



中华人民共和国食品安全国家标准

GB ××××—××××
代替GB/T 5413.11—1997

婴幼儿食品和乳品中维生素B₁的测定

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

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××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：

——方法名称改为《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（资料性附录）标样和样品的液相色谱图。

本标准附录A为资料性附录。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

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。

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。

本标准的定量限为0.05mg/100g。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准；然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

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 无水乙酸钠。

4.6 冰乙酸。

4.7 甲醇：色谱纯。

4.8 维生素B₁（硫胺素）标准品：纯度≥99%。

4.9 20 g/L 铁氰化钾溶液：称取 2 g 铁氰化钾（4.2），用水溶解并定容至 100 mL。现配现用。

4.10 100 g/L 氢氧化钠溶液：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。现配现用。

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

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

4.14 0.05 mol/L 乙酸钠溶液：称取 4.10 g 无水乙酸钠（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 2.0mol/L 乙酸钠溶液：称取 16.61 g 无水乙酸钠（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≥600 U/g）、1.175 g 淀粉酶（活力单位≥4000 U/g），用水溶解并定容至 50 mL。现配现用。

4.17 标准溶液

4.17.1 500 μg/mL 维生素 B₁ 标准储备溶液。

精确称取 0.0500 g 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 4℃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 μg/mL。现配现用。

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、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00 mL, 用水溶解并定容至 100 mL。该标准系列浓度分别为 0、0.05、0.10、0.20、0.5、1.00 μg/mL。现配现用。

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≥5000 rpm。

5.4 pH 计。

5.5 组织捣碎机。

6 分析步骤

6.1 试样的处理

6.1.1 试液提取

准确称取 5.0~10.0g 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 盐酸溶液 (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℃ 下保持 30 min, 待冷至 40℃ 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℃ 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, 定量滤纸过滤, 取滤液备用。

6.1.2 试液衍生化

取上述滤液 10.00 mL 于 50 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), 强烈摇动, 静止充分分层, 吸取正丁醇 (或异丁醇) 相 (上层) 于 4000~6000rpm 离心 5 分钟, 取上清液进样。

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

(注: 室温条件下衍生产物在 4 小时内稳定。)

6.2 测定

6.2.1 参考色谱条件

色谱柱: C₁₈反相色谱柱 (dp 5 μm, 25 cm×4.6 mm) 或相当者。

流动相: 0.05 mol/L 乙酸钠溶液 (3.13) : 甲醇 (3.6) = 65:35 (V/V)。

(注: 根据不同色谱柱和分离效果, 可以调节流动相比例。)

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。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

将上述试液衍生物按上述推荐色谱条件上机测定, 从标准曲线中查得试液相应的浓度。

6.2.4 空白试验

除不加试样外，按上述操作步骤进行。

7 分析结果计算与表示

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

式中：

X ——试样中维生素B₁的含量（以硫胺素计），mg/100g；

c ——试液的进样浓度， μ g/mL；

V ——试样定容容积，mL；

m ——试样质量，g。

在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，结果保留小数点后2位。

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%。

附录 A
(资料性附录)
标样和样品的液相色谱图

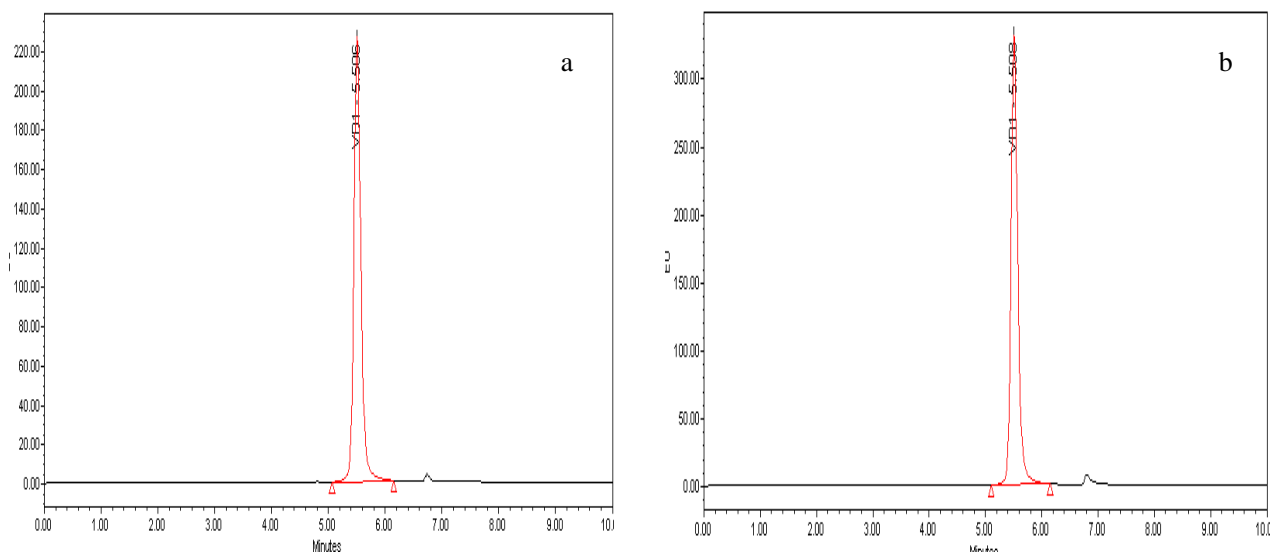


图 A.1 液相色谱图
(a、标样色谱图 b、样品色谱图)