

研究简报

用高效液相色谱法测定鱼样中的维生素 D₃ 和 E*

徐立红 陈 专 徐 盈 张甬元

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

MEASUREMENT OF VITAMIN D₃ AND VITAMIN E OF FISH SAMPLES BY HPLC

Xu Lihong, Chen Zhuan, Xu Ying and Zhang Yongyuan

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

关键词 维生素, 鱼, 测定

Key words Vitamins, Fish, Measurement

用高效液相色谱法测定维生素具有准确、灵敏等特点, 尤其是用于脂溶性维生素的测定更为简便。国内对血样、食品及饲料中的脂溶性维生素的测定均有报道^[1-3], 本文报道了对鱼中维生素 D₃ 和 E 的测定方法, 对于鱼类生理学、营养学研究具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 样品处理 取草鱼或鲤鱼组织, 充分剪碎, 混合均匀, 称取一定量, 置入具塞烧瓶中, 加入 30ml 无水乙醇, 10ml 10% 抗坏血酸, 10ml 50% 氢氧化钠, 混匀, 置于 70℃ 水浴皂化 30min, 皂化完成后, 用水冲淋烧瓶使之冷却, 加入 60ml 超纯水使醇水比大于 1:2, 用 150ml 石油醚分 3 次萃取非皂化物, 合并的石油醚层再用由石油醚饱和的水洗 3 次 (50ml × 3), 酚酞检验流出物为中性。将石油醚层过无水硫酸钠漏斗, 用旋转浓缩蒸发器将样品浓缩蒸干, 用酌量甲醇溶解, 过滤, 进行 HPLC 测定, 用外标法定量。

1.2 仪器及试剂 美国沃特斯公司高效液相色谱仪, 600MS-490MS-U6K-745B; 维生素 E 标样为 Merck 产品, 维生素 D₃ 为 Sigma 产品, 甲醇为优级纯, 石油醚用浓硫酸磺化, 其它试剂均为分析纯。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择 以能较好分离维生素 E 与 D₃ 为目的, 流动相: 95% 甲醇-水, 色谱柱: Waters NovaPak C₁₈ (5μ, 3.9 × 150mm); 检测波长: 290nm, 流速: 1.0ml/min, 灵敏度: 0.01AUFS, 在此条件下两种维生素可很好分离, 图一是两种标样的色谱图。

2.2 在所选定的色谱条件下, 进样量在一定范围内与峰高成线性关系, 维生素 D₃ 的进样量与峰高的线性回归方程为 $y = 8.642x + 0.480$, 相关系数 0.992, 线性范围 0~300ng; 维生素 E 的进样量与峰高的线性回归方程为 $y = 2.393x + 0.120$, 相关系数 0.999, 线性范围 0~400ng。

2.3 两种标样均用甲醇配制, 维生素 E 甲醇溶液在两天内稳定, 维生素 D₃ 甲醇溶液在十天内稳定。

2.4 将标样按样品处理步骤进行处理, 维生素 D₃ 与维生素 E 的平均回收率分别为 $94.27 \pm 2.53\%$, $96.82 \pm 5.09\%$; 变异系数分别为 2.7% 和 5.3%。两种维生素经皂化、萃取、浓缩等处理后回收率均在

* 本研究属中国科学院水生生物研究所所长择优基金项目。

1992 年 12 月 27 日收到。

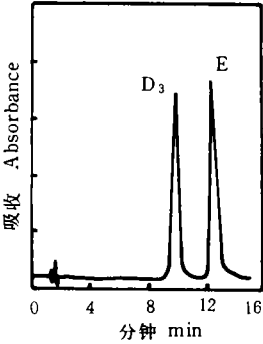


图 1 维生素 D₃、E 标样色谱图(色谱条件见 1.)
Fig.1 Chromatography of standard vitaminD₃ and E

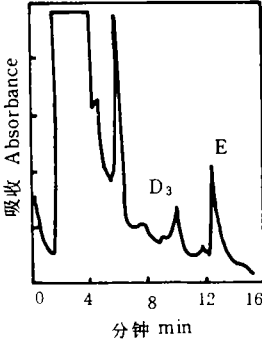


图 2 草鱼肝中维生素 D₃、E 色谱图(色谱条件同图 1)
Fig.2 Chromatography of vitamin D₃ and E in grass carp liver

90%以上,可满足实验要求。将维生素 E 标样加至鱼样中测添加回收率(表 1),回收率高于 93%。
2.5 用此方法对草鱼肝进行测定,如图 2 所示。鱼肝成分相当复杂,但经皂化后基本对 D₃ 和 E 的测定无干扰,可见皂化效果很好。
2.6 表 2 是对鲤鱼肝、精巢的维生素 E 测定的结果。精巢中含有较多的结缔组织,皂化前要充分剪碎,碾磨均匀,否则皂化不完全,会影响测定重现性。

表 1 维生素 E 在鱼样中的回收率
Tab.1 Recoveries of vitamin E in fish sample

原含量 (ng) Original amount	添加量 (ng) Added amount	测得量 (ng) Measured amount	回收量 (ng) Recovered amount	回收率 (%) Recovery rate
5.749	1.927	7.574	1.825	94.7
3.872	1.847	5.595	1.723	93.3
4.090	1.847	5.810	1.720	93.1
平均回收率 Mean recovery rate 93.7±0.87%				

表 2 鲤鱼组织中维生素 E 的测定(单位:μg / g 湿重)
Tab.2 Vitamin E amount in carp tissues (μg / g wet weight)

样 品 Sample	样 1 Sample 1	样 2 Sample 2	样 3 Sample 3	平均值±标准差 Mean±SD
鱼肝 Liver	17.71	16.31	17.13	17.05±0.70
精巢 Spermary	14.10	12.47	16.75	14.44±2.16

参 考 文 献

[1] 叶惟冷等. 高效液相色谱法分析牛乳中脂溶性维生素和β-胡萝卜素. 色谱, 1992, 10(4): 240—241.
[2] 赵鹏等. 反相高效液相色谱同时检测人血浆(清)中V_A和α-V_E. 色谱, 1987, 5(1): 48—50.
[3] 颜金莲. 新型添加剂中脂溶性维生素的高效液相色谱测定方法的研究. 分析化学, 1991, 19(11): 1279—1281.