

文章编号: 1004-7271(2004)01-0084-04

·研究简报·

10-羟基-2-癸烯酸的紫外分光光度法快速测定的研究

Study on the Rapid Determination of 10-Hydroxy-2-Decenoic Acid by Ultraviolet Spectrophotometry

徐 焰, 李柏林, 程 明, 欧 杰, 黄丽珍

(上海水产大学食品学院, 上海 200090)

XU Yan, LI Bai-lin, CHEN Ming, OU Jie, HUANG Li-zhen

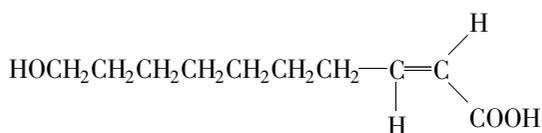
(College of Food Science, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090)

关键词: 10-羟基-2-癸烯酸, 紫外分光光度法, 测定

Key words: 10-hydroxy-2-decenoic acid; UV spectrophotometry; determination

中图分类号: O657.32 文献标识码: A

10-羟基-2-癸烯酸(10-Hydroxy-2-Decenoic Acid, 简称 10-HDA)是一种不饱和脂肪酸。10-HDA 具有强烈抑制移植性 AKR 白血病、TA3 乳腺癌及多种腹水型艾利虚癌等癌细胞生长的作用^[1]。研究表明 10-HDA 具有免疫调节和抗肿瘤的作用, 还具有极高的药用和保健价值。对 10-HDA 在毒理学、药理学和抗肿瘤方面的研究国内外有大量报道^[2-4]。其分子式如下图所示。



因此, 关于 10-HDA 的测定方法的研究也显得尤为重要。关于 10-HDA 测定方法的研究多见报导: 气相色谱法(GC)、高压液相色谱法(HPLC)、萃取分离的分光光度法、差示分光光度法、一阶导数分光光度法、薄层色谱法(TLC)、毛细管电泳法(CE)等^[5-7]。但这些方法都受到样品处理和测定时间等多种因素的限制, 操作复杂、成本高、效率低, 不能满足科学研究和工业生产的基本需要。本文通过研究, 提出快速的 10-HDA 紫外分光光度测定法。该方法操作简便, 适用于 10-HDA 的相关研究工作^[6, 8, 9]。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 斜面种子的培养基

蛋白胨 5g/L、牛肉浸膏 3g/L、氯化钠 8g/L、琼脂 13g/L、蜂王浆渣 10g/L、自来水。pH 为 7 左右

收稿日期: 2003-10-22

基金项目: 上海科委新药发展基金项目(编号 014319234)

作者简介: 徐 焰(1982-)女, 江西南昌人, 专业方向为食品生物技术、微生物代谢与调控。E-mail: y-xu@shfu.edu.cn

通讯作者: 李柏林(1970-)男, 江苏建湖人, 博士, 从事微生物次级代谢、生化工程方向的研究。Tel: 021-65710222, E-mail: blli@shfu.edu.cn

1.1.2 液体种子培养基

无水葡萄糖 8g/L、王浆渣 5g/L、氯化钠 8g/L、蛋白胨 5g/L、牛肉浸膏 3g/L、自来水。pH 为 7 左右

1.1.3 发酵培养基

无水葡萄糖 8g/L、NaNO₃ 2.5g/L、MgSO₄·7H₂O 5g/L、K₂HPO₄ 2g/L、蓖麻油 4mL/L、自来水。pH 为 7.0

1.1.4 试剂

10-HDA 标准样品(Sigma ,99.7%)、盐酸、NaOH、乙醇

1.1.5 培养条件

最适初始 pH 值为 7.0 ,转速 230r/min ,发酵温度 28℃ ,发酵周期 40h。

1.2 方法

1.2.1 10-HDA 波长的确定

配制 10 μ g/mL 的标准溶液 ,在紫外扫描仪上由 190nm 扫至 230nm ,来确定其最大吸收波长。

1.2.2 工作曲线

准确称取 0.020g 10-HDA 标样 ,加 1.3mL 95% 乙醇溶解 ,用去离子水定容到 200mL。分别取 1.0mL、2.0mL、3.0mL、4.0mL、5.0mL 定容到 50mL。其浓度分别为 2 μ g/mL、4 μ g/mL、6 μ g/mL、8 μ g/mL、10 μ g/mL。以 0.325mL 乙醇加去离子水定容至 50mL 为空白。调零 ,于吸收波长处 ,用 752 紫外分光光度仪测定。

1.2.3 样品测定

(1) 标准样品中 10-HDA 测定

精确称取 0.150g 标准样品加 6.5mL 乙醇 ,定容至 1000mL。取一定量 ,稀释至 50mL ,于吸收波长处测定。

(2) 发酵液中 10-HDA 的测定

吸取 0.5mL 发酵液加 4.5mL 乙醇 ,混匀后静置 5min ,然后 3000r/min ,离心 10min。取 1.0mL 上清液 ,定容至 50mL ,于吸收波长处测定。

1.2.4 精确度和回收率的测定

(1) 精密度

吸取 2mL 稀释样品液 ,定容至 50mL。做 10 份平行。于吸收波长处进行测定 ,并对其结果进行误差分析。

(2) 回收率

吸取 1.0mL、1.5mL、2.0mL 样品液定容到 100mL ,各取 1mL 定容至 50mL。同时 ,分别取 1.0mL、2.0mL 标准 10-HDA 液 (10 μ g/mL) 定容至 50mL ,于吸收波长处进行测定。

2 结果与讨论

2.1 最大吸收波长的确定

由紫外扫描仪上所得结果(图 1)可看出 ,10-HDA 的最大吸收波长为 208nm。

2.2 10-HDA 检测工作曲线

工作曲线如图 2 所示

由图所得其标准曲线公式为：

$$Y = 0.0715X - 0.0031$$

相关性 $R^2 = 0.9999$,10-HDA 含量的计算公式为：

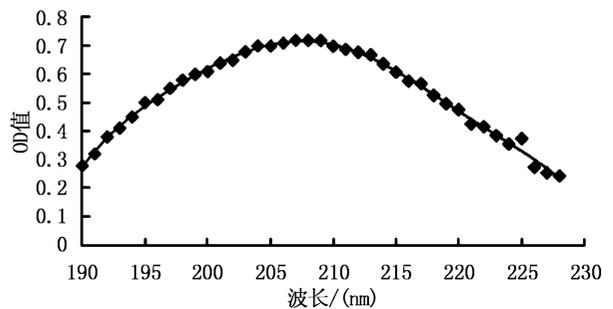


图 1 最大吸收波长的确定

Fig. 1 Determination of the maximal absorption wave length

$$10\text{-HDA 含量} = \frac{x}{w} \times 25000$$

式中, X - 样品吸光值 Y 代入回归曲线方程计算得到的测定浓度 ($\mu\text{g/mL}$), W - 样品的重量 (g), 25000 为稀释倍数。

2.3 精确度

以提纯品为基准, 进行十次平行测定, 结果如表 1 所示。平均标准偏差 0.5, 变异系数 0.01。由此可见该方法精确度较高。

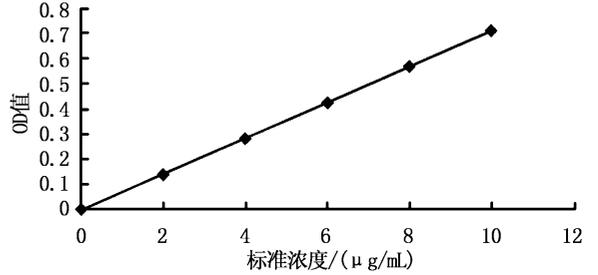


图 2 工作曲线

Fig.2 Working curve

表 1 纯化样品中 10-HDA 含量的相对平均偏差

Tab.1 The relative average deviation of the 10-HDA in pure sample

试样	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
含量 (%)	74.7	74.7	73.9	73.3	74.1	74.1	73.9	73.4	73.9	73.3
平均值	73.9									
平均标准偏差	0.5									
变异系数	0.01									

2.4 回收率

以提纯品为样品 (10-HDA 含量 73.9%), 分别加入不等量的 10-HDA 标准溶液, 测得的回收率如表 2 所示。平均回收率为 97.8%。

表 2 回收率测定

Tab.2 The determination of recoverable rate

取样量 (ML)	加入量 (UG)	理论量 (UG)	测得总量 (UG)	回收率 (%)
1.0	100	212.9	205.7	96.6
1.5	100	269.5	260.0	96.5
2.0	100	325.9	319.0	97.9
1.0	200	312.9	305.5	97.6
1.5	200	369.5	363.0	98.2
2.0	200	425.9	428.0	100

2.5 气相色谱法

2.5.1 发酵液中 10-HDA 含量的测定

罐发酵所得发酵液, 经气相色谱法测定, 10-HDA 的产量为 0.2087g/100mL。

2.5.2 紫外测定法与气相色谱法的相关性

发酵液、提纯样品的紫外测定结果分别为 0.214 和 0.739。发酵液、提纯样品的气相色谱法测定的结果分别为 0.208 和 0.715。两种方法之间的相关性为 0.97。结果表明本文建立的 10-HDA 测定方法的相关性较文献资料报道的更好。

3 结论

研究结果表明, 10-HDA 的最大吸收波长为 208nm, 工作曲线相关性为 0.9999, 平均标准偏差 0.5, 变异系数 0.01, 与气相色谱法之间的相关性为 0.97。

本文建立的 10-HDA 的快速紫外分光光度测定法比较文献报道的其它方法更简便、快速、准确, 更容易掌握, 为 10-HDA 的相关研究提供了可靠的检测方法。

参考文献：

- [1] 江苏新医学院. 中药大词典(下册) [M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 2478.
- [2] Ferlat S, Bottex G C, Li M, et al. Effect of a synthetic immunomodulator on the regulation of gamma interferon and interleukin -10 production during Salmonella sepsis in ITYs mice [J]. Int J Immunopathol Pharmacol. 1997, 10(3): 167.
- [3] Wang G Y, Lin Z B. Effect of 10-hydroxy-2-decenoic acid on phagocytes and cytokines production of peritoneal macrophages in vitro [J]. Acta Pharmacol Sin, 1997, 18(2): 180.
- [4] Chen Y H, Dai J Z, Yan H F, et al. Preliminary studies on the antitumor and phagocytosis of royal jelly and 10-hydroxy-2-decenoic acid [J]. Pharm Ind, 1985, 16: 219.
- [5] 栗风珍, 高传喜. 快速测定蜂王浆中蜂王酸的分光光度法研究 [J]. 分析化学, 1995, 23(1): 56-59.
- [6] 古 宁, 于如瑕, 杨清华, 等. 双波长薄层扫描法定量分析蜂王浆中 10-羟基-2-癸烯酸 [J]. 中成药研究, 1987, 6: 28-29.
- [7] Li J, Zhang H X, Kou X L, et al. Separation and Determination of 10-Hydroxy-2-decenoic Acid in Royal Jelly by Capillary Electrophoresis [J]. Chromatographic, 1995, 41: 9-10.
- [8] Li B L, Kang Y X, Ling J, et al. Primary Studies on the Microbial Fermentation of 10-Hydroxy-2-Decenoic Acid By Candida BH002 [J]. Food science, 2002, 23(8): 185.
- [9] Kang Y X, Li B L, Guo D F, et al. Primary studies on the Microbial Fermentation of 10-Hydroxy-2-Decenoic Acid By Candida BH002 [J]. Food science, 2002, 23(8): 193.

《印度洋西北海域的鱼类》内容简介

《印度洋西北海域的鱼类》一书由上海美术出版社出版, 是我国继《中东大西洋底层鱼类》之后出版的第二部远洋鱼类彩色图书, 该书经上海水产大学多位专家审改、补充, 涵盖了我国水产远洋渔业有限责任公司 200 余艘远洋渔船, 十八年来在印度洋西北海域实际生产中收集的常见鱼类与经济鱼类, 是我国利用远洋捕捞作业船为探测手段, 独立完成的世界区域性海洋渔业资源的工具书。全书共 234 页, 进口铜版纸彩色印刷, 16 开精装本, 定价为每本 118 元, 邮费为定价的 10%。

本书收集鱼类计 205 种, 隶属于 18 目、80 科、126 属; 甲壳类 12 种, 隶属于 1 目、5 科、8 属; 头足类 9 种, 隶属于 3 目、5 科、6 属。每种依次列出拉丁学名、汉、英、法、西五种文字名称及俗称、商品名称。该书除了阐述每个种类的形态特征、分布、生态习性、捕捞工具、经济价值外, 均附有彩色图片, 以供校对查阅。

该书是中水远洋渔业有限责任公司和上海水产大学双方通力合作的丰硕成果, 不仅为远洋渔业提供了基础资料还普及了科学知识, 对进一步开发利用鱼类资源和科学管理具有重要意义。适合于从事远洋渔业生产, 水产科研与教学、渔业贸易与商品检验的工作人员阅读。

编辑部地址: 上海市军工路 334 号 48 信箱《水产学报》编辑部

邮 编 200090

联系电话: 021-65710232;

联系人: 伍稷芳