

高效液相色谱法测定婴幼儿配方乳粉中维生素 B6 的含量

LC-432

摘要： 本文使用高效液相色谱仪建立了婴幼儿配方乳粉中维生素 B6 的分析方法。方法采用 C18 色谱柱，使用外标法定量，吡哆醛、吡哆醇、吡哆胺在 0.020 $\mu\text{g}/\text{mL}$ -1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内，线性相关系数大于 0.9995，仪器检出限均在 0.13 ng/mL ~0.92 ng/mL 范围内，仪器定量限均在 0.39 ng/mL ~2.80 ng/mL 范围内。使用 0.040 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液分别连续进样 6 针，保留时间的 RSD 在 0.049%~0.12% 之间，峰面积的 RSD 在 0.14%~2.44% 之间。婴幼儿配方乳粉中的维生素 B6 加标回收率在 91.95%~100.39% 之间。该方法满足《GB 5009.154-2023 食品安全国家标准 食品中维生素 B6 的测定（第三法）》方法要求，可为相关从业人员提供参考。

关键词： 高效液相色谱法 婴幼儿配方乳粉 维生素 B6

技术特点：

- ❖ 方法前处理简单，灵敏度高，检出限可达国标要求的 1/15 以下。
- ❖ 使用岛津 ShimNex CS C18 色谱柱，吡哆醛、吡哆醇、吡哆胺具有良好的分离度。

维生素 B6 是一种水溶性 B 族维生素，又名吡哆素，其包括吡哆醇、吡哆醛及吡哆胺，在体内以磷酸酯的形式存在，是一种水溶性维生素，遇光或碱易破坏，不耐高温。维生素 B6 可以与维生素 B1、B2 合作，共同消化吸收蛋白质、脂肪。婴幼儿缺乏维生素 B6 主要表现为生长发育迟缓，有时还可出现贫血；6 个月以内的婴儿如缺乏维生素 B6，可出现神经过敏、兴奋增多及频繁的全身性抽搐，导致抑郁、嗜睡、智

力迟钝等症状。因此，对于婴幼儿配方食品中、维生素 B6 含量范围在国标《GB 10765-2021 食品安全国家标准 婴儿配方食品》有明确的要求，需在 8.4~41.8 $\mu\text{g}/100\text{ kJ}$ 范围内。

本文参考《GB 5009.154-2023 食品安全国家标准 食品中维生素 B6 的测定》的第三法，使用岛津高效液相色谱建立了乳粉中维生素 B6 的检测方法，可为相关从业人员提供参考。

实验部分

1.1 仪器

岛津高效液相色谱仪 LC-40，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-40Alite	脱气机：	DGU-403
输液泵：	LC-40D XS \times 2	柱温箱：	CTO-40S
自动进样器：	SIL-40C XS	检测器：	RF-20A XS
色谱工作站：	Labsolutions Ver. 5.118		

1.2 分析条件

色谱柱：	ShimNex CS C18 (150 \times 4.6 mm I.D., 5 μm) ; 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 380-01230-02		
流动相：	A: 9.79 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的庚烷磺酸钠溶液, 加入 3.0 mL 三乙胺, 调 pH 为 3.0; B: 甲醇;		
进样体积：	20 μL	流速：	1 mL/min
柱温：	30 $^{\circ}\text{C}$	波长：	激发波长 293 nm, 发射波长 395 nm
洗脱方式：	等度洗脱, 10%B		

1.3 标准品溶液的配制

分别称取盐酸吡哆醛、盐酸吡哆醇、双盐酸吡哆胺适量，用 0.1 mol/L 盐酸溶液溶解，分别配制成 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的吡哆醛、吡哆醇、吡哆胺标准溶液。准确量取吡哆醇、吡哆醇、吡哆胺标准溶液适量，用 0.1 mol/L 盐酸溶液稀释成 10 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准溶液。分别取 10 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准溶液适量，用水配制成 0.020 $\mu\text{g/mL}$ 、0.040 $\mu\text{g/mL}$ 、0.10 $\mu\text{g/mL}$ 、0.20 $\mu\text{g/mL}$ 、0.40 $\mu\text{g/mL}$ 、0.60 $\mu\text{g/mL}$ 和 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准系列工作液。

1.4 样品前处理

参照《GB 5009.154-2023 食品安全国家标准 食品中维生素 B6 的测定》的第三法，前处理流程见图 1。

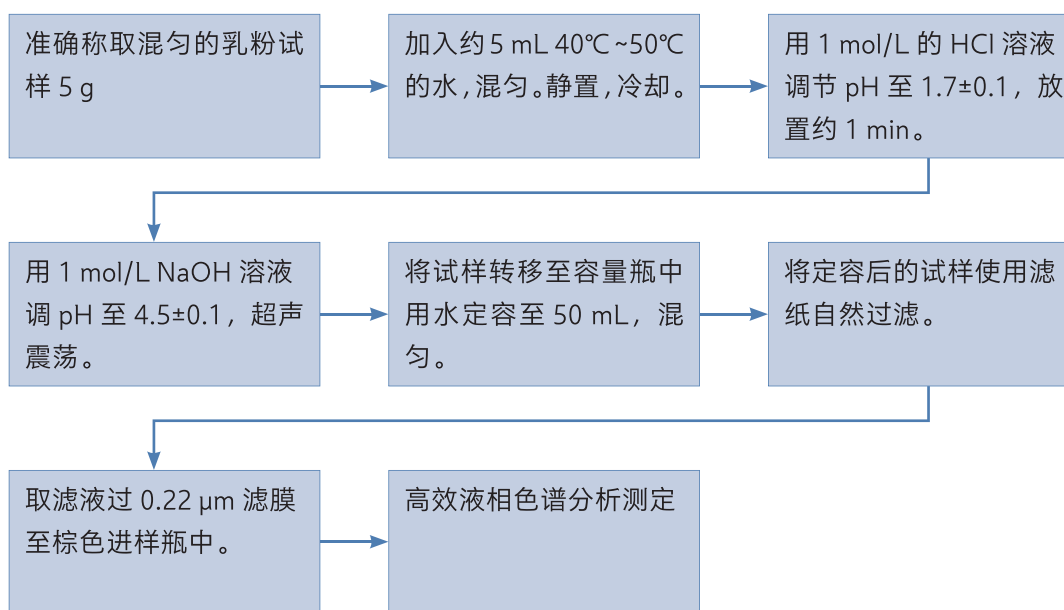


图 1 样品前处理流程图

■ 结果与讨论

2.1 维生素 B6 各组分混合标准溶液色谱图

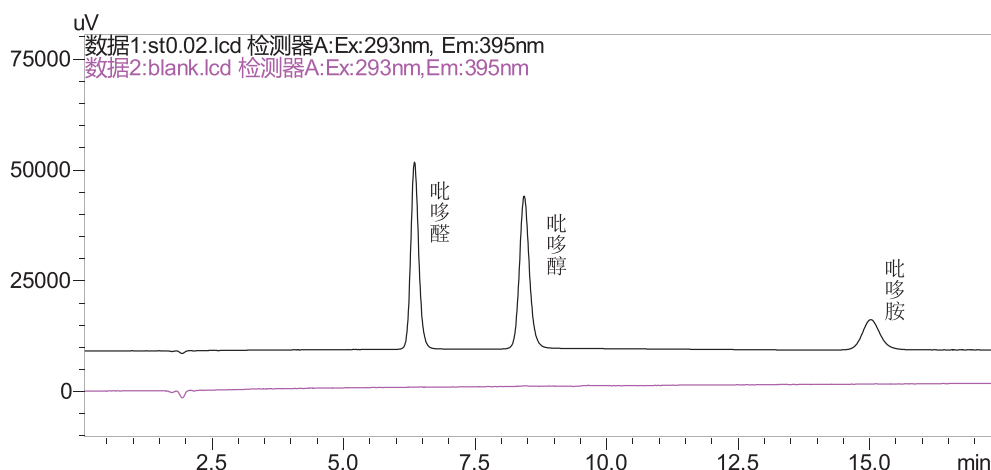


图 2 空白及维生素 B6 各组分混合标准溶液叠加色谱图 (0.020 $\mu\text{g/mL}$)

2.2 校准曲线、检出限和定量限

按照 1.2 项下分析条件，标准系列溶液按照浓度从低到高的顺序依次上机测定，分别以吡哆醛、吡哆醇、吡哆胺的质量浓度为横坐标，其对应的峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，如图 3 所示。吡哆醛、吡哆醇、吡哆胺在 0.020 µg/mL-1.0 µg/mL 浓度范围内线性关系良好，相关系数 r 大于 0.9995，各校准点准确度在 91.0%-107.0% 之间。根据最低浓度点标样数据，以 3 倍信噪比计算检出限，以 10 倍信噪比计算定量限，见表 1。

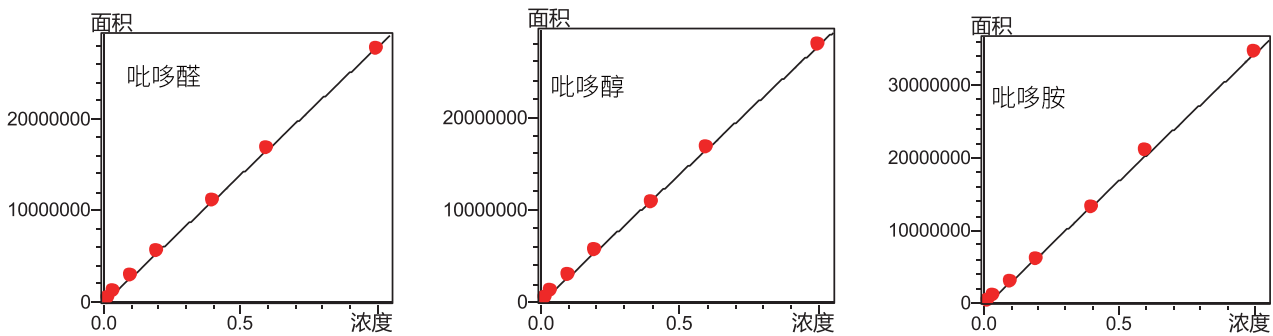


图 3 校准曲线

表 1 维生素 B6 各组分的校准曲线及检出限

#	化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	吡哆醛	$Y=(2.80e+7)X-54919$	0.9998	91.0%-105.8%	0.13	0.39
2	吡哆醇	$Y=(2.78e+7)X-49208$	0.9997	91.1%-107.0%	0.16	0.49
3	吡哆胺	$Y=(3.49e+7)X-557934$	0.9995	93.7%-105.9%	0.92	2.80

2.3 精密度

取校准曲线低中高，三个不同浓度点标准溶液，连续进样 6 次，考察仪器的精密度，保留时间 RSD 在 0.049%~0.12% 范围内，峰面积 RSD% 在 0.14%~2.44% 范围内。具体结果见表 2，仪器精密度良好。

表 2 精密度结果 (n=6)

#	化合物	0.04 µg/mL		0.2 µg/mL		0.6 µg/mL	
		保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
1	吡哆醛	0.082	0.62	0.049	0.19	0.079	0.46
2	吡哆醇	0.12	0.22	0.063	0.33	0.093	0.14
3	吡哆胺	0.11	2.44	0.078	1.10	0.12	1.23

2.4 实际样品测定及准确度测定

按照以上建立的方法对市售的婴幼儿配方乳粉进行测定，该样品中吡哆醛的含量为 0.390 mg/kg，吡哆醇的含量为 1.52 mg/kg、吡哆胺的含量为 0.220 mg/kg。其色谱图如图 4 所示。

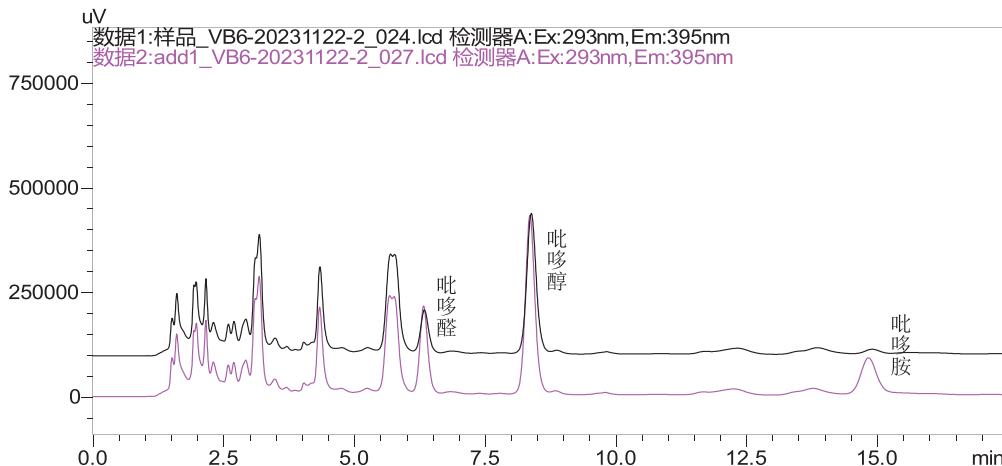


图4 样品及加标 (0.4 mg/kg) 的叠加色谱图

采用在乳粉中加标进行准确度试验。向乳粉中分别添加样品含量为 0.4 mg/kg、0.8 mg/kg、4.0 mg/kg 的 3 个浓度水平的维生素 B6 标准溶液，按照所建立的方法进行样品处理及测定。每个浓度水平重复 3 份平行样品，计算加标回收率和相对标准偏差 (RSD)。结果如表 3 所示。

表 3 准确度结果 (n=3)

化合物	乳粉本底含量 (mg/kg)	加标浓度水平 (mg/kg)	加标结果 (mg/kg)	回收率 (%)	RSD (%)
吡哆醛	0.390	0.4	0.767	94.17	3.01
		0.8	1.16	95.83	0.50
		4.0	4.25	96.58	0.36
吡哆醇	1.520	0.4	1.96	94.25	0.30
		0.8	2.35	91.95	0.25
		4.0	5.62	93.56	0.27
吡哆胺	0.220	0.4	0.65	100.39	1.79
		0.8	1.04	96.86	0.55
		4.0	4.39	98.12	0.46

结论

本文使用岛津高效液相色谱仪，参考《GB 5009.154-2023 食品安全国家标准 食品中维生素 B6 的测定》，建立了婴幼儿配方乳粉中维生素 B6 的分析方法，并进行了方法学考察。实验结果表明，该方法前处理简单，专属性强，满足标准要求，可为相关从业人员提供参考。

岛津应用云

