

维生素 B₁₂ 化学分析法研究概况

鲁 杰 杨大进 王竹天

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021)

摘 要:维生素 B₁₂ 是人体所必需的营养物质之一,广泛用于食品和药品中。为了规范保健食品中维生素 B₁₂ 的使用量,利用灵敏度高,特异性强,简便易行的检测维生素 B₁₂ 的分析方法是非常必要的。本文概括介绍了目前用于测定维生素 B₁₂ 的化学分析法:导数分光光度法、高效毛细管电泳法、化学发光分析法、间接测定法、高效液相色谱法。

关键词:维生素 B₁₂; 化学,分析;食品

Review of chemical methods for determining cyanocobalamin

Lu Jie, et al.

(National Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, 100021)

Abstract: Cyanocobalamin is widely used in foods and drugs, and it is a necessary nutrient for the human health. It is important to develop determinative methods that are sensitive, distinctive and simple for defining the limit of cyanocobalamin in health food. The chemical methods including derivative spectrophotometry, high-performance capillary electrophoresis, fully Automated chemiluminescent system, indirect determination methods and high-performance liquid chromatography are introduced in this paper.

Key Words: Vitamin B₁₂; Chemistry, Analytical; Food

维生素 B₁₂ 又称氰钴胺素、钴胺素、外源因子、动物蛋白因子,是唯一的含有矿物质的维生素。缺乏维生素 B₁₂ 将出现核酸合成障碍,糖代谢降低,甲基丙二酰辅酶 A 异构酶丧失活性。

人体需要的维生素 B₁₂ 的量很少,推荐的日补充量为 2.4 μg,怀孕和哺乳的妇女日需要量为 2.6 μg,婴儿为 0.4 μg。使用过量可能引起过敏反应,甚至过敏性休克。目前我国还没有制定维生素 B₁₂ 检测的国家标准方法,而许多保健食品中都加入维生素 B₁₂,且含量高低不一。为了保障人民的健康,规范保健食品中维生素 B₁₂ 的使用量,需要灵敏度高,特异性强,简便易行的检测维生素 B₁₂ 的分析方法。

目前维生素 B₁₂ 的测定方法有化学分析法和微生物分析法。微生物分析法不能区分维生素 B₁₂ 及其类似物,最终造成测定结果偏高。相对于微生物分析法,化学分析法具有分析时间短、分析步骤少、灵敏、检测限低等优点。维生素 B₁₂ 分析所采用的化学分析方法主要有导数分光光度法、^[1~4] 高效毛细

管电泳法(HPCE)、^[5,6] 化学发光分析法、^[7] 间接测定法、^[8~17] 高效液相色谱法。^[18~29] 现将这些方法的进展情况概述如下。

1 导数分光光度法

导数分光光度法是在分光光度法的基础上建立起来的,它可分为一阶、二阶、三阶导数光谱。随着导数的阶数增高,峰数也增多,而且峰形也更尖锐,有些重叠峰在原函数的图象上不易认出,但在导数光谱图上则能明显的识别。因此利用导数光谱分辨能力高,信息量大等优点可对样品中微量维生素 B₁₂ 进行测定。

Morelli B 曾利用分光光度法测定药品中维生素 B₆、B₁、B₁₂ 和腺苷 5'-三磷酸四元混合物的含量。^[1] 该方法测定维生素 B₁₂ 的检测限为 0.2 μg/mL,检测波长 360.5 nm~374 nm,后改进技术,采用高阶导数分光光度法测定维生素 B₁₂,检测限可达到 0.005 μg/mL。^[2] Karsilayan H 也曾用一阶导数光谱法对维

基金项目:卫生部保健食品专项基金课题(BJ-01-20)

作者简介:鲁杰 女 硕士研究生在读

This work was supported by the Special Funds Health Food of Ministry of Health, China (BJ-01-20)

生素 B₁₂ 定量测定,方法的检测限为 0.02 μg/mL。^[3] 此外还有 Lopez de 等用快速零阶和二阶紫外导数分光光度法对含葡聚糖和防腐剂的药物制剂中的维生素 B₁₂ 进行测定,方法检测限达到 0.008 μg/mL。^[4]

但导数分光光度法不适合食品类具有复杂基质的样品,目前所见的多为分析药物制剂中的维生素 B₁₂。

2 高效毛细管电泳 (HPCE)

HPCE 根据混合组分中各个组分的电迁移速度不同,在毛细管分离过程中形成了各自的区带,并逐个迁移通过检测点(在柱检测)。反映在电泳谱图上就是以迁移时间和峰宽为特征的电泳峰。分离操作可以在很短的时间内完成,达到非常高的分离效率,具有操作简便,溶剂消耗少,环境污染轻等优点。

Herbeth^[5] 等和 Kowdo^[6] 等曾分别利用 HPCE 检测多种维生素制剂中的维生素 B₁₂,其方法的最低检出限分别为 20 μg/mL 和 14 μg/mL。

高效毛细管电泳法 (HPCE) 灵敏度低,因此在检测微量维生素 B₁₂ 样品时具有一定的局限性。

3 化学发光分析法

化学发光法是以某些分析试剂(为不流动态或固态),与树脂混合装柱作为阳极,过氧化氢与溶解的氧反应作为阴极形成两个电极。当流动相流过阳极柱时,分析试剂被释放出来,与待测物反应产生化学发光信号从而对目标物进行分析。

Watanabw F 等在比较微生物分析方法和全自动化学发光分析方法测定食品中维生素 B₁₂ 含量时,使用全自动化学发光维生素 B₁₂ 分析仪 (Chiren Diagnostics, East Waalpole, MA) 对维生素 B₁₂ 进行了定量分析,线性范围在 0.05 ~ 2 μg/L,线性相关系数为 0.99。^[7]

化学发光分析法虽适合于测定食品中和血浆中的维生素 B₁₂,且具有方法简单、快速、高选择性、重复性好的优点,但由于仪器昂贵,非一般实验室所能承受。

4 间接测定法

间接测定法是通过测定维生素 B₁₂ 中的钴的含量,折算出维生素 B₁₂ 的含量。主要的间接测定法有显色反应法、荧光反应法、催化动力学光度法等。

4.1 显色反应法

显色反应是利用金属离子与配位体形成稳定的有色络合物或络离子,从而使吸光光度系数大大增

加,使得检测灵敏度增高,此方法具有很高的选择性,适用于微量比色分析。有文献报道利用聚乙二醇作萃取剂,萃取分离钴() - 钴试剂络合物,建立新的测定钴的非有机溶剂萃取光度法。^[8] 利用合成的新显色剂 5 - (5 - 硝基 - 2 - 吡啶偶氮) - 2,4 - 二氨基甲基 (5 - NO₂ - PADAT) 在 pH 5.0 ~ 6.4 的 HAC - NaAC 介质中与 Co²⁺ 形成紫红色络合物,提高酸度至 3.9 mol/L HCl 时,络合物则转变为稳定的蓝色。^[9] 另有文献报道,在 pH 4.8 ~ 6.0 范围内,钴() 与 2 - [2' - (6' - 甲基 - 苯并噻唑) 偶氮] - 5 - 二甲氨基苯甲酸 (MBTAMB) 形成 1 : 2 络合物。 $\lambda_{\max} = 654 \text{ nm}$, $\epsilon_{\text{Co}} = 1.28 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 钴含量在 0 ~ 9 μg/25 mL 范围中呈良好线性关系。^[10] Nabiev 等用冠醚对维生素 B₁₂ 进行定量分析,该方法是通过溶解在氯仿中的冠醚来测定 Co²⁺,其中钴量测定范围在 0 ~ 0.6 mg/L,从而间接对维生素 B₁₂ 进行定量,在该文中作者对维生素 B₁₂ 的吸收光谱、影响因素、pH 值、灵敏度、选择性和检测限等进行了详细探讨。^[11]

显色反应方法操作简便,灵敏度高,可用于微量维生素 B₁₂ 的测定。

4.2 荧光反应法

荧光反应法是指某些金属原子与某些化学试剂反应,当用紫外光、波长较短的可见光或红外光照射时,能发射共振荧光和比光源波长较长的紫外、可见或红外光荧光。揭念芹等发现,在碱性介质中,钴与硫胺素反应产生荧光物质,表面活性剂 Triton X - 100 对该反应具有敏化作用,据此建立了测定微量钴的荧光分析法,其荧光光谱的激发波长 $\lambda_{\text{ex}} = 375 \text{ nm}$,发射波长 $\lambda_{\text{em}} = 440 \text{ nm}$,在 $6.0 \times 10^{-8} \sim 2.4 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 范围内荧光强度与钴离子的浓度呈良好的线性关系,从而也与维生素 B₁₂ 呈良好的线性关系。^[12]

Qiu-E Cao 等利用 Co²⁺、H₂O₂ 和 2 个新的 8 - sulfonamidoquinoline 衍生物发生荧光反应,测定环境或生物中痕量 Co²⁺,检测限 0.05 ~ 0.10 μg/L,检出范围 0.1 ~ 200 μg/L,此方法选择性、灵敏度均较高。^[13]

4.3 催化动力学光度法

催化动力学光度法是根据待测物质对某些反应的催化作用,利用反应速率与催化剂浓度之间的定量关系,通过测量与反应速率成比例关系的吸光度计算待测物质(即催化剂)的浓度。

催化动力学光度法测定微量钴() 文献已有报道,^[14~16] 最近吕明等利用通过钴() 催化 H₂O₂ 氧

化茜素红⁵这一褪色反应体系分析药物中钴()的含量,从而测定维生素 B₁₂的含量。该新催化光度法具有灵敏度高、选择性好、精密度高(测定含量为 2 μg Co²⁺ 6 次, RSD 为 1.43 %)等特点,线性范围 0 ~ 2.5 μg/50mL。^[17]

间接方法多用于维生素制剂中的维生素 B₁₂的定量,此方法虽然具有简单、快速、方法相对简单等优点,但由于食品类基质复杂,通过测定 Co²⁺来定量维生素 B₁₂,会由于样品本身含有 Co²⁺而对结果造成很大的误差。故用此方法测定食品中的维生素 B₁₂,方法不可靠。

5 荧光分光光度法

荧光分光光度法指某些物质在用紫外光、波长较短的可见光或红外光照射时,能发射共振荧光和比光源波长较长的紫外、可见或红外光荧光。根据发射荧光的强度对被测物进行测量。

Fumino watanabe 等利用荧光试剂 6,7 - 二甲氧基 - 1 - 甲基 - 2 - 喹啉 - 3 - 丙酰羧酸(DMEQ) - 酰肼与维生素 B₁₂反应,得到维生素 B₁₂的荧光衍生物,通过测定其荧光强度,测定维生素 B₁₂。

该法检测限为 0.2 ~ 10 μg/L,用该法测定食品中的维生素 B₁₂的含量不需要特殊的仪器,费用比化学发光测定法低^[18]。

6 高效液相色谱法(HPLC)

HPLC 方法是利用物质在不同的两相中溶解、吸附、分配、离子交换或其它亲和作用的差异,使混合物中各组分达到分离。它是目前最常用的分析手段,能对维生素 B₁₂进行快速、灵敏、准确测定,它使用的溶剂经济,容易与其它技术联用,需要的样品量小,而且可配备不同的检测器,如:紫外—可见吸收检测器、二极管阵列检测器、荧光检测器、电化学检测器等。近年来采用 HPLC 法对维生素 B₁₂进行测定的工作主要如下。

6.1 药品中维生素 B₁₂的测定

Jansen 等利用固相萃取(SPE)技术对药品中维生素 B₁₂进行富集,HPLC 进行分离检测(Co - α - (5 - hydroxyben zimidazolyl) - Co - β - cyanocobamide 水溶液作为内标,检测波长为 550 nm),适用于测定维生素 B₁₂含量大于 0.2 μg/mL 的样品。^[19]Lambet 等用 HPLC 鉴别和测定不同形式的维生素 B₁₂,包括 OH - CbL,CH₃ - CbL,CN - CbL,检测限为 100 pg/mL。^[20]

Surapote. Wongyai 测定含多种维生素的片剂,标准曲线线性范围是 0.05 μg ~ 0.25 μg,检测限 25 ng,

RSD 为 0.47 %,回收率 100 %,整个分析过程为 5 min,此方法简便,快速,精密度好。^[21]

Hua-Bin Li 等使用荧光检测器对维生素 B₁₂进行测定,方法简便、灵敏度高、精确度高,检测波长 305 nm,激发波长 275 nm,线性范围 1 ~ 100 ng/mL,检测限 0.1 ng/mL,回收率范围 94 % ~ 102 %。^[22]此外 E1-Gizawy S. M. 等使用化学键合环糊精作为固定相对多种维生素制剂(包括 B₁、B₆、B₁₂和叶酸)进行检测。^[23]

6.2 食品中维生素 B₁₂的测定

食品基质复杂,维生素 B₁₂的分析难度较大。Hirosh Iwase 等用 SPE 和膜过滤作为柱前分离,用 HPLC 测定食品中的维生素 B₁₂。该方法简便、快速、灵敏,检测限 0.15 ng,信噪比(3:1)、高选择性和重现性(RSD = 2.67 %),线性范围 0.1 ng ~ 30 ng,回收率大于 90 %。^[24]但所使用的内标物属作者合成。

Hiroshi Iwase 通过 SPE 和 HPLC(可见光检测器)对饮食中超微量的维生素 B₁₂定量,校正曲线线性范围 0 ~ 0.2 μg,标准加入法测得的回收率 ≥95 %。^[25]

Moreno 等用反相 HPLC 对维生素 B₁₂进行测定,样品经过 C₁₈ AR 柱进行固相萃取,分离脂溶性维生素和水溶性维生素,线性范围 0.04 μg/mL ~ 0.12 μg/mL。^[26]Watanabe 等曾用 HPLC 对一些藻类保健食品和螺旋藻类药片中维生素 B₁₂进行测定研究。^[27]

Park, Sung-Jin 等采用 1 个 μ-HPLC 的柱转换技术对各类食品中痕量维生素 B₁₂进行定量,整个分析时间少于 20 min。^[28]

6.3 其它基质中维生素 B₁₂的测定

Chan Mo cho 等用 HPLC 和 SPE 法结合测定尿中排泄的维生素。^[29]

现将各方法的 SPE 条件和 HPLC 实验条件比较如下(见表 1)。

综上所述,在现存的化学分析方法中,导数分光光度法只适用于对药品制剂等基质比较简单的样品进行分析,而对于食品类基质复杂的样品,由于样品中类似化合物造成干扰严重而不适合。高效毛细管电泳法则由于所需样品含量高,导致它在检测食品中所含的微量维生素 B₁₂时具有一定的局限性。化学发光分析法由于仪器购置所需费用较高,较难在普通实验室推广。间接测定法是通过间接测定 Co²⁺来定量维生素 B₁₂,由于食品基质复杂,样品本身含有的 Co²⁺会对结果造成很大的误差。荧光分光光度法中所用荧光试剂属作者自己合成,且方法相对复杂,因此不宜进行大规模的样品分析。HPLC 与 SPE 联用,适用于含量较低的样品中维生素 B₁₂的

表 1 不同 HPLC 方法测维生素 B₁₂的条件比较

文献 出处	SPE 柱	处理液	1. 洗涤液 2. 洗脱液	色谱仪	检测器	色谱柱	流动相	检测波长	柱温、 流速
[19]	Baker C ₁₈ 柱	1. 甲醇 2. 0.05 mol/L NaH ₂ PO ₄	1. 50 %乙醇 2. 0.05 mol/L NaH ₂ PO ₄		550 nm 可见 波长检测器	固定相:μbondapak C ₁₈ 300 mm ×3.9 mm 不 锈钢(Millipore)	15 % ~ 50 %甲醇 - 0.02 mol/L NaH ₂ PO ₄	550 nm	40 1.5 mL · min ⁻¹
[21]	—	—	—	Spectra- Physics , San/ose , CA ,USA	P-4000 ,Chromr A-Scope ,UV-vis 检测器 (Barspec ,Rehor- vot ,Israel)	固定相:苯丙酮胺键 合的硅胶 150 mm ×4.65 mm I. D. 不锈钢柱	甲醇 - 水(50 50 , 体积分数)	273 nm	1 mL · min ⁻¹
[22]	—	—	—	Waters 色 谱 仪 (Waters , Milford , MA , USA)	Waters 474 扫描 荧光检测器	反相 μBondapak C ₁₈ 柱 (300 mm × 3.9 mm ,I. D. 10 μm Wa- ters)	甲醇 - 水 (30 70)	荧光检测 波长 305 nm 激发波长 275 nm	0.8 mL · min ⁻¹
[23]	—	—	—	Dupont8800 pump module	Dupont UV 光谱 检测器(可变波 长检测器)	4.6 mm ×100 mm 不 锈钢柱,内填充高纯 硅胶,其上键合β - 环糊精(cyclobond I, Advanced Separation- Technologics ,Inc.)	pH=7 ,80 % H ₃ PO ₄ 缓冲溶液 — 20 %甲醇	254 nm	35 0.8 mL min ⁻¹
[24]	Bond- Elut C ₁₈ 柱	1. 甲醇 2. 去离 子水	1. 去离子水 2. 50 %乙腈	Model 655 A- 11 HPLC 色谱仪 (Hitachi , To- kyo ,Japan)	Model Unidec 100-IV 检 测 器 (JASCO , Tokyo , Japan)	IntersilODS-2 (150 mm ×46 mm I. D. 5 μm) GC Sciences , Tokyo , Japan	KH ₂ PO ₄ (pH 2. 1) —乙腈(90 10 , 体积分数)	550 nm	40 1 mL min ⁻¹
[25]	Sep-Pak C ₁₈ 柱	1. 乙腈 2. 去离 子水	50 %乙腈	Model 655 A- 11 HPLC (Hi- tachi , Tokyo , Japan)	Uvidec 100-IV 检 测 器 (JASCO , Tokyo ,Japan)	Capacellpak C ₁₈ 柱 (A 25 ×0.46 cm ,I. D. 5 μm) Shiseido , Tokyo , Japan	水 - 乙腈 (87 13)	550 nm	0.6 mL · min ⁻¹
[26]	SPEC C ₁₈ 柱	1. 甲醇 2. 去离 子水	1. 甲醇 2. 氯仿	液相色 谱 仪 (Shimadzu , Kyoto ,Japan)	UV-vis 检 测 器 (SPD 6A) 双 波 长检测器	反相 Nova-Pack C ₁₈ (150 mm ×3.9 mm ,4 μm) Waters Milford , MA ,USA	0.05MNH ₄ AC —甲醇	362 nm	1 mL · min ⁻¹

注:“—”表示无此步骤。

分析,具有快速、简便、灵敏等特点。因此对于基质复杂、含量较低的样品,HPLC与SPE联用不失为一种较有前途的分析方法。

参考文献:

[1] Morelli B. Determination of a Quaternary Mixture of Vitamins B₆ , B₁ , and B₁₂ and Uridine 5 ' Triphosphate , by Derivative Spectrophotometry[J]. J pharm Sci , 1995 ,81 (1) : 34 —37.

[2] Morelli B. Determination synthetic mixtures and commercial injections for drugs [J]. Fresenius 'F Anal chem , 1996 , 354(1) , :97 —102.

[3] Kersilayen H. Forms of Vitamin B₁₂ Compounds Containing Sulfito B₁₂ in Corbicular [J]. sepetrochim Acta part A , 1996 , 52(A) 9: 1163 —1168.

[4] Lopez de Alda MJ , Paseiro P. Measurement vitamin B₁₂ by spectrophotometry [J]. J pharm Biomed Anal , 1996 , 14 (3) :363 —365.

[5] Herbeth V , Drivas G , Foscaldi R. Forms of vitamin B₁₂ compounds in fertilized and unfertilized eggs [J]. N Engl J

Med , 1982 (307) : 255.

[6] Kondo H , BinterM. J. The Assay of Cyanocobalamin in Pharmaceutical Preparations by Spectrophotometry [J]. J Aclin , Invest , 1982 (70) :889.

[7] Watanabe F , Takenaka S ,Abe K , et al. Comparison of a Microbiological Assay and a Fully Automated Chemiluminescent System for the Determination of vitamin B₁₂ in Food [J]. J Agric Food chem ,1998 ,46 :1433 —1436.

[8] 候明,庞昌信. 钴() - 锌试剂 - 聚乙二醇 - 硫酸铵体系及其分析应用[J]. 分析化学 ,2000 ,28(2) :258.

[9] 刘彬,张光,张小玲. 新显色剂 5 - [5 - 硝基 - 2 - 吡啶偶氮] - 2 ,4 - 二氨基甲苯与钴高灵敏显色反应的研究[J]. 分析化学 ,1995 ,23(8) :981.

[10] 何巧红,朱有瑜,刘波. 2 - [2 ' - (6 ' - 甲基 - 苯并噻唑)偶氮] - 5 - 二甲氨基苯甲酸与钴显色反应的研究[J]. 分析化学 ,1995 ,23(8) :988.

[11] 揭念芹,蔡亚歧,周遵宁,等. 钴 - 硫胺素 - Triton X - 100 体系的荧光特性及其分析应用[J]. 分析化学 , 1998 ,26(8) :1018 —1021.

[12] Qiu Ecao , Yunkun Zhao , Shu Qing Wu , et al. Study on the mechanism and applications of the fluorescence reactions

- among cobalt (), H_2O_2 and two new derivatives of 8-sulfonamidoquinoline[J]. *Talanta*, 2000(51): 615—623.
- [13] Nabiev M N. High-performance liquid chromatography of water-soluble vitamins[J]. *S T P Pharma Prat*, 2000, 10(3), 145—148.
- [14] N M Lukovskaya. Catalysts for the chemiluminescence reaction of laphine with periodate [J]. *Chemical Abstracts*, 1983, 98(22): 190911s.
- [15] L Ballesteros. Analytical use of the kinetics of complex formation: Simultaneous determination of iron and cobalt by differential kinetic methods[J], *Analyst*, 2001, 108(1285): 443.
- [16] 陈国树. 动力学 - 分光光度法测定痕量钴[J]. *分析试验室*, 1988, 7(4): 12.
- [17] 吕明, 马玉环, 闫永胜, 等. 催化动力学光度法测定维生素 B_{12} 中钴的含量[J]. *药物分析杂志*, 1995, 15(5): 35—37.
- [18] Fumio Watanabe, Katsuo Abe, Shigeo Takenaka, et al. Method for Quantitation of Total Vitamin B_{12} in Foods Using a Highly Fluorescent vitamin B_{12} Derivative [J]. *J Agric Food chem*, 1997, 45: 4661—4663.
- [19] Jansen C C, Vde Kleijn J P. The Assay of Cyanocobalamin in Pharmaceutical Preparations by Solid-Phase Extraction and HPLC [J]. *Journal of chromatographic Science*, 1990, 28(1): 42—45.
- [20] Lambert D, Adjalla C, Felden, F, et al. Identification of vitamin B_{12} and analogues by high-performance capillary electrophoresis and comparison with high-performance liquid chromatography [J]. *Journal of chromatography*, 1992, (608): 311—315.
- [21] Surapote wongyain. Determination of vitamin B_{12} in multivitamin tablets by multimode high-performance liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, (870): 217—220.
- [22] Hua-Bin Li, Feng Chen, Yue Jiang. Determination of Vitamin B_{12} in multivitamin tablets and fermentation medium by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, (891): 243—247.
- [23] El-Gzawy S M, Ahmed A N, El-Rabbaat N A. High Performance Liquid Chromatographic Determination of Multivitamin Preparations Using a Chemically Bonded Cyclodextrin Stationary Phase [J]. *Analytical Letters*, 1991, 24(7): 1173—1181.
- [24] Hiroshi Iwase, Ichiro Ono. Determination of cyanocobalamin in foods by high-performance liquid chromatography with visible detection after solid-phase extraction and membrane filtration for the precolumn separation of lipophilic species [J]. *Journal of Chromatography A*, 1997, (771): 127—134.
- [25] Hiroshi Iwase. Ultramicrodetermination of cyanocobalamin in elemental diet by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with visible detection [J]. *Journal of Chromatography*, 1992, (590): 359—363.
- [26] Moreno P, Salvado V. Determination of eight water- and fat-soluble vitamins in multi-vitamin pharmaceutical formulations by high-performance liquid chromatography[J]. *Journal of chromatography A*, 2000(870): 207—215.
- [27] Fumio Watanabe, Hiromi Katsura, Shigeo Takenaka, et al. Pseudovitamin B_{12} is the Predominant cobamide of an Algal Health Food, *Spirulina Tablets* [J]. *J. Agric. Food Chem*, 1991, 47: 4736—4741.
- [28] Parkk Sug Jim, kim Hye-kyung, Hahom Tae-shik, et al. High-pressure liquid chromatography of cobalamins and cobalamin analogs[J]. *Yongyang Kuahak Hoechi*. 1999, 28(6): 1208—1211. (Korean)
- [29] Chan Mo Cho, Joung Ho Ko, Won Jo cheng. Simultaneous determination of water-soluble vitamins excreted in human urine after eating an overdose of vitamin pills by a HPLC method coupled with a solid phase extraction[J]. *Talanta*, 2000, (51): 799—806.

[收稿日期: 2003 - 03 - 17]

中图分类号: R15; Q977. 22 文献标识码: E 文章编号: 1004 - 8456(2003) 03 - 0248 - 05

中华人民共和国卫生部通告

卫通[2003]2号

根据《卫生部健康相关产品检验机构认定和管理办法》的规定, 经审核, 认定深圳市疾病预防控制中心二恶英检测实验室为卫生部二恶英检测实验室。

特此通告。

中华人民共和国卫生部
二〇〇三年二月九日