

어린이식료품에 포함된 타우린의 정량

리혁철, 리덕환

타우린(Tau)은 어린이의 뇌발육과 뇌기능발달을 촉진하는 중요한 생리활성물질로서 애기젓가루와 흰쌀앙가루를 비롯한 어린이식료품에 미량으로 첨가된다. 이로부터 타우린의 정량은 어린이식료품의 질평가에서 중요한 문제로 나선다.

타우린은 아미노산분석기법과 고성능액체크로마토그래프(HPLC)법으로 정량할수 있으며 고성능액체크로마토그래프법은 유도화시약에 따라 *o*-프탈알데히드(OPA)법과 페닐이소티오시아나트(PITC)법, 염화단실(Dansyl-Cl)법, 1-플루오로-2, 4-디니트로벤졸(FDNB)법, AQC법 등으로 구분할수 있다.[1, 3]

지금까지 OPA법으로 아미노산을 분석한 자료[2, 4, 5]는 많이 발표되었지만 FDNB를 유도화시약으로 하는 고성능액체크로마토그래프를 리용하여 어린이식료품속에서 타우린을 분석한 자료는 발표되지 않았다.

우리는 역상HPLC법으로 애기젓가루를 비롯한 어린이식료품속에서 타우린을 분석하기 위한 시료전처리방법과 크로마토그래프분리조건들을 확립하고 대상물분석에 적용하였다.

실험 방법

장치로는 종합아미노산분석기(《L-8900》), 고성능액체크로마토그래프(《LC-5510》), 원심분리기(《TGL-10B》), 초음파세척기(《JL-120DTH》), 항온수욕조(《C-WBE》)를, 시약으로는 N, N-디메틸포름아미드(N, N-DMF, GC순), 1-플루오로-2, 4-디니트로벤졸(FDNB), 아세토니트릴(크로마토그래프순), 초순수를 리용하였으며 기타 모든 시약들은 분석순이다. 또한 완충용액으로 유도화완충용액(탄산염완충용액, pH 9.2)과 평형화완충용액(린산완충용액, pH 7.0)을 리용하였다.

시료 0.5g을 유도화완충용액 10mL에 풀고 5% 트리클로로초산 2mL를 첨가하여 8 000r/min의 속도로 15min동안 원심분리하였다. 상등액 1mL에 유도화시약(0.1% FDNB) 0.5mL를 넣고 일정한 온도에서 일정한 시간동안 반응시켰다. 평형화완충용액으로 체적이 5mL 되게 한 다음 시료 10 μ L를 HPLC에 주입하여 타우린을 분리하고 360nm에서 검출하였다.

유도화반응온도와 반응시간, HPLC의 이동상조성과 구배를 변화시키면서 타우린의 분리효과를 검토하였다.

역상HPLC분리조건은 다음과 같다.

분리탑 Elite-AAK, 탑압력 20MPa, 분리탑온도 27 $^{\circ}$ C, 류속 1.2mL/min, 시료주입량 10 μ L, 검출과장 360nm, 측정시간 38min.

실험결과 및 해석

유도화반응에 미치는 온도의 영향 반응온도를 변화시키면서 유도화반응을 진행한 다음 HPLC로 타우린의 봉우리면적을 결정하였다.(그림 1)

그림 1에서 보는바와 같이 반응온도가 높아짐에 따라 봉우리면적이 증가하다가 60°C에서 최대가 되고 그 이상에서는 다시 감소하였다.

따라서 유도화반응의 최적온도는 60°C이다.

유도화반응에 미치는 시간의 영향 반응시간을 변화시키면서 유도화반응을 진행한 다음 HPLC로 타우린의 봉우리면적을 결정하였다.(그림 2)

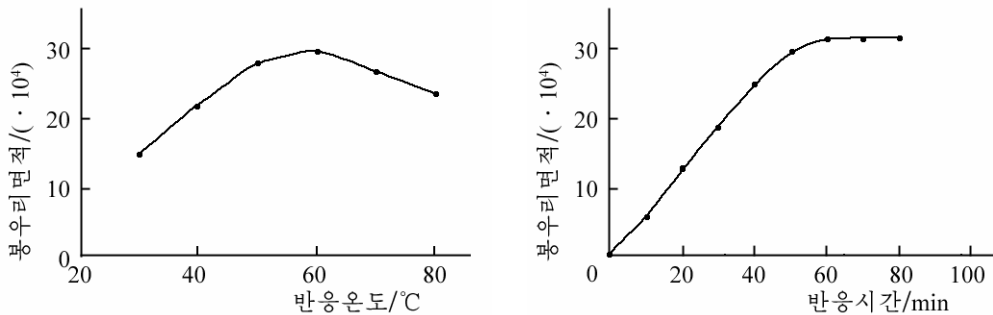


그림 1. 유도화반응에 미치는 온도의 영향 그림 2. 유도화반응에 미치는 반응시간의 영향

그림 2에서 보는바와 같이 반응시간이 길어짐에 따라 봉우리면적은 증가하며 60min 후에는 변하지 않았다. 따라서 유도화반응시간을 60min으로 하는것이 합리적이다.

타우린분리에 미치는 이동상조성과 2원구배의 영향 이동상 A(초산완충용액 pH 7.0, 1% N, N-DMF)는 전용아미노산분리타과 함께 널리 알려졌지만 이동상 B는 아직 발표되지 않았다. 이로부터 우리는 고성능액체크로마토그래프에서 이동상으로 리용하고있는 메타놀과 아세토니트릴, 초순수를 서로 배합하여 이동상조성을 변화시키면서 타우린의 분리효과를 평가하였다.

실험결과 이동상 B로 메타놀이나 아세토니트릴을 리용하였을 때에는 타우린이 분리되지 않았지만 아세토니트릴+초순수(1:1)용액을 리용하면 타우린의 봉우리가 잘 분리되었다.

우리는 HPLC에서 이동상의 2원구배를 표 1과 같이 하였다.

표 1과 같은 2원구배를 주었을 때 애기젓가루에서 타우린을 분석한 결과는 그림 3과 같다.

그림 3에서 보는바와 같이 타우린(유지시간 16min)의 봉우리가 정확히 나타났다.

실험결과에 따르는 타우린분석방법의 최적조건은 다음과 같다.

시간/min	이동상 A/%	이동상 B/%
0	84	16
0.3	84	16
4.0	69	31
9.5	64	36
17.0	45	55
28.0	35	65
34.0	0	100
36.0	0	100
38.0	84	16

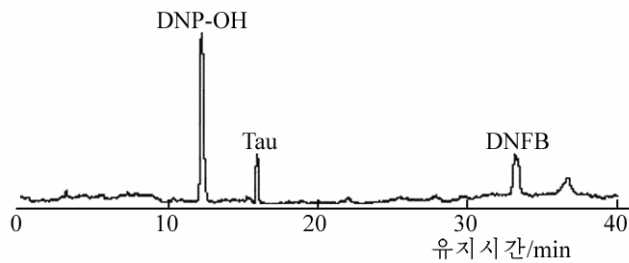


그림 3. 타우린의 역상HPLC크로마토그램

시료 0.5g, 유도화완충용액 10mL, 5% 트리클로로초산 2mL 첨가, 8 000r/min의 속도로 15min동안 원심 분리, 상등액 1mL에 유도화시약(0.1% FDNB) 0.5mL 첨가, 반응온도 60℃, 압 조건, 반응시간 60min, 평형화완충용액 5mL 첨가, 시료주입량 10 μ L, 이동상 B로 아세토니 트릴+초순수(1 : 1)용액, 표 1과 같은 이동상구배조성, HPLC로 360nm에서 검출.

대상물분석결과 우와 같은 조건에 따라 아미노산분석기법과 역상HPLC법으로 애기젓가 루속에서 타우린을 정량하여 비교한 결과는 표 2와 같다. 이때 타우린의 정량은 표준첨가 법으로 하였다.

표 2. 애기젓가루속에서 타우린의 함량(mg/100g)

정량방법	측정회수				평균	표준편차	변동계수/%
	1	2	3	4			
아미노산분석기법	31.2	30.5	29.9	30.7	30.6	0.54	1.8
역상HPLC법	30.5	29.1	31.0	29.3	30.0	0.92	3.1

표 2로부터 두가지 방법의 정밀도를 검정한 결과 $F=s_2^2/s_1^2=2.90 < F_{3, 3, 0.05}=9.28$ 로서 본질 적인 차이가 없다. 또한 t 검정결과 $t_0=1.125 < t_{3, 0.05}=3.182$ 로서 두가지 방법은 차이가 없다.

맺 는 말

역상HPLC법으로 어린이식료품속에서 타우린을 분석하기 위한 최적조건을 확립하였다. 이 방법으로 애기젓가루속에서 타우린을 정량한 결과 변동계수는 3.1%이며 아미노산분석 기법과 정확도와 정밀도에서 차이가 없다.

참 고 문 헌

- [1] Yaqin Wang et al.; Food Chemistry, 163, 6, 2014.
- [2] R. Rebane et al.; Journal of Chromatography, A 1390, 62, 2015.
- [3] 商振华 等; 色谱, 19, 4, 367, 2001.
- [4] 边春香 等; 色谱, 23, 3, 317, 2005.
- [5] 吕莹果 等; 粮食与油脂, 7, 35, 2009.

주체105(2016)년 1월 5일 원고접수

Determination of Taurine in Foods for Children

Ri Hyok Chol, Ri Tok Hwan

We found the optimum conditions for the determination of taurine in foods for children by RP-HPLC.

As the result of determination of taurine in the milk powder, the coefficient of variation of the amino acid analyzer method and the RP-HPLC method is 1.8 and 3.1% individually. There is no difference between two methods in accuracy and precision.

Key words: taurine, RP-HPLC