

保健食品中维生素B₁₂的测定-免疫亲和法

维生素B₁₂ (Vitamin B₁₂) 是唯一一种含主要矿物质钴的维生素，故又称钴胺素。维生素B₁₂需要肠道分泌物的帮助才能够被吸收，主要的生理功能是参与制造骨髓红细胞，以及防止大脑神经受到破坏，严重缺乏可导致恶性贫血。

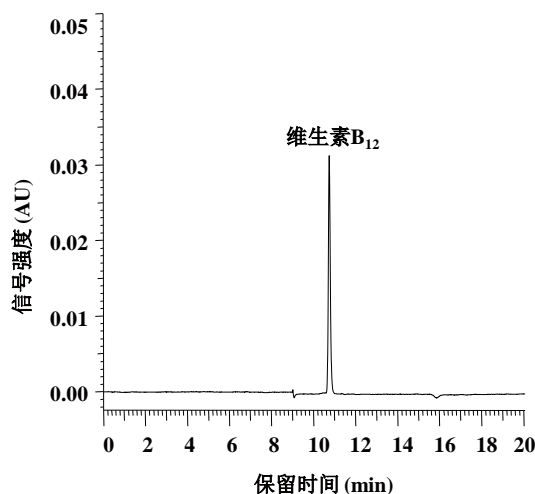
本报告参考GB/T 5009.217-2008第二法-免疫亲和法，与直接提取法相比，免疫亲和法的检测限较低，可达到0.026 μg/g，比直接提取法低10倍左右。应用Primaide 系统，采用免疫亲和法进行样品前处理，对保健食品中的维生素B₁₂进行了测定。样品中成功检测到维生素B₁₂，且在样品中加入维生素B₁₂标准品进行了加标回收率的测定。



Primaide 系统

标准样品测定例

■ 标准样品测定例



维生素B₁₂标准样品的色谱图(浓度: 5.0 mg/L)

■ 分析条件

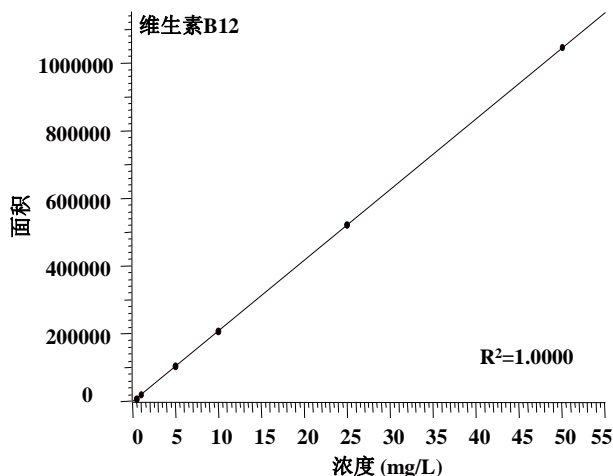
色谱柱	: HITACHI LaChrom C18(5 μm)
	4.6 mm I.D. × 250 mm
流动相	: A: 0.025% 三氟乙酸 B: 乙腈 (梯度洗脱)
流速	: 1.0 mL/min
柱温	: 25°C
检测波长	: UV: 361 nm
进样量	: 20 μL

■ 重现性 (5.0 mg/L 标准溶液, n=6)

成分	维生素B ₁₂	
	保留时间	峰面积
NO. 1	10.707	105213
NO. 2	10.713	104849
NO. 3	10.707	105313
NO. 4	10.700	104834
NO. 5	10.693	104586
NO. 6	10.700	105147
AV.	10.703	104990
RSD%	0.07%	0.26%

对维生素B₁₂标准溶液进行了连续进样测定，得到了良好的重现性。

■ 线性

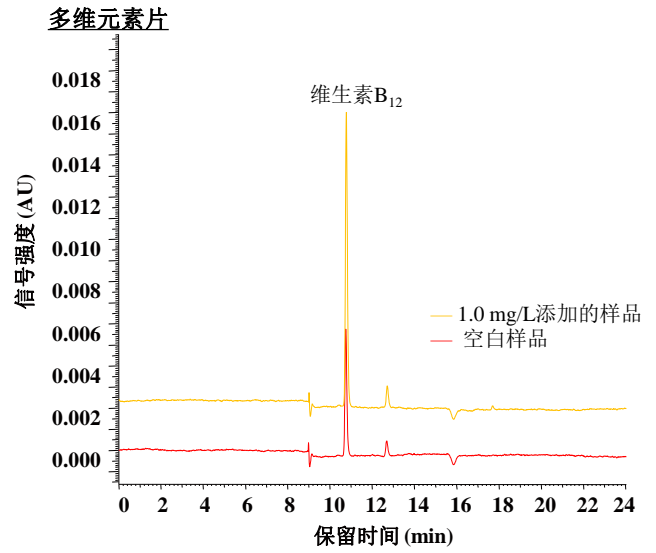
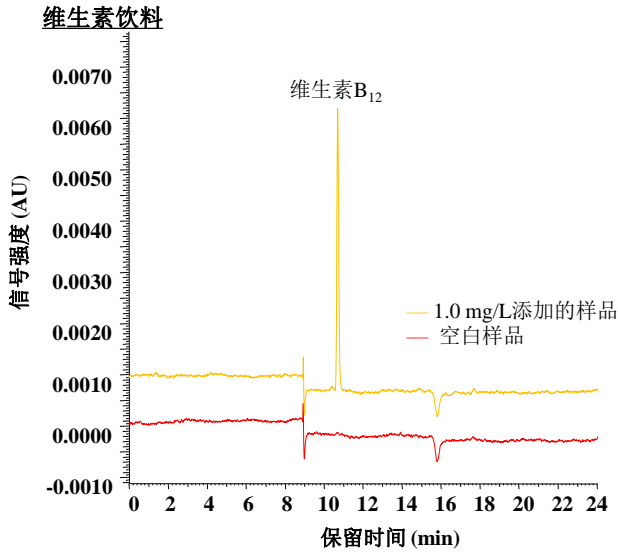


维生素B₁₂在0.5 ~ 50.0 mg/L标准溶液的浓度范围内得到了R² = 1.0000良好的线性关系。



样品测定例

■ 样品的测定例



保健食品空白样品与添加样品的色谱重叠图

■ 测定结果

样品	成分	添加标准的样品			
		添加的标液浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	添加的量 (μg)	添加标准的样品含量 (μg)	回收率(%)
维生素饮料	维生素B ₁₂	1.0	1.0	1.02	102%
多维元素片		1.0	1.0	0.87	87%

对保健食品中的维生素B₁₂进行了测定，并在样品中加入维生素B₁₂标准样品，进行回收率的测定，测定结果见上表。

样品前处理方法

保健食品（片剂）



样品制备：将片剂粉碎，混匀，遮光低温保存备用。



提取：称取样品2.001 g，置于100 mL的棕色容量瓶中，加入约80 mL的纯水，超声提取30 min，冷却至室温，用纯水定容至刻度，充分摇匀。然后以10000 r/min离心10 min，上层溶液待用。

保健食品（功能性饮料）



样品溶液制备：用1 mol/L氢氧化钠调pH至7.0左右，以10000 r/min离心10 min，滤液待用。

免疫亲和净化



免疫亲和柱：10 mL纯水淋洗→10 mL待用滤液过柱→10 mL纯水淋洗→3 mL甲醇洗脱→氮气吹干→1 mL 0.025% 三氟乙酸溶液溶解→过0.22 μm 滤膜，待上机分析

仪器配置：Primaide 1110 泵，1210 自动进样器，1310 柱温箱，1410 紫外检测器。

注意：本资料所示数据仅为测定例用数据而非可保证仪器性能的数据。本仪器只是研究用仪器，而不是诊断、治疗或预防人或动物疾病的医疗仪器。