



Szilvássy Blanka¹, Schreiberné Molnár Erzsébet¹, Iglóváriné Molnár Mária¹

Érkezett/Received: 2014. március/March – Elfogadva/Accepted: 2014. április/April

Taurintartalom meghatározása energiasitalokban és étrendkiegészítőkben HPLC-MS/MS-műszerkapcsolással

Kulcsszavak: taurin, energiasital, HPLC, MS

Összefoglalás

Napjainkban a kevés alvásnak, a rohanó életmódnak, a sok stressznek és a vitaminhiánynak köszönhetően az emberek kimerültebbek és fáradtabbak. Ez is az egyik oka az energiasitalok egyre nagyobb népszerűségének. Míg kifejlesztésének kezdetén csak patikában lehetett hozzájutni kis mennyiségekben, manapság akár 2 literes kiszerezésekkel is találkozhatunk a boltok polcain. Mivel a termékekben lévő hatóanyagok mennyisége és a kiszérés mérete sokszor nincs összhangban, ezen adalékanyagok túlzott bevitele akár mindennapos is lehet. Ez hosszú távon mindenképp ártalmas az egészségre, de akár az egyszeri túladagolás is okozhat panaszokat. Az energiasitalokban a koffein mellett a taurin a leggyakoribb hatóanyag, amely - bár megtalálható a szervezetben - túlzott fogyasztása káros lehet az egészségre. Annak érdekében, hogy figyelemmel tudjuk kísérni a termékek taurintartalmát, olyan módszert kellett kifejleszteni, amellyel nagy mintamennyiség esetén is gyors és pontos méréseket végezhetünk. Ehhez HPLC-MS/MS műszerkapcsolás nyújtott segítséget.

2. Bevezetés és irodalmi áttekintés

Az energiasitalok az 1900 évek elején jelentek meg. Akkoriban ezek a termékek még gyógyászati célokat szolgáltak. Vitaminokat és taurint tartalmaztak, és roboráló, illetve koncentrációt segítő szerként alkalmazták azokat [1]. Ezeket a termékeket akkoriban még csak gyógyszertárakban lehetett kapni. A mai energiasitalok alapötlete a Red Bull-alapítójának a nevéhez fűződik. A „Vörös Bika” gyorsan meghódította Európát és Amerikát, Magyarországra a kilencvenes évek elején jutott el, majd számos új márka is követte. Az energiasitaloknak napjainkban már több mint 300 fajtája létezik világszerte.

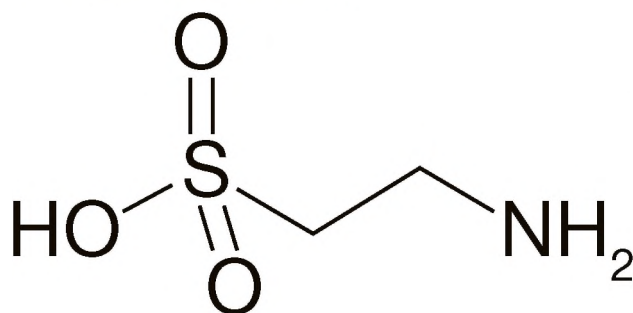
Hazánkban sem törvényileg, sem az élelmiszerkönyvben nem található definíció az energiasitalokra vonatkozólag. Ezt a kategóriát gyakorlatilag kizárólag az adózási szabályok határozzák meg. A fogyasztás azonban évről évre nagyobb, nemcsak a felnőttek, de sajnos a tinédzserek, illetve a gyerekek körében is, akik akár literes mennyiséget is elfogyaszthatnak egy nap alatt. Mivel ezekben a termékekben magas a koffein illetve az egyéb metilxantin (teofillin, teobromin stb.) és más stimuláló anyagok (taurin, glukorolakton stb.) koncentrációja, továbbá nagy vízdoldható

vitamin tartalommal (1 doboz fedezi a napi ajánlott bevitel 100%-át) és egyéb növényi kivonatokkal rendelkeznek, a mértéktelen fogyasztásuk súlyos egészségügyi problémákhoz vagy akár halálhoz is vezethet. Számos kutatás azt is bizonyította, hogy ha alkohollal keverik ezeket a termékeket, az különösen veszélyes lehet az egészségre nézve főként a koffein és a taurin alkohollal való együttes hatása miatt [2]. 2011 és 2012 között az ÁNTSZ-hez 232 energiasital-fogyasztással összefüggésbe hozható rosszulétről érkezett bejelentés, amelyek 77%-a 18 év alatti fiatal, 4%-a pedig 8-10 éves gyermek volt. Az elfogyasztott energiasitalok mennyisége 2 dl-től 3 literig terjedt, amelyet sokszor alkohollal együtt fogyasztottak. A koffeinről és annak hatásáról már számos tanulmány született, amelyekből kiderül, hogy a túlzott fogyasztás ártalmas lehet. A taurin azonban még nem ennyire ismert az emberek körében. A taurin (**1 ábra**) - más néven 2-aminoetán-szulfonsav - egy nem fehérjeépítő aminosav. Fő funkciója a vérben lévő víz és az ásványi sók szintjének szabályozása, továbbá elősegíti a glükóz sejtekbe áramlását, ezáltal nő a fizikai teljesítőképesség. Bár a szervezetben megtalálható vegyületről van szó, nagy mennyiségben való fogyasztás esetén túlterheli a veséket, **továbbá** néhány esetben hasfájást, rosszuléret, függőséget okoz, és hashajtó

¹ Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet Élelmiszerkémiai-Analitikai Főosztály

¹ National Institute for Food and Nutrition Science, Department of Food Chemistry and Analysis

hatása is lehet. Egy jelentés szerint már napi 3 doboz energiaital taurin mennyisége is képes neurológiai tüneteket okozni, ám ezek a tünetek enyhék, gyorsan eltűnnek. Főleg vesebetegek számára lehet veszélyforrás ilyen mennyiségben [3].



1. Ábra: A taurin szerkezeti képlete (Mol.t.: 125 g/mol; $C_2H_7NO_3S$)

Figure 1: Structural formula of taurine (MW: 125 g/mol; $C_2H_7NO_3S$)

A taurin mennyiségét a készítményekben az 1990-es évek előtt aminosav-analizátorral mérték, de ennek a technikának sem a szelektivitása, sem az érzékenysége nem volt kielégítő. Később a fordított fázisú HPLC-technikák kerültek előtérbe, amelyekhez származékképzés szükséges. Az irodalomban sok fajta származékképző előfordul. Ilyen például a DNFB (1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene) és a DABS-Cl (4-(Dimethylamino)azobenzene-4'-sulfonil chloride), amelyek esetében UV detektálást használnak, illetve az OPA (orto-ftál-aldehid), a Dansyl-Cl (5-(dimethylamino)naphthalene-1-sulfonil chloride) és a fluorescamin, amelyeknél fluoreszcens detektorral mének. Azonban a származékképző módszerek (így a gázkromatográfia is) vegyszer- és sok esetben időigényes folyamatok, illetve kérdéses a származékképzés hatékonysága és a származék stabilitása is. Az elválasztási technikák közül az irodalomban még megtalálható a HPLC-ICP-AES illetve HPLC-FT-IR, amelyeket – bár hatékonyak lehetnek – nem használják széles körben a rendszer bonyolultsága miatt [4]. A HPLC-MS/MS módszert már számos vizsgálatban hatékonyan használták úgy biológiai mintáknál, mint élelmiszer- vagy étrend-kiegészítőknél. A módszer fejlesztéséhez kiindulási alapként Rodrigo és munkatársai Fast Analysis of Taurine in Energetic Drinks by Electrospray Ionization Mass Spectrometry című cikke szolgált [5]. A módszer validálását az energiaitalokon túl taurintartalmú pezsgőtablettára és tablettára is elvégeztük.

3. Anyag és módszer

A mérésekhez metanolt (Merck, Darmstadt, Germany) deszillált vizet, és taurin standardot (Sigma, St. Louis, MO, United States of America) hasztáltunk. A HPLC Perkin Elmer, Flexar típusú, a tömegspektrométer AB Sciex API 2000 típusú volt. Az elválasztást Phenomenex C18 150 x 4,6 mm, 4 μ m oszloppal végeztük.

A törzsoldat készítéséhez analitikai mérlegen kimérünk 0,025g taurin standardot és 25 cm³ barna mérőlombikba mossuk 15 ml 60 °C-os desztillált vízzel, összerázzuk, lehűtjük majd jelig töltjük a mérőlombikot, és az elkészült oldatot homogenizáljuk.

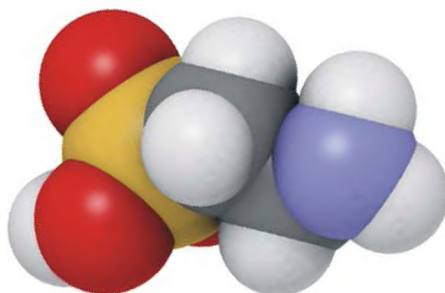
A mintaelőkészítés során a 2-3 pezsgőtablettát, illetve tablettát bemérés előtt dörzsmozsárban homogenizálunk. A minta taurin tartalmától függően analitikai mérlegen kimérünk kb. 1g mintát, amelyet 60 °C-os desztillált vízben oldunk barna mérőlombikban. Az összerázást követően az oldatot 10 percre ultrahangos fürdőbe tettük, majd szobahőmérsékletre hűtöttük és a lombikot desztillált vízzel jelre töltöttük. A további hígítást 50:50 metanol:desztillált vízzel végeztük.

Az oldatot Vortexen homogenizáltuk és 0,45 μ m-es PTFE fecskendő szűrőn 1,5 ml-es barna mintatartó edénybe szűrtük át. Az energiaitalok esetében a mintát Erlenmeyer lombikba öntöttük, majd 30-40 percre szobahőmérsékletű ultrahangfürdőbe helyeztük a folyadékban oldott széndioxid kihajtása céljából. A széndioxid kiűzését követően, kb. 1,0 ml mintát pipettázunk át egy barna mérőlombikba, majd desztillált vízzel jelre töltöttük és homogenizáltuk. A további hígítást itt is 50:50 metanol:desztillált vízzel végeztük, majd az oldatot 0,45 μ m-es PTFE fecskendő szűrővel 1,5 ml-es barna minta-tartó edénybe szűrtük.

4. Eredmények

A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiához 50:50 metanol:víz eluenst alkalmaztunk, izokratikus adagolással. Az áramlási sebesség 0,4 ml/perc, az injektálás térfogata pedig 5 μ l volt. A kromatográfiás elválasztás időigénye 8 perc, amelyen belül a taurin a 4. percnél eluálódik.

A detektálás negatív ionizációval végeztük SRM-módban, ahol az anyaion [M-H]⁻: 124,0 molekulasúlyú taurin ionból képződő m/z 80,0 iontömegű átmenetet figyeltük. A további tömegspektrometriás körülmények a következők voltak: ionforrás feszültség: -4500V; DP: -46V, fűtő hőmérséklet: 450°C, EP: -7V; CEP: -8.0eV; CE: -5.00eV; GS1: 35 l/perc; GS2: 40 l/perc.



Determination of the taurine content of energy drinks and dietary supplements using HPLC-MS/MS

Blanka Szilvássy¹, Erzsébet Schreiberné Molnár¹,
Mária Iglóváriné Molnár¹

Keywords: taurin, energy drink, HPLC, MS

1. Summary

Nowadays, due to the lack of sleep, a hectic lifestyle, lots of stress and vitamin deficiency, people are more and more exhausted and tired. This is one of the reasons of the increasing popularity of energy drinks. While at the early stage of their development, only small amounts could be bought in pharmacies, today even 2-liter bottles are available on the shelves of supermarkets. Since it is often the case that the amount of active ingredients in the products is inconsistent with the package size, therefore, excessive intake of these additives can be an everyday occurrence. This is definitely harmful to one's health in the long run, but even a single overdose can have adverse effects. The most common active ingredient in energy drinks, in addition to caffeine, is taurine whose excessive intake – even though it is found in the body – can have harmful effects.

In order to be able to monitor the taurine content of different products, a method had to be developed that is suitable for performing fast and accurate analyses, even in case of large sample numbers. This was achieved using HPLC-MS/MS.

2. Introduction and literature review

Energy drinks appeared in the early 1990's. At the time, these products served therapeutic purposes. They contained vitamins and taurine, and they were used as roborating agents and tools to help concentration [1]. These products then could only be bought in pharmacies. The basic idea of what are known today as energy drinks is associated with the founder of Red Bull. Red Bull quickly conquered Europe and America, reached Hungary in the early nineties, and was followed by several other brands. Today, there are more than 300 different kinds of energy drinks available worldwide.

In Hungary, there is no legal definition of energy drinks, nor there is one in the food codex. This category is almost exclusively defined by tax law. However, consumption is increasing every year not only for adults, but also among teenagers and children who can even drink liters per day. Since these products have high concentrations of caffeine and other methylxanthines (theophylline, theobromine etc.), as well as of other stimulants (taurine, gluconolactone etc.), and also have a high water-soluble vitamin content (1 can can cover 100% of the recommended daily intake) and other plant extracts, excessive consumption can lead to serious health problems, or even death. Several studies showed that these products can be particularly dangerous when mixed with alcohol, mainly because of the combined effects of caffeine, taurine and alcohol [2]. In 2011 and 2012, there were 232 cases of sickness associated with the consumption of energy drinks reported to the ÁNTSZ (National Public Health and Medical Officer Service), 77% of which were of young people under the age of 18, and 4% were of children between the ages of 8 and 10. The

amount of energy drink consumed ranged from 2 dl to 3 liters, often together with alcohol. There have been several studies about caffeine and its effects, showing that excessive consumption can be harmful. However, taurine is not as well known among people as caffeine. Taurine (**Figure 1**) – also known as 2-aminoethanesulfonic acid – is an amino acid that is not a building block of proteins. Its main function is the regulation of the water and mineral levels in blood, and it also facilitates the movement of glucose into cells, thus increasing physical capacity. Although it is a compound that is found in the body, it can overload the kidneys when consumed in large amounts, **and** can cause abdominal pain, nausea, addiction, and can also have a laxative effect. A report stated that even the daily intake of taurine found in 3 cans of energy drink can have neurological symptoms, but these symptoms are mild and disappear quickly. At this level, it can be a source of danger mainly for kidney patients [3].

Figure 1: Structural formula of taurine (MW: 125 g/mol; C₂H₇NO₃S)

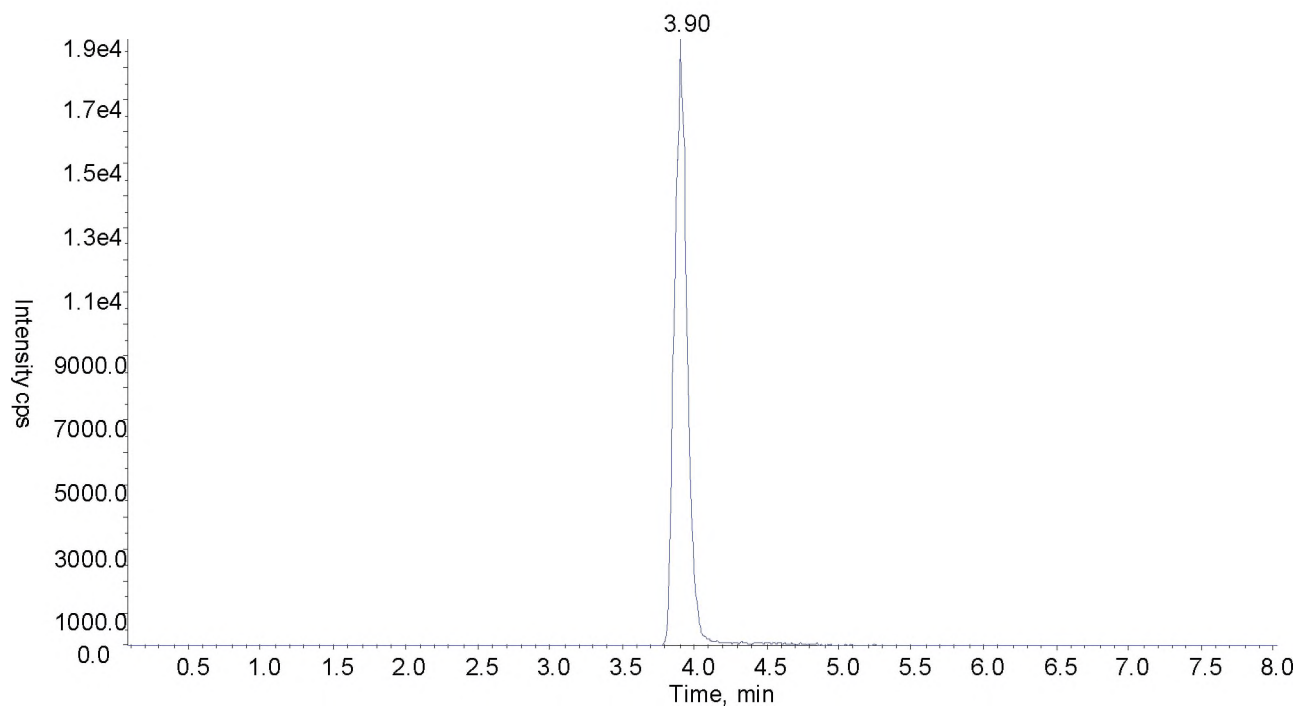
Before the 1990s, the amount of taurine in preparations was measured using amino acid analyzers, but neither the selectivity, nor the sensitivity of this technique was satisfactory. Later on, reverse phase HPLC was the preferred technique, which required derivatization. There are many derivatizing agents in the literature. Some of them, such as DNFB (1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene) and DABS-Cl (4-(Dimethylamino)azobenzene-4'-sulfonyl chloride) require UV detection, while others, such as OPA (orto-phthalaldehyde), Dansyl-Cl (5-(dimethylamino) naphthalene-1-sulfonyl chloride) and fluorescamine are measured using a fluorescent detector. However, derivatization methods, including gas chromatography, are chemical- and time-consuming procedures, and the efficiency of the derivatization and the stability of the derivative are also questionable. Other separation techniques that are also found in the literature include HPLC-ICP-AES and HPLC-FT-IR, which are not widely used – even though they can be effective – because of the complexity of instrumental setup [4]. The HPLC-MS/MS method, however, has been used effectively in several studies of biological samples, as well as of foods or dietary supplements. For the development of our method, the starting point was the article of Rodrigo et al. titled Fast Analysis of Taurine in Energetic Drinks by Electrospray Ionization Mass Spectrometry [5]. In addition to energy drinks, the method was also validated for analysis of taurine containing effervescent tablets and pills.

4. Materials and methods

Methanol (Merck, Darmstadt, Germany), distilled water and taurine standard (Sigma, St. Louis, MO, United States of America) were used for the analyses. The instruments used were a Flexar HPLC by Perkin Elmer, and an AB Sciex API 2000 mass spectrometer. Separation was performed on a Phenomenex C18 150 x 4,6 mm, 4µm column.

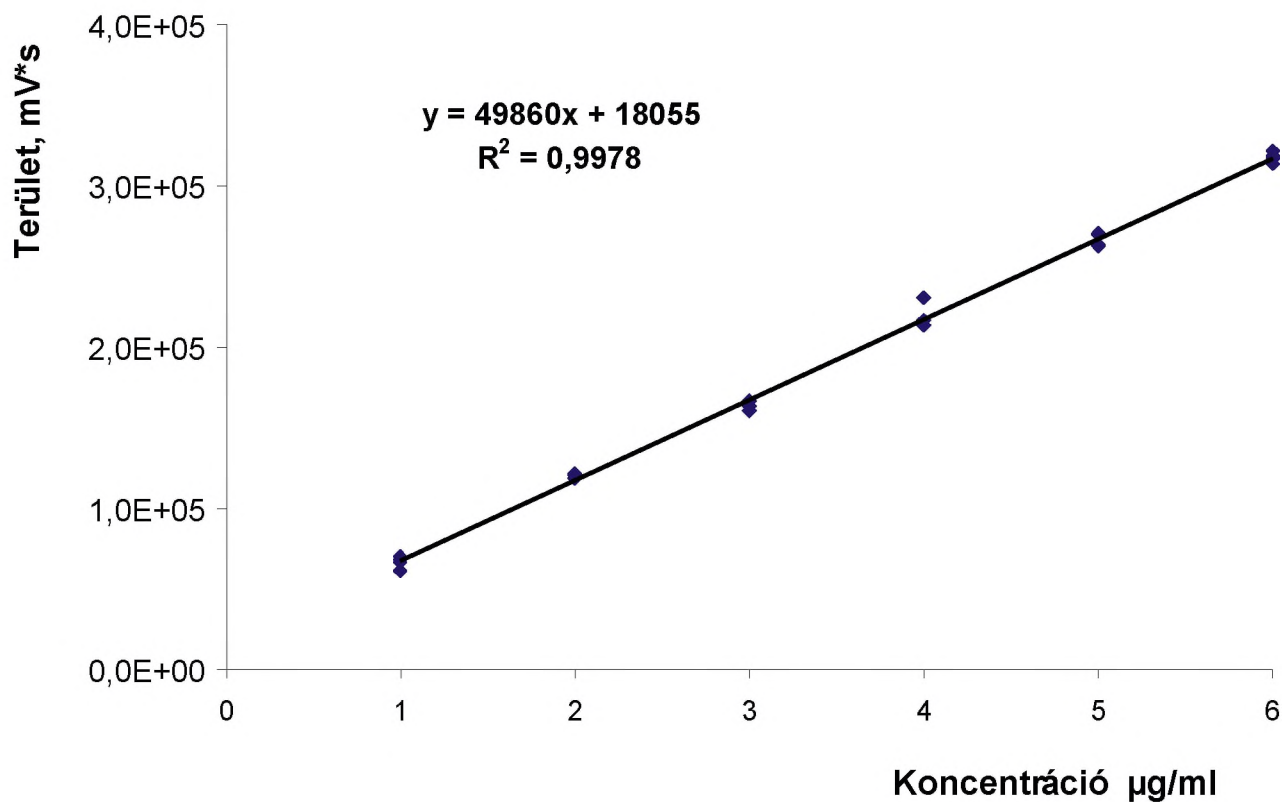
To prepare the stock solution, 0.025 g of taurine standard was measured using an analytical balance, washed into a 25 cm³ amber volumetric flask with 15 ml of 60 °C distilled water. It was then shaken, cooled, filled to mark, and the final solution was homogenized.

During sample preparation, 2 or 3 effervescent tablets or pills were homogenized in a mortar. Depending on the taurine content of the sample, ca. 1 g of the sample was weighed on an analytical balance, which was then dissolved in 60 °C distilled water in an amber volumetric flask. The solution was shaken and then placed in an



2. ábra: 10 mg/kg koncentrációjú taurin standard oldat kromatogramja
 Figure 2: Chromatogram of a 10 mg/kg taurin standard solution

A linearitás vizsgálatot 6 ponton, 1-6 µg/ml koncentrációban végeztük el, pontonként 5 ismétlésben. A vizsgálat alapján a korrelációs koefficiens megfelelőnek bizonyult ($R^2 \geq 0.995$). Az SRM módban felvett kromatogramot a **2. ábrán**, a kalibrációs egyenest pedig a **3. ábrán** mutatjuk be.



3. ábra: A linearitás vizsgálat során kapott standard kalibráció (n=5)
 Figure 3: Standard calibration obtained during testing for linearity (n=5)

ultrasonic bath for 10 minutes. It was then cooled to room temperature, and the flask was filled to mark with distilled water. A mixture of methanol and distilled water (50:50) was used for further dilutions. The solution was homogenized by a vortexer, and filtered into 1.5 ml amber sample vials through 0.45 μm PTFE syringe filters. In case of energy drinks, the sample was poured into an Erlenmeyer flask, which was then placed in a room temperature ultrasonic bath for 30 to 40 minutes to remove carbon dioxide. After the removal of carbon dioxide, ca. 1.0 ml of the sample was pipetted into an amber volumetric flask, which was filled to mark with distilled water and homogenized. Once again, a mixture of methanol and distilled water (50:50) was used for further dilutions, and solutions were filtered into 1.5 ml amber sample vials through 0.45 μm PTFE syringe filters.

6. Results

For high performance liquid chromatography, the eluent was methanol:water (50:50) in isocratic elution mode. The flow rate was 0.4 ml/min, and the injection volume 5 μl . The time required for chromatographic separation was 8 minutes, and the retention time of taurine was 4 minutes. The fragment with m/z 80.0, produced from the taurine parent ion $[\text{M}-\text{H}]^-$ with a molecular weight of 124.0 was monitored, and detection was performed in SRM mode, using negative ionization. Further mass spectrometric conditions were as follows: ion source voltage: -4500 V; DP: -46 V, heating temperature: 450 $^{\circ}\text{C}$, EP: -7 V; CEP: -8.0 eV; CE: -5.00 eV; GS1: 35 l/min; GS2: 40 l/min.

Figure 2: Chromatogram of a 10 mg/kg taurin standard solution

Linearity was tested at 6 points, in the concentration range of 1 to 6 $\mu\text{g}/\text{ml}$, with 5 replicates per point. Based on the analysis, the coefficient of correlation was adequate ($R^2 \geq 0.995$). The chromatogram recorded in SRM mode is shown in **Figure 2**, while the calibration curve is shown in **Figure 3**.

Figure 3: Standard calibration obtained during testing for linearity ($n=5$)

The limits of detection for effervescent tablets, pills and energy drinks were 0.4 mg/100 g, 0.3 mg/100 g and 0.2 mg/100 ml, respectively.

The limits of quantification were 0.4 mg/100 g, 0.6 mg/100 g and 0.4 mg/100 ml for pills, effervescent tablets and energy drinks, respectively.

When testing repeatability, the percentage relative standard deviation was less than 5 for all three sample types.

When testing reproducibility, similar results were obtained. For analyses performed on the same day, analyses performed on different days, as well as analyses performed by different analysts, relative standard deviation was less than 10% ($\text{RSD}\% < 10\%$). At this stage, variance analysis was also performed, and the results showed that there was no significant difference between the average measurement values of different days or different persons at the 95% probability level.

Accuracy was determined using two methods. On the one hand, standard addition was used, where recovery was $100 \pm 10\%$ for each sample. On the other hand, a certified reference material was used, with an accuracy of 99%. During stability testing, a standard solution of a given concentration and a prepared sample solution were kept at room temperature protected from light, exposed to light, or in a refrigerator. Taurine content was determined at regular intervals under the given analytical conditions:

every hour on day zero, and then for at least 3 days. Results showed that standard deviation was less than 10 rel% in all cases and that, for pills, concentrations measured within the first day and concentrations measured within 4 days showed no significant differences, independent of the storage location.

For effervescent tablets, concentrations measured within a day did not show a decreasing tendency, however, concentration of the sample stored in a cabinet measured on the 3rd day was lower, albeit only by a very small amount. Taurine concentration of the sample stored in a refrigerator did not change, while the taurine content of the sample stored on the table decomposed almost completely, so in case of this type of sample, proper storage conditions should be ensured, with temperatures between 4 and 8 $^{\circ}\text{C}$ being the best. For energy drinks, no tendential changes in concentration were observed either in samples measured within a day, or samples measured for 4 days.

7. Conclusions

The purpose of this study was to develop an HPLC-MS/MS method for the adequate measurement of taurine, a compound that can have adverse health effects due to excessive consumption of energy drinks. The method was successfully validated not only for energy drinks, but also pills and effervescent tablets containing taurine. Within the framework of the validation, the linearity was tested, meeting the criterion of $R^2 \geq 0.995$, and limits of detection and quantification were also determined. Repeatability and reproducibility tests proved that, during the development of the method, results of replicate measurements were within the acceptable standard deviation range ($\text{RSD}\% < 10\%$). Accuracy of the method was also acceptable, since the recovery calculated from standard addition was $100 \pm 10\%$, while accuracy of the testing of a certified reference material was 99%. Stability test showed that samples can be used within 3 days, irrespective of storage location, except for effervescent tablets where refrigerated storage is recommended. In summary, it can be stated that a routine method was developed with the following characteristics: simple sample preparation, low chemical demand, short run time, selective, accurate, robust and can be used not only for energy drinks, but also for pills and effervescent tablets containing taurine.

A kimutatási határ a pezsgőtablettára, tablettára és energiatálra pedig rendre 0,4 mg/100g, 0,3 mg/100g, 0,2 mg/100ml.

A meghatározási határ 0,4 mg/100g, 0,6 mg/100g, 0,4 mg/100ml a tablettára, pezsgőtablettára és energiatál esetében.

Az ismételhetőség vizsgálatánál mindhárom minta esetében kisebb volt a szórás 5 relatív százaléknál.

A reprodukálhatóság vizsgálatok hasonló eredményeket kaptunk. Mind az egy napon végzett, mind a különböző napon végzett vizsgálatok, illetve a különböző analitikusok által végzett vizsgálatok esetében az RSD % < 10 %. Ennél a pontnál varianciaanalízist is elvégeztünk, amely megállapította, hogy nincs szignifikáns különbség az egyes napok és a különböző személyek mérési átlagértékei között 95%-os valószínűségi szinten.

A pontosság meghatározását két módszerrel is megállapítottuk. Egyrészt standard addícióval, ahol a visszanyerés minden mintánál 100 ± 10 %-os volt. Másrészt referencia-anyagmintával, ahol 99%-os volt a pontosság. A stabilitás vizsgálatok adott koncentrációjú standard oldatot, illetve az előkészített mintaoldatokat szobahőfokon fénytől elzárt, fénynek kitett helyen, illetve hűtőszekrényben állni hagytuk. A megadott mérési körülmények között állandó időközönként; a nulladik napon óránként, majd minimum 3 napon keresztül meghatároztuk a taurintartalmat. A vizsgálatok azt mutatták, hogy a szórás minden esetben kisebb volt, mint 10 rel%, illetve, hogy a tablettára esetében az egy napon belül mért koncentrációk, illetve a 4 napon belül mért koncentrációk nem mutattak lényeges változást a tárolás helyétől függően.

A pezsgőtablettára esetében az egy napon belül mért koncentrációk nem mutattak csökkenő tendenciát, de a 3. napon mért, szekrényben tárolt minta koncentrációja az előzőektől kismértékben ugyan, de csökkent. A hűtőben tárolt minta taurin-koncentrációja nem változott, míg az asztalon tárolt minta taurin-tartalma lényegében elbomlott, így az ilyen típusú minta esetében ügyelni kell a megfelelő tárolási körülményre, amely 4-8 °C között a legmegfelelőbb. Az energiatál esetében tendenciális koncentrációváltozást sem az egy napon belül, sem a 4 napon keresztül mért mintákban nem lehetett a taurint kimutatni.

5. Következtetések

A túlzott energiatál fogyasztás miatt, sok esetben káros egészségügyi hatásokat kiváltó taurin megfelelő mérésének érdekében HPLC-MS/MS módszer kifejlesztése volt vizsgálatunk célja. A módszert sikeresen validáltuk nemcsak az energiatálokra, de taurint tartalmazó tablettára és pezsgőtablettára is. Ennek keretén belül elvégeztük a lineartitásvizsgálatot, ahol az $R^2 \geq 0.995$ teljesült, továbbá kimutatási és meghatározási határvizsgálatot is végeztünk. Az ismételhetőségi és reprodukálhatósági vizsgálatok igazolták, hogy a módszer előkészítése során a párhuzamos vizsgálatok eredményei megfelelő szóráson belül ingadoznak (RSD% < 10%). A módszer pontossága is elfogadható, hiszen a standard addícióból számolt visszanyerés 100 ± 10 %, a referencia anyagminta-vizsgálatból kapott pontosság pedig 99%-os volt. A stabilitási vizsgálatok esetében látható volt, hogy

3 napon keresztül felhasználhatók az oldott minták a tárolás helyétől függetlenül, kivéve a pezsgőtablettára esetében, ahol a hűtve tárolás javasolt. Így összefoglalásként elmondható, hogy sikerült kidolgozni egy rutin módszert, amelynek: minta-előkészítése egyszerű, vegyszerigénye alacsony, futási ideje rövid, szelektív, pontos, robosztus és nemcsak energiatálra, hanem taurint tartalmazó tablettára és pezsgőtablettára is alkalmazható.

6. Irodalom/References

- [1] Heckman, M., Sherry, K., Mejia, D., & Gonzalez, E. (2010): Energy drinks: An assessment of their market size, consumer demographics, ingredient profile, functionality, and regulations in the United States. *Comprehensive Reviews in food science and food safety*, 9(3), 303-317.
- [2] Taranukhin, A. G., Saransaari, P., & Oja, S. S. (2013): Lethality of taurine and alcohol coadministration in mice. *Adv Exp Med Biol*, 776, 29-38.
- [3] Suliman, M. E., Barany, P., Filho, J. C., Lindholm, B., & Bergstrom, J. (2002): Accumulation of taurine in patients with renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 17(3), 528-529.
- [4] Mou, S., Ding, X., & Liu, Y. (2002): Separation methods for taurine analysis in biological samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 781(1-2), 251-267.
- [5] Catharino, R. R., Haddad, R., Godoy, H. T., Eberlin, M. N., & Santos, L. S. (2011): Fast Analysis of Taurine in Energetic Drinks by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22, 801-806.



