

中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.194—2003

保健食品中免疫球蛋白 IgG 的测定

Determination of immunoglobulin in health foods

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部发布
中国国家标准化管理委员会

前　　言

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由卫生部食品卫生监督检验所负责起草。

本标准主要起草人：杨祖英、宋书锋。

引　　言

免疫球蛋白 IgG，目前已作为功效成分添加于保健食品中，该成分对于增强免疫力、调节动物体的生理功能和某些特定物质的代谢等具有一定效果。本方法在参考新西兰健康食品有限公司免疫球蛋白 IgG 测定方法的基础上，根据我国的仪器设备条件进行改进，建立了片剂、胶囊、粉剂类型保健食品中免疫球蛋白含量的高效液相色谱测定方法。

保健食品中免疫球蛋白 IgG 的测定

1 适用范围

本标准规定了保健食品中免疫球蛋白 IgG 的测定方法。

本标准适用于片剂、胶囊、粉剂类型保健食品中免疫球蛋白 IgG 的测定。

本方法检出限:当取样量 0.1 g,稀释至 25 mL,进样量 20 μ L 时,检出浓度为 0.5 mg/mL。

2 原理

根据高效亲和色谱的原理,在磷酸盐缓冲液条件下免疫球蛋白 IgG 与配基连接,在 pH2.5 的盐酸甘氨酸条件下洗脱免疫球蛋白 IgG。

3 试剂

3.1 流动相 A:pH6.5,0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液。

3.2 流动相 B:pH2.5,0.05 mol/L 甘氨酸盐酸缓冲液。

3.3 IgG 标准贮备液:称取 IgG 标准品(Sigma 化学公司)0.010 0 g,用流动相 A(3.1)溶解并定容至 10.0 mL,摇匀,浓度为 1.0 mg/mL。

3.4 IgG 标准系列溶液:取 IgG 标准贮备液,用流动相 A(3.1)稀释成含 IgG 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mg/mL 的标准系列。临用时配制。

4 仪器和设备

高效液相色谱仪具紫外检测器和梯度洗脱装置。

5 分析步骤

5.1 试样处理:称取 0.1 g(精确至 0.001 g)试样,用流动相 A(3.1)稀释至 25.0 mL,摇匀,通过 0.45 μ m 微孔滤膜后进样。

5.2 先用 5 倍柱体积的重蒸水洗柱,再用 10 倍柱体积的流动相 A(3.1)平衡柱,进样,按洗脱程序进行洗脱。

5.3 HPLC 参考条件

色谱柱:Pharmacia HI-Trap Protein G 柱,1 mL。

波长:280 nm。

进样量:20 μ L。

梯度洗脱表见表 1。

表 1

时间	流速/(mL/min)	A/(%)	B/(%)	梯度
0	0.4	100	0	—
4.5	0.4	100	0	6
5.5	0.4	0	100	6
15.0	0.4	0	100	6
15.5	0.4	100	0	6
22.0	0.4	100	0	6

6 结果计算

$$X = \frac{c \times V \times 100}{m \times 1000}$$

式中：

X ——试样中 IgG 的含量, 单位为克每百克(g/100 g);

m ——试样的质量, 单位为克(g);

c ——被测液中 IgG 的含量, 单位为毫克每毫升(mg/mL);

V ——试样定容的体积, 单位为毫升(mL)。

计算结果保留两位有效数字。

7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

8 色谱图

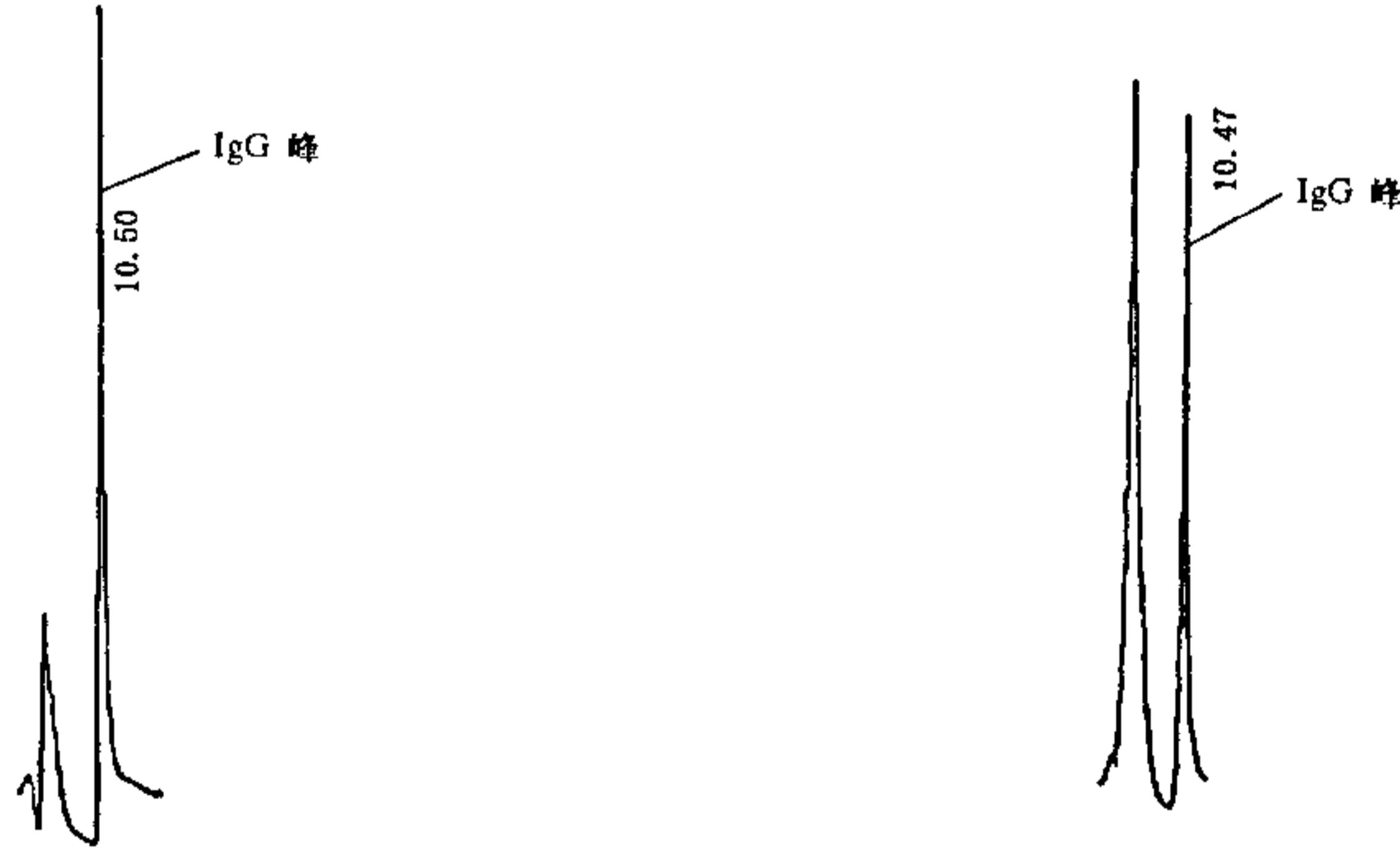


图 1 IgG 标准色谱图

图 2 初乳素色谱图