

杂色蛤中牛磺酸含量与季节变化的关系

章 骞^{1,2}, 沈建东^{1,2}, 赵雪冰¹, 张凌晶^{1,2}, 曹敏杰^{1,2}

(1. 集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建省水产品深加工工程研究中心, 福建 厦门 361021)

[摘要] 旨在探明几种常见海洋经济水产品的牛磺酸含量, 特别是杂色蛤(*Ruditapes philippinarum*)中牛磺酸含量随季节变化的规律. 以杂色蛤为原料, 制备牛磺酸并利用高压液相色谱法分析牛磺酸的纯度. 结果发现, 几种常见海洋经济水产品中, 杂色蛤体内的牛磺酸含量最高, 达8.22 g/kg. 以此为原料可制备纯度达92.92%的天然牛磺酸. 杂色蛤中牛磺酸含量的季节变化规律为: 1—4月牛磺酸含量逐渐升高, 4—8月逐渐下降, 至8月份达最低点, 9月后又逐渐回升, 牛磺酸含量介于1784.57~2519.74 $\mu\text{g/mL}$ 之间. 而且, 牛磺酸含量的季节变化规律与气温变化基本呈反相关关系.

[关键词] 杂色蛤; 牛磺酸; 季节变化

[中图分类号] S 986

[文献标志码] A

Seasonal Variation of Taurine Content in *Ruditapes philippinarum*

ZHANG Qian^{1,2}, SHEN Jian-dong^{1,2}, ZHAO Xue-bing¹, ZHANG Ling-jing^{1,2}, CAO Min-jie^{1,2}

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Engineering Research Center for High Utilization of Aquatic Products, Xiamen 361021, China)

Abstract: This study aims to analyze the contents of taurine in different species of marine products, especially seasonal variation of taurine content in *Ruditapes philippinarum*. Using *Ruditapes philippinarum* as raw material, taurine was prepared and its purity was determined by high performance liquid chromatography. The results showed that the taurine content varies with species and the highest content was in *Ruditapes philippinarum* which was 8.22 g/kg. The purity of taurine extracted from *Ruditapes philippinarum* was 92.92%. Concerning seasonal variation of taurine content in *Ruditapes philippinarum*, it increased from January to April, then decreased from April to August, while from August to December, an increment was then observed. The taurine content was in the range of 1784.57~2519.74 $\mu\text{g/mL}$. An inverse correlation between seasonal variation of taurine content and the change of air temperature was noticed.

Key words: *Ruditapes philippinarum*; taurine; seasonal variation

0 引言

杂色蛤(*Ruditapes philippinarum*)又称花蛤, 学名菲律宾蛤仔, 隶属瓣鳃纲(Lamellibranchia)、异齿目(Heterodonta)、帘蛤科(Veneridae). 杂色蛤富含蛋白质、呈味氨基酸和牛磺酸, 味道鲜美、营养丰富, 深受消费者喜爱. 牛磺酸是一种含硫非蛋白质氨基酸, 以游离状态存在于生物体内, 是人

[收稿日期] 2014-10-13

[修回日期] 2014-12-04

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(31471640)

[作者简介] 章骞(1991-), 男, 助理实验师, 主要从事水产品深加工技术研究. 通讯作者: 曹敏杰(1964-), 男, 教授, 博士, 主要从事蛋白质化学及水产品深加工研究, E-mail: mjcao@jmu.edu.cn.

体所必需的营养素^[1-2]。牛磺酸具有多种独特的生理功能^[3]，人体主要靠摄取食物中的牛磺酸来满足生理需要。研究表明，牛磺酸具有改善视力^[4]、消除疲劳^[5]的作用，也能够增加机体细胞的抗自由基损伤、抗氧化、抗病毒侵害的能力^[6]，此外，还具有一定的抗肿瘤活性^[7]和促进大脑发育^[8]的功能。目前，牛磺酸被广泛添加于婴幼儿奶粉和功能性食品中。随着人们生活水平的不断提高和对牛磺酸功能的逐渐认识，安全性更有保障的天然牛磺酸的市场潜力巨大，发展前景良好^[9]。

牛磺酸含量和纯度的测定主要利用高压液相色谱法。高加龙等^[10]测定了马氏珠母贝（*Pinctada martensii*）中的牛磺酸含量，王丽雅等^[11]建立了测定暗纹东方鲀（*Takifugu obscurus*）肉中牛磺酸含量的方法，蒲秋易等^[12]测定了全蝎（*Scorpion*）牛磺酸的含量，章骞等^[9]建立了一种用高压液相色谱法检测牛磺酸纯度的方法。

天然牛磺酸的制备主要以海洋动物为原料，通过原料预处理、萃取、纯化、浓缩、结晶等生物工程单元操作来制备^[13]。从皱纹盘鲍（*Haliotis discus hannai*）^[9]、鱿鱼（*Ommastrephes bartrami*）^[14]、太平洋牡蛎（*Crassostrea gigas*）^[15-17]、杂色蛤（*Ruditapes philippinarum*）^[18]、文蛤（*Meretrix meretrix linnaeus*）^[19]中提取牛磺酸，已有相关研究。近期，文献[20]公开了一种能实现工业化制备天然牛磺酸的简易方法。

不同种类的海洋生物中，牛磺酸的含量差异很大^[1]。本文选取几种常见海洋经济水产品，测定它们体内的牛磺酸含量。进一步以牛磺酸含量最高的杂色蛤为研究对象，研究了其含量随季节变化的规律，期为工业制备天然牛磺酸提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲜活杂色蛤、太平洋牡蛎、文蛤、蛭子（*Sinonovacula constricta*），购于厦门市集美区菜市场；冷冻的新鲜皱纹盘鲍内脏，由福建省诏安东欣食品有限公司提供；冰冻墨鱼（*Sepia esculenta*）、鱿鱼，购于厦门市集美新华都超市。

牛磺酸标准品（Sigma，美国）；HPLC 级甲醇（Fisher Scientific，美国）；邻苯二甲醛（化学纯试剂，国药集团化学试剂有限公司）；硼酸、氢氧化钠、甲醇、2-巯基乙醇、三水合乙酸钠、冰乙酸、无水乙醇、活性炭、溴化钾（分析纯试剂，国药集团化学试剂有限公司）。

1.2 仪器与设备

Agilent 1260 高压液相色谱仪（Agilent Technologies，美国）；色谱柱 DiscoveryC18，250 mm × 4.6 mm，5 μm（Supelco，美国）；组织捣碎机（Kinematica，瑞士）；JA-26S XP 型高速冷冻离心机（Beckman，美国）；5417R 小型台式冷冻离心机（Eppendorf，德国）；pH 计（Sartorius，德国）；电子天平（上海精科天平，中国）；恒温水浴锅（Mettler，德国）。

1.3 实验方法

1.3.1 牛磺酸标准曲线的绘制

取牛磺酸标准品，配制质量浓度为 100 μg · mL⁻¹ 的标准溶液，再进一步稀释配制成 1、2、5、10、20 μg · mL⁻¹ 的 5 种溶液，经 0.22 μm 滤膜过滤后置于自动进样器的样品瓶中，柱前衍生反应后注入 Agilent 1260 高压液相色谱仪进行测定。以牛磺酸标准品浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，制作标准曲线，得到回归方程。

1.3.2 常见海洋经济水产品中牛磺酸含量测定

1) 样品前处理

取样品若干，用蒸馏水洗净，取出相应的检测部位，用于后续牛磺酸的提取。

2) 样品中牛磺酸提取

精确称量经前处理后的试样，加 5 倍体积水充分捣碎，移入烧杯中；放入 100 °C 水浴锅中加热

30 min, 取出冷却至室温后, 样液在 2000 r/min 下离心 15 min, 取上清液精确计量体积; 上清液经 0.22 μm 微孔膜过滤后用于后续牛磺酸含量测定.

3) 牛磺酸含量测定

取 2) 制备的上清液, 按牛磺酸含量测定方法^[9]测定其质量比.

4) 原料中牛磺酸质量比的计算

牛磺酸质量比(g/kg) = 上清体积(L) × 上清中牛磺酸质量浓度(g/L)/ 前处理后原料质量(kg).

1.3.3 杂色蛤牛磺酸的制备及其纯度测定

杂色蛤牛磺酸样品按照本实验室发明专利^[20]制备. 取制备得到的杂色蛤牛磺酸样品, 配制成质量浓度为 20 μg · mL⁻¹的溶液, 经 0.22 μm 滤膜过滤后置于自动进样器的样品瓶中, 柱前衍生反应后注入 Agilent 1260 高压液相色谱仪进行测定. 记录峰面积, 根据所制得的标准曲线, 采用峰面积归一化方法计算杂色蛤牛磺酸样品的纯度.

1.3.4 杂色蛤中牛磺酸含量的季节性变化研究

从 2013 年 4 月至 2014 年 3 月, 每月 20 号在厦门市集美区菜市场 3 个固定摊位购买产自厦门岛附近的杂色蛤, 分别测定杂色蛤中牛磺酸含量, 研究其随季节变化情况, 该实验持续 12 个月.

将来自三个不同摊位的鲜活带壳杂色蛤清洗干净, 分别准确称取 1 kg, 加入 1 L 水, 100 °C 水煮 30 min 后获得汤汁. 按本实验室牛磺酸含量测定方法^[9]测定汤汁中的牛磺酸含量.

2 结果

2.1 牛磺酸标准曲线的绘制

以牛磺酸标准品浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 制得标准曲线如图 1 所示.

由图 1 可以看出, 牛磺酸的质量浓度在 1 ~ 20 μg · mL⁻¹范围时, 进样浓度与峰面积呈良好的线性关系, 相关系数 $R^2 = 0.9999$, 回归方程 $y = 118.72x + 42.145$.

2.2 常见海洋经济水产品中牛磺酸含量测定

取鲜活杂色蛤、太平洋牡蛎、文蛤、蛏子, 冷冻墨鱼、鱿鱼, 皱纹盘鲍内脏, 按照 1.3.2 方法处理样品, 测定这几种常见海洋经济水产品中牛磺酸含量. 结果如表 1 所示.

据文献报道, 海洋软体动物中牛磺酸含量较多^[1]. 所以, 本研究选取了几种有代表性的软体动物, 测定它们的牛磺酸含量. 由表 1 可知, 不同物种中牛磺酸含量差异很大, 其中杂色蛤肉中牛磺酸含量最高, 达 8.22 g · kg⁻¹, 文蛤中的为 7.21 g · kg⁻¹, 而蛏子中的仅为 0.94 g · kg⁻¹. 本研究还发现, 墨鱼内脏中的牛磺酸含量是体壁的 2.6 倍; 鱿鱼内脏中牛磺酸含量是体壁的 3.0 倍, 表明在同一物种的不同组织中, 牛磺酸含量不同.

2.3 杂色蛤牛磺酸样品的制备及其纯度测定

本研究采用水煮、乙醇抽提、浓缩、结晶

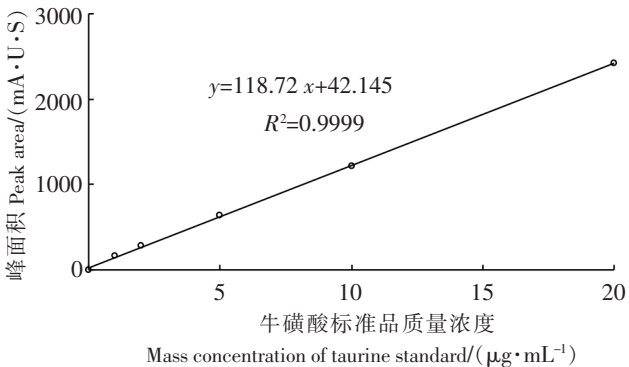


图 1 牛磺酸标准曲线
Fig.1 Standard curve of taurine

表 1 常见海洋经济水产品中牛磺酸含量

Tab. 1 Determination of taurine content in different kinds of marine products

名称 Name	w(牛磺酸 Taurine) /(g · kg ⁻¹)
杂色蛤肉 <i>Ruditapes philippinarum</i> meat	8.22
文蛤肉 <i>Meretrix meretrix linnaeus</i> meat	7.21
太平洋牡蛎肉 <i>Crassostrea gigas</i> meat	5.49
皱纹盘鲍内脏 <i>Haliotis dicens hannai</i> visceral	4.30
蛏子肉 <i>Sinonovacula constricta</i> meat	0.94
墨鱼内脏 <i>Sepia esculenta</i> visceral	5.86
墨鱼体壁 <i>Sepia esculenta</i> body wall	2.27
鱿鱼内脏 <i>Ommastrephes bartrami</i> visceral	2.99
鱿鱼体壁 <i>Ommastrephes bartrami</i> body wall	1.43

等工艺从杂色蛤中获得白色单斜棱状的牛磺酸晶体，用高压液相色谱检测其纯度。

浓度为 $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的牛磺酸标准品色谱图如图 2 所示，而杂色蛤牛磺酸样品（ $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ）的色谱图如图 3 所示。

对比图 2 和图 3 结果可知，牛磺酸标准品的保留时间为 5.796 min ，杂色蛤牛磺酸样品的保留时间为 5.803 min 。根据所制得的标准曲线，经峰面积归一化方法计算得知，杂色蛤牛磺酸样品纯度为 92.92% 。

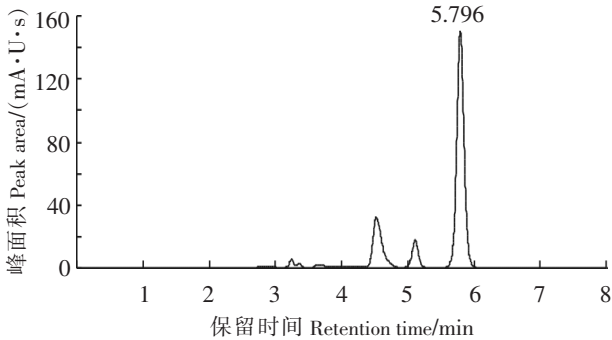


图 2 牛磺酸标准溶液色谱图

Fig.2 HPLC chromatogram of taurine standard solution

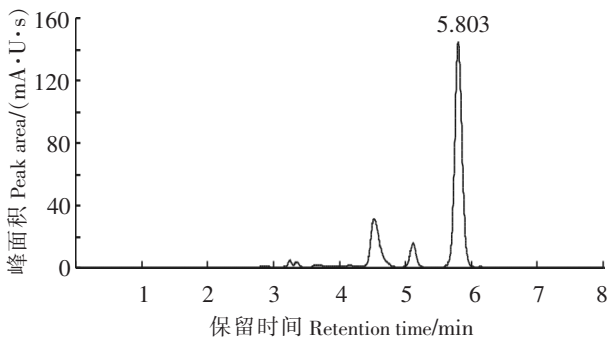


图 3 杂色蛤牛磺酸溶液色谱图

Fig.3 HPLC chromatogram of taurine solution extracted from *Ruditapes philippinarum*

2.4 杂色蛤中牛磺酸含量的季节变化规律

为了了解厦门地区杂色蛤中牛磺酸含量随季节变化的规律，本研究以厦门周边地区所产的杂色蛤为原料，从 2013 年 4 月至 2014 年 3 月，每月 20 日均在同一市场的固定销售摊位采样，按 1.3.4 的方法分别测定。杂色蛤中牛磺酸含量随季节变化的结果如图 4 所示。

由图 4 可知，厦门地区杂色蛤中牛磺酸含量与季节变化有关，并且呈现一定的规律性：1—4 月牛磺酸含量逐渐升高，4—8 月牛磺酸含量逐渐下降，8—12 月牛磺酸含量又回升，全年杂色蛤中牛磺酸质量含量介于 $1784.57\sim2519.74\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间，4 月份含量最高，而 8 月份含量最低。

为了分析杂色蛤体内牛磺酸的含量与气温变化的关系，通过查询厦门市气象局公布的 2013 年 4 月至 2014 年 3 月间每月 19 日厦门海域的气温数据，绘制出该一年中厦门海域气温变化图，如图 5 所示。

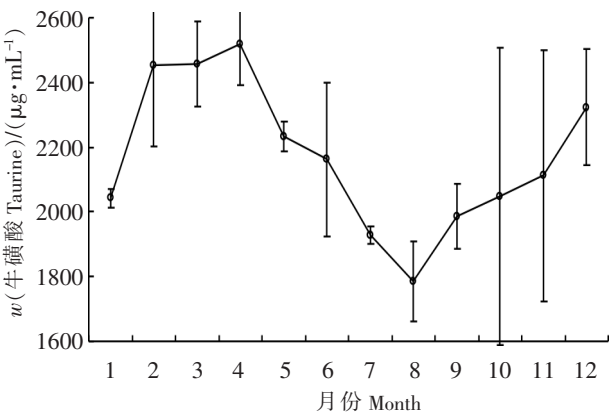


图 4 杂色蛤中牛磺酸含量季节变化规律

Fig.4 Seasonal variation of taurine content in *Ruditapes philippinarum*

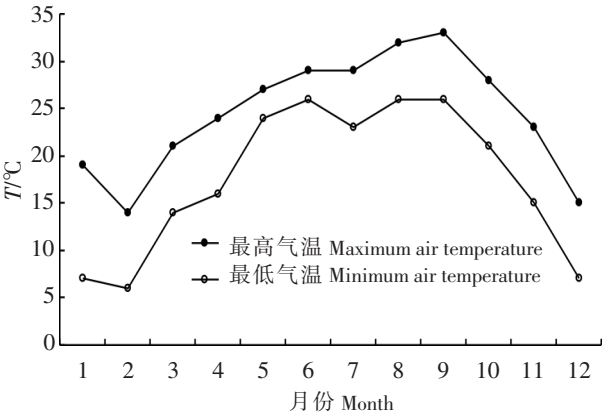


图 5 201304—201403 间厦门海域气温变化情况

Fig.5 Air temperature variation in Xiamen sea area during April, 2013 to March, 2014

由图5可知,厦门海域气温与季节变化密切相关,并且呈现一定的规律性. 1—2月气温有所下降,2—9月气温逐渐上升,至9月到最高点,9—12月气温又下降.

综合图4和图5的结果可知,杂色蛤中牛磺酸含量的季节变化规律与厦门海域气温的变化规律基本呈反相关关系,也即随着气温的升高,杂色蛤体内的牛磺酸含量降低,而随着气温的降低,含量逐渐升高.

3 讨论

本研究测定了几种常见海洋经济水产品中的牛磺酸含量,结果发现,不同物种中牛磺酸含量差异较大,其中杂色蛤肉中牛磺酸含量最高. 即便在同一物种的不同组织中牛磺酸含量也不同,如鱿鱼内脏中牛磺酸含量是体壁的3.0倍. 本研究结果与谭乐义等^[1]、汤志方^[21]的报道一致. 对于海产品中牛磺酸含量的测定,很多学者展开过研究,但研究结果不尽相同. 除了实验误差外,还可能存在以下几方面的原因:1)样品的部位不同导致差异. 如鱿鱼、墨鱼内脏中的牛磺酸含量远远高于体壁中的含量. 2)生长季节和水域环境等因素的影响. 如本研究发现,不同季节的杂色蛤中牛磺酸含量有差异. 3)前处理方法的影响. 牛磺酸提取的前处理方法不同,结果也会有差异^[1].

福建是我国杂色蛤的主要产区,加工企业常采用加热蒸煮的方法取肉,冷冻出口. 在此加工过程中会产生大量的汤汁,部分企业将其浓缩后作为调味料销售,部分企业则直接排放,不仅浪费资源还造成环境污染,而杂色蛤蒸煮汤汁中含有大量的牛磺酸^[18]. 因此,以其为原料来高效制备牛磺酸可起到变废为宝的作用. 本研究测定的几种水产品中,杂色蛤体内牛磺酸含量最高,以其加热蒸煮后的汤汁为原料来制备天然牛磺酸,经检测其纯度为92.92%.

在制备牛磺酸的过程中发现,采用不同季节的杂色蛤,产物的提取量不同,这使得牛磺酸的稳定生产变得困难. 推测可能原因是杂色蛤中牛磺酸含量与水域气温有关. 通过对杂色蛤中牛磺酸含量随季节变化规律的研究发现,1—4月含量逐渐升高,4—8月逐渐下降,8—12月又继续回升,呈现一定的规律性,而该规律与气温的变化基本呈反相关关系. 据文献报道,杂色蛤在4—9月间生长最快^[22],而牛磺酸可以促进生物体的生长^[23-25],因此推测,杂色蛤中牛磺酸含量在4—8月持续下降的原因,可能与杂色蛤在生长过程中不断消耗牛磺酸有关,这也间接说明了牛磺酸在杂色蛤的生长过程中发挥重要作用. 但详细的证据有待进一步的研究发现. 本研究结果为今后以杂色蛤为原料工业制备天然牛磺酸提供了参考.

[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] BIRDSALL T C. Therapeutic applications oftaurine [J]. Alternative Medicine Review, 1998, 3(2): 128-136.
- [3] REDMOND H P, STAPLETON P P, NEARY P, et al. Immunonutrition: the role of taurine [J]. Nutrition, 1998, 14(7): 599-604.
- [4] KOYAMA I, NAKAMORI K, NAGAHAMA T, et al. The reactivity of taurine with hypochlorous acid and its application for eye drops [J]. Exp Med Biol, 1996, 403: 9-18.
- [5] GWACHAM N, WAGNER D R. Acute effects of a caffeine-aurine energy drink on repeated sprint performance of American college footballplayers [J]. Sport NutriExerMetab, 2012, 22: 109-116.
- [6] HUXTABLE R J. Physiological actions of taurine [J]. Physiological Reviews, 1992, 72(1): 101-163.
- [7] SIVABALAN V, PERIYYASAMY K, BASKARAN K, et al. The potency of essential nutrient taurine on boosting the antioxidantstatus and chemopreventive effect against benzo (a) pyrene inducedexperimental lung cancer [J]. Biomedicine and Preventive Nutrition, 2014, 4: 251-255.
- [8] LIU J, LIU L, CHEN H. Antenatal taurine supplementation for improving brain ultrastructure in fetal rats with intrauter-

- ine growthrestriction [J]. *Neurosci*, 2011, 181(5): 265-270.
- [9] 章骞, 郑福来, 翁凌, 等. 鲍鱼内脏中天然牛磺酸的提取与检测 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2013, 4(6): 1-8.
- [10] 高加龙, 章超桦, 刘书成, 等. 邻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.
- [11] 王丽雅, 陶宁萍, 张恒劫. 柱前衍生-高效液相色谱法测定暗纹东方鲀肉中牛磺酸含量 [J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(10): 159-164.
- [12] 蒲秋易, 张一竹, 张二云, 等. 柱前衍生化高效液相色谱法测定全蝎中游离牛磺酸的含量 [J]. *中国新药杂志*, 2013, 22(2): 230-234.
- [13] 章骞. 贝类加工副产物中天然牛磺酸的提取工艺研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2014.
- [14] 杨广会, 周燕霞, 徐晓莉, 等. 鱿鱼中牛磺酸的提取工艺研究 [J]. *食品工业科技*, 2010, 31(6): 215-217.
- [15] 张辉, 管华诗, 赵志强. 长牡蛎中天然牛磺酸的提取 [J]. *海洋科学*, 2005, 29(4): 1-4.
- [16] 张凌晶, 翁凌, 曹敏杰, 等. 膜分离法纯化天然牛磺酸的研究 [J]. *集美大学学报: 自然科学版*, 2009, 14(2): 11-14.
- [17] 李珊, 刘玉兰, 林伯群, 等. 密鳞牡蛎中牛磺酸的提取 [J]. *青岛医学院学报*, 1999, 35(3): 175-177.
- [18] 张凌晶. 利用杂色蛤汤汁下脚料提取天然牛磺酸的新工艺 [D]. 厦门: 集美大学, 2012.
- [19] 龚丽芬, 黄慰生, 谢晓兰, 等. 文蛤中牛磺酸的提取 [J]. *精细化工*, 2003, 20(7): 393-395.
- [20] 曹敏杰, 章骞, 蔡秋风, 等. 一种提取天然牛磺酸的简易方法. 中国: 103342669A [P]. 2013-07-08.
- [21] 汤志方. 海洋生物中牛磺酸的提取及分析 [D]. 青岛: 青岛科技大学, 2005.
- [22] 邱清华. 杂色蛤子的形态习性和养殖法 [J]. *动物学杂志*, 1959, 11: 511-517.
- [23] MATT HAWKYARD, BEN LAUREL, CHRIS LANGDON. Rotifers enriched with taurine by microparticulate and dissolved enrichment methods influence the growth and metamorphic development of northern rock sole (*Lepidopsetta polyxystra*) larvae [J]. *Aquaculture*, 2014, 424(20): 151-157.
- [24] GUILLAUME SALZE, EWEN MCLEAN, STEVEN CRAIG. Dietary taurine enhances growth and digestive enzyme activities in larval cobia [J]. *Aquaculture*, 2012, 362(28): 44-49.
- [25] WILSON PINTO, LUIS FIGUEIRA, ANDRÉ SANTOS, et al. Is dietary taurine supplementation beneficial for gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae? [J]. *Aquaculture*, 2013, 384(25): 1-5.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 曹敏杰)