

高效液相色谱法测定食品中维生素 B₁

LC-211

摘要：本文建立了高效液相色谱法测定食品中维生素 B₁ 的方法。样品参照国标《GB 5009.84-2016》中的前处理方式，分别进行提取、衍生化，然后进行上机分析。维生素 B₁ 在 0.03-1.5 μg/mL 浓度范围内具有较好的线性关系，线性相关系数 $r > 0.9990$ ，仪器定量限为 0.619 ng/mL。加标回收实验回收率在 86.5-88.0% 之间，连续 6 次进样保留时间 RSD% 为 0.186%、峰面积 RSD% 为 1.296%，系统精密度良好，满足标准要求。

关键词：高效液相色谱法 维生素 B₁ 番茄

维生素 B₁ (Vitamin B₁) 又称硫胺素，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。食物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 以游离态或化合态存在于食品中，是人体必需的营养成分。

《GB 5009.84-2016 食品中维生素 B₁ 的测定》标准中规定了高效液相色谱法测定食品中维生素 B₁ 方法。本实验参照标准中的实验条件，使用岛津 LC-20A 高效液相色谱仪对番茄中维生素 B₁ 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-20A 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 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm)

流动相：A：0.05 mol/L 乙酸钠溶液；B：甲醇

流速：0.8 mL/min

柱温：40°C

检测波长：激发波长 375 nm，发射波长 435 nm

进样体积：20 μL

洗脱方式：等度洗脱，A：B=65：35

1.3 标准品与试剂

标准品：购于上海安谱，于 -20°C 冰箱保存，备用。

试剂：均为分析纯以上。

甲醇：色谱级，室温保存。

实验用水：由 Milli-Q Plus 水净化系统经去离子水二次净化制得。

■ 样品前处理

试样制备：新鲜蔬菜（番茄）：取 500 g 左右，用匀浆机将样品均质后，制得均匀性一致的匀浆，立即处理或者于冰箱中冷冻保存。

提取：称取 5 g (精确至 0.01 g) 样品于 100 mL 锥形瓶中，加 60 mL 0.1 mol/L 盐酸溶液，充分摇匀，塞上软质塞子，高压灭菌锅中 121°C 保持 30 min。水解结束待冷却至 40 °C 以下取出，轻摇数次；用 pH 计指示，用 2.0 mol/L 乙酸钠溶液调节 pH 至 4.0 左右，加入 2.0 mL 混合酶溶液，摇匀后，置于培养箱中 37°C 过夜；将酶解液全部转移至 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，离心，取上清液备用。

试液衍生化：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，准确加入 2.0 mL 正丁醇，再次涡旋混匀 1.5 min 后静置约 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 标准系列工作液，与试液同步进行衍生化。

注 1：室温条件下衍生产物在 4h 内稳定。

注 2：操作过程应在避免强光照射的环境下进行。

■ 结果与讨论

3.1 标准品溶液色谱图和线性范围

精密量取维生素 B₁ 标准品适量，用甲醇稀释成浓度为 0.03、0.15、0.3、0.8、1.5 μg/mL 五个浓度的标准溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，维生素 B₁ 标准品溶液色谱图如图 1 所示。

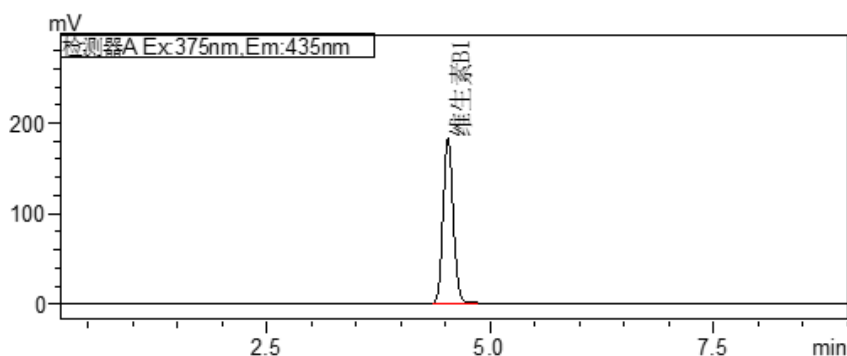


图 1 标准品溶液色谱图 (0.3 μg/mL)

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、相关系数和检出限见表 1，检出限、定量限根据最低浓度点计算得出。

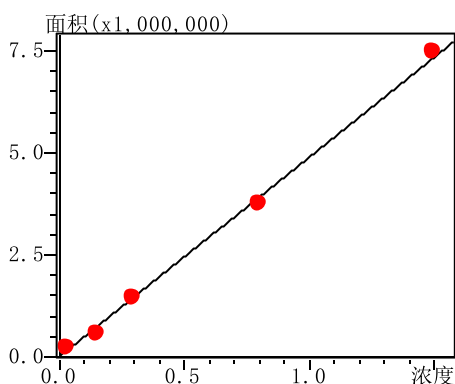


图 2 维生素 B₁ 标准品校准曲线

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)
维生素 B ₁	$Y = 4.88209e+006X - 485.487$	0.9990	0.03-1.5	0.186	0.819

3.2 精密度实验

按照 1.2 分析条件测定，选择浓度为 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准品溶液连续进样测定 6 次，重复性色谱图如图 3 所示。烟酸、烟酰胺的保留时间 RSD% 分别为 0.04 %、0.02 %；峰面积 RSD% 为 0.13 %、0.07 %，结果见表 2。精密度实验结果表明，Nexera LC-40 高效液相色谱仪具有良好的精密度。

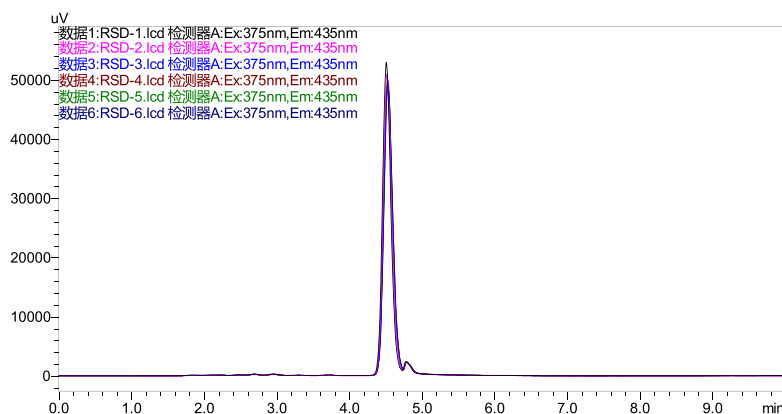


图 3 标准品溶液 6 针重复性色谱图（浓度 0.18 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）

表 2 维生素 B₁ 保留时间和峰面积重复性结果（n=6）

名称	RSD% (0.180 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	
	R.T.	Area
维生素 B ₁	0.186	1.296

3.3 回收率试验

称取空白番茄样品，加入一定量维生素 B₁ 标准品，使加标浓度分别为 0.2、0.4 $\text{mg}/100 \text{g}$ ，每个浓度分别进行三个平行实验，按照 2 中所述前处理方式处理加标样品，然后按 1.2 中条件进行测试，计算平均回收率。空白番茄样品色谱图见图 4，空白基质中检出维生素 B₁（响应远低于定量限）。0.2 $\text{mg}/100 \text{g}$ 加标样品的回收色谱图见图 5，各添加水平的平均回收率在 86.5.3-88.0 % 之间，结果详见表 3。

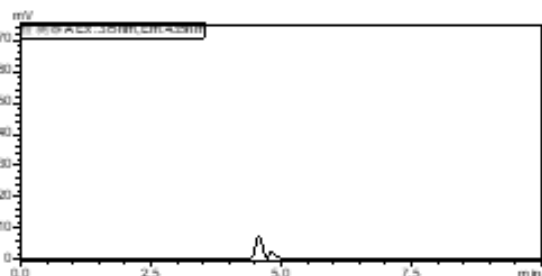


图 4 空白样品色谱图

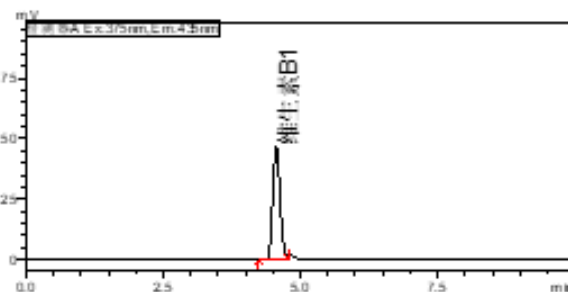


图 5 加标样品色谱图（加标量 0.2 $\text{mg}/100\text{g}$ ）

表 3 加标回收率 (n=3)

名称	加标水平 (mg/100g)	实际检测样品浓度 (mg/100g)			平均回收率 %	RSD%
		平行 1	平行 2	平行 3		
维生素 B ₁	0.2	0.176	0.177	0.174	87.7	0.53
	0.4	0.348	0.348	0.346	86.8	0.54

■ 结论

本文采用岛津 LC-20A 高效液相色谱系统, 参考《GB 5009.84-2016 食品中维生素 B₁ 的测定》中规定的检测方法, 建立了一种测定番茄中的维生素 B₁ 方法。该方法检测灵敏度高, 重复性好, 系统精密度良好。实验表明, 该方法满足标准中的各项规定, 可用于食品中维生素 B₁ 的检测。

岛津应用云

