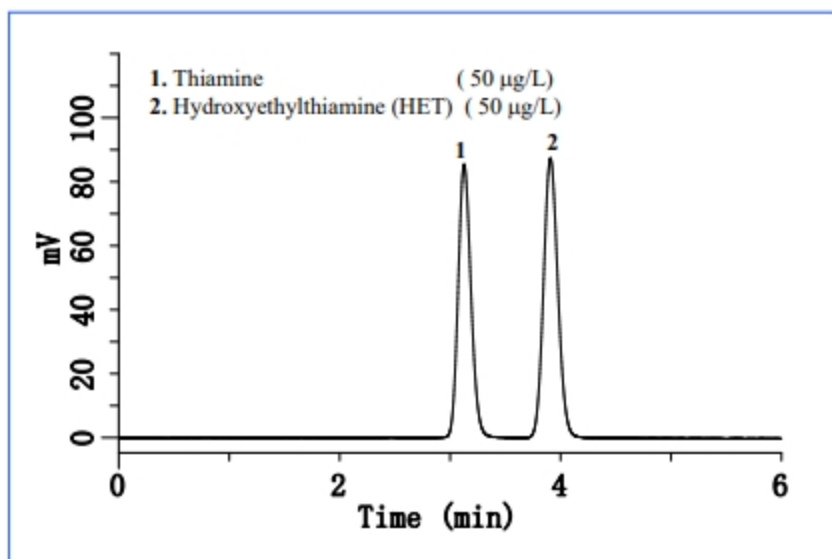


此篇将对维生素B1和B2的分析进行介绍。

维生素B1是硫铵磷酸三乙酯类经过酶处理生成硫铵后，纯化提取液后用HPLC分析。维生素B2是核黄素和核黄素磷酸三乙酯类经过酶处理后作为总核黄素用HPLC进行分析。这些磷酸三乙酯类在经过酶处理的时候，采用米曲霉羧基蛋白酶(Takadiastase, *Aspergillus oryzae* carboxyl proteinase)对它们进行水解。但是近年来，米曲霉羧基蛋白酶很难入手。所以此次我们用代替品的酸性磷酸酶来进行处理，并且得到了良好的结果。

维生素B1的标准品分析例

由ODS柱分离的硫胺素在碱性条件下与铁氰化钾反应生成荧光物质的硫化色素，可以用荧光检测器，它能有选择性并高灵敏度的进行检测。

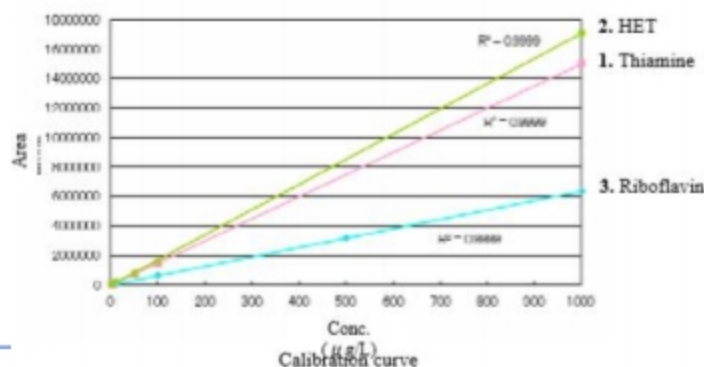
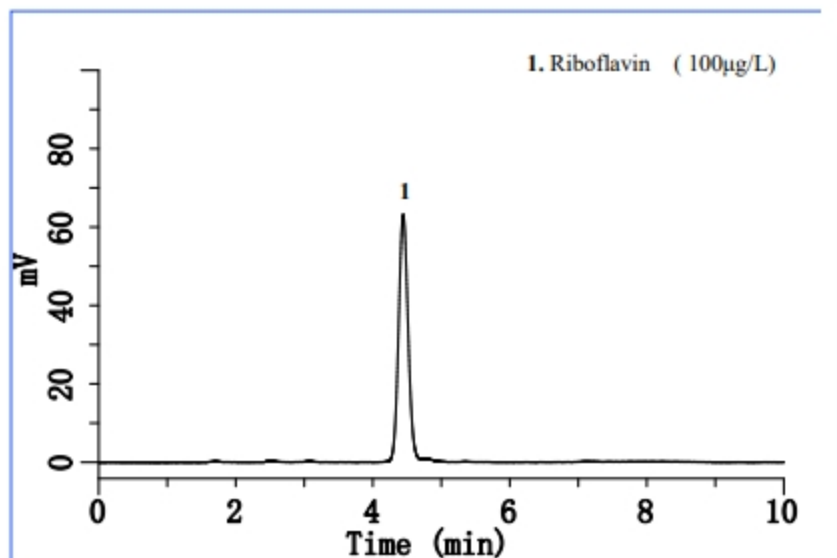


HPLC 条件(维生素B1)

- 色谱柱 Inertsil ODS-3 (5 µm, 150 x 4.6 mm I.D.)
- 温度 40°C
- 检测器 FL Ex 375 nm Em 440 nm
- 注入量 20 µL
- 流动相 : A) CH₃OH B) 磷酸缓冲液
A/B = 1/9, v/v
- 流速 : 1.0 mL/min
- 反应液 : 0.05 w/v% 铁氰化钾
+ 15 w/v% NaOH, 0.4 mL/min
- 反应线圈 : 长 5 m, 内径 0.33 mm, PTFE
磷酸缓冲液 : 0.01 M 磷酸二氢钠
+ 0.15 M 高氯酸钠混合液 (pH 2.2)

维生素B2的标准品分析例

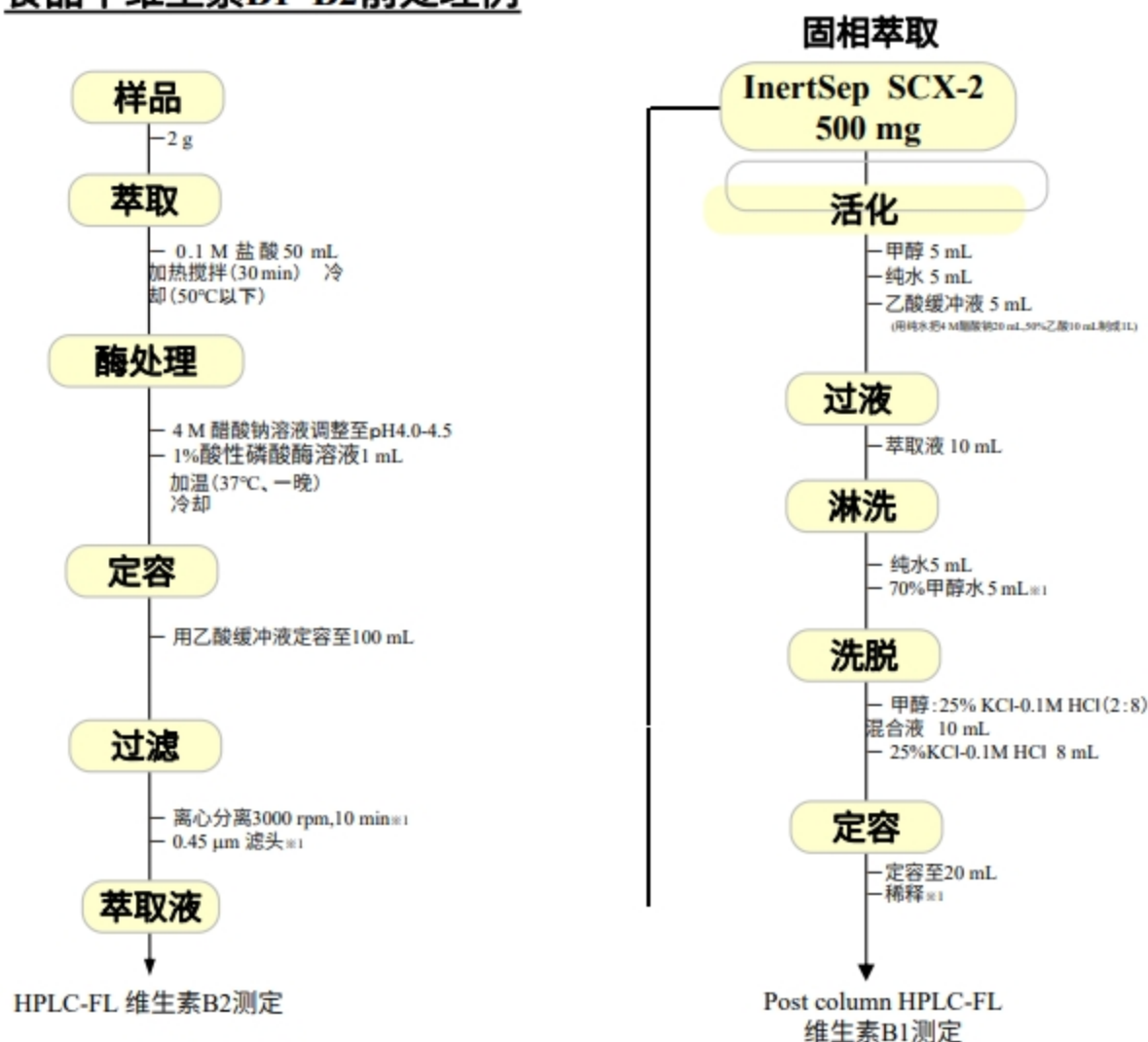
由于核黄素是天然荧光物质，因此在用ODS柱分离后，可以使用荧光检测器选择性地和高灵敏度地检测核黄素。



HPLC 条件(维生素B2)

- 色谱柱 Inertsil ODS-3
(5 µm, 150 x 4.6 mm I.D.)
- 温度 40°C
- 检测器 FL Ex 445 nm Em 530 nm
- 注入量 20 µL
- 流动相 : A) CH₃OH B) 乙酸缓冲液
A/B = 35/65, v/v
- 流速 : 1.0 mL/min

食品中维生素B1·B2前处理例



HPLC色谱柱

Inertsil ODS-3 5 μm, 150 x 4.6 mm I.D.

Cat.No. 5020-01731

固相萃取小柱

InertSep SCX-2 500 mg/6 mL

Cat.No. 5010-61724

滤器

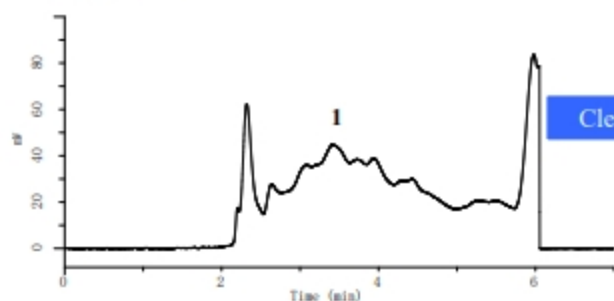
GL滤头 水系 25A 0.45 μm

Cat. No. 5040-28512

固相萃取的效果 (市贩速食方便面)

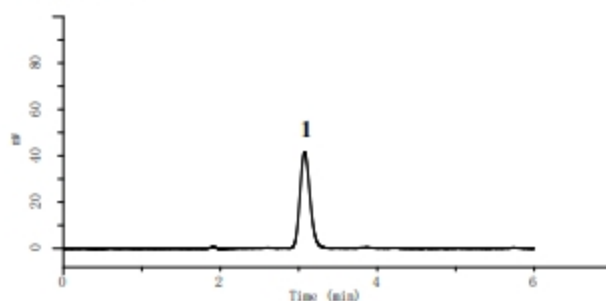
维生素B1通过进行固相萃取, 可以去除杂质。

无固相萃取



Clean up

有固相萃取

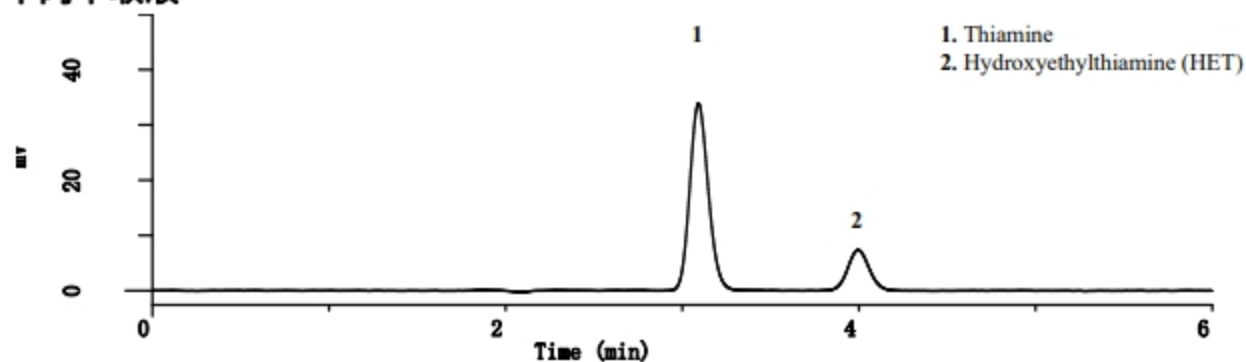


1. Thiamine

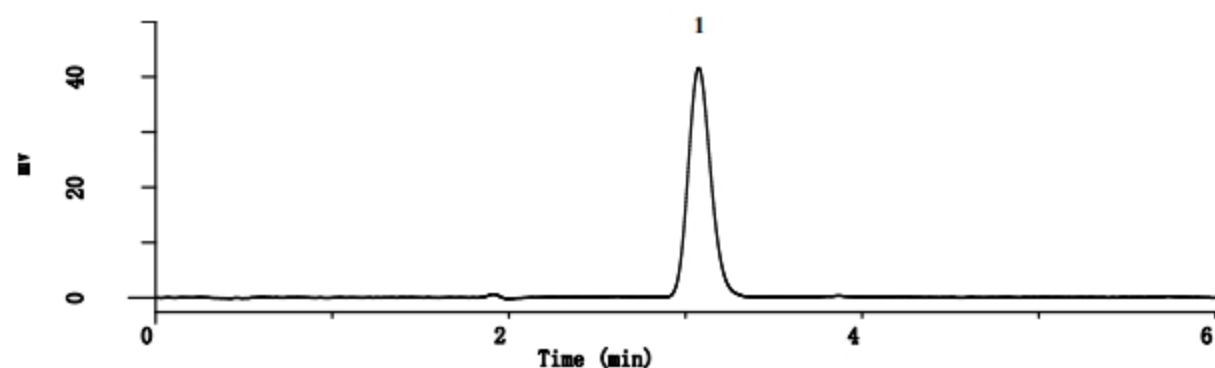
实际样品分析例

食品中维生素B1

牛肉萃取液

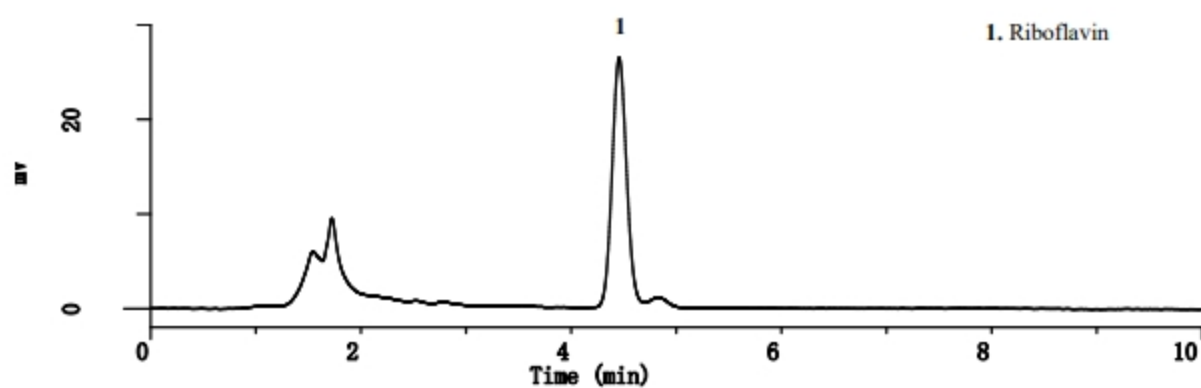


市販速食方便面

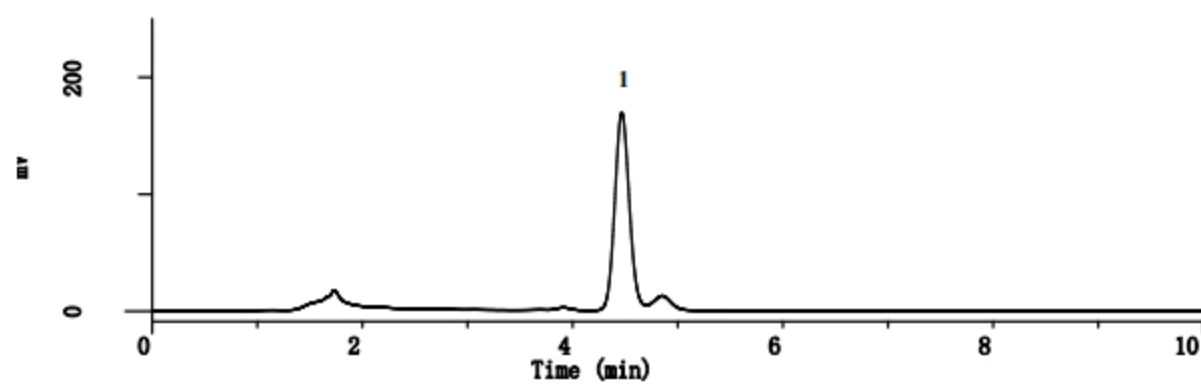


食品中维生素B2

牛肉萃取液



市販速食方便面



对于维生素B1分析，我们使用柱后衍生化与铁氰化钾反应。另一方面，由于维生素B2是天然荧光物质，因此不需要使用柱后系统，GL 7700 HPLC系统可以轻松切换维生素B1和维生素2的分析，因为系统中安装有切换阀并由软件控制。

Schematic Diagram

