



维生素 B₁₂ 检测国标即用型套装

(产品货号: GVT1002)

版本GVTB [03]01.23

1. 简介

本产品是根据国标GB 5009.285-2022 《食品安全国家标准 食品中维生素B₁₂的测定》研制的维生素B₁₂检测即用型产品, 每盒产品包含2套试剂, 每套试剂可制备50支试管。

2. 检测原理

维生素 B₁₂ 是莱士曼氏乳酸杆菌 *Lactobacillus leichmannii* (ATCC 7830) 生长所必需的营养素, 在一定控制条件下, 将莱士曼氏乳酸杆菌液接种至含有试样液的培养液中, 培养一段时间后测定透光率(或吸光度值), 根据维生素 B₁₂ 含量与透光率(或吸光度值)的标准曲线计算出试样中维生素 B₁₂ 的含量。

3. 套装组成

维生素 B ₁₂ 标准品 (冻干)	2 瓶
维生素 B ₁₂ 检测菌球 (冻干)	2 瓶
维生素 B ₁₂ 测定培养基添加剂 1 (冻干)	2 瓶
维生素 B ₁₂ 测定培养基添加剂 2 (冻干)	2 瓶
维生素 B ₁₂ 测定培养基基础	250mL × 2 瓶

4. 贮藏条件: 于 2-8℃ 避光保存一年。

5. 其他试剂、耗材和设备 (本套装不提供)

- | | |
|---------------------------------------------------|--------------------|
| 5.1 超净工作台 | 5.2 恒温培养箱, 37℃ ±1℃ |
| 5.3 紫外-可见分光光度计 | 5.4 高压灭菌锅 |
| 5.5 超声波振荡器 | 5.6 涡旋振荡器 |
| 5.7 无菌试管及配套试管架 | |
| 5.8 移液枪及无菌枪头, 10-100 μL, 100-1000 μL, 500-5000 μL | 5.9 无菌水 |
| 5.10 无菌离心管: 15 mL, 50 mL, 需带有旋转盖 | |
| 5.11 无菌注射器与 0.22 μm 无菌滤膜 | |

6. 培养基和标准溶液制备 (无菌操作)

6.1 培养基制备:

6.1.1 在维生素 B₁₂ 测定培养基添加剂 1 和添加剂 2 中分别加入 5.0mL 维生素 B₁₂ 测定培养基基础溶液, 充分溶解 3-5min 后, 将两瓶添加剂全部转入维生素 B₁₂ 测定培养基基础中, 混匀后备用。

6.1.2 取 1 瓶维生素 B₁₂ 检测菌球, 加入 (6.1.1) 培养基中, 混匀后即可使用。

6.2 标准溶液制备:

6.2.1 维生素 B₁₂ 标准溶液: 准确吸取 5mL 无菌水于维

生素 B₁₂ 标准品中, 溶解后充分混匀。

6.2.2 维生素 B₁₂ 标准工作液: 准确吸取 2mL 维生素 B₁₂ 标准溶液于 8 mL 无菌水中, 充分混匀后使用 (现用现配)。

7. 试样制备

根据国标对应的前处理和稀释方法进行操作。

8. 测定系列管制备 (无菌操作)

8.1 标准系列管

按照表 1 顺序加入无菌水、维生素 B₁₂ 标准工作液 (6.2.2) 和维生素 B₁₂ 培养基 (6.1.2) 于无菌试管中, 混匀。

表 1 标准曲线的制作

试管序号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
无菌水(mL)	5.00	4.95	4.90	4.85	4.80	4.75	4.70	4.60	4.50
标准工作液(mL)	0.00	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.40	0.50
培养基(mL)	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00

为保证标准曲线的线性关系, 应制备 2 套-3 套标准系列管。

8.2 试样系列管

将制备好的样品稀释液用 0.22μm 无菌滤膜过滤, 按照表 2 顺序加入无菌水、无菌样品溶液和维生素 B₁₂ 培养基 (6.1.2) 于无菌试管中, 混匀。

表 2 待测液的制作

试管序号	1	2	3	4
无菌水(mL)	4.00	3.00	2.00	1.00
无菌样品溶液(mL)	1.00	2.00	3.00	4.00
培养基(mL)	5.00	5.00	5.00	5.00

9. 培养

于 37℃ ±1℃ 恒温培养箱中避光培养 44h-48h 至获得最大浑浊度 (务必培养到生长终点)。

10. 测定

将培养好的标准系列管、试样系列管用漩涡混匀器混匀, 用酶标仪或厚度为 1cm 比色杯, 于 550nm 处测定。

吸光度 (或透光率) 超出标准曲线管 S1-S9 范围的试样管要舍去。

每支试管测得的该浓度不得超过该平均值的 ±15%, 超过者要舍去。如果符合要求的管数少于所有的四个编号待测液总管数的 2/3, 用于计算试样含量的数据是不充分的, 需要重新检验。如果符合要求的管数超过原来总管数的 2/3, 重新计算每一编号的有效试样管中每毫升测定液中维生素 B₁₂ 含量的平均值, 以此平均值计算全部编号试样管的总平均值为 C_x, 用于计算试样中维生素 B₁₂ 的含量。

11. 分析结果表述

根据国标法进行结果分析:



11.1 标准曲线：以标准系列管维生素 B₁₂ 含量为横坐标，每个标准点透光率（或吸光度值）均值为纵坐标，绘制标准曲线。

11.2 试样结果计算：从标准曲线查得试样系列管中维生素 B₁₂ 的浓度，再根据稀释因子和称样量计算出试样中维生素 B₁₂ 的含量。

试样中维生素 B₁₂ 的含量按公式（1）计算：

$$X = \frac{C_x}{m} \times \frac{f}{1000} \times 100 \quad (1)$$

X—试样中维生素 B₁₂ 的含量 μg/100 g(mL)；

C_x—11.2 中计算所得的总平均值 ng；

m—试样的质量 g；

f—稀释倍数。

以重复条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留两位有效数字。

北京陆桥技术股份有限公司

地址：北京市朝阳区高碑店北路甲 3 号（100123）

山东：青岛市市北区台柳路 177 号和达中心 A 座 703 室（266033）

广东：广州市番禺区石北工业路金河产业园 A 栋东 4 楼（511400）

东北：哈尔滨市松北区科技创新城创新一路 2727 号国乳中心 808 室

成都：四川省成都高新西区中海国际橙郡一期 1 栋 1 单元 204（610096）

上海：上海市漕河泾松江新兴产业园区研展路 455 号 B 座 4 层 406 室

销售热线：010-51203999 0532-82689263

020-38011430 0451-87821139

网 址：www.beijinglandbridge.com

E-mail：tech_e@beijinglandbridge.com