

猫粮中维生素 B12 的液相测定 (Copure® 维生素 B12 免疫亲和柱)

一、样品提取

准确称取混合均匀的猫粮样品 2.0 g(精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 去离子水溶液, 涡旋 10 min, 超声 15 min, 离心 10 min, 转速 8000 r/min, 移取 4 mL 上清液, 备用。

二、样品净化

准确移取上清液 4 mL 加入免疫亲和柱中, 当液面下降到亲和柱管体 (未完全流干), 用 10 mL 水淋洗, 弃去全部流出液, 抽干小柱。用 2 mL 甲醇进行洗脱, 关阀门静置 2~3min 再收集流出液。整个过程控制流速不要超过 1mL/min。在收集的洗脱液中加入 50 μ L 的 0.1% 甲酸水, 之后放置于 50~60 $^{\circ}$ C 氮吹至近干, 加 1 mL 的 0.1% 甲酸水涡旋混匀, 过 0.22 μ m 尼龙滤膜供上机测试。

三、仪器条件

仪器: UltiMate 3000 (Thermofisher Scientific)

色谱柱: Comasil® C18 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m)

流动相: 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH=3.5) :

乙腈 = 85:15

检测波长: 361 nm

流速: 1.0 mL/min

柱温: 30 $^{\circ}$ C

进样量: 20 μ L

订购信息

货号	描述	包装
COAFB12103	Copure® 维生素 B12 免疫亲和柱, 3 mL	25 支 / 盒
CS4625ODS	Copure® ODS 色谱柱, 4.6 mm \times 250mm, 5 μ m	1 根 / 盒
SDC-3000-D	多管涡旋混匀仪	1 台 / 箱
SF130-22-NL	尼龙针式过滤器, 直径 13 mm, 孔径 0.22 μ m, 有机系	100 个 / 盒
SC2-1	2 mL 蓝色聚丙烯盖, 白色 PTFE/ 红色硅胶垫, 9-425	100 个 / 盒
V2-AL	2 mL 螺纹棕色样品瓶, 带书写处 11.6 \times 32 mm, 9-425	100 个 / 盒

四、实验结果

表 1 猫粮中维生素 B12 加标回收实验结果

目标物	回收率 (%)			平均回收率 (%)	RSD (%)
	1	2	3		
维生素 B12	88.3	88.6	90.9	89.6	1.07

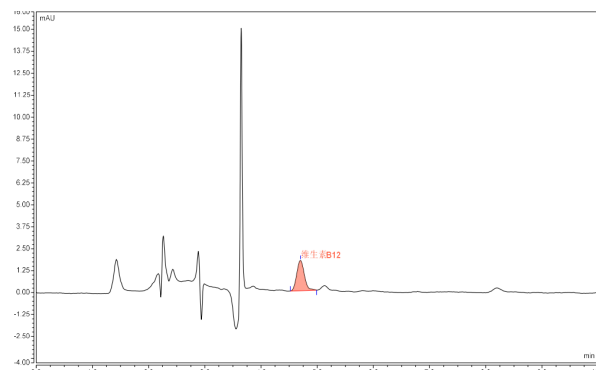


图 1 添加水平为 0.5 μ g/g 的维生素 B12 检测样品色谱图

注意事项:

维生素 B12 免疫亲和柱的柱容量 (最大吸附维生素 B12) 为 1000ng, 当样品中维生素 B12 超过测定范围时, 请适当减小上柱体积, 使其在检测范围内, 计算出准确含量。

操作步骤中, 样品过柱, 淋洗, 洗脱时, 一定要控制好流速, 不能太快, 否则会使检测结果偏低。

维生素 B12 免疫亲和柱使用前需要恢复到室温, 室温放置至少 30 min。