

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:φ3mm×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。

2. 试剂

(1) 浓硫酸。

(2) 高氯酸钾。

(3) 显色剂 2%M-2-(α -吡啶酮)- α -吡啶联脲乙醇溶液。

(4) 钴的标准溶液 称取0.100g金属钴(纯度99.9%以上),置于250mL烧杯中,加入1:1硫酸溶液15mL,加热溶解,冷却至室温,移入1000mL容量瓶中,加水至刻度,摇匀,此标准液每毫升含0.1mg钴。使用时吸10mL用水稀释定容至100mL,此标准使用液每毫升含10 μ g钴。

3. 试验程序

(1) 标准曲线绘制 吸取钴的标准使用液1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0mL于50mL比色管中,加入5mL浓硫酸及0.2g高氯酸钾进行缓慢加热消化,消化完后,将过量的硫酸加热挥发除去,冷却后用10mL水稀释,用氨水调节至pH5.5,加入2mL显色剂、10mL浓硫酸,此时形成粉红色的钴的络合物,用水稀释至50mL,于分光光度计波长500nm处测定其吸光度,绘制标准曲线。

(2) 样品测定 吸取酒样10mL于50mL比色管中,同标准曲线绘制步骤相同,测定样品吸光度。

4. 计算

$$\text{维生素B}_{12}\text{的含量}(\mu\text{g/L}) = \frac{m}{V} \times 22.97 \times 1000$$

式中 m ——试样测定时从标准曲线查出钴的质量, μg

V ——样品体积, mL

22.97——从钴的含量转换为维生素B₁₂的系数

第十节 维生素C

1. 原理

维生素C又称抗坏血酸,在酸性介质中,抗坏血酸与亚硒酸