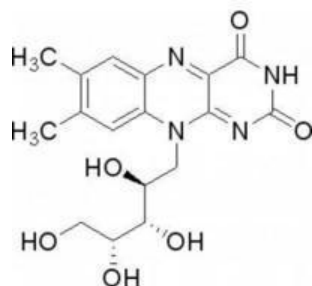


乳粉中维生素 B2 的含量测定 高效液相色谱法

维生素 B2 又叫核黄素，微溶于水，在中性或酸性溶液中加热呈稳定状态。维生素 B2 是体内黄酶类辅基的组成部分。



维生素 B2 作为婴幼儿配方奶粉的重要添加物，是人体必需的营养元素。当体内缺乏维生素 B2 时，会影响机体的生物氧化，使代谢发生障碍。其病变多表现为口、眼等部位的炎症，如口角炎、唇炎、舌炎、眼结膜炎等，因此维生素 B2 可用于上述疾病的防治，还可增进人体对铁的吸收。



为了保障科学定量摄入，准确定量检测奶粉中维生素 B2 的含量对监管奶粉营养成分及安全具有重要意义，为食品、营养学的分析检测和研究提供量值溯源保障。

实验部分：

乳粉中维生素 B2 的含量测定 高效液相色谱法

【仪器与试剂】

仪器与设备：悟空 K2025 高效液相色谱仪（配荧光检测器），分析天平（精确到 0.0001g），涡旋振荡器，pH 计，超声波清洗机，容量瓶（50、100、500、1000mL，棕色带刻度）；

试剂与材料：维生素 B2 标准品（CAS 号：83-88-5，纯度为 97.6%），符合 GB/T6682 的一级水，甲醇、冰乙酸(色谱级)，无水乙酸钠（优级纯），盐酸、氢氧化钠（分析纯），微孔滤膜（0.22μm，水相）。

【样品前处理】

称取 5g (精确至 0.0001g) 乳粉样品于 50mL 容量瓶中, 加水 25mL, 涡旋混匀, 先用 1mol/L 的盐酸溶液调节 pH 至 1.7, 静置, 再用 1mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 4.6, 最后用水定容至 50mL, 混匀后过滤, 取续滤液待液相色谱测定。

【色谱条件】

- a) 色谱柱: C18, 4.6×250mm, 5 μ m
- b) 流动相: 0.05mol/L 乙酸钠溶液+甲醇 = 65+35
- c) 柱温: 35℃
- d) 进样量: 20 μ L
- e) 流速: 1.0 mL/min
- f) 检测器及波长: 荧光检测器, Ex = 462nm, Em = 522nm

【结果与讨论】:

1. 按照上述色谱条件进行采集, 维生素 B₂ 标准溶液色谱图如图 1 所示, 经计算维生素 B₂ 的理论塔板数为 10139, 拖尾因子为 1.16, 具有良好的峰型。

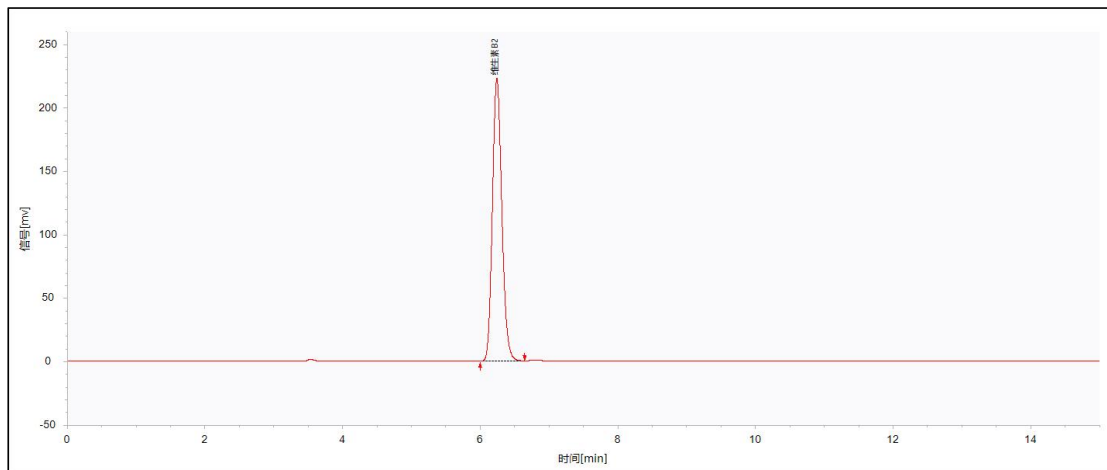


图 1 维生素 B₂ 标准溶液 (2.462μg/mL) 色谱图

2. 将维生素 B₂ 标准溶液逐级稀释至信噪比 S/N 为 3 左右, 计算仪器的检出限, 数据结果见表 1。经计算仪器针对维生素 B₂ 检出限为 0.811ng/mL, 定量限为 2.702ng/mL。

表 1 灵敏度测试数据

目标物	浓度 (μg/mL)	峰高 (mAU)	噪声 (mAU)	S/N	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
维生素 B ₂	0.137	10.647	0.021	507.0	0.811	2.702

3. 将系列浓度的维生素 B₂ 的标准曲线溶液在 HPLC 上进行测定, 色谱图如图 2 所示; 绘制校准曲线, 线性方程及相关系数见图 3, 标曲的相关系数 R² 为 0.9998, 线性关系良好。

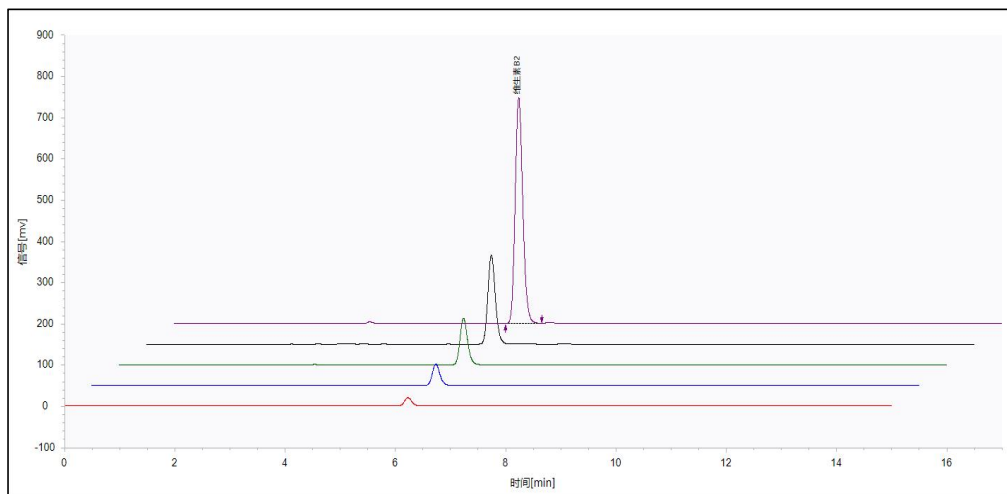


图 2 维生素 B₂ 标准溶液系列叠加色谱图

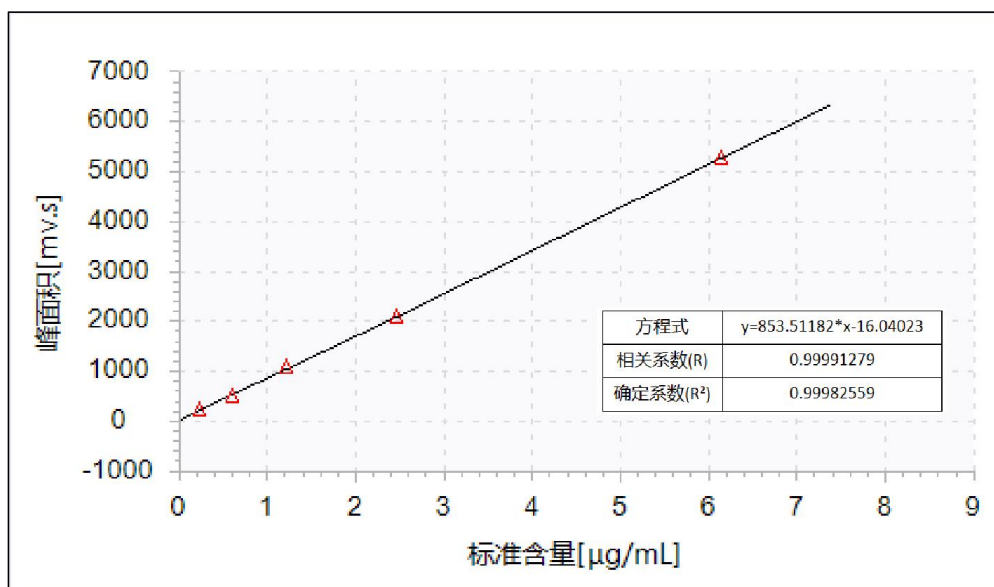


图 3 维生素 B₂ 标准溶液校准曲线

4. 购买市售的乳粉作为样品进行处理并测定, 测试样品色谱图如图 4 所示, 经计算该乳粉样品中维生素 B₂ 的含量为 1.30mg/100g。

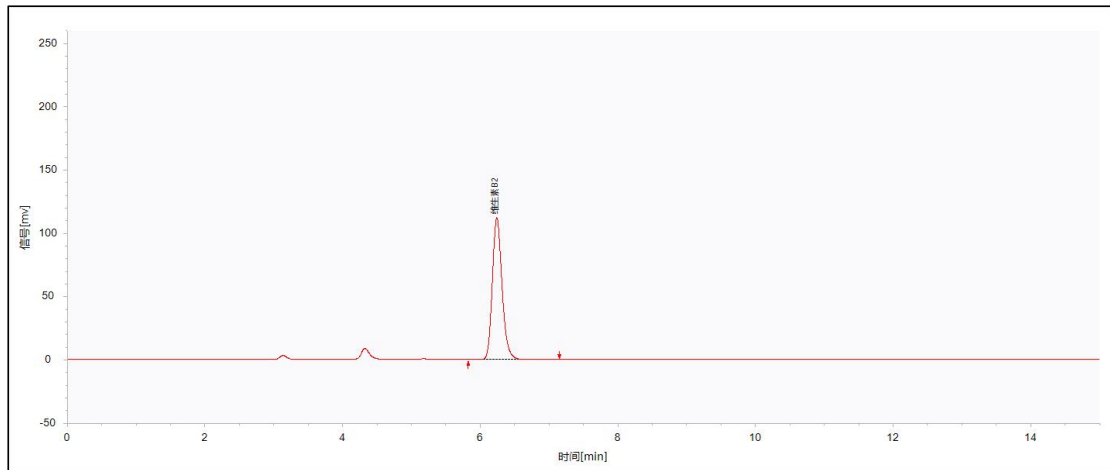


图 4 市售乳粉样品色谱图

【结论】

使用 K2025 高效液相色谱仪，通过对维生素 B₂ 的峰形、重复性、线性、灵敏度测试以及对市售乳粉样品中的维生素 B₂ 含量进行测定，目标物维生素 B₂ 色谱峰的理论塔板数为 10139，对称因子为 1.16，具有良好的峰型；重复性测试中，连续进样 7 针，维生素 B₂ 保留时间的 RSD 为 0.038%，峰面积的 RSD 为 0.058%，定性、定量均有良好的重复性；维生素 B₂ 的仪器检出限为 0.811ng/mL，定量限为 2.702ng/mL；线性关系良好，确定系数 R² 为 0.9998；因此，Wooking K2025 高效液相色谱仪完全可以满足《GB 5009.85-2016 食品安全国家标准 食品中维生素 B₂ 的测定（第一法）》中使用高效液相色谱法测定维生素 B₂ 含量的需求。