

ICS 67.100

CCS C 144

T/NAIA

团体标准

T/ NAIA XXX—2025

枸杞中硫胺素和核黄素含量的测定 液相色谱法

Determination of Thiamine and Riboflavin Contents in Wolfberry

by HPLC

2025-03-17 发布

2025-03-31 实施

宁夏化学分析测试协会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》规定编写。

本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏回族自治区食品检测研究院（国家市场监督管理总局重点实验室（枸杞及葡萄酒质量安全））、宁夏计量质量检验检测研究院、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：

枸杞中硫胺素和核黄素含量的测定 液相色谱法

1 范围

本文件规定了枸杞中硫胺素和核黄素含量测定的液相色谱方法。

本文件适用枸杞中硫胺素和核黄素含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和实验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样用甲醇-水-磷酸提取，反相色谱柱分离，供液相色谱仪测定，外标法定量。

5 试剂和材料

本方法所用的试剂，除另有规定外，均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 磷酸：优级纯。

5.1.2 盐酸：优级纯

5.1.3 甲醇：色谱纯。

5.1.4 乙腈：色谱纯。

5.1.5 1-癸烷磺酸钠：优级纯。

5.1.6 甲醇-水-磷酸提取液：取甲醇（5.1.2）300mL，加入 1.0 mL 磷酸（5.1.1），用水定容到 1000mL，混匀。

5.1.7 5mmol/L 1-癸烷磺酸钠（含 0.1%磷酸）：准确称取 1-癸烷磺酸钠（5.1.4）1.22g，用水溶解，加入 1.0mL 磷酸，用水定容至 1000 mL，混匀。

5.1.8 90%乙腈溶液：取乙腈（5.1.3）900mL，用水定容至 1000mL，混匀。

5.1.9 5mmol/L 1-癸烷磺酸钠-90%乙腈溶液（含 0.1%磷酸）：取 5mmol/L 1-癸烷磺酸钠（5.1.6）100mL,加入 1.0mL 磷酸，用 90%乙腈溶液（5.1.7）定容至 1000mL。

5.1.10 0.1mmol/L 盐酸溶液：取盐酸 0.83mL，用水稀释定容至 100mL，混匀。

5.2 标准品

硫胺素标准品（ $C_{12}H_{17}ClN_4OS$ ），CAS:59-43-8；核黄素标准品（ $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ），CAS:83-88-5，纯度均大于 99.0%

5.3 标准溶液配制

5.3.1 标准储备液 (10.0mg/mL)：分别准确称取硫胺素和核黄素标准物质适量，用0.1mol/L盐酸溶液（5.1.10）溶解并定容至10mL，避光冷藏贮存，保存期限为3个月。

5.3.2 混合标准中间液 (1.0mg/mL)：分别移取硫胺素和核黄素标准储备液(5.3.1) 1.0mL，用0.1mol/L盐酸溶液定容至10mL，避光冷藏贮存，保存期限为1个月。

5.3.3 混合标准工作溶液：分别准确吸取不同体积混合标准中间液（5.3.2），用0.1mol/L盐酸溶液定容至10.0mL，配制成浓度为1.0mg/L、2.0mg/L、5.0mg/L、10.0mg/L、20.0mg/L、50.0mg/L、100.0mg/L的标准工作溶液，临用现配。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱仪：配有紫外检测器或二极管阵列检测器。

6.2 天平：感量 0.01mg 和 0.01g。

6.3 均质机。

6.4 涡旋混合器。

6.5 高速离心机：最大转速 9000r/min。

6.6 滤膜针头滤器，孔径 0.22μm，或相当者。

7 分析步骤

7.1 试样制备

取适量枸杞试样充分均质，装入洁净容器，密封，-18℃以下保存。

7.2 试样处理

称取 2g 样品（精确到 0.01g）于 50mL 具塞离心管中，加入甲醇-水-磷酸提取液（5.1.6）10mL，涡旋振荡提取 15min，8000r/min 离心 5min，取上清液 5mL 再次离心（12000r/min），上清液经滤膜（6.6）过滤，待测。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱：ZORBAX Eclipse Plus C₁₈，4.6mm×250mm，粒径 5μm 或性能相当。

b) 紫外检测波长：260nm。

c) 柱温：30℃。

d) 流动相：A：5mmol/L 1-癸烷磺酸钠（含 0.1%磷酸），B：5mmol/L 1-癸烷磺酸钠-90%乙腈溶液（含 0.1%磷酸）；梯度洗脱见表 1。

e) 流速：1.0mL/min。

f) 进样量：10μL。

表1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	流速/（mL/min）	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	1.0	80	20
6.00	1.0	80	20
15.00	1.0	45	55
15.50	1.0	20	80
20.50	1.0	20	80
21.00	1.0	80	20
25.00	1.0	80	20

7.4 标准曲线的制作

将 10 μ L 系列混合标准工作液分别注入高效液相色谱仪，测得目标化合物的峰面积，以系列混合标准工作液的浓度为横坐标，以目标化合物的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。标准溶液色谱图见附录 A。

7.5 试样溶液的测定

将试样注入高效液相色谱仪中，测得峰面积，以保留时间定性。根据标准曲线得到待测液中各目标化合物的浓度。

8 结果与表达

试样中生物胺含量按式（1）进行计算：

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

式中：

- X ——试样中各种化合物含量，单位为毫克每百克（mg/100g）；
 c ——由标准曲线计算出的试样溶液浓度，单位为微克每毫升（ μ g/mL）；
 V ——试样溶液的体积，单位为毫升（mL）；
 m ——试样质量，单位为克（g）；
 f ——稀释倍数。

注：测定结果用平行测定的算术平均值表示，计算结果保留三位有效数字。

9 精密度

在重复性测定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%。

10 定量限

当称样量为 2g 时，硫胺素和核黄素的定量限均为 5mg/100g。

附录 A
(资料性)

图 A.1 硫胺素和核黄素标准溶液液相色谱图

