

ICS 67.040
C 53



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.217—2008

GB/T 5009.217—2008

保健食品中维生素 B₁₂ 的测定

Determination of vitamin B₁₂ in health foods

中华人民共和国
国家标准
保健食品中维生素 B₁₂ 的测定
GB/T 5009.217—2008

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 6 千字
2009 年 3 月第一版 2009 年 3 月第一次印刷

*

书号: 155066·1-36070 定价 10.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



GB/T 5009.217—2008

2008-12-03 发布

2009-03-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

- 4.2 超声波清洗器。
- 4.3 离心机:4 000 r/min。
- 4.4 固相萃取柱:N-乙烯基吡咯烷酮和二乙烯基苯亲水亲脂平衡型固相萃取柱(60 mg,3 mL)。
- 4.5 免疫亲和净化柱:维生素 B₁₂免疫亲和净化柱(EASI-EXTRACT® VITAMINE B₁₂)¹⁾。

5 分析步骤

5.1 固相萃取法(前处理方法一)操作步骤

5.1.1 试样处理

将 20 粒片剂、胶囊试样粉碎或混匀,粉剂试样取 5 包~10 包充分混匀。

5.1.2 提取

称取试样 4 g~10 g(相当于含维生素 B₁₂ 4 μg 左右,精确至 0.001 g)于 50 mL 离心管中,加 10 mL~15 mL 水,混匀,将其置于超声波清洗器中,超声提取约 10 min 后以 4 000 r/min 离心 5 min。用吸管吸取上清液置于另一个 50 mL 离心管中。对残渣按上述步骤每次加入约 10 mL 水,重复提取两次,合并提取液于 50 mL 离心管中。

5.1.3 净化

向提取液中加入 5% 四丁基氯化铵溶液 1 mL、三氯甲烷约 20 mL,使用涡旋混匀器充分混匀,于离心机中以 1 000 r/min 离心 3 min。将水层转入蒸发皿中,置水浴锅上加热蒸发至干。残渣用乙醇溶解,转移至离心管中,超声溶解,离心,吸取上清液于蒸发皿中。再重复提取两次,合并提取液于蒸发皿中。蒸干乙醇,试样用 5 mL 5% 乙腈溶液定量转移到试管中,待上固相萃取柱。

5.1.4 固相萃取

固相萃取柱先用 3 mL 甲醇进行活化,再用 3 mL 水对固相萃取柱进行平衡,速度为 1 滴/s。将上述处理过的适量试样加到固相萃取柱上。上样后,用 5 mL 5% 乙腈溶液作为洗脱溶剂将干扰物质从固相萃取柱上淋洗下来,最后用 25% 乙腈溶液将维生素 B₁₂ 洗脱下来,收集洗脱液 0.5 mL。

5.2 免疫亲和法(前处理方法二)操作步骤

5.2.1 试样处理

碳酸型功能性饮料:取 150 mL 样液于超声波中脱气 10 min,待用。

果粒或果汁型功能性饮料:用 1 mol/L 氢氧化钠调 pH 至 7.0,置离心机中以转速 4 000 r/min 离心 10 min,过滤,滤液待用。

片剂、胶囊、粉剂:取 20 粒片剂、胶囊试样粉碎或混匀。粉剂试样取 5 包~10 包充分混匀。

称取试样 10 g~50 g(相当于维生素 B₁₂ 的量为 25 μg~2 500 μg,精确至 0.001 g)于 250 mL 容量瓶中,加入 100 mL 水,振摇混匀,将其置于超声波清洗器中,超声提取约 15 min 后用水定容,稀释样品溶液的浓度到样品中维生素 B₁₂ 的含量为 25 μg/mL。如样品溶液的 pH 在 7.0 以上,用柠檬酸调节 pH 在 4.5~7.0 之间;如样品溶液的 pH 在 4.5 以下,则应用磷酸缓冲液代替水作为提取液并重复上面步骤。

5.2.2 富集、净化

维生素 B₁₂ 免疫亲和净化柱先用 10 mL 水淋洗小柱中未键合的化合物,吸取 20 mL(5.2.1)提取液上样到净化柱上,再用 3 mL 甲醇洗脱维生素 B₁₂ 至蒸发皿中,整个过程速度约为 1 滴/s。于 60 ℃~70 ℃ 水浴中蒸干溶剂,用 1 mL 0.025% 的三氟乙酸溶液溶解,溶液过 0.45 μm 水系滤膜,待高效液相色谱用。

5.3 液相色谱参考分析条件

5.3.1 色谱柱:C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm) 反相色谱柱。

- 1) 给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

前 言

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准起草单位:中国疾病预防控制中心营养与食品安全所。

本标准主要起草人:杨大进、鲁杰。