

分光光度法测定生物样品中胆碱的含量

师治贤 张金霞 李兆琳 袁秋生 李延兵
(中国科学院西北高原生物研究所) (兰州大学分析测试中心) (甘肃供销社科研所)

摘 要

本文用分光光度法测定了不同生物样品中胆碱的含量。改进的方法是采用在碱性溶液中利用英利纳克盐与胆碱生成衍生物沉淀来定量,操作简单,快速和准确,其回收率在 92.42—98.75%,不同生物样品的相对标准偏差为0.28—2.20%。

关键词: 生物样品;分光光度法;胆碱

胆碱 (choline, 氢氧化羟乙基三甲胺)存在于动物和植物中,是肝脏中抗脂肪要素。动物体中缺少胆碱,易患肝硬化和肾脏出血等疾病。胆碱也是评价饲料营养水平和药用价值的重要指标(中国科学院自然科学名词编订室,1964;高钰编译,1960)。国外对饲料中胆碱的分析已见报道 (Sana E. 等,1983)。国内尚未见报道,在前人研究工作的基础上,作者对分析方法进行了改进,并成功地测定了 59 种生物样品,回收率在 92.42—98.75%,不同的生物样品的相对标准误差是 0.28—2.20%。

一、实验部分

(一) 样品、试剂和仪器

样品由青海省饲料公司提供。

实验用甲醇、丙酮、异丙醇、氢氧化钠和英利纳克盐等试剂为分析纯,胆碱标准品含量是 95%。

721 分光光度计(上海分析仪器厂)。

(二) 实验方法

精确称取 2.00 克样品,加入 20 毫升 15% 的硝酸溶液,用小火缓慢加热回流煮沸 2 小时,然后,冷却过滤。滤液用氢氧化钠(先用固体,后改用 50% 的溶液)调 pH 值为 11—13,定容至 25 毫升。准确取 5 毫升,慢慢加入 5% 的英利纳克盐的甲醇溶液 2 毫升,摇动均匀置冰箱中(5°C 左右)10 小时,沉淀出胆碱英利纳克盐,并用 0.45 毫微米的微孔膜过滤,沉淀用异丙醇洗涤,将洗涤的沉淀放在 100°C 左右的烘箱中干燥,干燥后用 10 毫升的丙酮重新溶解,过滤,滤液在 526nm 波长下测定吸光度,由标准曲线计算测定结果。

(三) 标准曲线的绘制

精确配置每毫升含 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 和 5.0 毫克的胆碱标准溶液。以胆碱浓度对吸光度作图, 呈很好的线性关系, 相关系数 $r = 0.9999$, 其标准曲线如图 1。

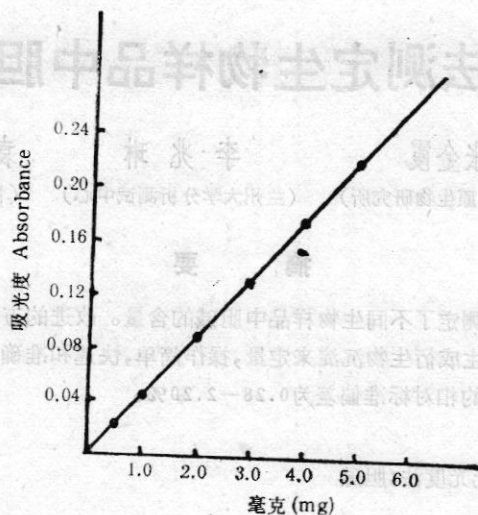


图 1 胆碱标准曲线

Fig. 1 Standard curve of choline

二、结果与讨论

(一) 精密度实验

选择具有代表性的 4 种生物样品, 每 1 样品按实验方法进行分析, 得到了高的精密度和准确度, 其结果如表 1。

表 1 不同生物样的胆碱准确度和精密度 (毫克/100 克)

Table 1 Precision and accuracy of choline of different biological sample (mg/100g)

样 品 Samples	1	2	3	4	5	平均值 Average	标准偏差 S.D.	相对标准误差 R.S.D.%
苜 蓿 <i>Medicago sativa</i>	289	298	290	305	303	297	6.54	2.20
大 麦 <i>Hordeum vulgare</i>	981	984	987	989	984	985	2.76	0.28
血 粉 Blood powder	851	857	855	858	848	854	3.46	0.41
菜 籽 饼 Rapeseed cake	1397	1406	1402	1409	1401	1403	4.15	0.30

(二) 胆碱的回收率实验

要得到好的定量结果, 生物样品中回收率是十分重要的。准确取一定量的胆碱标准

表2 胆碱回收率

Table 2 Recovery of choline

胆碱的加入量(毫克) Added (mg)	1.0	1.0	2.0	2.0	2.0
测定值(毫克) Determination (mg)	0.9535	0.9421	1.9296	1.9750	1.8842
回收率 Recovery %	95.35	94.21	96.48	98.75	94.21

品,按照实验方法操作,然后在分光光度计上定量,其结果如表2。

(三) 实验方法的改进

作者对实验方法从两方面进行了改进,第1是衍生物的沉淀条件的控制;第2是干燥条件的改变。E. Sana 等人是将生成的胆碱英利纳克盐用浓硫酸干燥,其时间长,效果并不理想,而采用在 100℃ 烘箱中干燥,既缩短了时间且操作方便,效果也理想。硝酸水解后的样品,为了使 pH 迅速调到 11—13,先用固体的氢氧化钠粗调,再用 50% 的氢氧化钠溶液调到 11—13。这样大大缩小了溶液的体积,减少了下一步实验的麻烦,而从准确度的数据和回收率的结果来看令人满意。

(四) 方法的应用

利用建立的分析方法对 59 种不同的动物和植物样品进行了定量分析(表3)。其结

表3 不同生物样品胆碱的分析结果

Table 3 Analytical result of choline of different biological sample

样 品 Samples	胆碱含量(毫克/100克) Content of choline (mg/100g)	样 品 Samples	胆碱含量(毫克/100克) Content of choline (mg/100g)
豌豆秧 <i>Pisum sativum</i> vine	295	大头菜 <i>Brassica oleracea</i>	514
苜 蓿 <i>Medicago sativa</i>	297	洋 芋 <i>Solanum tuberosum</i>	514
青燕麦 Green <i>Avena sativa</i>	283	醋 渣 Dregs of vinegar	98
洋芋茎叶 Stem and leaf of <i>Solanum tuberosum</i>	231	酱油渣 Residue of soy sauce	64
毛 苕 子 <i>Vicia villosa</i>	433	粉 渣 Bean powder residue	102
甜 菜 根 <i>Beet vulgaris</i> root	522	豆 腐 渣 Soya-bean residue	218
胡萝卜根 <i>Raphanus sativus</i> root	437	植物蛋白 Plant protein	126
胡萝卜叶 <i>Raphanus sativus</i> leaf	428	白酒糟 I Distillers' grains of white spirit I	516
大 白 菜 <i>Brassica pekinensis</i>	498	啤酒糟 I Distillers' grains of beer I	83
柳 树 叶 <i>Salix</i> spp.	583	啤酒糟 II Distillers' grains of beer II	75
榆 树 叶 <i>Ulmus</i> spp.	222		

样品 Samples	胆碱含量(毫克/100克) Content of choline (mg/100g)	样品 Samples	胆碱含量(毫克/100克) Content of choline (mg/100g)
甜菜叶 <i>Beet vulgaris</i> leaf	272	黑面 Black flour	1 037
白酒糟 II Distillers' grains of white spirit II	104	麸皮 V Bran V	1 024
粗干酪素 Dry coarse casein	62	大麦 <i>Hordeum vulgare</i>	560
青裸 <i>Hordeum vulgare</i> var. <i>nudum</i>	282	菜籽饼 Rapeseed cake	285
青豌豆 Green <i>Pisum sativum</i>	236	发酵血粉 I Zymotic blood powder powder I	180
蚕豆 <i>Vicia faba</i>	315	酶化血粉 Enzymatic blood powder	176
小麦 1 <i>Triticum aestivum</i> 1	425	肉骨粉 III 级 Meat-bone powder III	565
胡麻饼 <i>Sesamum indicum</i> cake	292	肝渣 Liver dregs	185
小麦 2 <i>Triticum aestivum</i> 2	1 281	普通肉骨粉 General meet-bone powder	255
麸皮 I Bran I	393	肺粉 Lung powder	230
土面 Dirty flour	1 450	泥炭 II Peat II	58
麸皮 II Bran II	1 159	泥炭 IV Peat IV	250
麸皮 III Bran III	1 220	肉骨粉 II 级 Meat-bone powder II	295
浸出菜籽 Extracted rapeseed oil	562	肚渣 Tripe-dregs	204
箭舌豌豆 <i>Vices sativa</i>	792	血粉 Blood powder	854
黄燕麦 Yellow <i>Avena sativa</i>	138	泥炭 I Peat I	61
黑燕麦 Black <i>Avena sativa</i>	410	泥炭 III Peat III	182
麸皮 IV Bran IV	985	药渣 Dregs of medicinal herbs	466
脱毒菜籽饼 A De-toxic rapeseed cake A	58		
未脱毒菜籽饼 A Non-detoxic rapeseed cake A	1 403		

果表明该方法简便、快速、准确,同时,适用范围也广泛。

参 考 文 献

中国科学院自然科学名词编订室,1964,汉译海氏有机化合物辞典.第一册,882,科学技术出版社。
 高钰编译,1960,化学药品辞典. pp.353,上海科学技术出版社。
 Sana, E., Valdes Martinez, 1983, Simultaneous Determination of Choline and Betaine in Some Fish Materials. *Analyst* 108: 1114—1119.

MEASUREMENT OF CHOLINE BY SPECTROPHOTOMETRY IN DIFFERENT BIOLOGICAL SAMPLE

Shi Zhixian and Zhang Jinxia

(Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining)

Li Zhaolin

(Instrumental Analysis and Research Center, Lanzhou University)

Yuan Qiusheng and Li Yanbing

(Scientific Research Institute, Supply and Marketing Cooperation of Gansu)

The assay of choline of different biological sample as water-insoluble reineckate derivatives has been adapted to this analytical method of improvement. Under an alkaline condition (pH 11—13) choline reineckate salts are precipitated. The reineckate salts are re-dissolved in acetone to give pink solution for spectrophotometric measurement at 526 nm. The relative standard deviation of 0.28 to 2.20% illustrates the precision of the method and the recovery of the choline of different samples ranged from 92.42 to 98.75%. The method is rapid, simple and accurate.

Key words: Biological sample; Spectrophotometry; Choline.