

高效液相色谱法测定婴幼儿配方奶粉中的维生素 B1

LC-473

摘要： 本文参照 GB 5009.84-2016《食品中维生素 B1 的测定》，建立了婴幼儿配方奶粉中维生素 B1 含量测定的方法。结果表明，维生素 B1 在 0.05~1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的范围内具有较好的线性关系，检出限为 0.07 ng/mL ，6 次平行试验的峰面积相对标准偏差为 0.08%，保留时间的相对标准偏差为 0.05%，三个浓度水平的加标回收率均在 90% 以上。

关键词： 高效液相色谱法 维生素 B1 婴幼儿配方奶粉

技术特点：

- ❖ 仪器灵敏度高，检出限可到 0.07 ng/mL 。
- ❖ 方法重复性好，定量下限处标准溶液平行测定 6 次，峰面积 RSD% 仅为 0.08%。

维生素 B1 (Vitamin B1)，又名硫胺素，是一种水溶性维生素，与人体内糖、蛋白质和脂肪代谢紧密相关，能促进食欲，维持神经、消化及循环系统的正常功能。食品中如长期缺乏维生素 B1 会引起糖代谢障碍和多发性神经炎及脚气病。维生素 B1 以游离态或结合态存在于食品中，是人体必需的营养成分。

GB 5009.84-2016《食品中维生素 B1 的测定》标准中提供了采用高效液相色谱法测定食品中维生素 B1 含量的方法，本实验参照标准中的实验条件，使用岛津 LC-20A 高效液相色谱仪对婴幼儿配方奶粉中的维生素 B1 进行测定，结果表明，本方法灵敏度高，重复性好，可供相关检测人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津高效液相色谱仪。配置信息如下：

系统控制器：	CBM-20Alite	输液泵：	LC-20AT
自动进样器：	SIL-20AC	柱温箱：	CTO-20AC
检测器：	RF-20A xs	工作站：	LabSolutions Ver. 5.101

1.2 分析条件

色谱柱：	Shim-pack GIST (250 mm×4.6 mm I.D., 3 μm) 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30017-08		
流动相：	A 相 - 0.05 mol/L 乙酸钠溶液, B 相 - 甲醇 (A 相 : B 相 = 65:35)		
流速：	0.8 mL/min	柱温：	40 $^{\circ}\text{C}$
进样量：	20 μL		
检测波长：	激发波长 375 nm, 发射波长 435 nm		

1.3 标准工作溶液的制备

参照 GB 5009.84-2016《食品中维生素 B1 的测定》，精密称定维生素 B1 标准品适量，用甲醇稀释成浓度为 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 和 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作溶液。

■ 样品前处理

2.1 样品提取

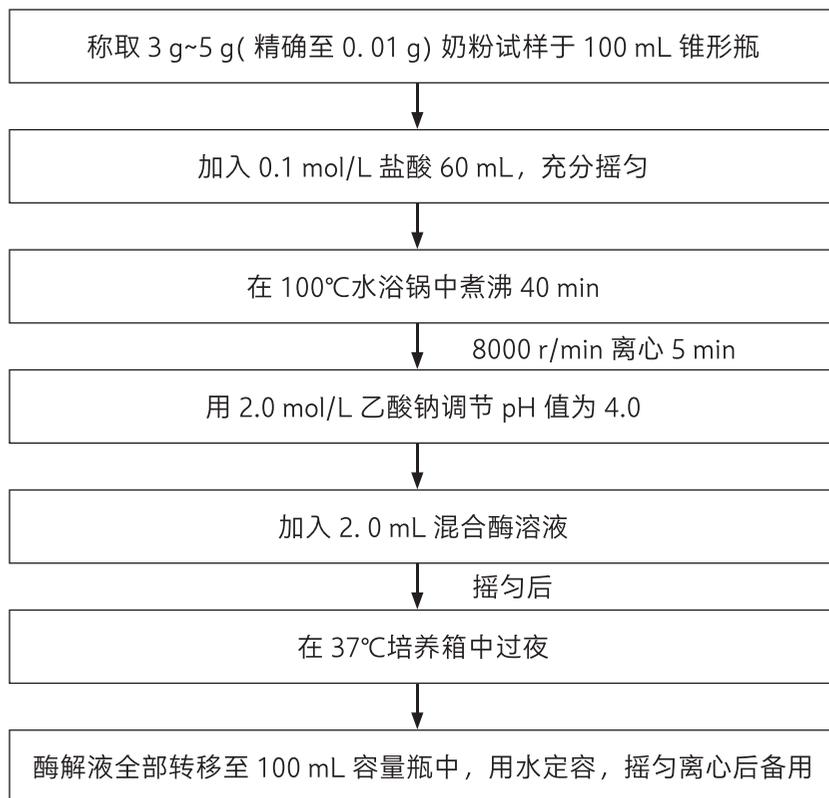


图 1 婴幼儿配方奶粉样品提取流程图

2.2 试样衍生化

准确移取上述上清液 2.0 mL 于 10 mL 试管中, 加入 1.0 mL 碱性铁氰化钾溶液, 涡旋混匀后, 加入 2.0 mL 正丁醇, 再次涡旋混匀 1.5 min, 静置约 10 min, 待充分分层后, 吸取正丁醇相 (上层) 经 0.45 μm 有机微孔滤膜过滤, 取滤液于 2 mL 棕色进样瓶中, 供分析用。另取 2.0 mL 标准系列工作溶液, 与试液同步进行衍生化处理。

■ 结果与讨论

3.1 标准品溶液色谱图

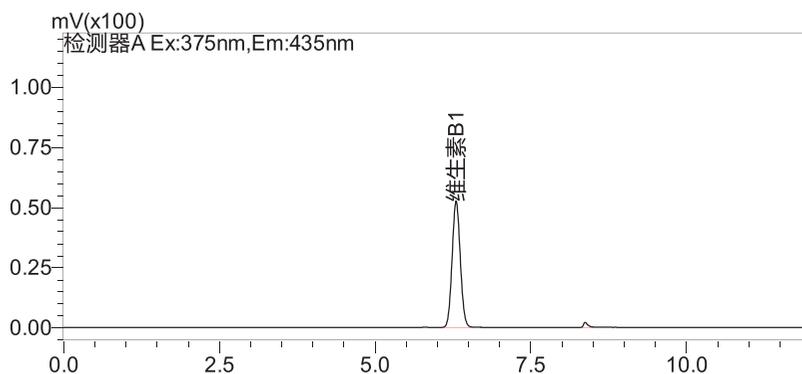


图 2 标准品溶液色谱图 (0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

3.2 校准曲线、检出限及定量限

将维生素 B1 标准工作溶液按“1.2 分析条件”进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，如图 3 所示，外标法定量。根据校准曲线最低浓度点 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标样数据，以 3 倍信噪比计算检出限、10 倍信噪比计算定量限，线性方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限结果见表 1。

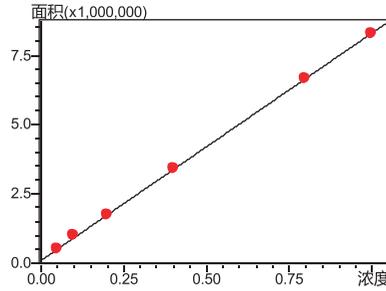


图 3 校准曲线

表 1 线性方程、检出限及定量限

目标物	校准曲线	相关系数 R^2	线性范围 $\mu\text{g}/\text{mL}$	检出限 ng/mL	定量限 ng/mL
维生素 B1	$Y = (8.15666e+006)X + 116287$	0.9999	0.05-1.0	0.07	0.23

3.3 重复性

取浓度为 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的维生素 B1 标准工作液，重复进样 6 次，重复性色谱图见图 4。保留时间和峰面积 RSD% 结果见表 2。

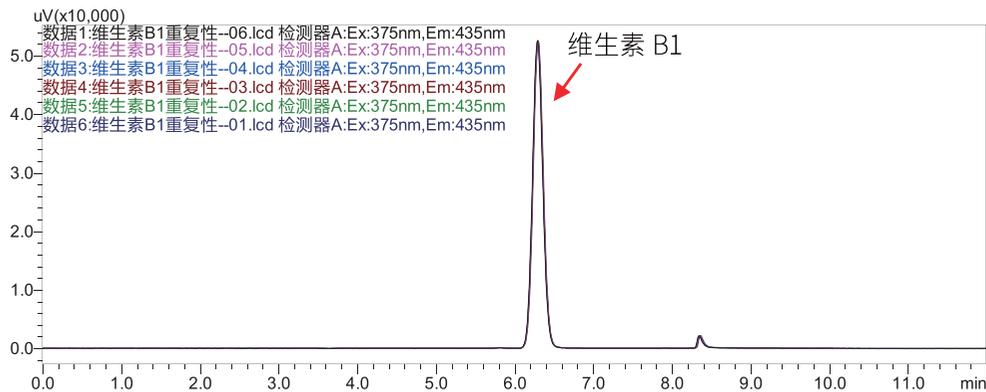


图 4 标准溶液 (0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 重复性色谱图

表 2 重复性结果

目标物	测量结果						RSD% (n=6)
	1	2	3	4	5	6	
维生素 B1							
峰面积	479166	479091	479377	479098	478731	478282	0.08
保留时间	6.295	6.294	6.301	6.295	6.294	6.291	0.05

3.4 样品测定及加标回收率结果

取婴幼儿配方奶粉样品 5.00 g，按“2. 样品前处理”方法进行样品前处理后上机测定，并量取同样质量的婴幼儿配方奶粉，添加低、中和高 3 个不同浓度的标准溶液，加标浓度分别为 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.4 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.6 $\mu\text{g/mL}$ ，平行处理 3 份，上机分析，考察加标回收率，样品及加标回收样品色谱图见图 5，样品及加标回收率结果见表 3。

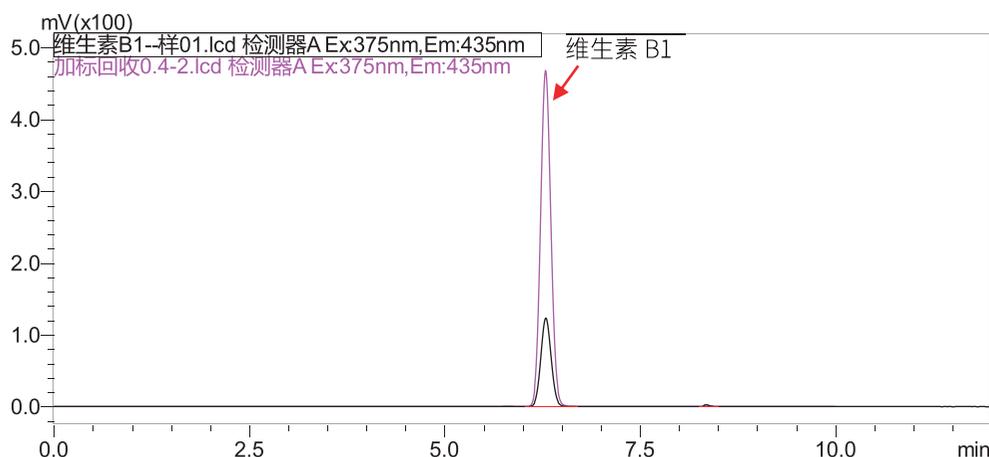


图 5 样品及加标回收样品色谱图

表 3 样品及加标回收率结果

目标物	样品浓度 $\mu\text{g/mL}$	样品浓度 $\mu\text{g/mL}$	检测浓度 $\mu\text{g/mL}$			平均回收率 %	RSD %
			平行 1	平行 2	平行 3		
维生素 B1	0.126	0.2	0.311	0.307	0.300	90.2	3.09
		0.4	0.514	0.509	0.511	96.4	0.65
		0.6	0.718	0.712	0.710	97.9	0.71

■ 结论

本文采用岛津 LC-20A 高效液相色谱仪，参考 GB 5009.84-2016《食品中维生素 B1 的测定》，建立了一种测定婴幼儿奶粉中维生素 B1 含量的方法。该方法检测灵敏度高、重复性好。实验表明，该方法满足标准中各项规定，结果准确度高，可用于婴幼儿配方奶粉中维生素 B1 的检测。

岛津应用云

