

## 拉曼光谱法用于牛磺酸片鉴别及含量测定\*

赖源发<sup>1</sup>, 胡佳<sup>1</sup>, 庄峙厦<sup>1</sup>, 黄华斌<sup>1</sup>, 连树琴<sup>1</sup>, 李群鑫<sup>2</sup>

(1. 厦门华夏学院厦门市食品药品安全重点实验室, 厦门 361024; 2. 厦门市食品药品质量检验研究院, 厦门 361000)

**摘要 目的:** 建立拉曼光谱法鉴别和测定牛磺酸片, 并与药典方法比较。**方法:** 以牛磺酸片作为研究对象, 用水溶液提取其主要成分并过滤, 用拉曼光谱仪对样品溶液进行鉴别和含量测定。测定条件: 激发波长 780 nm, 激光强度 120 mW, 光圈 50  $\mu\text{m}$ , 聚焦高度 6.0 mm, 分辨率 1.0  $\text{cm}^{-1}$ , 曝光时间 60 s, 曝光次数 3 次, 扫描范围 0~3 500  $\text{cm}^{-1}$ 。**结果:** 牛磺酸质量浓度在 5~80  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  范围内与拉曼峰面积呈良好线性关系, 线性回归方程为  $Y=123.48X+142.51$ , 相关系数为 0.999 2 ( $n=6$ ); 低、中、高 3 个浓度的平均回收率分别为 97.9%、99.5%、100.3%, RSD 分别为 1.2%、1.7%、0.9%, 6 个批次样品牛磺酸含量测定结果分别为标示量的 99.6%、97.5%、98.7%、98.4%、96.6%、101.5%, 与 2015 年版中国药典标准收载的电位滴定方法测定结果基本一致。**结论:** 本方法操作简单, 重复性好, 经方法验证, 拉曼光谱法可以鉴别牛磺酸片, 并能准确测定片剂中的牛磺酸含量, 可作为牛磺酸片质量控制的分析方法。

**关键词:** 牛磺酸片剂; 含硫氨基酸; 鉴别; 含量测定; 质量控制方法比较; 拉曼光谱; 电位滴定法

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2017)05-0777-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.05.05

## Identification and assay of Taurine tablets by Raman spectroscopy\*

LAI Yuan-fa<sup>1</sup>, HU Jia<sup>1</sup>, ZHUANG Zhi-xia<sup>1</sup>, HUANG Hua-bin<sup>1</sup>,  
LIAN Shu-qin<sup>1</sup>, LI Qun-xin<sup>2</sup>

(1. Xiamen Food and Drug Safety Laboratory, Xiamen Huaxia University, Xiamen 361024, China;

2. Xiamen Food and Drug Inspection & Research Institute, Xiamen 361000, China)

**Abstract Objective:** To establish a method for the identification and assay of Taurine tablets by Raman spectroscopy, and compare it with the 2015 ChP method. **Methods:** Taking Taurine tablets as the research object. The tablets were extracted by water and then filtered. The filtrate was identified and determined by a Raman spectrometer. Determination conditions were as follows: excitation wavelength: 780 nm; laser power: 120 mW; aperture: 50  $\mu\text{m}$ ; focus height: 6.0 mm; resolution: 1.0  $\text{cm}^{-1}$ ; exposure time: 60 s; exposure times: 3; scanning range: 0~3 500  $\text{cm}^{-1}$ . **Results:** The calibration curve was linear over the range of 5~80  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  and the linear regression equation was  $Y=123.48X+142.5$  ( $r=0.999\ 2$ ,  $n=6$ ). The average recoveries at low, medium and high concentrations were 97.9%, 99.5% and 100.3%, with RSD of 1.2%, 1.7% and 0.9%, respectively.

\* 国家星火计划项目(2015GA721002)

第一作者 Tel: 13063036631; E-mail: laiyuanfa@163.com

Contents of taurine in 6 batches of samples were 99.6%, 97.5%, 98.7%, 98.4%, 96.6% and 101.5% of the labeled value, which were consistent with the results determined by the potentiometric titration method specified in 2015 ChP. **Conclusion:** The method was convenient and repeatable. Method validation results showed that Raman spectroscopy could be applied in identification and accurate assay of Taurine tablets, thus offered an analytical method for the quality control of Taurine tablets.

**Keywords:** Taurine tablets; sulfur-containing amino acids; identification; assay; comparison of quality control methods; Raman spectra; potentiometric titration

牛磺酸是一种  $\beta$  型的含硫氨基酸,人体内牛磺酸总含量约 12~18 g,其中 3/4 以上存在于骨骼肌,血浆中含量极低,仅 150 mg 左右。牛磺酸对多数器官和系统有着非常重要的作用,体内保持恒定的牛磺酸,能有效消除疲劳。牛磺酸还能预防发育缺陷,视网膜损伤,免疫缺陷,心血管等疾病<sup>[1-2]</sup>。

据文献报道<sup>[3-9]</sup>,常用的牛磺酸含量检测方法有薄层色谱法、电位滴定法、荧光法、高效液相色谱法等。薄层色谱法属于半定量方法,其灵敏度比较低,且薄层板的制备、点样技术以及展开条件变化因素较多,都会影响定量的准确性;电位滴定法通过测量电位变化确定滴定终点,但电位滴定法干扰因素多,个样的差别较大,无法满足牛磺酸含量较低的样品的测定;荧光法需要对牛磺酸进行衍生化反应,但牛磺酸的衍生物不稳定,衍生后要立即进行分析,故分析过程对实验人员要求较高;高效液相色谱法灵敏度和可靠性高,但仪器比较昂贵,在一定程度上限制了该方法的推广。

拉曼光谱可提供药物相关结构、理化性质等信息,其谱图峰形尖锐,具有数据准确及容易对比等特点<sup>[10-11]</sup>。本试验采用拉曼光谱法对牛磺酸片进行鉴别和含量测定,方法操作简单,重复性好,准确性高,可为牛磺酸片的质量控制提供新的分析方法。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Thermo Scientific 公司 DRX 型智能激光拉曼光谱仪,配备 780 nm 激光发射器,平板式通用样品架,OMNIC 分析软件;MILLIPORE 公司 Milli-Q 纯水机。

### 1.2 试剂

牛磺酸对照品(中国食品药品检定研究院,纯度  $\geq 99\%$ ),牛磺酸片(辽宁绿丹药业有限公司,批号 21023108;南阳普康药业有限公司,批号 31022996;

焦作福瑞堂制药有限公司,批号 42021657;吉林嘉美得科技制药有限公司,批号 20150923;长春迪瑞制药有限公司,批号 20150706;广东安诺药业股份有限公司,批号 20141203。药品规格均为 0.4 g·片<sup>-1</sup>),水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品储备液** 精密称取牛磺酸对照品 2.0 g,置于 100 mL 量瓶中,加水溶解并定容至刻度,制成质量浓度为 200 mg·mL<sup>-1</sup> 的溶液,即得。

**2.1.2 供试品溶液** 取牛磺酸片 10 片,精密称定,研细,精密称取适量(约相当于牛磺酸 0.2 g),置于 10 mL 量瓶中,加水 7 mL,振摇使主成分溶解,用水定容至刻度,摇匀,经 0.45  $\mu$ m 水相滤膜过滤,即得。

### 2.2 拉曼光谱测定方法与条件

取牛磺酸对照品粉末适量置于石英比色皿中,放在平板式通用样品架上进行光谱测定,得到对照品的拉曼光谱图;另取制备好的供试品溶液 1 mL 置于石英比色皿中,放在样品架上进行光谱测定。测定条件:激发波长 780 nm,激光强度 120 mW,光圈 50  $\mu$ m,分辨率 1.0 cm<sup>-1</sup>,激光聚焦高度 6.0 mm,曝光时间 60 s,曝光次数 3 次,扫描范围 0~3 500 cm<sup>-1</sup>。

### 2.3 样品的鉴别

本试验以牛磺酸对照品粉末(纯度  $\geq 99\%$ ,在一定程度上是被认为是纯物质)为参照对象制作对照品谱图,得出的拉曼谱图能最大程度减少杂质干扰,得到的谱图最清晰和标准;而若将供试品牛磺酸片剂直接置于拉曼光谱仪中测定,片剂中的辅料对鉴别结果有很大干扰,因此用水作为溶剂提取片剂中的牛磺酸后再进行鉴别。

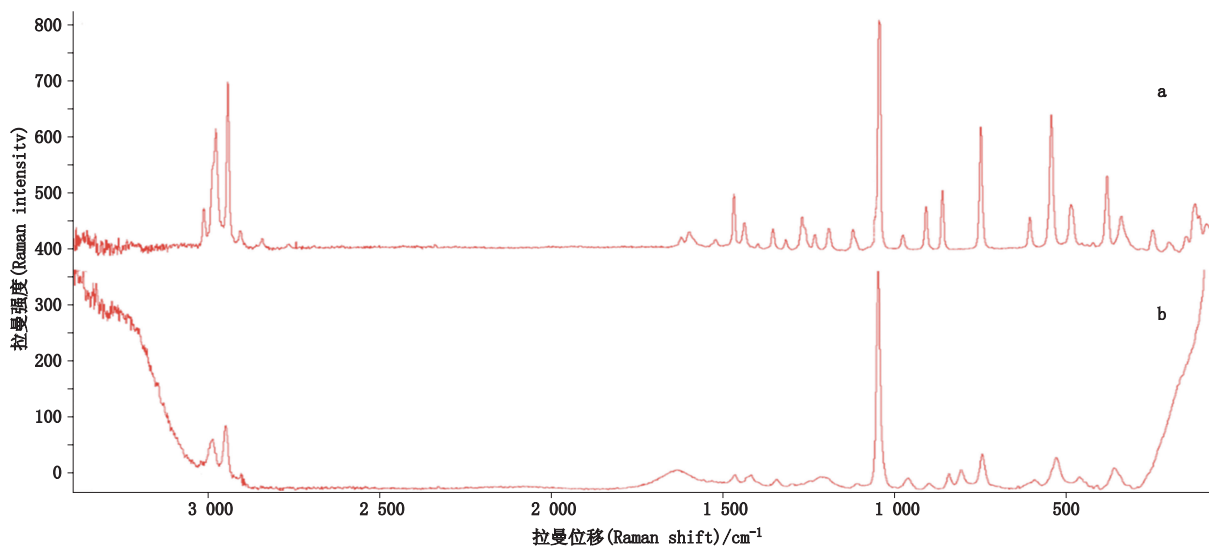
拉曼光谱谱图尖锐,容易辨认,可以通过拉曼位移峰对样品进行鉴别,在 2 991、2 949、1 629、1 460、1 411、1 337、1 203、1 103、1 041、955、890、832、

798、740、587、524、455 和 353  $\text{cm}^{-1}$  处的拉曼位移峰可共同表征出牛磺酸的结构。牛磺酸对照品粉末和供试品溶液的拉曼光谱图见图 1。由图 1 可知,在供试品溶液的拉曼光谱图中可以找到与牛磺酸对照品粉末拉曼光谱图相对应的特征峰,可完成牛磺酸片的

快速鉴别。

### 2.4 定量特征峰的选择

在图 1 的拉曼光谱图中可以发现,1 041  $\text{cm}^{-1}$  处的拉曼峰信号响应值最强,因此选作定量特征峰,以该定量特征峰峰面积进行含量计算。



a. 牛磺酸对照品粉末 (the powder of taurine reference substances) b. 供试品溶液 (sample solution)

图 1 拉曼光谱图

Fig. 1 Raman spectra

### 2.5 线性关系考察

精密吸取牛磺酸对照品储备液适量,以水配制质量浓度为 5、10、20、30、50、80  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液,进行拉曼光谱测定,不同浓度对照品溶液的定量特征峰见图 2。以溶液质量浓度为横坐标,以定量特征峰的峰面积为纵坐标绘制标准曲线,其线性方程:

$$Y=123.5X+142.5 \quad r=0.9992$$

结果表明,牛磺酸质量浓度在 5~80  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内与峰面积呈良好线性关系。

取牛磺酸对照品储备液以水逐级稀释并测定,分别得方法检出限 ( $S/N=3$ ) 为 0.5  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,定量限 ( $S/N=10$ ) 为 2.0  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

### 2.6 日内和日间精密度试验

取对照品储备液新鲜配制质量浓度为 5、10、20、30、50、80  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的牛磺酸对照品溶液,按“2.2”项下条件于 1 d 和 6 d 内重复测定 6 次,测得日内精密度和日间精密度。结果 6 个浓度峰面积的日内 RSD ( $n=6$ ) 分别为 1.6%、1.3%、0.91%、1.2%、0.88%、1.1%, 日间 RSD ( $n=6$ ) 分别为 3.7%、3.3%、2.3%、2.2%、1.9%、2.1%, 表明该方法精密度良好。

### 2.7 重复性试验

取牛磺酸片 6 份,分别制备供试品溶液,按“2.2”项下条件测定样品中牛磺酸的含量,结果分别为 98.5%、98.6%、98.9%、99.6%、100.7%、101.1%, RSD 为 1.1% ( $n=6$ ),表明该方法重复性良好。

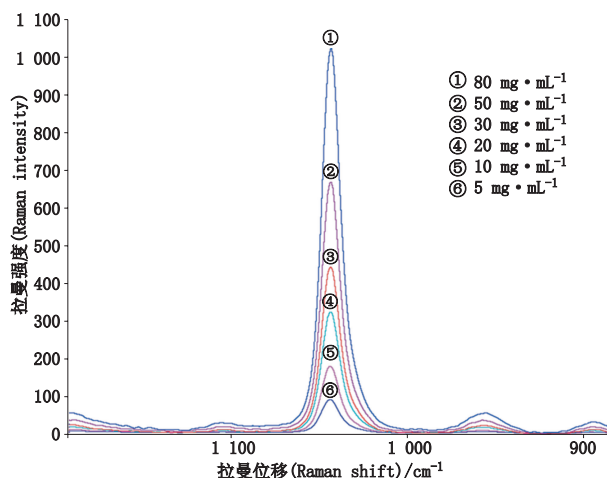


图 2 不同浓度牛磺酸对照品溶液拉曼定量特征峰面积的变化

Fig. 2 Areas of Raman peaks obtained from taurine reference solutions at different concentrations

## 2.8 稳定性试验

取牛磺酸片按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别在温室条件下放置0、0.5、1、1.5、2和3 h后,按“2.2”项下条件进行测定,牛磺酸定量特征峰面积的RSD为1.2%,表明供试品溶液在3 h内稳定。

## 2.9 加样回收试验

取已测知含量的牛磺酸片20片,研细,精密称取粉末0.3 g,共9份,3份为1组,每组分别加入牛磺酸对照品适量(相当于每组已知量的80%、100%和120%),按供试品溶液制备方法处理,按“2.2”项条件进行测定并计算牛磺酸的回收率,结果见表1。

表1 回收率试验结果( $n=9$ )

Tab. 1 Results of recovery test

编号 (No.)	样品含量 (content)/g	加入量 (added)/g	测得量 (measured)/g	加样回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
1	0.197	0.160	0.353	97.7	97.9	1.2
	0.197	0.160	0.356	99.1		
	0.197	0.160	0.352	96.9		
2	0.197	0.200	0.400	101.5	99.5	1.7
	0.197	0.200	0.394	98.4		
	0.197	0.200	0.394	98.7		
3	0.197	0.240	0.435	99.2	100.3	0.9
	0.197	0.240	0.438	100.3		
	0.197	0.240	0.441	101.5		

## 2.10 样品测定

取牛磺酸片样品,按本文的拉曼光谱法测定含量。为验证本方法的可靠性,再按中国药典2015年版二部中的电位滴定法测定含量<sup>[4]</sup>。2种分析方法结果(见表2),拉曼光谱法与电位滴定法差异不大,测定结果经 $t$ 检验证明无显著性差异( $p=0.831$ ,  $> 0.05$ ),本方法可用于牛磺酸片的含量测定。

表2 拉曼光谱法与电位滴定法测定  
样品含量结果比较(%)

Tab. 2 Comparison of determination results between  
Raman spectroscopy and potentiometric titration

批号 (Lot No.)	拉曼光谱法 (Raman spectroscopy)	电位滴定法 (potentiometric titration)
21023108	99.6	101.3
31022996	97.5	98.4
42021657	98.7	98.1
20150923	98.4	99.2
20150706	96.6	97.0
20141203	101.5	99.1

## 3 讨论

### 3.1 专属性考察

拉曼光谱是指一定频率的激光照射到样品表面时,物质中的分子吸收了部分能量,发生不同方式和不同程度的振动,然后散射出较低频率的光,不同原子团振动的方式是惟一的,因此可以产生特定频率的散射光,因此拉曼光谱也称为“指纹光谱”。不同的化学物质,得到的拉曼谱图具有唯一性<sup>[12-14]</sup>,因此可以不辅助别的鉴别方法,而依靠拉曼光谱法就能对化学物质进行鉴别。

### 3.2 2种鉴别方法的比较

中国药典2015年版二部采用茚三酮显色法和红外光谱法鉴别牛磺酸片<sup>[4]</sup>。茚三酮显色法操作简单,显色速度快,但是具有游离 $\alpha$ -氨基和 $\alpha$ -羧基的药物与茚三酮都能产生蓝紫色反应,表明该方法专属性差。红外光谱法也能进行药物的鉴别,但水的羟基对测定结果有很大的干扰,需要严格控制样品中水的含量和实验环境的湿度,并且红外光谱在图谱解析方面需要大量经验,容易造成图谱解析障碍<sup>[15-16]</sup>。

拉曼光谱法能提供药物结构、理化性质等多种信息,其谱图尖锐,数据准确,容易对比。并且对于拉曼光谱来说,水分子对样品拉曼光谱的影响可



以忽略不计。本试验采用拉曼光谱法替换茚三酮显色法和红外光谱法鉴别牛磺酸片,鉴别结果更准确。

### 3.3 2种含量测定方法的比较

中国药典2015年版二部中采用电位滴定法测定牛磺酸片的含量<sup>[4]</sup>。电位滴定法仪器简单,但分析时间较长,每次使用pH计前都必须用已知pH的标准缓冲溶液进行定位校准;进行滴定时,需反复清洗电极;并且其灵敏度受电极电位准确度的限制,当溶液浓度较低时,残余电流容易成为干扰因素<sup>[17]</sup>。

电位滴定法测定牛磺酸片含量的操作需加入一定量的甲醛溶液,甲醛具有强烈刺激性气味,对皮肤、呼吸道和消化道黏膜有明显的刺激作用,进入人体可引起组织损伤,接触甲醛可能导致自发性流产,还会提高患呼吸道肿瘤的概率<sup>[18-22]</sup>。

拉曼光谱法以水作为提取溶剂,减少对健康的危害和环境的污染,并且分析过程样品前处理简单,仪器灵敏度高,实验结果准确。

### 3.4 供试品溶液过滤方法的选择

本试验以水作为溶剂对牛磺酸片剂主成分进行提取后再测定,但片剂中的辅料不易溶于水,会明显降低拉曼信号值强度,对主成分鉴别和含量测定造成干扰,因此需要除去供试品溶液中的颗粒物。滤纸过滤速度慢且效果不好,本试验用0.45 μm水相滤头进行过滤,过滤速度快,能有效去除供试品溶液中辅料的干扰<sup>[23]</sup>。

本试验用水作为溶剂提取样品,以牛磺酸谱图的拉曼位移峰进行鉴别,用拉曼定量特征峰面积进行含量测定。该试验方法样品前处理简单,重复性好,灵敏度高,结果可靠,可用于牛磺酸片的质量控制。

### 参考文献

- [1] HUXTABLE RJ. Physiological action of taurine[J]. *Phys Rev*, 1992, 72(1): 101
- [2] 白小琼,孔德义. 牛磺酸研究进展[J]. *中国食物与营养*, 2011, 17(5): 78  
BAI XQ, KONG DY. Research progress of taurine[J]. *Food Nutr China*, 2011, 17(5): 78
- [3] 杨祖英,张伟平. 薄层色谱法测定食品中牛磺酸[J]. *卫生研究*, 1996, 25(4): 248  
YANG ZY, ZHANG WP. Determination of taurine in foods by thin layer chromatography[J]. *J Hyg Res*, 1996, 25(4): 248
- [4] 中国药典2015年版. 二部[S]. 2015: 78  
ChP 2015. Vol II[S]. 2015: 78
- [5] 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(40): 47  
JIANG JD, LIU B, HAO YP. Determination of taurine in dairy by HPLC derivation after column[J]. *China Dairy Ind*, 2003(40): 47
- [6] 李占胜,冯树德. 高效液相色谱法测定乳粉中牛磺酸[J]. *肉品卫生*, 1996(5): 17  
LI ZS, FENG SD. Determination of taurine in milk powder by HPLC[J]. *Meat Hyg*, 1996(5): 17
- [7] 王晓莺,孙成均,张立实. 9-氯甲酸苄甲酯柱前衍生高效液相色谱法测定奶粉中的牛磺酸[J]. *环境与职业医学*, 2009, 26(3): 301  
WANG XY, SUN CJ, ZHANG LS. Determination of taurine in milk powder by high performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate[J]. *J Environ Occup Med*, 2009, 26(3): 301
- [8] 刘慧燕,方海田. 食品中牛磺酸的测定方法[J]. *农产品加工*, 2007(9): 76  
LIU HY, FANG HT. Determination of taurine in food[J]. *Farm Prod Process*, 2007(9): 76
- [9] 方宏兵,王德强. 食品中牛磺酸的检测方法研究进展[J]. *粮油食品科技*, 2011, 19(4): 45  
FANG HB, WANG DQ. Research progress of determination of taurine in food[J]. *Sci Technol Cereals, Oils Foods*, 2011, 19(4): 45
- [10] 刘朝霞,张新,魏京京,等. 便携式拉曼光谱用于磺胺类药物成分识别的研究[J]. *药物分析杂志*, 2009, 29(4): 636  
LIU ZX, ZHANG X, WEI JJ, et al. Study on identification of the constituents of sulfonamide drugs by the portable Raman spectrometer[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2009, 29(4): 636
- [11] 周殿凤. 拉曼光谱在中药注射剂鉴定中的应用探讨[J]. *光学仪器*, 2008, 30(6): 42  
ZHOU DF. The abecedarian application of Raman spectrum on injection's appraisal of Chinese traditional medicine[J]. *Opt Instrum*, 2008, 30(6): 42
- [12] 胡军,胡继明. 拉曼光谱在分析化学中的应用进展[J]. *分析化学*, 2000, 28(6): 764  
HU J, HU JM. Application of Raman spectroscopy in analytical chemistry[J]. *Chin J Anal Chem*, 2000, 28(6): 764
- [13] 张雁,尹利辉,冯芳. 拉曼光谱分析法的应用介绍[J]. *药物分析杂志*, 2009, 29(7): 1236  
ZHANG Y, YIN LH, FENG F. Introduction of the application of Raman scattering method[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2009, 29(7): 1236
- [14] 王玉,李忠红,张正行,等. 拉曼光谱在药物分析中的应用[J]. *药学学报*, 2004, 39(9): 764  
WANG Y, LI ZH, ZHANG ZX, et al. Application of Raman

- spectroscopy in pharmaceutical analysis [J]. *Acta Pharm Sin*, 2004, 39(9): 764
- [15] 耿春英, 徐沛龙, 林青. 红外光谱谱图质量影响因素分析[J]. 青岛大学学报, 2011, 26(3): 74  
GENG CY, XU PL, LIN Q. Analysis of factors affecting quality of infrared spectrum [J]. *J Qingdao Univ*, 2011, 26(3): 74
- [16] 耿春英. 红外光谱实验中谱图质量研究[J]. 实验技术与管理, 2010, 27(9): 28  
GENG CY. Study on picture quality of infrared spectrum experiments [J]. *Exp Technol Manage*, 2010, 27(9): 28
- [17] 张云, 孟洁. 控制电位滴定法的误差分析[J]. 分析科学学报, 2009, 25(6): 689  
ZHANG Y, MENG J. Error analysis on controlled potential titration [J]. *J Anal Sci*, 2009, 25(6): 689
- [18] 张瑾. 甲醛毒性的研究进展[J]. 职业与健康, 2006, 22(23): 2041  
ZHANG J. Research on the toxicity of formaldehyde [J]. *Occup Health*, 2006, 22(23): 2041
- [19] 朱桂芝, 李涛, 郭晓诗, 等. 甲醛对人体毒作用[J]. 中国卫生工程学, 2004, 3(4): 250  
ZHU GZ, LI T, GUO XS, *et al*. Toxic effect of formaldehyde on human [J]. *Chin J Public Health Eng*, 2004, 3(4): 250
- [20] 陈国强. 居室中甲醛的健康效应[J]. 职业卫生与应急救援, 2002, 20(3): 149  
CHEN GQ. Health effect of formaldehyde in living room [J]. *Occup Health Emerg Rescue*, 2002, 20(3): 149
- [21] 任传伟, 杨燕初. 甲醛对病理工作人员的健康危害及预防[J]. 社区医学杂志, 2008, 6(17): 48  
REN CW, YANG YC. Health hazards and prevention of formaldehyde [J]. *J Community Med*, 2008, 6(17): 48
- [22] 童志前, 万有, 罗文鸿, 等. 内源性甲醛及其相关人类重大疾病[J]. 自然科学进展, 2008, 18(11): 1201  
TONG ZQ, WAN Y, LUO WH, *et al*. Endogenous formaldehyde and its relation to human diseases [J]. *Prog Nat Sci*, 2008, 18(11): 1201
- [23] 赖源发, 胡佳, 张启国, 等. 维生素 C 片的拉曼光谱法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2015, 46(10): 1105  
LAI YF, HU J, ZHANG QG, *et al*. Determination of vitamin C tablets by Raman spectroscopy [J]. *Chin J Pharm*, 2015, 46(10): 1105

(本文于 2016 年 5 月 20 日收到)

### 《药物分析杂志》编辑部声明

本刊采用在线投稿系统, 作者稿件一经本刊审核通过, 确定录用, 可优先数字出版, 同时被中国学术期刊网络出版总库等数据库收录, 进入因特网提供信息服务, 并通过本刊在线系统等实现全文查询。本刊所付稿酬包含刊物内容上网服务报酬, 不再另付。

本刊未委托其他任何机构或个人代理征收稿件, 所有稿件须登录本刊网站 (<http://www.ywfxzz.cn>) 在线投稿, 并须提交加盖公章的单位介绍信。

本刊未委托其他任何机构或个人代收任何费用, 所有收费按本刊缴费通知办理。