



复杂基质中水溶性维生素的分析

前言

维生素是生命正常代谢过程中至关重要的化合物。它们不仅天然存在于许多食品中，目前也经常添加到加工食品中。此外，在饮食不规律的人群中，使用维生素补充剂已经愈发常见。维生素分为两种，即水溶性和脂溶性。其中水溶性维生素最为常见主要是硫胺素（B1），吡哆素（B6），钴胺素（B12），核黄素（B2），烟酸（B3），烟酰胺，抗坏血酸葡萄糖苷，维生素C 和异抗坏血酸。

由于水溶性维生素的性质不稳定，因此在常规分析中具有一定难度。日常生活中影响水溶性维生素稳定性的因素有很多，如暴露在高温、强光、空气的条件下以及与其它的食品成分发生相互作用，均会影响水溶性维生素的稳定性。

通过使用带有二极管阵列检测器（DAD）的反相高效液相色谱（HPLC），很容易开发出检测水溶性维生素的方法。在定量分析中，由于维生素C和异抗坏血酸的不稳定性，其在样品制备过程中经常发生分解，因此建议建立单独的 HPLC 方法。

Abstract

本报告描述了食品中常见的水溶性维生素的定性和定量分析，建立了一种可同时测定 9 种水溶性维生素的反相高效液相色谱法（RP-HPLC）。采用赛里安 LC6000 系统上实现了 9 种水溶性维生素的分离和定量。具有多波长选择特性 LC6000-DAD 二极管阵列检测器可有效实现在各种维生素的最大吸收波长处对其进行检测。

Author:

天美仪拓实验室设备(上海)有限公司 色谱市场部

本应用方案使用 SCION 6000 HPLC（配 DAD 检测器和 C18，5μm 反相柱）时，可以同时轻松鉴定 9 种目标化合物。制备的分析用标准品在四丁基铵中的浓度范围为 0.1-50mg / L。为了分析维生素 B1和 B6，使用了盐酸盐。同时因为样品是富含维生素的健康饮料和营养补品，因此在样品制备过程中以 1:10 的比例稀释，然后通过 0.45 μm 过滤器过滤后待分析。

实验部分

仪器和试剂

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

- 集成六通道真空脱气的SCION LC6000四元泵
- SCION LC6000 高精度、低残留自动进样器
- SCION LC6000 柱温箱
- 具有超高灵敏度的SCION LC6000 二极管阵列检测器

液相色谱条件

表1. 方法参数

色谱柱：	SCION ODS-AQ C18 5μm× 4.6 ID×250 mm
流动相：	磷酸盐缓冲液(PH5.2)：乙腈(90：10V/V) 磷酸盐缓冲液：10 mM四丁基氢氧化铵 10 mM磷酸二氢钾
流速：	0.8 ml/min
柱温：	40°C
检测波长：	260nm (DAD)
进样量：	10μL

实验结果

结果

所有目标化合物均具有良好的线性；R²值在 0.996 以上。在分析中，由于洗脱液中维生素的不稳定性，为了保证良好的线性，维生素 C、异抗坏血酸和维生素 B₁₂必须现用现配。图 1 显示了维生素 B₆的线性，该线性代表了上述三种目标化合物之外的所有目标化合物（R²为 0.996）。

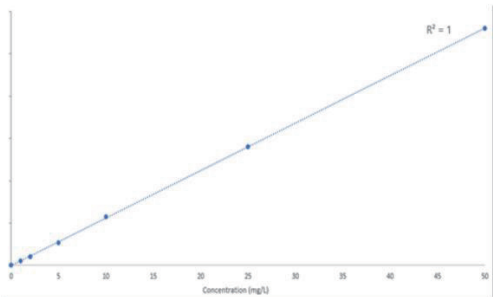


图1. VB 6的标准曲线

表 2 列出了每种目标化合物以及图 2 的相应峰数。图 2 显示了 5mg / L 分析标准品的色谱图。图 2 突出显示了每种目标维生素的出色分离度和峰形。

表2. 峰标识

峰	维生素
1	B ₁
2	B ₆
3	烟酰胺
4	B ₁₂
5	抗坏血酸葡萄糖苷
6	C
7	异抗坏血酸
8	B ₂
9	烟酸

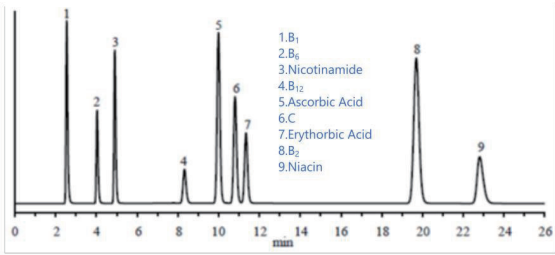


图2. 5mg/L 标准样品图谱

图 3 显示了分析富含维生素的饮料样品时获得的色谱图。此外，图 4 突出显示了 Compass CDS 软件将目标分析物的吸收光谱与分析标准品的光谱进行比较的能力，从而提高了结果可信度。

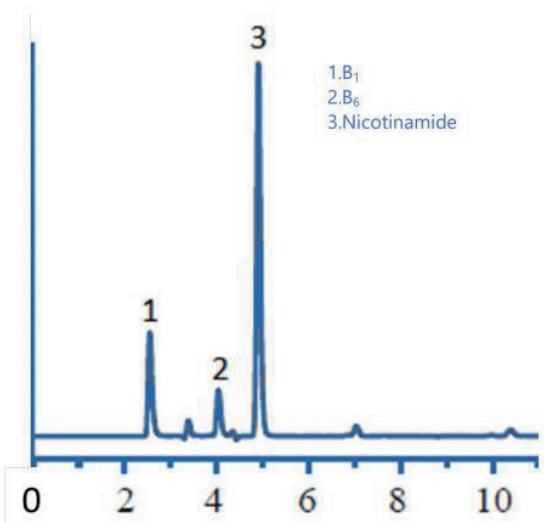


图3. 富含维生素饮料的色谱图

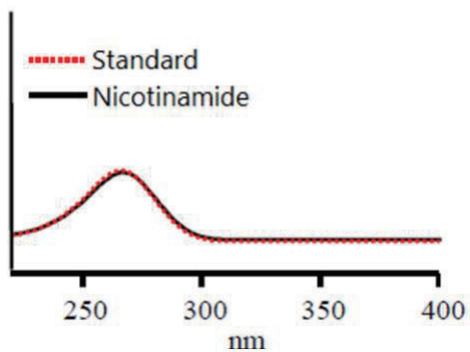


图4. 标准样品和样品测试结果光谱图对比

图 5 显示了营养补品样品的色谱图，而图 6 详细显示了维生素 C 与分析标准品的吸收光谱比较。营养补品比富含维生素的健康饮料多一种维生素，即维生素 C。两个样品中均含有维生素 B₁ 和烟酰胺。通过吸光度光谱的比较证实，鉴定出的目标化合物具有与该化合物的相应标准品完全相同的吸光度，因此结果准确可信。

结论

本文使用带有二极管阵列检测器和反相 C18 色谱柱的 SCION HPLC-6000 系统可以轻松同时鉴定出 9 种水溶性维生素，方法简便、快速。由于维生素 C 和异抗坏血酸的不稳定特性，样品制备是此应用过程中必须考虑的关键因素。即使对于不稳定的维生素，SCION LC6000 也观察到了极好的线性。同时 Compass CDS 软件可轻松比较吸收光谱，结果准确可信。

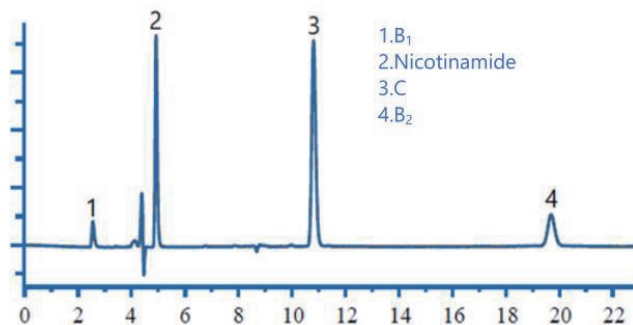


图5. 营养补品样品的色谱图

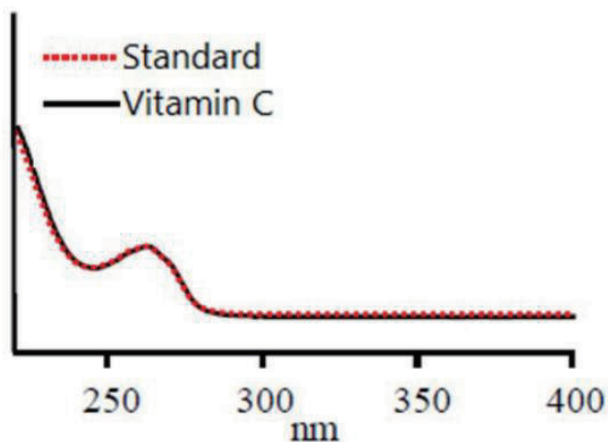


图6. 维生素 C 与分析标准品的吸收光谱比较



天美集团总部

香港九龙葵涌青山道552-566号美达中心6楼

t 00852-27519488

e techcomp@techcomp.com.hk

天美仪拓实验室设备(上海)有限公司

上海市松江新桥民益路201号16幢 (201612)

t 021-67687200

e TIL_CH@techcomp.cn

上海分公司

上海市徐汇区桂平路333号5号楼6楼 (200233)

t 021-64870138

e TIL_CH@techcomp.cn

北京分公司

北京市朝阳区红军营南路天畅园7号楼1、3层 (100107)

t 010-64010651

e TIL_CH@techcomp.cn

广州分公司

广州市天河区体育西路109号高盛大厦16C (510620)

t 020-38899384

e TIL_CH@techcomp.cn

400-810-7898

www.techcomp.cn

www.techcomp.com.hk



天美集团官方网站



天美集团官方微信