

高效液相色谱法测定食品中维生素 B₆ 的含量

LC-215

摘要： 本文利用岛津 LC-20 AT 高效液相色谱仪建立了食品中维生素 B₆ 的测定方法。样品参照国标《GB 5009.154-2016》中的前处理方式，进行提取、上机分析。维生素 B₆ 在 0.1-1.0 μg/mL 浓度范围内具有较好的线性关系，线性相关系数 $r > 0.9998$ ，系统精密度良好，符合标准检测要求。

关键词： 高效液相色谱法 泛酸 保健食品

维生素 B₆ 是一种水溶性 B 族维生素，又名吡哆素，包括吡哆醇、吡哆醛及吡哆胺。维生素 B₆ 在酵母菌、肝脏、谷粒、肉、鱼、蛋、豆类及花生中含量较多。维生素 B₆ 参与人体多种代谢反应，尤其是和氨基酸代谢有密切关系。临床上应用维生素 B₆ 制剂防治妊娠呕吐和放射病呕吐。

食品安全国家标准《GB 5009.210-2016》中规定

高效液相色谱法，适用于对添加了维生素 B₆ 的食品测定，并对检测限和定量限做了明确的规定。

本实验参照标准中的实验条件，使用岛津 Prominence LC-20 AT 高效液相色谱仪对大米中维生素 B₆ 含量进行测定，结果表明，该方法检测灵敏度高，重复性好，可以满足标准中的检测要求。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Prominence LC-20 AT 高效液相色谱仪，包括 CBM-20A 系统控制器，LC-20AT 输送泵，SIL-20A 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，RF-20A 荧光检测器，LabSolutions 色谱工作站。

1.2 分析条件

色谱柱：Tnature C18 (150 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm)

流动相：甲醇 50 mL、辛烷磺酸钠 2.0 g、三乙胺 2.5 mL，用水溶解并定容 1000 mL，冰乙酸调 pH 至 3.0±0.1

流速：1.0 mL/min

柱温：30°C

检测波长：激发波长 293 nm，发射波长 395 nm；

进样体积：10 μL

洗脱方式：等度洗脱

■ 样品前处理

提取：称取 5 g 粉碎后的大米样品，于 150 mL 锥形瓶中，加入 25 mL 40 °C 温水、0.5 g 淀粉酶，充氮后盖上瓶塞，置于 50 °C 培养箱内约 30 min，取出冷却至室温。

用盐酸溶液，调节上述试样溶液的 pH 至 1.7±0.1，放置约 1 min。再用氢氧化钠溶液调节试样溶液的 pH 至 4.5±0.1。把上述锥形瓶放入超声波振荡器中，超声振荡 10 min。将试样溶液转移至 50 mL 容量瓶中，用水冲洗锥形瓶。洗液合并于 50 mL 容量瓶中，用水定容至 50 mL。另取 50 mL 锥形瓶，上面放入漏斗和滤纸，把定容后的试样溶液倒入其中，自然过滤。滤液再经 0.45 μm 微孔滤膜过滤，用试管收集，转移 1 mL 滤液至进样瓶作为试样待测液。

■ 结果与讨论

3.1 标准品溶液色谱图和线性范围

分别精密称取泛吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺准品适量，用 0.1 mol/L 盐酸溶解定容，临用前配制成 20 μg/mL 混合标准中间液，用水稀释成浓度为 0.1、0.2、0.4、0.6、1.0 μg/mL 五个浓度的标准溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，三种标准品溶液色谱图如图 1 所示。

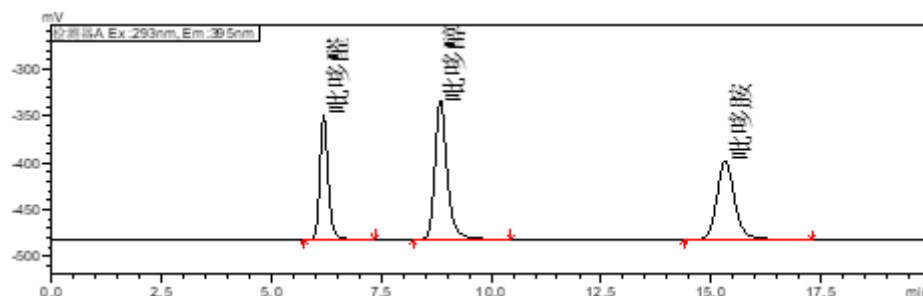


图1 维生素 B₆ 混合标准品溶液色谱图 (0.4 µg/mL)

以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，采用外标法建立标准曲线，结果如图 2 所示。所得曲线线性关系良好，线性方程、线性范围、相关系数和检出限（检出限、定量限根据最低浓度点计算得出）见表 1。

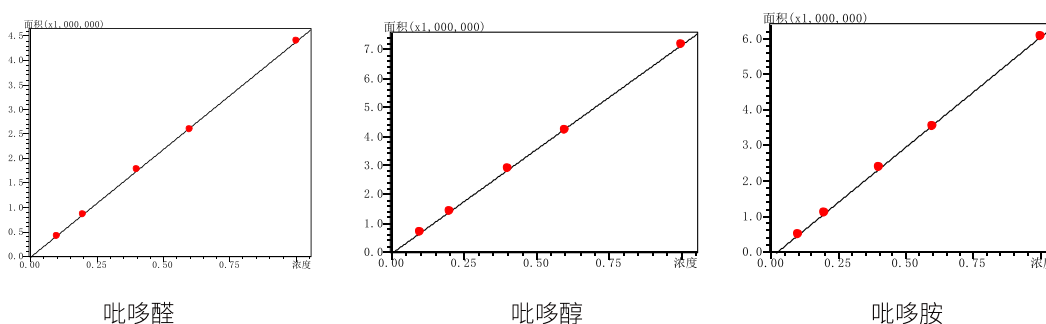


图2 维生素 B₆ 混合标准品校准曲线

表 1 校准曲线参数

中文名称	标准曲线	相关系数 r	线性范围 (µg/mL)	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
吡哆醛	$Y = 4.41e+006X - 24568.9$	0.9999	0.1-1.0	0.3	0.9
吡哆醇	$Y = 7.20e+006X - 45694.9$	0.9999	0.1-1.0	0.3	0.9
吡哆胺	$Y = 6.20e+006X - 150245$	0.9998	0.1-1.0	0.5	1.5

3.2 精密度实验

按照 1.2 分析条件测定，选择浓度为 0.6 µg/mL 的基质加标样品溶液分别连续进样测定 6 次，重复性色谱图如图 3 所示。三种化合物的保留时间 RSD% 为 0.12-0.26 %；峰面积 RSD% 为 0.35-0.58 %，结果见表 2。精密度实验结果表明，岛津 LC-20 AT 高效液相色谱仪具有良好的精密度。

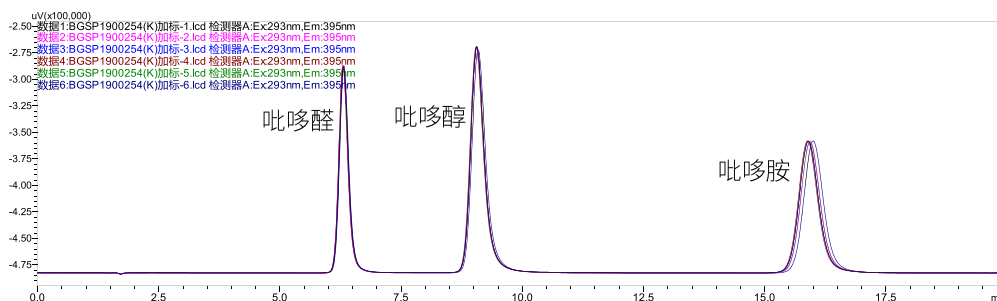


图3 标准品溶液 6 针重复性色谱图 (浓度 0.6 µg/mL)

表 2 维生素 B₆ 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

名称	RSD% (0.6 μg/mL)	
	R.T.	Area
吡哆醛	0.12	0.35
吡哆醇	0.15	0.42
吡哆胺	0.26	0.58

3.3 回收率试验

称取空白大米样品, 加入一定量维生素 B₆ 混合标准品溶液, 使样品加标浓度为 0.7 mg/100g, 按照 2. 中所述前处理方式处理 3 个平行加标样品, 按 1.2 中条件进行测试, 计算平均回收率。空白样品色谱图见图 4, 空白基质中未检出。0.7 mg/100g 加标样品的回收色谱图见图 5, 三种化合物的平均回收率在 86.2 %, 满足该标准检测要求, 结果详见表 3。

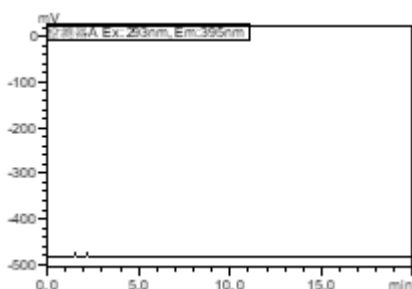


图 4 空白样品色谱图

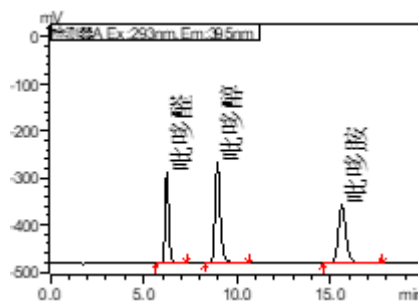


图 5 加标样品色谱图 (加标量 0.7 mg/100g)

表 3 加标回收率 (n=3)

名称	加标样品实际浓度 (mg/100g)			平均回收率 %	RSD%
	平行 1	平行 2	平行 3		
吡哆醛	0.601	0.606	0.601	86.1	0.39
吡哆醇	0.601	0.603	0.609	86.3	0.56
吡哆胺	0.602	0.608	0.602	86.3	0.46

■ 结论

本文采用岛津 Prominence LC-20 AT 高效液相色谱仪, 参考《GB 5009.154-2016 食品中维生素 B₆ 的测定》中规定的检测方法, 建立了一种测定食品中维生素 B₆ 的方法。该方法检测灵敏度高, 重复性好, 3 种标准品 0.1-1.0 μg/mL 浓度范围内具有较好的线性关系, 线性相关系数 $r > 0.9998$, 吡哆醛、吡哆醇、吡哆胺仪器定量限分别为 0.9、0.9、1.5 ng/mL。3 种标液加标回收实验平均回收率为 86.2 %, 连续进样 6 针保留时间 RSD% 在 0.12 %-0.26 % 之间, 峰面积 RSD% 在 0.35 %-0.58 % 之间, 系统精密度良好。实验表明, 该方法完全满足标准中的各项规定, 可用于食品中维生素 B₆ 的检测。

岛津应用云

