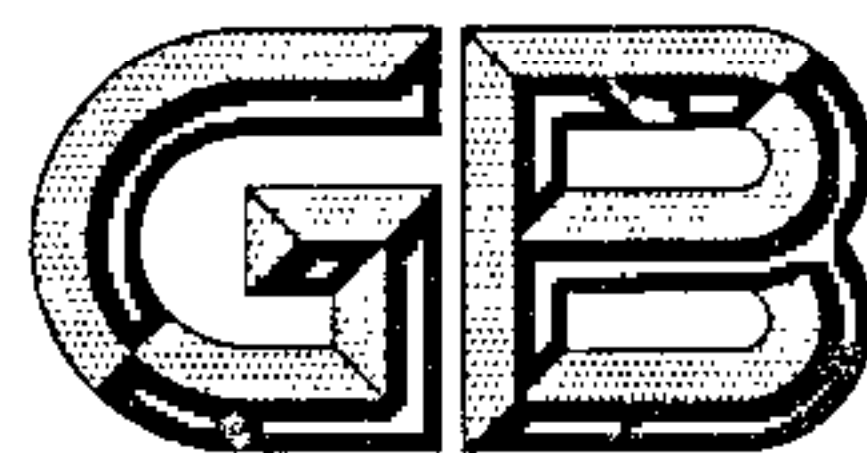




中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.197—2003

保健食品中盐酸硫胺素、盐酸吡哆醇、 烟酸、烟酰胺和咖啡因的测定

Determination of thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride,
niacin, niacinamide and caffeine in health foods

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。
本标准由卫生部食品卫生监督检验所负责起草。
本标准主要起草人：杨大进、方从容、王竹天。

引 言

盐酸硫胺素、盐酸吡哆醇、烟酸、烟酰胺等 B 族维生素是人体不可缺少的重要营养素,对于多种疾病的预防治疗有重要辅助作用。目前 B 族维生素和咖啡因已作为功效成分添加于保健食品中。本方法在参考日本大正制药株式会社维生素检测方法的基础上,结合我国具体的仪器分析条件,制定了适用于片剂、胶囊、口服液、饮料等保健食品类型中所添加的盐酸硫胺素、盐酸吡哆醇、烟酸、烟酰胺等 B 族维生素和咖啡因含量的高效液相色谱测定方法。

保健食品中盐酸硫胺素、盐酸吡哆醇、烟酸、烟酰胺和咖啡因的测定

1 范围

本标准规定了保健食品中盐酸硫胺素、盐酸吡哆醇、烟酸、烟酰胺和咖啡因的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于盐酸硫胺素、盐酸吡哆醇、烟酸、烟酰胺和咖啡因作为膳食补充剂添加于片剂、胶囊、口服液、饮料等试样类型中的高效液相色谱测定方法。

本方法的检出限为：盐酸硫胺素 $0.02\ \mu\text{g}$ 、盐酸吡哆醇 $0.02\ \mu\text{g}$ 、烟酸 $0.10\ \mu\text{g}$ 、烟酰胺 $0.06\ \mu\text{g}$ 、咖啡因 $0.05\ \mu\text{g}$ 。线性范围：盐酸硫胺素 $0.500\ \mu\text{g/mL} \sim 50.0\ \mu\text{g/mL}$ ；盐酸吡哆醇 $0.500\ \mu\text{g/mL} \sim 50.0\ \mu\text{g/mL}$ ；烟酸 $1.00\ \mu\text{g/mL} \sim 100\ \mu\text{g/mL}$ ；烟酰胺 $1.00\ \mu\text{g/mL} \sim 100\ \mu\text{g/mL}$ ；咖啡因 $5.00\ \mu\text{g/mL} \sim 500\ \mu\text{g/mL}$ 。

2 原理

将粉碎混匀的片剂、胶囊或液体试样使用甲醇+水+磷酸=100+400+0.5 进行提取和稀释，根据高效液相色谱紫外检测器外标法定性定量检测。

3 试剂

除非另有说明，在分析中所用的水为双蒸水。

3.1 甲醇：优级纯。

3.2 乙腈：色谱纯。

3.3 磷酸：分析纯。

3.4 硫酸月桂酯钠(sodium dodecylsulfate)：高效液相色谱用试剂。

3.5 1-癸烷磺酸钠(sodium 1-decanesulfonate)：高效液相色谱用试剂。

3.6 标准储备液 A：准确称量已扣除水分的盐酸硫胺素和盐酸吡哆醇标准品各 $0.0500\ \text{g}$ ，溶于水中并定容至 $50\ \text{mL}$ 。

3.7 标准储备液 B：准确称量已扣除水分的烟酰胺和烟酸标准品各 $0.0400\ \text{g}$ ，溶于水中并定容至 $20\ \text{mL}$ 。

3.8 混合标准使用液：准确称量经 80°C 干燥 $4\ \text{h}$ 的咖啡因 $0.0500\ \text{g}$ ，准确加入标准储备液 A $5\ \text{mL}$ ，标准储备液 B $10\ \text{mL}$ ，再加入甲醇+水+磷酸=100+400+0.5 混合溶液至 $20\ \text{mL}$ 。

4 仪器

4.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器。

4.2 超声波清洗器。

4.3 离心机。

5 分析步骤

5.1 试样处理

5.1.1 取 20 粒以上片剂或胶囊试样研磨或混匀，称取一定量试样于试管中(准确至 $0.001\ \text{g}$)，加入甲

醇+水+磷酸=100+400+0.5 混合溶液,使浓度为每毫升中大约含盐酸硫胺素、盐酸吡哆醇0.25 mg,烟酸、烟酰胺 1 mg。超声提取 5 min 后以 3 000 r/min 离心 5 min,上清液经 0.45 μm 滤膜过滤后待进样。

5.1.2 液体试样直接以甲醇+水+磷酸=100+400+0.5 混合溶液稀释,充分混匀后经 0.45 μm 滤膜过滤后待进样。

5.2 色谱条件

5.2.1 色谱柱:TSK C₁₈ 4.6 mm×150 mm,5 μm。

5.2.2 柱温:室温。

5.2.3 检测波长:盐酸硫胺素 260 nm;咖啡因、烟酸、烟酰胺、盐酸吡哆醇 280 nm。

5.2.4 流动相:盐酸硫胺素:硫酸月桂酯钠溶液(5 g→530 mL)+乙腈+磷酸=530+470+1;咖啡因、烟酸、烟酰胺、盐酸吡哆醇:1-癸烷磺酸钠溶液(1.22 g→850 mL)+乙腈+磷酸=850+150+1。

5.2.5 流速:1 mL/min。

5.2.6 进样量:10 μL。

5.3 色谱图



1——盐酸硫胺素。

图 1 盐酸硫胺素色谱图



1——咖啡因;

2——烟酸;

3——烟酰胺;

4——盐酸吡哆醇。

图 2 咖啡因、烟酸、烟酰胺、盐酸、吡哆醇色谱图

在该色谱条件下,盐酸硫胺素保留时间 14.305 min、盐酸吡哆醇保留时间 18.512 min、烟酸保留时间 8.728 min、烟酰胺保留时间 9.341 min、咖啡因保留时间 4.986 min。浓度分别为盐酸硫胺素 8.80 μg/mL、盐酸吡哆醇 9.60 μg/mL、烟酸 23.8 μg/mL、烟酰胺 25.0 μg/mL、咖啡因 50.4 μg/mL。

6 结果计算

$$X = \frac{h_1 \times c \times V \times 100}{h_2 \times m \times 1\,000}$$

式中:

X——试样中单一成分的含量,单位为毫克每百克(或毫克每百毫升)[mg/100 g(mL)];

h₁——试样峰高或峰面积;

c——标准溶液浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V ——试样定容体积,单位为毫升(mL) ;

h_2 ——标准溶液峰高或峰面积;

m ——试样量,单位为克(或毫升)[g(或 mL)]。

计算结果保留两位有效数字。

7 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%。
