



婴幼儿配方奶粉中维生素 B₁ 的测定

AF10010

应用及技术服务部

摘要：本实验以 GB 5009.84-2016 第一法为依据，用 Venusil XBP C18(2)色谱柱对婴幼儿配方奶粉中的维生素 B₁进行了测试。样品在稀盐酸介质中恒温水解、中和再酶解，水解液用碱性铁氰化钾溶液衍生，正丁醇萃取后，经 Venusil XBP C18(2)色谱柱分离，高效液相-荧光检测器检测，外标法进行定量。结果表明，Venusil XBP C18(2)(5 μm, 100 Å, 4.6 × 250 mm)检测维生素 B₁保留时间稳定且峰形良好，能够满足检测要求。

关键词：Venusil XBP C18(2)；婴幼儿配方奶粉；维生素 B₁；

前言

维生素 B₁又称硫胺素或抗神经炎维生素或抗脚气病维生素，由嘧啶环和噻唑环通过亚甲基结合而成的一种 B 族维生素。维生素 B₁主要存在于种子的外皮和胚芽中，如米糠和麸皮中含量很丰富，在酵母菌中含量也极丰富。瘦肉、白菜和芹菜中含量也较丰富。所用的维生素 B₁都是化学合成的产品。在体内，维生素 B₁以辅酶形式参与糖的分解代谢，有保护神经系统的作用；还能促进肠胃蠕动，增加食欲。维生素 B₁缺乏时，可引起多种神经炎症，如脚气病。维生素 B₁缺乏所引起的多发性神经炎，患者的周围神经末梢有发炎和退化现象，并伴有四肢麻木、肌肉萎缩、心力衰竭、下肢水肿等症状。在现代医学上，维生素 B₁制剂治疗脚气病和多种神经炎症有显著疗效。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

高效液相色谱仪-荧光检测器

试剂材料

正丁醇、铁氰化钾、氢氧化钠、盐酸、乙酸钠、氯化钙均为分析纯；



冰乙酸、甲醇为色谱纯

维生素 B₁ 标准品（纯度 99%）：盐酸硫胺素，CAS 67-03-8；

木瓜蛋白酶：应不含维生素 B₁，酶活力 ≥ 800 U（活力单位）/mg；

淀粉酶：应不含维生素 B₁，酶活力 ≥ 3700 U/g；

20 g/L 铁氰化钾溶液：称取 2 g 铁氰化钾，用水溶解并定容至 100 mL，摇匀；

100 g/L 氢氧化钠溶液：称取 25 g 氢氧化钠，用水溶解并定容至 250 mL，摇匀；

碱性铁氰化钾溶液：将 5 mL 上述铁氰化钾溶液与 200 mL 上述氢氧化钠溶液混合，摇匀；

0.1 mol/L 盐酸溶液：移取 8.5 mL 盐酸，加水稀释至 1000 mL，摇匀；

0.01 mol/L 盐酸溶液：量取 0.1 mol/L 盐酸溶液 50 mL，用水稀释并定容至 500 mL，摇匀；

0.05 mol/L 乙酸钠溶液：称取 6.08 g 乙酸钠，加 900 mL 水溶解，用冰乙酸调节 pH 为 4.0 ~ 5.0 之间，加水定容至 1000 mL，经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后使用；

2.0 mol/L 乙酸钠溶液：称取 27.2 g 乙酸钠，用水溶解并定容至 100 mL，摇匀；

混合酶溶液：称取 1.76 g 木瓜蛋白酶、1.27 g 淀粉酶，加水定容至 50 mL，涡旋，使呈混悬状液体，冷藏保存。

样品制备

样品提取

称取 3 g ~ 5 g 固体试样或者 10 g ~ 20 g 液体试样于 100 mL 锥形瓶中（带有软质塞子），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℃ 保持 30 min。水解结束待冷却至 40℃ 取出，轻摇数次，用 2.0 mol/L 乙酸钠溶液调节 pH 至 4.0 左右，加入 2 mL（可根据酶活力不同适当调整用量）混合酶溶液，摇匀后，置于培养箱中 37℃ 过夜（约 16 h），将酶解液全部转移至 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，离心或者过滤，取上清液备用。

样品衍生化

准确移取上述上清液或者滤液 2 mL 于 10 mL 试管中，加入 1 mL 碱性铁氰化钾溶液，涡旋混匀后，准确加入 2 mL 正丁醇，再次涡旋混匀 1.5 min 后静置约 10 min 或者离心，待充分分层后，吸取正丁醇相（上层）经 0.45 μm 微孔滤膜过滤，取滤液于 2 mL



棕色进样瓶中，待检测。若样品中维生素 B₁ 浓度超出线性范围的最高浓度值，应取上清液稀释适宜倍数后，重新衍生后进样。

实验条件

液相条件

色谱柱：Venusil[®] XBP C18(2) 5 μm, 4.6 × 250 mm, 100 Å

流动相：0.05 mol/L 乙酸钠溶液：甲醇 = 65：35

荧光检测器检测波长：激发波长 375 nm，发射波长 435 nm

流速：1.0 mL/min；进样量：10 μL

结果与讨论

实验结果

经图 1、图 2 可知，采用 Venusil XBP C18(2) 色谱柱检测婴幼儿配方奶粉中的维生素 B₁，峰形良好，保留时间稳定，能够满足实验要求。

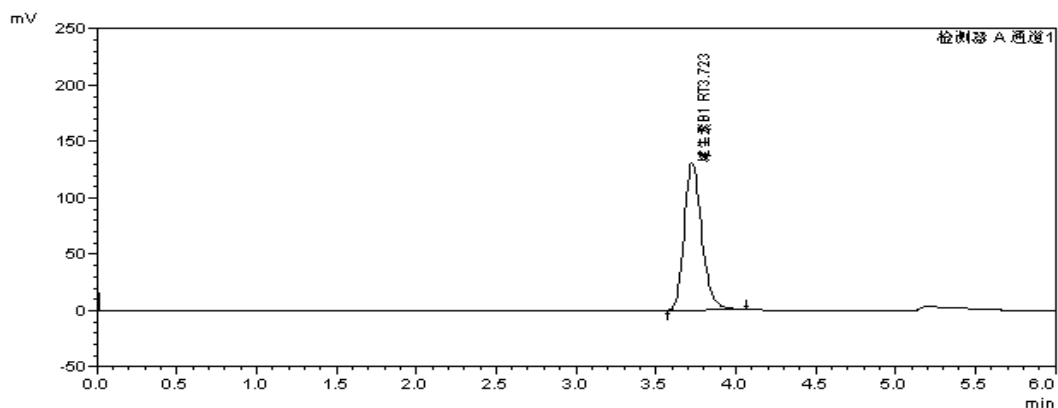


图 1 维生素 B₁ 标准溶液

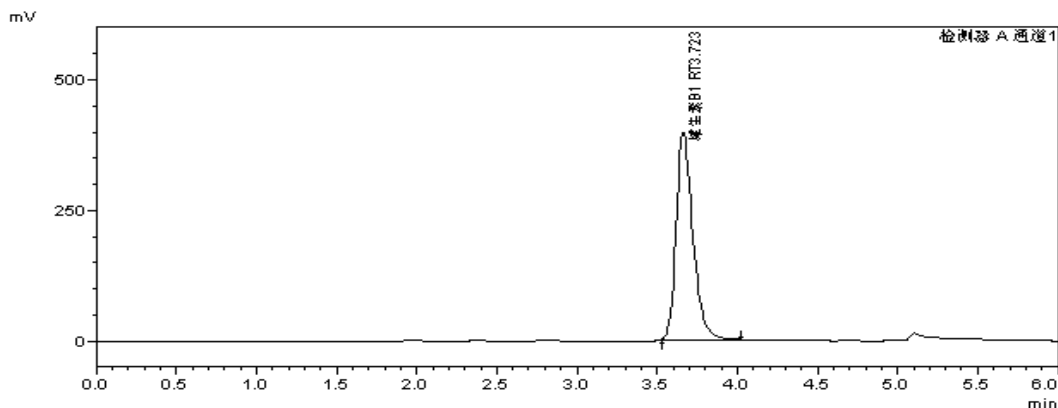


图 2 婴幼儿配方奶粉中的维生素 B₁



结论

本实验依据 GB 5009.84-2016 第一法，用 Venusil XBP C18(2) (5 μm , 100 \AA , 4.6 \times 250 mm) 检测婴幼儿配方奶粉中的维生素 B₁，并结合液相色谱-荧光检测器对样品进行了检测，结果维生素 B₁ 保留时间稳定，峰形良好，说明 Venusil XBP C18(2) (5 μm , 100 \AA , 4.6 \times 250 mm) 能够用于婴幼儿配方奶粉中维生素 B₁ 的检测。

注意事项

按照国标法进行样品前处理时回收率较低，可采用先热超声提取，再经过酸沉淀蛋白后直接衍生化的方法加以改善。热超声时要注意温度的控制，以防止维生素 B₁ 遭到破坏。

因维生素 B₁ 为强极性化合物实验中应注意流动相比比例的确定，且流动相的 pH 对出峰时间影响较大，因此在每次开始实验前，要调节流动相 pH 值到相同的值。

附：相关产品

产品名称	规格描述	包装数量	订货号
Venusil XBP C18 (2)	4.6 \times 250 mm, 5 μm , 100 \AA	1 支	VX952505-2
1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 \times 11.6 mm	100/pk	1109-0519
1.5mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖，红色橡胶 /米色 PTFE 隔垫 45° Shore A; 1.0 mm	100/pk	0915-1819
微孔滤膜	尼龙，50 mm，0.45 μm	100 片	AM025045