效液相色谱; 衍生

## Determination of Taurine in *Ostrea rivularis* from Different Parts of the South China Sea

GAO Jia-long<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Chao-hua<sup>1,2,3,\*</sup>, QIU Wei-jia<sup>2</sup>, CAO Wen-hong<sup>1,2,3</sup>, QIN Xiao-ming<sup>1,2,3</sup>

(1. Key Laboratory of Aquatic Product Advanced Processing of Guangdong Higher Education Institutions, Zhanjiang 524088, China; 2. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China; 3. The Sub Centre (Zhanjiang) of National Technology and Research and Development of Shellfish Processing, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract:** An HPLC method for the determination of taurine in *Ostrea rivularis* was established. The optimal conditions of experimental parameters such as reaction temperature and mobile phase flow rate were established. The HPLC method was validated with respect to accuracy, precision and limit of quantification. When *Ostrea rivularis* samples were extracted by a ultrasonic-assisted extraction method, the resulting extract was separated on a C<sub>18</sub> column following pre-column derivatization with dansyl chloride, and quantitative detection was performed with a UV detector, the developed standard curve of taurine was linear over the range of 0.2 to 2.2  $\mu\text{g/L}$ , with correlation coefficient ( $R^2$ ) of 0.9932, the limit of detection ( $R_{\text{SN}} = 3$ ) was  $1.2 \times 10^{-5} \mu\text{g/mL}$ , and the spike recoveries were between 92.24% and 96.73%, with relative standard deviation (RSD) of 6.42%. When the HPLC method was based on separation on an Amino-Na column followed by post-column derivatization with orthophthalaldehyde and fluorescence detection, the proposed standard curve of taurine was linear over range between 0.2  $\mu\text{g/mL}$  and 2.2  $\mu\text{g/mL}$  ( $R^2 = 0.9905$ ), the limit of detection ( $R_{\text{SN}} = 3$ ) was 0.022  $\mu\text{g/mL}$ , and the spike recoveries were between 92.14% and 96.73%, with RSD of 0.81%. In conclusion, the two methods are simple, rapid, reliable and high accurate and precise and can be used to determine taurine in *Ostrea rivularis* from different parts of the South China Sea with no significant difference.

**Key words:** *Ostrea rivularis*; taurine; high performance liquid chromatography (HPLC); derivatization

中图分类号: TS254.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)10-0164-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201310035

牛磺酸(二氨基乙磺酸)是一种游离氨基酸, 广泛存在于哺乳动物组织中, 含量达毫摩尔浓度<sup>[1]</sup>。其在贝类、软体动物和甲壳类等海洋生物中含量尤其多, 如马氏珠母贝中牛磺酸含量7.2%(干基)<sup>[2]</sup>, 新鲜牡蛎每千克含8g左右<sup>[3]</sup>。

牛磺酸的检测方法报道较多, 有酸碱滴定法、薄层色谱法、氨基酸分析仪法和高效液相色谱法<sup>[4-7]</sup>等, 目前最常用的是高效液相色谱法。高效液相色谱法是利用牛磺酸与衍生试剂反应的衍生物在紫外灯下的特征吸收来检测, 分为柱前衍生和柱后衍生, 常用的衍生剂有邻苯

收稿日期: 2012-05-18

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-48)

作者简介: 高加龙(1983—), 男, 实验师, 硕士, 研究方向为水产品深加工。E-mail: garonne@126.com

\*通信作者: 章超桦(1956—), 男, 教授, 博士, 研究方向为水产品加工及高值化利用。E-mail: zhangch2@139.com

二甲醛(OPA)<sup>[7-8]</sup>、丹磺酰氯(Dansyl-Cl)<sup>[9]</sup>、异硫氰酸苯酯(PITC)<sup>[10]</sup>、4-氟-7-硝基-2,1,3-苯并氧杂恶二唑(NBD-F)<sup>[11]</sup>和9-氯甲酸苄酯(FMOC)等<sup>[12-13]</sup>。国标GB/T 5009.169—2003《食品中牛磺酸的测定》采用OPA柱前衍生法<sup>[14]</sup>,但OPA柱前衍生产生的衍生物不稳定,衍生1.5min响应值达到峰值,其后逐步下降,而且衍生物在反应终止1min后消减37%以上,操作中必须严格控制衍生时间和进样时间<sup>[7]</sup>。国标GB 5413.26—2010《婴幼儿食品和乳品中的牛磺酸检测》中规定了婴幼儿食品和乳品中牛磺酸检测采用OPA柱后衍生法和丹磺酰氯柱前衍生法<sup>[15]</sup>。本实验对牡蛎样品检测牛磺酸的前处理方法进行探讨,对OPA柱后衍生和丹磺酰氯柱前衍生两种方法进行优化,建立适合牡蛎样品牛磺酸检测的方法,并测定了南海不同产地牡蛎中牛磺酸的含量。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

近江牡蛎(*Ostrea rivularis*), 2011年4月采集于汕头、汕尾、深圳、台山、阳江、湛江、北海、钦州牡蛎养殖场,清洗沥干后-70℃保存备用。

牛磺酸标准品(纯度>97%) 日本关东化学试剂株式会社;邻苯二甲醛(OPA, 分析纯);2-巯基乙醇(分析纯);丹磺酰氯(色谱纯);甲醇(色谱纯);乙腈(色谱纯);聚氧乙烯月桂酸醚(Brij-35)、盐酸甲胺、亚铁氰化钾、偏磷酸、乙酸钠、冰乙酸、磷酸二氢钾、硼酸等均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

LC-20A高效液相色谱仪(配备RF-10A<sub>XL</sub>荧光检测器、SPD-20A紫外检测器) 日本岛津公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 溶液的配制

沉淀剂 I: 称取15.0g亚铁氰化钾,用水溶解并定容至100mL。该沉淀剂在室温下3个月内稳定。

沉淀剂 II: 称取30.0g乙酸锌,用水溶解并定容至100mL。该沉淀剂在室温下3个月内保持稳定。

柠檬酸缓冲液: 称取19.6g柠檬酸三钠,加950mL水溶解,加入1mL苯酚,用硝酸调pH值至3.10~3.25,经0.45μm微孔滤膜过滤;乙酸钠缓冲液(pH4.2)(10mmol/L): 称取0.820g乙酸钠,加800mL水溶解,用冰乙酸调节pH值至4.2,用水定容至1000mL,经0.45μm微孔滤膜过滤;邻苯二甲醛衍生溶液: 称取0.60g邻苯二甲醛,用10mL甲醇溶解后,加入0.5mL 2-巯基乙醇和0.35g Brij-35,用0.5mol/L的硼酸钾溶液定容至1000mL,经0.45μm微孔滤膜过滤。临用前配制;丹磺酰氯溶液(1.5mg/mL): 称取0.15g丹磺酰氯,用乙腈溶解并定容至100mL,临使用前配制;盐酸甲胺溶液(20mg/mL): 称取2.0g盐酸甲胺,用水溶解并

定容至100mL,该溶液在4℃条件下3个月内稳定;牛磺酸标准储备溶液(1mg/mL): 称取0.1000g牛磺酸标准品,用水溶解并定容至100mL,储备液在4℃条件下可保存7d。

#### 1.3.2 样品前处理

将冻藏的湛江牡蛎样品自然解冻后匀浆破碎,采用下列不同的前处理方法对该样品匀浆液进行处理。

1)超声波处理<sup>[15]</sup>: 精密称取1.000g已匀浆的牡蛎样品于100mL容量瓶中,加水约70mL,超声提取约15min,冷却,用水定容至刻度,摇匀,经0.22μm微孔滤膜过滤;2)偏磷酸溶液处理<sup>[7]</sup>: 准确称取已匀浆的牡蛎10g,用10mg/mL的偏磷酸溶液溶解,并定容至100mL。充分摇匀后经超声波振荡5min,取60mL经振荡的样液在4000r/min条件下离心15min。准确吸取1mL上清液用蒸馏水定容至100mL,用0.22μm微孔滤膜过滤,丢弃前1mL滤液后,接取2mL供衍生反应应用;3)沉淀剂处理<sup>[15]</sup>: 称取已匀浆的牡蛎5g,于100mL容量瓶中,加入80mL温水(50~60℃)溶解,充分混匀,置超声波振荡器上振荡10min,冷却到室温。加1.0mL沉淀剂 I,涡旋混合,1.0mL沉淀剂 II,涡旋混合,用水定容至刻度,充分混匀,试液于5000r/min离心10min,取上清液滤膜过滤备用;4)三氯乙酸(TCA)处理<sup>[16]</sup>: 准确称取已匀浆样品5g,加蒸馏水20mL,沸水浴15min,加15% TCA处理,定容至100mL,5000r/min离心15min(4℃),取上清液滤膜过滤备用;5)热水煮处理<sup>[17]</sup>: 取5g已匀浆样品,加70mL水,100℃热水浴15min,滤去残渣,4000r/min离心20min后,取上清液滤膜过滤备用。

#### 1.3.3 色谱条件

表1 色谱条件  
Table 1 Chromatographic conditions

	OPA柱后衍生法	丹磺酰氯柱前衍生法
色谱柱	Shim-Pack Amino-Na (5μm, 6mm×10cm)	Spherisorb C <sub>18</sub> (5μm, 4.6mm×250mm)
衍生反应	OPA柱后衍生, 流速: 0.3mL/min	1mL样液中加入1mL碳酸钠缓冲液和1mL丹磺酰氯溶液, 涡旋混合, 室温避光衍生反应1h后加入0.1mL盐酸甲胺溶液涡旋混合以终止反应, 避光静置至沉淀完全。取上清液经0.45μm微孔滤膜过滤后上机检测
流动相	柠檬酸缓冲液, 流速: 0.3mL/min	A: 乙腈; B: 10mmol/L乙酸钠缓冲液 V <sub>A</sub> :V <sub>B</sub> =30:70; 流速: 0.7mL/min
检测器	RF-10A <sub>XL</sub> 荧光检测器 λ <sub>EX</sub> : 338nm, λ <sub>EM</sub> : 425nm	SPD-20A紫外检测器 波长: 254nm
柱温	50℃	25℃
进样量	20μL	20μL

## 2 结果与分析

### 2.1 色谱条件优化

#### 2.1.1 OPA柱后衍生法

衍生物的衍生效果对OPA柱后衍生测定牛磺酸至关重要,影响衍生效果的主要因素是衍生剂的流速和衍生

反应温度。固定衍生剂流速0.3mL/min, 改变衍生反应温度, 记录不同温度下衍生物的峰面积(图1)。从图1可以看出, 反应温度在50℃时衍生物的峰面积最大, 因此选用此温度为衍生反应温度。在衍生反应温度50℃条件下, 改变衍生剂的流速, 研究不同流速对衍生物峰面积的影响(图2), 从图2可见, 随着衍生剂流速增大峰面积逐渐增大, 在0.3mL/min时达到峰值, 随后又呈下降趋势, 因此衍生剂流速选用0.3mL/min。

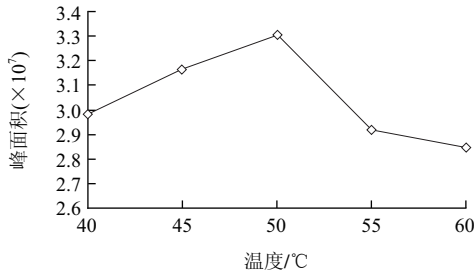


图1 反应温度与峰面积的关系

Fig.1 Relationship between temperature and peak area at a flow rate of 0.3 mL/min

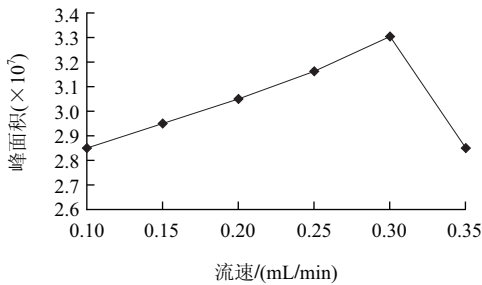


图2 衍生试剂流速与峰面积的关系

Fig.2 Relationship between flow rate and peak area at 50 °C for reaction temperature

2.1.2 丹磺酰氯柱前衍生法

2.1.2.1 流动相比对保留时间和峰面积的影响

流动相比对样品的保留时间、峰面积和分离效果均有影响, 表2为不同流动相比下牛磺酸的保留时间和峰面积。随着乙腈比例逐渐增大, 样品出峰时间缩短, 峰面积逐渐增大, 当乙腈-10mmol/L 乙酸钠缓冲液(30:70, *V/V*)时峰面积最大, 此时样品分离情况良好, 因此选用此流动相为丹磺酰氯柱前衍生的流动相。

表2 流动相比对保留时间和峰面积的影响

Table 2 Effect of mobile phase composition on the retention time and peak area of taurine

<i>V</i> (乙腈): <i>V</i> (乙酸钠)	20:80	25:75	30:70	40:60	45:55	50:50	60:40
保留时间 $t_R$ /min	3.889	3.568	3.334	3.078	2.988	2.846	2.753
峰面积	23821198	23907244	27437532	23525621	23456687	23362171	22998752

2.1.2.2 衍生反应时间

图3为不同衍生反应时间下牛磺酸与丹磺酰氯柱前衍

生产物的峰面积, 反应1h时峰面积最大。将样液衍生后从0h(立即进样)到50h不同时间段进样, 检测峰面积见图4, 从图4可见, 在30h前衍生物峰面积一致, 在48h后只减弱了4.4%, 在48h内峰面积变异系数RSD为1.96%。因此, 样液须避光衍生1h, 衍生后可避光保存48h。

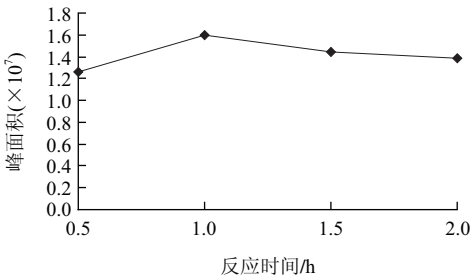


图3 衍生反应时间对峰面积的影响

Fig.3 Relationship between reaction time and peak area

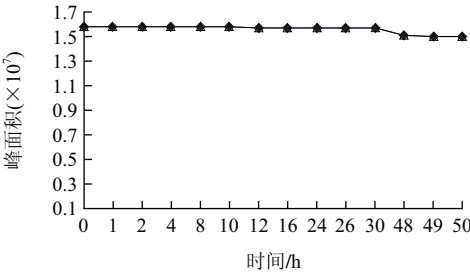
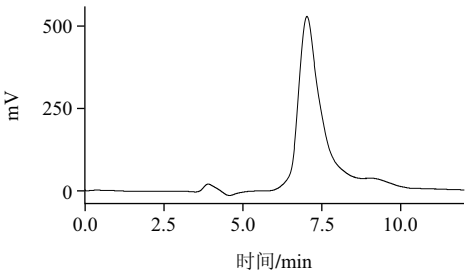


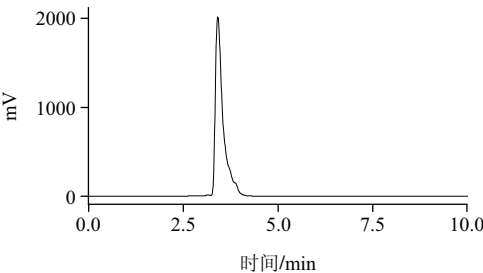
图4 衍生物不同时间进样的峰面积

Fig.4 Peak areas of derivatives obtained after reaction for different periods of time

2.2 色谱分离



A.牛磺酸标准品OPA柱后衍生色谱图(0.6μg/mL、20μL)



B.牛磺酸标准品丹磺酰氯柱前衍生色谱图(0.6μg/L、20μL)

图5 牛磺酸标准品色谱图

Fig.5 HPLC chromatograms of standard taurine

采用上述色谱条件,牛磺酸标准品在两种色谱方法下牛磺酸均得到良好洗脱和分离(图5),用OPA柱后衍生法,牛磺酸标准品在氨基酸柱上保留时间6.9min(图5A),而丹磺酰氯柱前衍生法,在C<sub>18</sub>柱上保留时间3.3min(图5B)。从色谱图上可以看出,0.6μg/L质量浓度的牛磺酸标准液丹磺酰氯柱前衍生比0.6μg/mL质量浓度标准液OPA柱后衍生响应值高,说明丹磺酰氯柱前衍生法灵敏度更高一些。

### 2.3 线性关系和灵敏度

将牛磺酸标准储备液稀释成不同质量浓度的系列标准液,按照两种色谱方法衍生测定,以峰面积 $A$ 对质量浓度 $C$ 分别绘制标准曲线。以空白样品产生信号(峰高)为基线噪音,将标准液多倍稀释后进样,当标准液浓度产生信号为基线噪音3倍,即信噪比( $R_{SN}$ )为3的标准液质量浓度定义为检出限。两种色谱法的回归方程和检出限见表3。由表3可见,在各自线性范围内,两种色谱方法的线性关系良好。丹磺酰氯柱前衍生法检出限比OPA柱后衍生法低3个数量级,灵敏度更高一些。

表3 线性相关系数和检出限

Table 3 Correlation coefficients and limit of detection

方法	线性回归方程	$R^2$	线性范围	检出限/(μg/mL)
OPA柱后衍生	$y=1 \times 10^4 x - 894802$	0.9905	0.2~2.2 μg/mL	0.022
丹磺酰氯柱前衍生	$y=7 \times 10^9 x + 1 \times 10^7$	0.9932	0.2~2.2 μg/L	$1.2 \times 10^{-5}$

### 2.4 方法精密度、重复性和稳定性

精密度是指多次测定结果的重复性,精密度常以相对标准偏差(RSD)来量度。随机抽取一个样品溶液重复测定6次,结果见表4,OPA柱后衍生法RSD为0.81%,丹磺酰氯柱前衍生法RSD为6.42%,表明OPA柱后衍生法的精密度好于丹磺酰氯法,这是由于丹磺酰氯柱前衍生法灵敏度更高的缘故。

表4 精密度实验( $n=6$ )

Table 4 Result of accuracy analysis ( $n=6$ )

实验号	1	2	3	4	5	6	平均值	标准差	相对标准偏差/%
OPA柱后衍生法	2.18	2.19	2.21	2.22	2.23	2.21	2.21	0.018	0.81
丹磺酰氯柱前衍生法	0.0021	0.0020	0.0022	0.0023	0.0020	0.0023	0.00215	0.00014	6.42

分别称取牡蛎样品6份,超声波处理后,用上述优化的色谱条件测定,结果见表5,两种方法的相对标准偏差分别为0.31%和0.56%,说明两种方法具有较好的重复性。

表5 重复性实验( $n=6$ )

Table 5 Repeatability of the methods ( $n=6$ )

实验号	1	2	3	4	5	6	平均值	标准差	相对标准偏差/%
OPA柱后衍生法	3.85	3.86	3.85	3.88	3.87	3.85	3.86	0.012	0.31
丹磺酰氯柱前衍生法	3.86	3.85	3.83	3.81	3.87	3.84	3.84	0.0216	0.56

将标准液与样液交叉进样6次,记录保留时间,检验方法的稳定性,OPA柱后衍生法平均保留时间

3.337min, RSD为0.22%,丹磺酰氯柱前衍生法平均保留时间6.932min, RSD为0.02%,说明两种方法均具有较好的稳定性。

### 2.5 前处理方法

同一牡蛎样品,分别用5种不同的前处理方法提取后用上述OPA柱后衍生法测定,每种方法平行提取3次,结果取平均值(图6),从图6可见,超声波处理15min牛磺酸的提取量最高。牛磺酸是以游离形式存在于牡蛎组织中,绝大部分存在于细胞内,因此要细胞破壁才能使牛磺酸扩散出来。TCA、沉淀剂、偏磷酸等化学方法和热水浸提、超声波处理等物理方法综合对比来看,牡蛎中超声波提取方法较好。

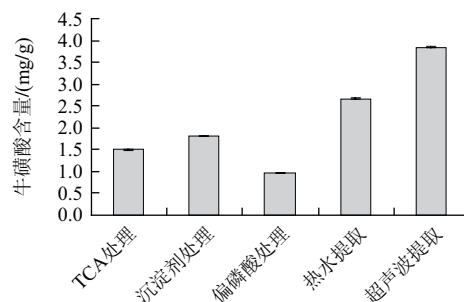


图6 不同处理方式对牡蛎中牛磺酸提取的影响

Fig.6 Effects of different pre-treatment methods on extraction efficiency

### 2.6 方法加标回收率

精密称取已知含量的牡蛎样品,加入不同量的牛磺酸标准液,超声波处理15min提取,提取液用两种色谱法进行检测,计算回收率,结果见表6。超声波处理-OPA柱后衍生测定方法的回收率为92.14%~96.73%,超声波处理-丹磺酰氯柱前衍生测定方法的回收率为92.24%~96.73%。

表6 加标回收率实验

Table 6 Spike recoveries of the methods

序号	1	2	3	4	5	6
已知量/μg	47.5	47.5	47.5	47.5	47.5	47.5
加标量/μg	47	47	52	52	98	98
测定值1/μg	92.7	92.5	97.8	97.7	137.8	138.3
回收率1/%	96.17	95.74	96.73	96.54	92.14	92.65
平均回收率1/%	94.99					
标准偏差1/%	2.05					
测定值2/μg	92.3	92.4	97.4	97.8	137.9	140.5
回收率2/%	95.32	95.53	95.96	96.73	92.24	94.89
平均回收率2/%	95.11					
标准偏差2/%	1.54					

注:测定值1为OPA柱后衍生法测定;测定值2为丹磺酰氯柱前衍生法测定。

### 2.7 样品测定

将湛江、钦州、北海、阳江、汕头、汕尾、深圳



和台山8个南海海域的牡蛎样品分别进行超声处理，处理后的样品采用上述两种色谱方法进行检测，检测结果换算为干基见表7(以干基计)。两种方法的测定结果无显著性差异( $P>0.05$ )，说明两种方法均适合于牡蛎样品中的牛磺酸检测。这8个牡蛎产地中南海东北部海域(汕头、汕尾、深圳、台山)的牡蛎牛磺酸含量相对较低(12.55~13.82mg/g，干基)，而西南海域(湛江、钦州、北海、阳江)的牡蛎牛磺酸含量较高(16.81~19.83mg/g，干基)，但与文献[3]报道新鲜牡蛎每千克含牛磺酸含量8g左右还有很大差异。造成含量差异的原因可能是牡蛎苗种不同，本次样品的采集地汕头、汕尾、深圳、台山牡蛎养殖场的牡蛎苗种出自珠海，而湛江、钦州、北海、阳江几家养殖场育苗来自钦州。此外牡蛎等贝类自身不能合成牛磺酸，只能对牛磺酸起到蓄积作用<sup>[3]</sup>，因此与所在海域水质以及牡蛎的养殖时间也有很大关系。

表7 牡蛎样品中牛磺酸含量

Table 7 Determination of taurine in *Ostrea rivularis* by the methods

产地	OPA柱后衍生法测定结果	丹磺酰氯柱前衍生法测定结果
湛江	18.53±0.078	18.46±0.103
钦州	19.89±0.098	19.83±0.098
北海	16.93±0.028	16.81±0.098
阳江	18.40±0.088	18.48±0.088
汕头	12.52±0.146	12.55±0.109
汕尾	13.63±0.085	13.69±0.108
深圳	13.76±0.066	13.82±0.074
台山	13.09±0.155	13.20±0.131

3 结 论

牡蛎样品经超声波处理后采用OPA柱后衍生高效液相色谱法和丹磺酰氯柱前衍生色谱法均可得到满意的结果。OPA柱后衍生法操作简便，方法精密度高，重复性和稳定性均可达到测量要求，但此法需要氨基酸阳离子色谱柱，此类色谱柱价格较贵，另需配备柱后衍生系统。丹

磺酰氯柱前衍生法在普通C<sub>18</sub>柱上即可分离，样品需先避光衍生处理，衍生物在48h内稳定，可以满足一般检测需要，但由于牛磺酸与丹磺酰氯衍生试剂产生的衍生物响应值较高，方法灵敏度高，所以牛磺酸含量较高的样品需多倍稀释才可进样，从而影响方法的精密度。

参考文献:

[1] ITO T, SCHAFER S W. The potential usefulness of taurine on diabetes mellitus and its complications[J]. Amino Acids, 2012, 42(5): 1529-1539.

[2] 章超桦, 吴红棉, 洪鹏志, 等. 马氏珠母贝肉的营养成分及其游离氨基酸组成[J]. 水产学报, 2000(4): 180-184.

[3] 谭乐义, 章超桦, 薛长湖, 等. 牛磺酸的生物活性及其在海洋生物中的分布[J]. 湛江海洋大学学报, 2000, 20(3): 75-79.

[4] 李秀娟, 鲁曾, 黄贤刚. 牡蛎中牛磺酸含量测定方法的建立[J]. 食品与机械, 2010, 26(5): 81-83.

[5] 惠秋沙. 薄层扫描法测定保健饮料中牛磺酸的含量[J]. 食品与药品, 2011, 13(7): 276-278.

[6] 姜金斗, 刘波, 郝岩平. HPLC法柱后衍生测定乳制品中牛磺酸的含量[J]. 中国乳品工业, 2003, 31(4): 47-49.

[7] 高加龙, 章超桦, 刘书成, 等. 临苯二甲醛柱前衍生高效液相色谱法测定马氏珠母贝中牛磺酸含量[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(1): 55-58.

[8] 李清霞, 李双妹. 桑蚕蛹中氨基酸测定及分析[J]. 中国农学通报, 2011, 27(20): 127-132.

[9] 朱慧, 赵志红, 施文蓉. 应用丹磺酰氯柱前衍生法测定食品中的牛磺酸[J]. 食品科学, 2000, 21(12): 116-118.

[10] 石岩, 宋光西, 熊娟, 等. PITC柱前衍生法测定保健食品中牛磺酸的含量[J]. 中国药事, 2012, 26(2): 144-146.

[11] 王希峰, 郝德凤, 王淑娥, 等. 柱前衍生-高效液相色谱法测定保健食品中牛磺酸含量[J]. 卫生研究, 2011, 40(2): 195-197.

[12] 王晓莺, 孙成均, 杨元, 等. FMOC柱前衍生-高效液相色谱法测定饮料中的牛磺酸[J]. 现代预防医学, 2006, 33(3): 371-373.

[13] 王晓莺, 孙成均, 句连云. 保健食品中牛磺酸的9-氯甲酸苄基酯柱前衍生-高效液相色谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2010, 27(11): 1017-1018.

[14] 卫生部. GB/T 5009.169—2003 食品中牛磺酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.

[15] 卫生部. GB 5413.26—2010 婴幼儿食品和乳品中牛磺酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.

[16] 孙远征, 张学成, 纪雷. 钝顶螺旋藻多糖提取工艺的研究: 三氯乙酸(TCA)法的正交实验优化[J]. 海洋科学, 2007, 31(4): 42-47.

[17] 王瑞芳, 张凌晶, 翁凌, 等. 天然牛磺酸提取新工艺研究[J]. 食品科学, 2009, 30(4): 111-113.