

上海科学技术文献出版社



聂洪勇 黄伟坤 唐英章 付举正编著

# 维生素及其分析方法

WEISHENG SU JIQI FENXI FANGFA

# 维生素及其分析方法

聂洪勇 黄伟坤 唐英章 付举正编著

上海科学技术文献出版社

## 内 容 提 要

全书共十四部分，绪言中列出了维生素的一般分类、命名、计量单位，以及维生素的生理功能和分析的意义。第二至十三部分介绍了维生素 A 等 12 种维生素的分析方法。每一种维生素分析中又介绍了重量法、容量法、比色法和紫外分析法、电化学法、薄层层析法、气相色谱法、荧光法以及微生物法。同时还叙述了其化学性质及其提取。第十四部分综述了维生素中的微生物分析的基本方法。

本书可供从事食品生产与分析、医疗卫生、药物检验和畜牧农业等科技人员以及有关大专院校专业师生参考。

## 维生素及其分析方法

聂洪勇 黄伟坤 唐英章 付举正编著

\*

上海科学技术文献出版社出版发行

(上海市武康路 2 号)

新华书店经销 昆山亭林印刷厂印刷

\*

开本 787×1092 1/32 印张 8.25 字数 199,000

1987 年 9 月第 1 版 1987 年 9 月第 1 次印刷

印 数: 1—8,600

ISBN 7-80513-061-2/T·35

定 价: 2.00 元

《科技新书目》154—279

## 前 言

维生素是一类性质各别的低分子有机化合物。它们之所以归为维生素,并不是根据它们的化学特性,而是根据它们的生物功能。维生素是食物的构成成分,它们都是天然有机化合物,在生物体的生命活动中具有十分重要的作用,是维持人体正常生理生化功能不可缺少的营养物质。近年来,人们对维生素越来越关心,尤其是知道某些维生素能防治癌症和冠心病以来,对维生素更感兴趣,其研究工作不断扩大。人们研究各种维生素的生理生化功能时,除需要了解其化学特性、来源以及各种食物中的含量外,更重要的是需要一套检验与分析各维生素的方法。

随着科学技术的发展,特别是食品检验技术的发展,各种维生素的检测技术也有很大发展。最初维生素的检定是以测定缺乏维生素的动物的特殊效应为基础的,但这些方法成本高,又费时。经过多年的努力,已有较容易和准确的测定方法,即化学法、微生物学法、动物治疗和保护性试验以及生物化学法。近年来,随着色谱技术的发展,维生素的检测技术又发展了薄层层析法、气相色谱法、荧光法以及液相色谱法。这些方法简便、准确和灵敏度高,为食品中微量的维生素检测提供了手段。

鉴于目前人们对各种维生素的需要量日益增加,并由于科学技术的发展,新型仪器的生产和使用,为了让人们更好地了解维生素及其分析方法,我们结合日常检验工作的实践并搜集了一些国内外的方法编写成《维生素及其分析方法》一书。书中不但介绍了各种维生素的生理生化功能,而且着重介绍了十二种维

生素的分析方法。这些方法有经典的重量法和容量法；也有各种类型的色谱法，为药物、食品以及饲料中各种维生素含量提供检测手段。

鉴于我们水平有限，加上维生素种类繁多，分析内容复杂以及分析技术的不断发展，书中谬误之处，在所难免，请读者批评指正。

本书在国家商品检验局组织下，经过国家商品检验局、湖南商品检验局以及上海商品检验局有关人员共同努力下完成的。承蒙湖南医学院卢义钦教授和王汨滨老师的详细审阅，谨此表示致谢。

编著者 1986年10月

# 目 录

|                       |    |
|-----------------------|----|
| 一、绪言                  | 1  |
| (一) 维生素的一般分类、命名以及计量单位 | 1  |
| (二) 维生素的营养学及其分析的意义    | 4  |
| (三) 维生素分析的一般程序及分析技术   | 14 |
| 二、维生素 A               | 18 |
| (一) 化学性质及其提取          | 18 |
| (二) 分析方法              | 20 |
| 1. 分光光度法              | 20 |
| 2. 荧光分析法              | 36 |
| 3. 气相色谱法              | 41 |
| 4. 高效液相色谱法            | 42 |
| 三、维生素 D               | 52 |
| (一) 化学性质及其提取          | 52 |
| (二) 分析方法              | 53 |
| 1. 分光光度法              | 53 |
| 2. 荧光分析法              | 58 |
| 3. 气相色谱法              | 59 |
| 4. 高效液相色谱法            | 60 |
| 5. 薄层层析法              | 72 |
| 四、维生素 E               | 82 |
| (一) 化学性质及其提取          | 82 |
| (二) 分析方法              | 83 |

|                                  |     |
|----------------------------------|-----|
| 1. 分光光度法 .....                   | 83  |
| 2. 荧光分析法 .....                   | 102 |
| 3. 气相色谱法 .....                   | 105 |
| 4. 高效液相色谱法 .....                 | 109 |
| <b>五、维生素 K</b> .....             | 113 |
| (一) 化学性质及其提取 .....               | 113 |
| (二) 分析方法 .....                   | 114 |
| 1. 分光光度法 .....                   | 114 |
| 2. 气相色谱法 .....                   | 116 |
| 3. 高效液相色谱法 .....                 | 120 |
| <b>六、维生素 B<sub>1</sub></b> ..... | 121 |
| (一) 化学性质及其提取 .....               | 121 |
| (二) 分析方法 .....                   | 122 |
| 1. 重量法 .....                     | 122 |
| 2. 容量法 .....                     | 124 |
| 3. 分光光度法 .....                   | 124 |
| 4. 电化学法 .....                    | 127 |
| 5. 薄层层析法 .....                   | 130 |
| 6. 荧光分析法 .....                   | 131 |
| <b>七、维生素 B<sub>2</sub></b> ..... | 139 |
| (一) 化学性质及其提取 .....               | 139 |
| (二) 分析方法 .....                   | 140 |
| 1. 分光光度法 .....                   | 140 |
| 2. 荧光分析法 .....                   | 141 |
| 3. 微生物法 .....                    | 150 |
| 4. 液相色谱法 .....                   | 154 |
| 5. 其它方法 .....                    | 156 |

|                             |     |
|-----------------------------|-----|
| <b>八、泛酸</b>                 | 157 |
| (一) 化学性质及其提取                | 157 |
| (二) 分析方法                    | 157 |
| 1. 比色法                      | 157 |
| 2. 容量法                      | 161 |
| 3. 微生物法                     | 162 |
| <b>九、维生素 B<sub>6</sub></b>  | 167 |
| (一) 化学性质及其提取                | 167 |
| (二) 分析方法                    | 168 |
| 1. 容量法                      | 168 |
| 2. 分光光度法                    | 168 |
| 3. 荧光分析法                    | 171 |
| 4. 气相色谱法                    | 177 |
| <b>十、维生素 B<sub>12</sub></b> | 180 |
| (一) 化学性质及其提取                | 180 |
| (二) 分析方法                    | 181 |
| 1. 比色法                      | 181 |
| 2. 微生物法                     | 183 |
| 3. 原子吸收分光光度法                | 187 |
| 4. 电化学法                     | 189 |
| <b>十一、叶酸</b>                | 192 |
| (一) 化学性质及其提取                | 192 |
| (二) 分析方法                    | 193 |
| 1. 比色法                      | 193 |
| 2. 紫外分光光度法                  | 197 |
| 3. 荧光分析法                    | 198 |
| 4. 薄层层析法                    | 201 |

|                             |            |
|-----------------------------|------------|
| 5. 液相色谱法 .....              | 203        |
| 6. 微生物法 .....               | 206        |
| <b>十二、烟酸(尼克酸)、烟酰胺 .....</b> | <b>210</b> |
| (一) 化学性质及其提取 .....          | 210        |
| (二) 分析方法 .....              | 211        |
| 1. 容量法 .....                | 211        |
| 2. 分光光度法 .....              | 211        |
| 3. 气相色谱法 .....              | 221        |
| 4. 高效液相色谱法 .....            | 223        |
| 5. 微生物法 .....               | 224        |
| <b>十三、维生素 C .....</b>       | <b>228</b> |
| (一) 化学性质及其提取 .....          | 228        |
| (二) 分析方法 .....              | 229        |
| 1. 氧化还原滴定法 .....            | 230        |
| 2. 分光光度法 .....              | 234        |
| 3. 光电比浊法 .....              | 238        |
| 4. 电化学法 .....               | 241        |
| 5. 荧光分析法 .....              | 244        |
| <b>十四、维生素的微生物分析法 .....</b>  | <b>249</b> |

# 一、绪 言

## (一) 维生素的一般分类、命名 以及计量单位

### 1. 维生素的一般分类和命名

维生素分为脂溶性维生素和水溶性维生素两大类。它们广泛存在于各种生物体中。它们在不同的生物样品中的含量相差悬殊,有的以 100 g 样品中含有几微克,有的则为数十或数百毫克。它们有一些是单一化合物,而大部分则是具有不同程度生物活性的几种相近的化合物。例如,维生素 E 就包含 4 种以上不同生物活性的化合物。最初,维生素是按照它们被发现的次序,以英文字母 A、B、C、D…… 等进行命名的。后来发现有的维生素命名重复即同一化合物有两或三个名称,或有的化合物不是维生素被命名为维生素的物质。例如,维生素 F,后来证明它是一种脂肪酸,即为亚麻酸或亚油酸,因此将该名取消。B 族维生素包含了多种不同的维生素,因而在其字母下注以符号,以资区别等。

维生素的命名对于维生素本身的分析是很重要的。如果使用的名称不统一,在比较分析结果时将会引起混乱。维生素命名过去比较混乱,各国都有各自习惯使用的名称,1975 年召开了专门的国际会议,统一了维生素的命名。

表 1-1 中列出了已经确定的维生素及其名称。

在维生素的分析报告中,应使用统一的名称,以利确切地说

表 1-1 维生素及它们的主要名称

| 字 母 名 称                | 学 名 及 俗 名                                     |
|------------------------|-----------------------------------------------|
| <b>脂溶性维生素</b>          |                                               |
| 维生素 A <sub>1</sub>     | 视黄醇                                           |
| 维生素 A <sub>2</sub>     | 脱氢视黄醇                                         |
| 维生素 D <sub>2</sub>     | 麦角钙化醇                                         |
| 维生素 D <sub>3</sub>     | 胆钙化醇                                          |
| 维生素 E                  | $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ ……生育酚, 抗不育维生素 |
| 维生素 K <sub>1</sub>     | 叶绿醌 植物甲基萘醌                                    |
| 维生素 K <sub>2</sub>     | 合欢醌 甲基萘醌类 多异戊烯甲基萘醌                            |
| 维生素 K <sub>3</sub>     | $\alpha$ -甲基萘醌                                |
| <b>水溶性维生素</b>          |                                               |
| 维生素 B <sub>1</sub>     | 硫胺素 抗神经炎素 抗神经炎维生素                             |
| 维生素 B <sub>2</sub>     | 核黄素                                           |
| 维生素 PP                 | 尼克酸、烟酸                                        |
|                        | 尼克酰胺、烟酰胺                                      |
| 维生素 B <sub>6</sub>     | 吡哆醇                                           |
| (作为一个族)                | 吡哆醛                                           |
|                        | 吡哆胺                                           |
| 维生素 B <sub>12</sub>    | 钴胺素                                           |
| (总称)                   | 氰钴胺素                                          |
| 维生素 B <sub>12b</sub>   | 羟钴胺素                                          |
| 维生素 B <sub>12c</sub>   | 亚硝酸钴胺素                                        |
| 维生素 B <sub>3</sub>     | 泛酸                                            |
| 维生素 M 或 B <sub>9</sub> | 叶酸, 乳酸菌酪因子                                    |
| (作为一个族)                |                                               |
| (作为纯物质)                | 蝶酰单谷氨酸                                        |
| 维生素 H, B <sub>7</sub>  | 生物素                                           |
| 维生素 C                  | 抗坏血酸 抗坏血病维生素                                  |

明某一维生素物质。

## 2. 维生素的计量单位

在维生素分析中,应采用统一的单位。过去,因对许多维生素的结构不清楚,采用一些已知化学结构的物质作为标准物质

来表示相应的维生素的含量,称为IU(国际单位)。

现在因为所有维生素的化学结构都已清楚,没有必要继续使用IU,国际上建议在有关维生素研究的标准著作中应采用 $\mu\text{g}/100\text{g}$ ,或者 $\text{mg}/100\text{g}$ 来表示维生素的含量,个别情况下,为了方便,也可采用 $\text{mg}/\text{g}$ 来表示。但是,由于IU在过去使用时间很长,特别是在临床医学、药物以及营养卫生学中,仍习惯于使用它,因此,要在短期内改变这种用法恐怕不易,还要有一段时间。为了在维生素分析中便于了解IU与 $\mu\text{g}$ 重量关系,表1-2列出了一些维生素的IU与标准物质 $\mu\text{g}$ 关系。

表 1-2 维生素 IU 与  $\mu\text{g}$  数换算表

| 维 生 素 名 称          | IU 相当于 $\mu\text{g}$ 数          |
|--------------------|---------------------------------|
| 维生素 A              | 0.6 $\mu\text{g}$ $\beta$ -胡萝卜素 |
| 维生素 B <sub>1</sub> | 3.0 $\mu\text{g}$ 氯化硫胺素         |
| 维生素 B <sub>2</sub> | 3.0 $\mu\text{g}$ 核黄素           |
| 维生素 C              | 50.0 $\mu\text{g}$ L-抗坏血酸       |
| 维生素 D              | 0.025 $\mu\text{g}$ 钙化醇         |
| 维生素 E              | 1 mg DL- $\alpha$ -生育醇醋酸酯       |
| 生 物 素              | 6.037 $\mu\text{g}$ 生物素甲酯       |
| 维生素 K              | 1 $\mu\text{g}$ 2-甲基-1,4-萘醌     |
| 泛 酸                | 14 $\mu\text{g}$ 泛酸钙            |

不同的维生素具有不同的生物活性,为了描述它们的生物活性,引入了“eq”(“当量”)的概念。例如:对于具有维生素A活性的那些物质(如维生素A、 $\beta$ -胡萝卜素及各类其它的胡萝卜素等),采用维生素A当量来表示其活性,其互相关系为

$$1\mu\text{g 维生素 Aeq} = 1\mu\text{g 维生素 A} = 6\mu\text{g } \beta\text{-胡萝卜素} \\ = 12\mu\text{g 其它胡萝卜素。}$$

目前,这些 eq 值在国际上还有争论,尚未达到完全的统一。

## (二) 维生素的营养学及其分析的意义

### 1. 维生素的生理生化功能

各种维生素都有不同的生理生化功能,例如,维生素 D,无论是自身合成或来自食物的,都能作为有机体激素的前体。维生素 B 族的生化功能更为清楚,它是辅酶的主要成分。各种维生素在蛋白质、脂肪、糖和有机体的能量代谢中有着重要的位置。例如,维生素 B<sub>1</sub> 和 B<sub>2</sub> 参与细胞代谢中三羧酸循环的作用;维生素 B<sub>6</sub> 和叶酸参与蛋白质的代谢作用,维生素 B<sub>1</sub> 和维生素 PP 参与糖的代谢,维生素 B<sub>2</sub> 和维生素 PP 参与脂肪酸代谢作用等。

维生素作用表(表 1-3)说明了各种维生素生化功能和生理学活性。

表 1-3 维生素作用表

| 维 生 素              | 活动形式(酶或激素)                                                          | 功 能 或 作 用       |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 维生素 A              | 11-视黄醛<br>视黄酸                                                       | 视觉<br>维持上皮细胞的完整 |
| 维生素 B <sub>1</sub> | 焦磷酸硫胺素                                                              | 酮酸脱羧酶转醛基        |
| 维生素 B <sub>2</sub> | 黄素单核苷酸 FMN<br>黄素腺嘌呤二核苷酸 FAD (黄素蛋白)                                  | } 氢(和电子)传递体     |
| 维生素 PP             | 辅酶 I (NAD <sup>+</sup> )<br>辅酶 II (NADP <sup>+</sup> )<br>(转氢酶或脱氢酶) |                 |
| 叶 酸                | 四氢叶酸                                                                | 甲基传递体           |

(续表)

| 维 生 素               | 活动形式(酶或激素)                                   | 功 能 或 作 用                                  |
|---------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------|
| 生 物 素               | 羧基生物素<br>(生物素酶)                              | CO <sub>2</sub> 传递体(转羧基)                   |
| 泛 酸                 | 辅酶 A<br>(转酰基酶)                               | 酰基传递体                                      |
| 维生素 E <sub>6</sub>  | 磷酸吡哆醛、酸脱羧酶、<br>脱氨酶、转氨酶、消旋酶                   | 转-NH <sub>2</sub> 基(和氨基酸代谢<br>中的其它功能)      |
| 维生素 B <sub>12</sub> | B <sub>12</sub> -CO-酶<br>(B <sub>12</sub> 酶) | 异构化、脱氢甲基化                                  |
| 维 生 素 C             | 抗坏血酸, 脱氢抗坏血酸                                 | 细胞间质的完整性, 氧化还<br>原体系                       |
| 维 生 素 D             | 1, 25-二羟胆钙化醇                                 | 磷钙代谢                                       |
| 维 生 素 E             | 生育酚代谢物                                       | 氧化抗氧化剂, 细胞内呼吸, 血<br>管完整性, 中枢神经系统和肌<br>肉完整性 |
| 维 生 素 K             | 2-甲基-1, 4-萘醌化合物                              | 氢载体, 某些凝血因子的形成                             |
| 胆 碱                 | 乙酰胆碱结合形式类似物                                  | 正常脂代谢, 磷脂成分, 转甲<br>基作用的甲基供体                |

各种维生素其生理功能也是不相同的, 每一种维生素都具有自己的特性和主要的生理功能。为了使维生素分析者清楚地掌握其特性和了解其生理功能, 这里将一些常用的维生素的特性和主要功能列于表 1-4 中。

## 2. 维生素缺乏症状及缺乏原因

各种维生素都有一定生理功能与它们相应缺乏症的临床表现, 如果生物体内严重缺乏某一种维生素时就给予足够的维生素, 那么确实能改变大多数临床症状, 使它恢复正常。维生素的

表 1-4 一些维生素的特性和主要功用

| 维 生 素               | 特 性                                                        | 主 要 功 用                                                |
|---------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 维生素 A               | 溶于脂肪,不溶于水,不受热影响,在高温时容易被氧化,植物性食物中胡萝卜素可在身体内转化为维生素 A,可以在肝脏内贮存 | 促进眼球内视紫质的合成或再生,维持正常视力,防治夜盲症。维持上皮组织健康。增加对传染病抵抗力。促进生长    |
| 维生素 B <sub>1</sub>  | 溶于水和酒精、不溶于油脂溶剂,在酸性溶液中稳定,在中性或碱性溶液中及遇热条件下容易破坏                | 是构成脱羧辅酶的主要成分,使身体充分利用碳水化合物。防止体内丙酮酸中毒,防止神经炎脚气病,增进食欲,促进生长 |
| 维生素 B <sub>2</sub>  | 溶于水和酒精,形成黄色荧光液,不溶于油脂溶剂,易被日光破坏,在碱性溶液中易被破坏,遇热较稳定             | 是构成脱氢酶主要成分,为活细胞中氧化作用所必需,促进生长,维持一般健康                    |
| 维生素 C               | 溶于水和酒精,极易被氧化,在酸性溶液较稳定,在碱液中、铜质容器中极易被破坏,大部分在烹调中损失            | 为形成连接组织、牙齿、结缔组织中细的粘着物所必需。维持牙齿、骨骼、血管、肌肉正常功能,促进外伤愈合      |
| 维生素 D <sub>2</sub>  | 溶于脂肪和脂肪溶剂,耐热,不易被氧化                                         | 增加磷、钙在小肠内吸收,调节磷钙正常代谢,促进牙齿、骨骼正常生长                       |
| 维生素 B <sub>12</sub> | 溶于水,在中性或酸性溶液中较稳定                                           | 促进红细胞的成熟                                               |
| 维生素 PP              | 溶于水和酒精,耐热,不易被氧化和破坏                                         | 是辅酶 I, II 组织部分,促细胞呼吸作用,维持皮肤神经健康,防止癞皮病,促进消化系统功能         |

缺乏症状简述如下：

① 维生素A主要缺乏症为夜盲症。缺乏维生素A使上皮细胞萎缩，形成眼角膜发炎的结果。

② 维生素B<sub>1</sub>缺乏症为神经组织损伤而引起神经炎和脚气病。

③ 维生素B<sub>2</sub>缺乏症为口角溃疡、唇炎和舌炎以及引起眼睛白内障。

④ 烟酸缺乏症为舌炎、皮炎和癞皮病，也能引起记忆力减退和痴呆症状。

⑤ 维生素B<sub>12</sub>缺乏主要症状为有核巨红细胞性贫血即恶性贫血。

⑥ 维生素C缺乏症状为坏血病，引起齿龈流血和皮下出血等。

⑦ 维生素D<sub>2</sub>主要缺乏症状为儿童软骨病及成年人的骨质软化病。

以上症状事例是维生素临床症状的一系列反应的最终结果。并不是发现症状后，给予足够的维生素就能恢复正常的。身体在不同时期需要不同的维生素，而且需要量也是不相同的。因此人们要注意不同时期的饮食和膳食营养才能防止出现维生素缺乏症状。一般地说，饥饿是最常出现各种维生素缺乏症。我国人民的温饱问题已经解决，但日常生活中为什么还会出现维生素缺乏症状呢？大概原因是：

(i) 食物在贮藏、加工或烹调中破坏和损失了各种维生素。

(ii) 人们的厌食、偏食以及患慢性病的人引起摄取和吸收维生素的下降。

(iii) 当进行比较强的体力活动时没有足够供给体内所需

要量的维生素时。

(iv) 流汗过多,多尿和哺乳者需要大量的维生素补充得不到满足以及不得到维生素的需要量。

因此,人们在生活中讲究食物保存,讲究科学的烹调技术,不能偏食和厌食以及注意体内维生素的需要量,就可避免患维生素缺乏症状。

### 3. 维生素的最适摄取量

实验已经证明,在动物的食物中加入超过维持健康所需的最低水平的维生素量是能够改变动物品质的。例如鸡每100g饲料中含有50 $\mu$ g维生素B<sub>6</sub>可以保持鸡不出现缺乏维生素B<sub>6</sub>的症状,如果将维生素量增加4倍,则鸡生长速度增加。

对人体来说,由于不同人群和不同个体食物习惯的差异,要确定人的膳食维生素最适量是比较困难的。一般膳食中维生素的最适量是以正常人群的平均膳食来表示。表1-5列举了美国以人群和不同动物中维生素需要量,平均以体重70kg的人需要量作为标准基数而进行比较的。

表 1-5 人和不同动物的维生素需要量

|     | 维生素A<br>(IU) | 维生素D<br>(IU) | 维生素B <sub>1</sub><br>(mg) | 维生素B <sub>2</sub><br>(mg) | 烟酸<br>(mg) | 维生素B <sub>6</sub><br>(mg) | 维生素C<br>(mg) |
|-----|--------------|--------------|---------------------------|---------------------------|------------|---------------------------|--------------|
| 人   | 5000         | —            | 1.4                       | 1.6                       | 18         | 2.0                       | 45           |
| 奶牛  | 7500         | 450          | —                         | —                         | —          | —                         | —            |
| 劳役马 | 6000         | 450          | 3.75                      | 3.0                       | 15         | 3.75                      | —            |
| 猪   | 10500        | 1050         | 2.25                      | 6.0                       | 22.5       | 3.75                      | —            |
| 狗   | 25500        | 450          | 6.0                       | 3.0                       | 16.5       | 1.5                       | —            |
| 产蛋鸡 | 12000        | 1306         | 5.0                       | 5.0                       | 90         | 7.4                       | —            |

但是,人体对各种维生素需要量是不相同的,人类中成年人和儿童以及男、女性对不同种类的维生素需要量也是不相同的。每人每天对维生素的需要量:维生素A男人为1.0mg,女人