

度, 与标准维生素B₂对照, 求得样品中的维生素B₂的含量。

2. 试剂

(1) 维生素B₂的标准溶液 准确称取维生素B₂(核黄素) 100mg溶于0.1mol/L盐酸溶液中并稀释至1L。使用时用水配成每毫升0.5μg。

(2) 0.1mol/L乙酸钠溶液 称取乙酸钠(CH₃COONa·3H₂O) 13.6g加水溶解后定容至1L。

3. 试验程序

(1) 标准曲线绘制 吸取维生素B₂标准溶液0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0mL, 分别置于10mL容量瓶中, 加入0.1mol/L乙酸钠溶液0.35mL, 用水稀释至刻度, 摇匀, 于1cm的比色皿中, 用分光光度计于波长444nm处测定吸光度。同时以试剂为空白, 同样操作, 作为对照, 根据测定的吸光度绘制标准曲线。

(2) 样品测定 吸取试样1mL于10mL容量瓶中, 加入0.1mol/L的乙酸钠溶液0.35mL用水稀释至刻度, 按照标准曲线绘制进行测定, 并从标准曲线中查出维生素B₂的含量。

4. 计算

$$\text{维生素B}_2\text{的含量}(\mu\text{g/L}) = \frac{m_1 - m_2}{V} \times 1000$$

式中 m_1 ——样液测定时从标准曲线查出维生素B₂的量, μg

m_2 ——空白对照从标准曲线查出维生素B₂的量, μg

V ——试样体积, mL。

第八节 维生素B₆

1. 原理

维生素B₆的三种具有相同活性的物质, 即吡哆醇、吡哆胺、吡哆醛均易溶于水、丙酮及醇中, 与七氟丁基咪唑反应可生成挥发性衍生物。该衍生物在气相色谱中可以很好地分离开, 用电子捕获检测器可检出低至10μg的维生素B₆, 可以灵敏地、有效地测

出样品中维生素B₆的含量。

2. 试剂

(1) 苯、甲醇、乙腈 均用无水硫酸钠干燥去除水分。

(2) 衍生化试剂 1份七氟丁基咪唑(HFBI)与9份乙腈相混合,当日配制,保存于避光低温处。

(3) 维生素B₆标准溶液 取维生素B₆标样,配成吡哆醇1μg/mL、吡哆醛及吡哆胺分别为20μg/mL的标准溶液,用甲醇为溶剂,保存于低温避光处。

3. 仪器

气相色谱仪:具有电子捕获检测器。色谱柱:φ 3mm×4m的不锈钢柱。采用3%的SE-52为固定液,涂布于ChromosorbW-HP(100~120目)。柱子在300℃下通氮气老化18h。色谱条件:柱温165℃;进样器温度200℃;检测器温度300℃;载气(N₂)流速14mL/min。

4. 试验程序

吸取试样20mL,真空下挥发除去水分,加入5mL甲醇,在90℃下加热1h提取,取1mL甲醇提取液于2mL具塞小反应瓶中,于45℃下真空挥发至干,加入0.01mL衍生化试剂,盖上瓶盖,摇动小瓶子,使衍生化试剂湿润瓶壁,再向瓶中加入0.99mL苯,加盖后振摇均匀,在室温下静置反应10min。用微量注射器吸取3μL直接进样做色谱分析,记录色谱图,按峰面积法定量。以同样条件下注入维生素B₆标准溶液,根据峰面积之比计算出样品中维生素B₆的含量。

第九节 维生素B₁₂

1. 原理

维生素B₁₂叫氰钴胺素,经浓硫酸和高氯酸钾消化后,样液中的钴与M-2-(α-吡啶酮)-α-吡啶联脲生成钴的红色化合物,可以进行比色测定,再从钴的含量换算成维生素B₁₂含量。