

文章编号 1000-5013(2003)03-0300-05

从文蛤提取牛磺酸的工艺

龚丽芬¹ 陈碧娥[°] 郑志福¹(¹ 泉州师范学院化学系, 福建 泉州 362000; [°] 华侨大学材料科学与工程学院, 福建 泉州 362011)

摘要 采用正交试验法, 探讨热水提取文蛤中牛磺酸的最佳工艺条件, 并用傅立叶红外光谱仪鉴定产品质量. 结果表明, 在料剂比为 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 100°C 水浴 1.0 h 时, 提取率最高. 用 H^+ 型阳离子交换树脂, 能得到高纯度的牛磺酸, 但回收率受树脂用量和处理液浓度的影响. 红外光谱测定结果表明, 产品的 FTIR 谱图与 BR 级的标准牛磺酸的 FTIR 谱图吻合.

关键词 牛磺酸, 文蛤, 提取工艺, H^+ 型阳离子交换树脂

中图分类号 TQ 460.6 : R 977.4 : Q 959.215

文献标识码 A

牛磺酸是一种含硫氨基酸, 以游离状态存在于动物体内各组织间液和细胞内液中, 在脑、心脏、血液、肌肉中含量较多. 它具有增加细胞抗氧化、抗自由基损伤抗病毒侵害等, 以及一定抗肿瘤活性的作用^[1~3]. 牛磺酸可从天然物中提取(主要是动物, 其中牛胆汁和甲壳类生物中的含量较高), 也可化学合成, 但合成原料毒性较大. 长期以来, 从天然物中提取牛磺酸一直受到人们的重视. 从牛胆汁中提取牛磺酸虽然含量高, 但它不是以游离形式存在, 得到产物呈黑色; 而水产品中的牛磺酸以游离形式存在, 可提取到针状白色结晶物^[3, 4]. 目前, 天然物提取的牛磺酸价格远高于合成品, 我国海洋生物资源丰富, 从鱼贝类及其下脚料中提取牛磺酸, 具有良好的开发应用前景. 从文蛤中提取牛磺酸的研究目前国内尚未见报道, 本文探讨了从文蛤中提取牛磺酸的工艺技术.

1 材料与方法

1.1 主要材料与设备

文蛤(*Meretrix meretrix linnaeus*, 产于泉州), 牛磺酸标样(BR), 阳离子交换树脂(732型), 甲醛、无水醋酸钠及无水乙醇均为分析纯, 乙酰丙酮为化学纯. 9100型UV-可见分光光度计, 日立835-50型氨基酸自动分析仪, AVATAR360型FTIR光谱仪, CDE-250A型电动搅拌机, JJ-2型组织捣碎匀浆机, SSY型电热保温水浴锅, TD4型电动离心机等.

1.2 实验方法

(1) 实验用文蛤中氨基酸含量的测定. 取文蛤肉在 78°C 左右烘干, 称其 1.0 g 干样品, 加

收稿日期 2003-01-17

作者简介 龚丽芬(1964-), 女, 讲师, E-mail: glf531696@sohu.com

基金项目 福建省教育厅科研基金资助项目(JA02248)

© 1994-2010 China Academic Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

质量分数为 0.214 5 的盐酸溶液封管于 105 ℃下水解 24 h. 开管调节 pH 至中性, 定容至 100 mL. 取质量分数为 0.000 7 的稀盐酸稀释, 用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪测定. (2) 牛磺酸提取的正交法试验. 选用 4 因子 3 水平正交实验($L_9(3^4)$), 表 1 为各试验因子的水平值. 根据表 1 所示, 称取洗净去壳文蛤肉, 加一定量蒸馏水, 在绞肉机中搅拌 10 次($4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$), 再匀浆 30 min, 置 100 ℃热水浴一定时间. 然后, 用砂布滤去残渣, 离心 20 min($4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)后, 提取上清液. 表中 A 为料剂比, S 为自溶时间, S' 为水浴时间, H 为水浴温度. (3) 牛

表 1 因子水平表

水 平	A/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	S/h	S'/h	H (℃)
1	100	0	0.5	50
2	300	24	1.0	80
3	600	48	1.5	100

磺酸的提纯. 牛磺酸提取采用质量分数为 0.214 5 的盐酸溶液, 调节其 pH 值为 3, 离心 20 min($4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)去酸性蛋白质. 上层清液用质量分数为 0.20 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 10, 离心 20 min($4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)去碱性蛋白质. 再用盐酸溶液调上清液至 pH 值为 5 左右. 浓缩到一定量后, 用强酸型阳离子交换树脂柱($1.0\text{ cm}\times 60\text{ cm}$)去除部分氨基酸和色素. 用蒸馏水洗脱(流速 $8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), 取 pH 值为 3~5 的流出液浓缩至 100 mL, 测定牛磺酸含量, 计算提取率. 上柱后的流出液已脱盐, 浓缩至原体积 1.0%, 加 3 倍无水乙醇, 置 4 ℃冰箱冷藏, 析出白色针状牛磺酸粗品. 用少量蒸馏水溶解重结晶, 可得纯度高的、白色粉状的牛磺酸晶体.

(4) 提取率的计算. 提取率 G 包括水提与柱析回收率, 即

$$G = \frac{\text{过柱后提取液中牛磺酸含量}(m_1)}{\text{文蛤肉中牛磺酸的含量}(m_2)} \times 100\%.$$

1.3 测定方法

(1) 提取液中牛磺酸的测定. 按文献 [5] 的方法测定提取液中牛磺酸的量. 取 1.0 mL 提取液, 加入 2.0 mL 显色剂并用蒸馏水稀释至 8.0 mL, 于 100 ℃下水浴 20min, 显黄色. 冷至室温, 在 413.5 nm 波长处检测. (2) 牛磺酸结晶产品的质量分析 [6]. 用红外光谱和熔点测定仪鉴定结晶产品的纯度, 并进行砷、重金属、失重、灼烧残渣、硫酸盐、氯化物和易碳化物的测定.

2 结果与讨论

2.1 文蛤中牛磺酸及其它氨基酸的含量

实验结果表明, 文蛤干料中的牛磺酸质量分数为 0.023 8, 该值比文 [7] 报道的 0.022 1 数值略高. 10 g 的湿文蛤肉相当于 1.74 g 干料文蛤, 即湿文蛤肉的牛磺酸质量分数为 0.004 1. 表 2 为氨基酸测定的结果. 表中 m_1 表示提取液中氨基酸的含量, m_2 表示文蛤中氨基酸的含

表 2 氨基酸含量的比较表

氨基酸	m_2/mg	m_1/mg	氨基酸	m_2/mg	m_1/mg	氨基酸	m_2/mg	m_1/mg
牛磺酸	41.4	38.6	丙氨酸	59.8	17.6	酪氨酸	17.9	2.2
天门冬氨酸	65.0	16.6	胱氨酸	8.5	6.3	苯丙氨酸	21.2	13.8
苏氨酸	30.6	6.0	缬氨酸	23.0	19.6	赖氨酸	46.0	13.2
丝氨酸	28.0	5.2	蛋氨酸	10.7	-	组氨酸	12.5	3.1

续表

氨基酸	m ₂ /mg	m ₁ /mg	氨基酸	m ₂ /mg	m ₁ /mg	氨基酸	m ₂ /mg	m ₁ /mg
谷氨酸	123.5	28.3	异亮氨酸	22.6	8.8	精氨酸	58.2	13.2
甘氨酸	45.1	10.4	亮氨酸	44.9	13.2	脯氨酸	21.8	-
总量	680.7	216.1						

量. 文蛤中含有 18 种氨基酸(包括牛磺酸), 而水提液中只含有 16 种氨基酸, 其中蛋氨酸、脯氨酸缺失. 各种氨基酸溶解性的差异, 影响它们在水提液中的含量. 文 [1] 指出, 用此法测定食品中牛磺酸的含量, 重现性好, 在牛磺酸为 0.1~0.4 mol·L⁻¹ 浓度的范围内, 其回收范围为 95%~108% (n= 12).

2.2 提取牛磺酸的正交试验结果

从表 3 可以看出, D₁mD₄> D₂> D₃. 这说明料剂比 A 的影响最显著, 其次是水浴温度, 自溶时间和水浴时间的影响较小. 从单因素试验结果看, 在本实验范围内当 I₁> II₁> III₁ 时, 说明水量增多, 提取率也提高. 因为一定量的水对牛磺酸的溶解度是有限的, 而水越多, 溶解量就越大. 当 I₂> III₂> II₂ 且无放置自溶时, 提取率最大, 说明保持原料的新鲜度很重要. 当 II₃> III₃> I₃, 水浴时间为 1.0 h 时, 提取率最大. 而为 I₄< II₄< III₄ 时, 水浴温度升高, 提取率增大. 这是因为牛磺酸的溶解度随温度升高而增大. 综上所述, 在本实验范围内的最佳提取工艺应是, 料剂比为 100 g·L⁻¹, 水浴温度 100 ℃, 自溶时间 1.0 h. 经离子交换后, 总的提取率为 79.2%, 而未匀浆的样品总提取率为 75.6%, 说明组织的破碎度也影响提取效果.

表 3 L₉(3⁴) 试验与方差分析结果

项 目	A/g·L ⁻¹	S/h	S'/h	H(℃)	G(%)
实验 1	1.00	1.00	1.00	1.00	34.73
实验 2	1.00	2.00	2.00	2.00	70.31
实验 3	1.00	3.00	3.00	3.00	73.14
实验 4	2.00	1.00	2.00	3.00	32.43
实验 5	2.00	2.00	3.00	1.00	23.63
实验 6	2.00	3.00	1.00	2.00	30.74
实验 7	3.00	1.00	3.00	2.00	23.15
实验 8	3.00	2.00	1.00	3.00	30.67
实验 9	3.00	3.00	2.00	1.00	30.86
I _j	178.18	162.58	96.14	89.22	
II _j	86.80	124.61	133.6	124.20	
III _j	84.68	134.74	119.92	136.24	
k _j	3.00	3.00	3.00	3.00	
I _j /k _j	59.39	54.19	32.05	29.74	
II _j /k _j	28.93	41.54	44.53	41.40	
III _j /k _j	28.23	44.91	39.97	45.41	
D _j	31.16	12.65	12.48	15.67	

2.3 影响离子交换回收率及产品质量的因素

实验发现, 离子交换树脂的类型和用量、处理液的浓度和 pH 值、洗脱剂的温度、pH 值对回收率和产品质量均有影响. 经实验测得, H⁺ 型阳离子交换树脂对牛磺酸的吸附最少, 其吸附

量为 0.13%, 而对甘氨酸、赖氨酸吸附量最大. 这两种氨基酸对吸光法测定的干扰很大, 故必须先除去, 所以选用 H^+ 型阳离子交换树脂较合适. 由于离子交换树脂对牛磺酸有一定吸附作用, 离子交换树脂量越多, 回收率越低. 在满足分离要求的前提下, 尽可能减少离子交换树脂的用量(一般采用 $1.0\text{ cm}\times 60\text{ cm}$ 柱). 此外, 待处理的提取液浓度越大, 回收率就越高, 结果如表 4 所示. 表中 v 为牛磺酸体积, m 为牛磺酸含量. 因此, 上柱前要先浓缩提取液, 浓缩时溶液 pH 值要调至 5 左右, 否则提取液在浓缩过程中色素随加热时间延长而加深. 而且, 阳离子交换树脂对氨基酸的吸附量随 pH 值升高略增大, 回收率稍有下降, 当 pH 大于 6 时产品微黄.

表 4 标准牛磺酸溶液的回收率($1.0\text{ cm}\times 100\text{ cm}$ H^+ 型阳离子交换柱)

v/mL	1.00	4.00	8.00	10.00
m/mg	0.1	0.4	0.8	1.0
$G(\%)$	74.1	79.4	81.9	88.1

2.4 牛磺酸结晶的产品质量分析

产品经重结晶后, 得到白色粉状牛磺酸晶体, 其熔点为 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$, 与有关文献值⁶⁾一致. 红外光谱分析结果, 如图 1 所示. 产品的 FTIR 谱图与标准物的牛磺酸(BR 级)FTIR 谱图吻合, 说明重结晶后, 能得到高纯度的产品. 其它指标见表 5(表中 w 为质量分数), 均符合食品添加剂的卫生标准.

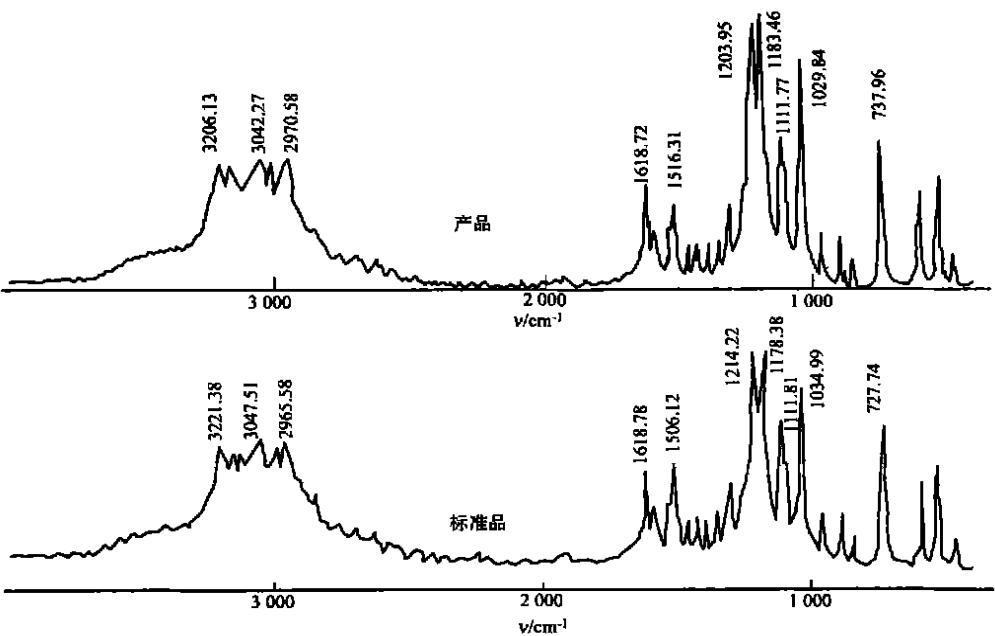


图 1 牛磺酸产品与标准品的 FTIR 谱图

表 5 牛磺酸产品的质量指标与 GB 14759-93 标准⁶⁾的比较

样品	w	澄清晰度/ $\text{kg}\cdot\text{L}^{-1}$	易碳化物	$W_{\text{氯化物}}/\times 10^{-4}$	$W_{\text{硫酸盐}}/\times 10^{-4}$	$W_{\text{灼烧残渣}}/\times 10^{-4}$	$W_{\text{干燥失重}}/\times 10^{-4}$	$W_{\text{重金属}}/\times 10^{-5}$	$W_{\text{砷}}/\times 10^{-5}$
卫生标准	≥ 0.985	0.5	阴性	≤ 10	≤ 20	≤ 10	≤ 20	≤ 1.0	≤ 2.0
试验产品	0.988	0.3	阴性	4.0	1.0	10	8.0	1.0	1.5

3 结束语

(1) 热水提取牛磺酸, 其提取率较高. 影响提取率的主要因素是料剂比和水温, 同时自溶时间太长也不利于提取率的提高. 另外, 原料的新鲜度也影响提取率, 组织破碎程度对提取效果也有影响. 总之, 热水提取牛磺酸的最佳工艺条件是原料破碎成粥状, 再匀浆 30 min, 料剂比(湿肉)为 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 并在 100°C 热水中水浴 1.0 h 左右. (2) 上柱时, 离子交换树脂用量、处理液浓度、pH 值、洗脱剂的 pH 值和温度、结晶时浓缩液的浓度和乙醇用量, 均可影响结晶的速度、回收率和产品质量. 经过一次重结晶后, 产品纯度达到标准品的水平, 各项指标符合食品要求. 本工艺操作简单、流程短、设备投资少、无化学污染, 残渣可作饲料.

FTIR 的测定由泉州师范学院化学系许淼清同志完成, 特此感谢.

参 考 文 献

- 1 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
- 2 姜 斌, 许志锁. 牛磺酸的生物学功能及其应用[J]. 兽药与饲料添加剂, 1999, 4(6): 22~23
- 3 崔建兰, 吕月仙. 牛磺酸的研究进展[J]. 华北工学院学报, 1998, 19(1): 24~26
- 4 王志峰. 牛磺酸的市场开发前景[J]. 中国石油与化工, 1998, 6: 61~62
- 5 李 珊, 刘玉兰, 林伯群等. 吸光光度法测定牡蛎中牛磺酸[J]. 青岛医学院学报, 1998, 34(4): 269~270
- 6 凌关庭, 唐述潮, 陶民强. 食品添加剂手册[M]. 第2版. 北京: 化学工业出版社, 2000. 77, 118~113
- 7 李丽莉. 几种海产品中氨基酸及牛磺酸含量的比较[J]. 氨基酸和生物资源, 1999, 21(2): 25~26

Technology for Extraction Taurine from Meretrix Meretrix Linnaeus

Gong Lifen¹ Chen Bie^o Zheng Zhifu¹

(¹ Dept. of Chem., Quanzhou Normal College, 362000, Quanzhou, China;

^o College of Mater. Sci. & Eng., Huaqiao Univ., 362011, Quanzhou, China)

Abstract Taurine was extracted from *Meretrix meretrix linnaeus*, with a popular name of clam. Orthogonal test as a method is adopted to investigate the best technological conditions for extracting taurine from clam in hot water and Fourier infrared spectrometer is used to appraise the quality of product. A highest extraction rate was shown after the sample in a material ratio of 100 g (wet flesh of clam)/L(water) was immersed in a hot water of 100°C for 1 hour. A good separation effect was obtained by separating with H^+ type cationic exchange resin, Taurine of high purity can be obtained, but the rate of recovery was affected by the amount of resin and the concentration of extractant. The product can be ranked with standard taurine of BR rank in quality, as confirmed by infrared spectrogram

Keywords taurine, *Meretrix meretrix linnaeus*, taurine extraction, H^+ type cationic exchange resin