

中华人民共和国国家标准

GB 5413.11—2010

食品安全国家标准

婴幼儿食品和乳品中维生素 B₁ 的测定

National food safety standard

Determination of vitamin B₁ in foods for infants and young children,
milk and milk products

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准代替GB/T 5413.11-1997《婴幼儿配方食品和乳粉 维生素B₁的测定》。

本标准与GB/T 5413.11-1997相比，主要变化如下：

- 标准名称改为《婴幼儿食品和乳品中维生素B₁的测定》；
- 取消了原标准第一法（荧光分光光度法）；
- 对原标准的结构进行了修改；
- 外标法定量采用多点标准曲线法；
- 在结果计算时明确样品中维生素B₁含量以硫胺素计；
- 增加附录A标样的液相色谱图。

本标准附录A为资料性附录。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB 5413-1985、GB/T 5413.11-1997。

食品安全国家标准

婴幼儿食品和乳品中维生素 B₁ 的测定

1 范围

本标准规定了婴幼儿食品和乳品中维生素 B₁ 的测定方法。

本标准适用于婴幼儿食品和乳品中维生素 B₁ 的测定。

2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

3 原理

样品在稀盐酸环境中恒温水解，酶解，样液用碱性铁氰化钾衍生，正丁醇（或异丁醇）萃取后，经 C₁₈ 反相色谱柱分离，用荧光检测器（Ex: 375 nm, Em: 435 nm）检测，外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有规定，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 正丁醇或异丁醇。

4.2 铁氰化钾。

4.3 氢氧化钠。

4.4 浓盐酸。

4.5 三水乙酸钠。

4.6 冰乙酸。

4.7 甲醇：色谱纯。

4.8 维生素 B₁ 标准品：硫胺素盐酸盐或硫胺素硝酸盐，纯度≥99%。

4.9 铁氰化钾溶液（20 g/L）：称取 2 g 铁氰化钾（4.2），用水溶解并定容至 100 mL。临用前配制。

4.10 氢氧化钠溶液（100 g/L）：称取 25 g 氢氧化钠（4.3），用水溶解并定容至 250 mL。

4.11 碱性铁氰化钾溶液：将 5 mL 铁氰化钾溶液（4.9）与 200 mL 氢氧化钠溶液（4.10）混合。临用前配制。

4.12 盐酸（0.1 mol/L）：吸取 9 mL 浓盐酸（4.4），溶于 1000 mL 水中。

4.13 盐酸（0.01 mol/L）：吸取 0.1 mol/L 盐酸（4.12）50 mL，用水稀释并定容至 500 mL。

4.14 乙酸钠溶液 (0.05 mol/L): 称取 6.80 g 三水乙酸钠 (4.5), 加 900 mL 水溶解, 用冰乙酸 (4.6) 调 pH 值至 4.0~5.0, 定容至 1000 mL。经 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

4.15 乙酸钠溶液 (2.0 mol/L): 称取 27.22 g 三水乙酸钠 (4.5), 用水溶解并定容至 100 mL。

4.16 混合酶溶液, 称取 2.345 g 木瓜蛋白酶(活力单位 \geq 600 U/g)、1.175 g 淀粉酶(活力单位 \geq 4000 U/g), 用水溶解并定容至 50 mL。临用前配制。

4.17 标准溶液

4.17.1 维生素 B₁ 标准储备液 (500 $\mu\text{g/mL}$): 称取相当于硫胺素 50 mg (精确至 0.1 mg) 的维生素 B₁ 标准品 (4.8), 用 0.01 mol/L 盐酸 (4.13) 溶解并定容于 100 mL。置于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中, 保存期为 3 个月。

4.17.2 维生素 B₁ 标准中间液: 准确吸取 2.00 mL 标准储备液 (4.17.1), 用水稀释并定容至 100 mL, 此溶液中维生素 B₁ 浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 。临用前配制。

4.17.3 维生素 B₁ 标准工作液: 分别吸取维生素 B₁ 标准中间液 (4.17.2) 0 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.00 mL、5.00 mL、10.00 mL, 用水溶解并定容至 100 mL。该标准系列浓度分别为 0 $\mu\text{g/mL}$ 、0.05 $\mu\text{g/mL}$ 、0.10 $\mu\text{g/mL}$ 、0.20 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1.00 $\mu\text{g/mL}$ 。临用前配制。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪, 带有荧光检测器。

5.2 高压灭菌锅。

5.3 离心机: 转速 \geq 4000 转/分钟。

5.4 pH 计: 精度 0.01。

5.5 组织捣碎机 (转速在 0 转/分钟~12000 转/分钟可调)。

5.6 0.45 μm 微孔有机滤膜。

5.7 天平: 感量为 0.001g 和 0.0001g。

6 分析步骤

6.1 试样的处理

6.1.1 试液提取

称取 5 g~10 g (精确至 0.01 g) 试样 (如有必要, 将试样放入捣碎机中捣碎; 试样中含维生素 B₁ 5 μg 以上) 于 100 mL 三角瓶中, 加 60 mL 0.1 mol/L 盐酸 (4.12), 充分摇匀, 用棉花塞和牛皮纸封口, 放入高压灭菌锅内, 在 121 $^{\circ}\text{C}$ 下保持 30 min, 待冷却至 40 $^{\circ}\text{C}$ 以下后取出, 轻摇数次; 用 2.0 mol/L 乙酸钠溶液 (4.15) 调 pH 值至 4.0 左右, 加入 2.0 mL (可根据酶活力不同适当调整用量) 混合酶液 (4.16), 摇匀后, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中过夜; 将酶解液转移至 100 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 滤纸过滤, 取滤液备用。

6.1.2 试液衍生化

取上述滤液 10.00 mL 于 25 mL 具塞比色管中, 加入 5 mL 碱性铁氰化钾 (4.11), 充分混匀后, 加 10.00 mL 正丁醇 (或异丁醇) (4.1), 强烈振荡后静置约 10 min, 充分分层, 吸取正丁醇 (或异丁醇) 相 (上层) 于 4000 转/分钟~6000 转/分钟离心 5 min, 取上清液经有机微孔滤膜过滤 (5.6), 供进样用。

另取 10.00 mL 标准工作液 (4.17.3)，与试液同步进行衍生化。

注 1：室温条件下衍生产物在 4 h 内稳定。

注 2：6.1.1 和 6.1.2 操作过程应在避免强光照射的环境下进行。

6.2 测定

6.2.1 色谱参考条件

色谱柱：C₁₈ 反相色谱柱（粒径 5 μm，250 mm × 4.6 mm）或相当者。

流动相：0.05 mol/L 乙酸钠溶液 (4.14) — 甲醇 (4.7) = 65+35。

流速：1.00 mL/min。

检测波长：激发波长 375 nm，发射波长 435 nm。

进样量：20 μL。

6.2.2 标准曲线绘制

将维生素 B₁ 标准系列工作液 (4.17.3) 衍生物依次按上述推荐色谱条件上机测定，记录色谱峰面积，色谱图参见附录 A。以峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。

6.2.3 试液测定

将试液衍生物按上述推荐色谱条件进样测定，从标准曲线中查得试液相应的浓度。

7 分析结果的表述

试样中维生素 B₁ 的含量按式 (1) 计算：

$$X = \frac{c \times V \times 100}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X —— 试样中维生素 B₁ 的含量（以硫胺素计），单位为毫克每百克 (mg/100 g)；

c —— 试液的进样浓度，单位为微克每毫升 (μg/mL)；

V —— 试样定容体积，单位为毫升 (mL)；

m —— 试样质量，单位为克 (g)。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10 %。

9 其他

当取样量为 10.00 g 时，本标准中方法定量限为 0.05 mg/100g。

附录 A
(资料性附录)
维生素 B₁ 标准溶液的液相色谱图

A.1 维生素 B₁ 标准溶液的液相色谱图

维生素 B₁ 标准溶液的液相色谱图见图 A.1。

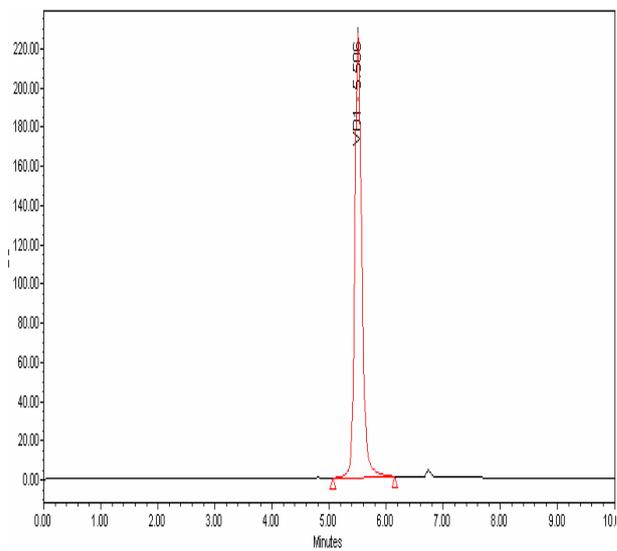


图 A.1 维生素 B₁ 标准溶液的液相色谱图