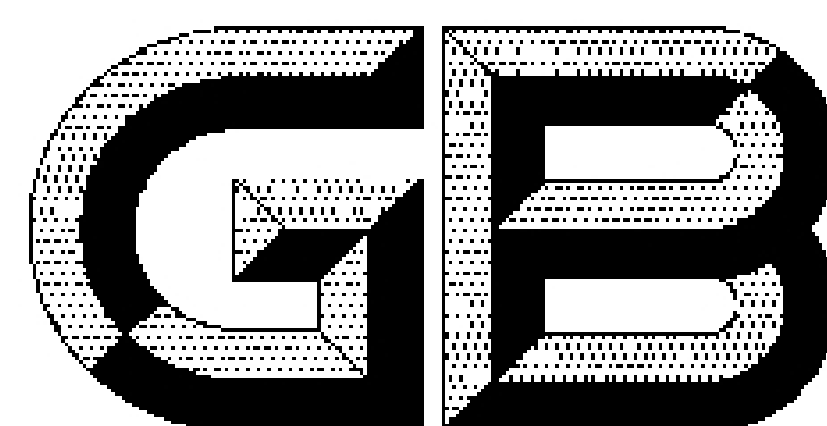




中华人民共和国国家标准

GB/T 36921—2018

牙膏中维生素 B₂、维生素 B₃ 和 维生素 B₆ 的测定 高效液相色谱法

Determination of vitamin B₂, vitamin B₃ and vitamin B₆ in toothpaste—
High performance liquid chromatography

2018-12-28 发布

2019-07-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国口腔护理用品标准化技术委员会牙膏分技术委员会(SAC/TC 492/SC 1)归口。

本标准起草单位：苏州质量检测科学研究院、好来化工(中山)有限公司、完美(中国)有限公司、广州质量监督检测研究院、苏州世谱检测技术有限公司、广东华鑫检测技术有限公司、江苏省食品药品监督检验研究院、江苏省产品质量监督检验研究院、河北省食品检验研究院。

本标准主要起草人：车文军、李晓敏、黄金凤、张征、黄荣荣、方萍、袁利文、刘园、廖华勇、郭新东、卢剑、武中平、侯向昶、张岩。

牙膏中维生素 B₂、维生素 B₃ 和维生素 B₆ 的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了牙膏中维生素 B₂、维生素 B₃ 和维生素 B₆ 的测定方法。
本标准适用于牙膏中维生素 B₂、维生素 B₃ 和维生素 B₆ 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试验方法

3 原理



试样用水提取，丙酮沉淀后，采用高效液相色谱法测定，以保留时间定性，外标法定量。

4 试剂或材料

- 4.1 水：GB/T 6682 规定的一级水。
- 4.2 浓盐酸：分析纯。
- 4.3 甲酸：液相色谱级。
- 4.4 甲醇：液相色谱级。
- 4.5 丙酮：液相色谱级。
- 4.6 庚烷磺酸钠：优级纯。
- 4.7 丙酮溶液：准确量取 10 mL 丙酮(4.5)和 90 mL 水，混匀。
- 4.8 盐酸溶液：准确量取 100 mL 浓盐酸(4.2)缓慢倒入 100 mL 水中，混匀。
- 4.9 庚烷磺酸钠溶液：准确称取 1.0 g 庚烷磺酸钠(4.6)，用 950 mL 水溶解，用甲酸(4.3)调节至 pH=2.5，用水定容至 1 L。经 0.45 μm 滤膜过滤。
- 4.10 对照品：维生素 B₂(核黄素)、维生素 B₃(烟酸、烟酰胺)和维生素 B₆(盐酸吡哆醛、吡哆醇、盐酸吡哆胺)，纯度≥99 %，其中文名称、英文名称、CAS 登记号、分子式参见附录 A 中表 A.1。
- 4.11 核黄素贮备液(0.25 mg/mL)：用分析天平称取 25 mg(精确至 0.1 mg)核黄素对照品(4.10)，加入 2 mL 盐酸溶液(4.8)，超声溶解后，用水转移至 100 mL 棕色容量瓶中，定容至刻度。贮备液在 0℃～4℃避光条件下保存，可保存 3 个月。
- 4.12 烟酸、烟酰胺、吡哆醛、吡哆醇、吡哆胺贮备液(各为 1 mg/mL)：准确称取 0.1g(精确至 0.1 mg)相应的对照品(4.10)，分别置于 100 mL 棕色容量瓶中，用水溶解、定容至刻度，配制成浓度为 1 mg/mL 的贮备液。贮备液在 0℃～4℃避光条件下保存，可保存 3 个月。

注：使用盐酸吡哆醛、盐酸吡哆胺作为对照品时，溶液的浓度换算成以吡哆醛、吡哆胺计。

5 仪器设备

- 5.1 高效液相色谱仪：配有二极管阵列检测器。
- 5.2 分析天平：感量为 0.1 mg 和 0.01 g。
- 5.3 离心机：转速不低于 15 000 r/min。
- 5.4 涡旋混合器。
- 5.5 滤膜：0.45 μm。

6 试验步骤

6.1 试样处理

用分析天平准确称取 1.0 g(精确至 0.01 g)试样,加入 15 mL 水,于涡旋混合器上混匀 1 min 后,移入 25 mL 棕色容量瓶中,加入 2.5 mL 丙酮(4.5),用水定容至刻度,摇匀。取部分溶液于离心管中,15 000 r/min 离心 3 min,上清液经 0.45 μm 滤膜过滤后测定。

6.2 测定

6.2.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：Waters Atlantis T3¹⁾,250 mm×4.6 mm(内径),5 μm,或相当者；
- b) 流动相：A：甲醇(4.4),B：庚烷磺酸钠溶液(4.9),梯度洗脱参数见表 1；
- c) 流速：1.0 mL/min；
- d) 柱温：30 ℃；
- e) 进样量：10 μL；
- f) 波长：核黄素、烟酸、烟酰胺 261 nm,吡哆醛、吡哆醇、吡哆胺 290 nm。

表 1 梯度洗脱参数

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	15	85
10.0	15	85
17.0	35	65
30.0	35	65
30.5	15	85
38.0	15	85

6.2.2 标准工作曲线制作

用丙酮溶液(4.7)逐级稀释对照品贮备液(4.11 和 4.12),得到各系列标准工作溶液(见表 2),按色谱条件(6.2.1)进行测定,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标作图,制作标准工作曲线。

1) Atlantis T3 是由 Waters 公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

对照品的液相色谱图及光谱图参见附录 B 中图 B.1 和图 B.2。

表 2 6 种对照品的标准工作溶液

对照品	系列标准工作液浓度/(mg/L)				
核黄素	0.08	0.50	2.00	10.0	25.0
烟酸	0.16	0.50	2.00	10.0	25.0
烟酰胺	0.16	0.50	2.00	10.0	25.0
吡哆醛	0.08	0.50	2.00	10.0	25.0
吡哆醇	0.08	0.50	2.00	10.0	25.0
吡哆胺	0.16	0.50	2.00	10.0	25.0

6.2.3 试样测定

按色谱条件测定试样溶液(6.1)，记录峰面积，以外标法定量。试样溶液中的被测物的响应值均应在仪器测定的线性范围之内。被测物含量高的试样可取适量试样溶液用丙酮溶液(4.7)稀释后进行测定。

6.2.4 空白试验

除不加试样外，按上述操作步骤进行。

7 试验数据处理

7.1 试样中各待测组分的含量的计算

试样中各待测组分[维生素 B₂(核黄素)、烟酸、烟酰胺、吡哆醛、吡哆醇、吡哆胺]的含量按式(1)计算：

$$X_i = \frac{(\rho_i - \rho_0) \times V \times f}{m}$$

.....(1)

式中：

- X_i ——试样中被测组分的含量，单位为毫克每千克(mg/kg)；
- ρ_i ——试样溶液中被测组分的质量浓度，单位为毫克每升(mg/L)；
- ρ₀ ——空白试验溶液中被测组分的质量浓度，单位为毫克每升(mg/L)；
- V ——定容体积，单位为毫升(mL)；
- f ——稀释倍数；
- m ——试样质量，单位为克(g)。

7.2 试样中维生素 B₃ 的含量的计算

试样中维生素 B₃ 的含量按式(2)计算：

$$X = X_{\text{烟酰胺}} + X_{\text{烟酸}} \times 0.992$$

.....(2)

式中：

- X ——试样中维生素 B₃ 的含量，单位为毫克每千克(mg/kg)；
- X_{烟酰胺} ——试样中烟酸胺的含量，单位为毫克每千克(mg/kg)；
- X_{烟酸} ——试样中烟酸的含量，单位为毫克每千克(mg/kg)；

0.992 ——烟酸的含量换算成烟酰胺的系数。

注：试样中维生素 B₃ 含量以烟酰胺计。

结果保留三位有效数字。

7.3 试样中维生素 B₆ 的含量的计算

试样中维生素 B₆ 的含量按式(3)计算：

$$X = X_{\text{醇}} + X_{\text{醛}} \times 1.012 + X_{\text{胺}} \times 1.006 \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中：

X ——试样中维生素 B₆ 的含量,单位为毫克每千克(mg/kg)；

X_醇 ——试样中吡哆醇的含量,单位为毫克每千克(mg/kg)；

X_醛 ——试样中吡哆醛的含量,单位为毫克每千克(mg/kg)；

X_胺 ——试样中吡哆胺的含量,单位为毫克每千克(mg/kg)；

1.012——吡哆醛的含量换算成吡哆醇的系数；

1.006——吡哆胺的含量换算成吡哆醇的系数。

注：试样中维生素 B₆ 含量以吡哆醇计。

结果保留三位有效数字。

8 检出限与定量限

本标准的方法检出限为：核黄素、吡哆醛、吡哆醇为 0.60 mg/kg, 烟酸、烟酰胺、吡哆胺为1.20 mg/kg。

本标准的方法定量限为：核黄素、吡哆醛、吡哆醇为 2.00 mg/kg, 烟酸、烟酰胺、吡哆胺为4.00 mg/kg。



9 准确度

核黄素、吡哆醛、吡哆醇在添加浓度 2.00 mg/kg~20.0 mg/kg 范围内,回收率均在 90%~110% 之间。

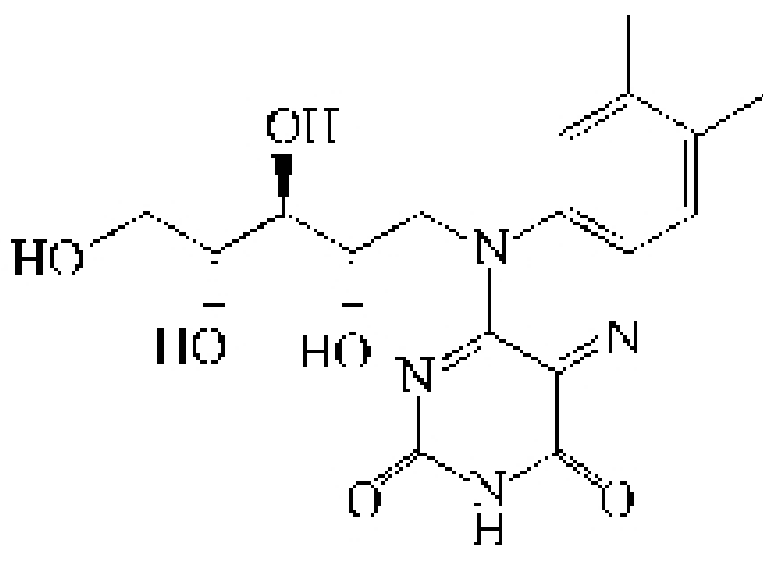
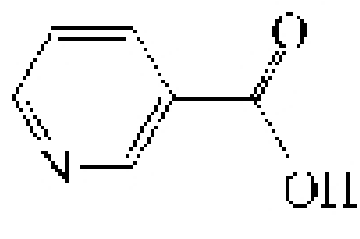
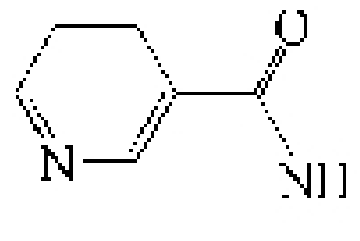
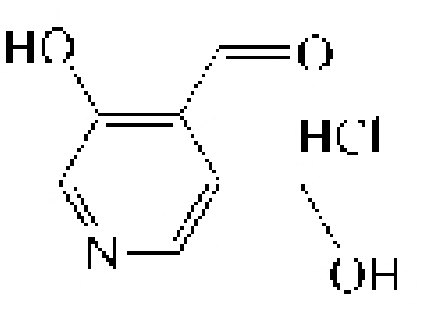
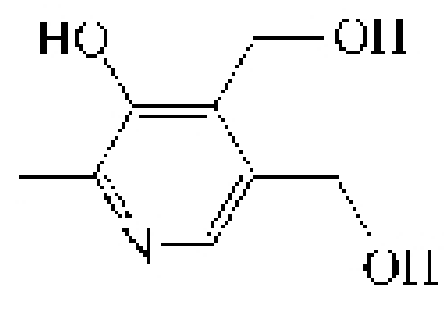
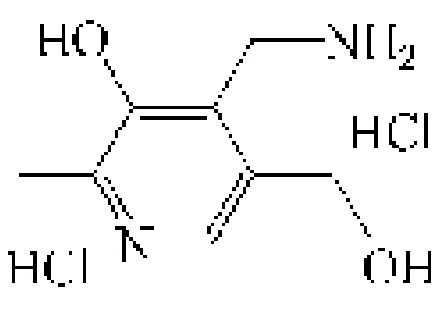
烟酸、烟酰胺、吡哆胺在添加浓度 4.00 mg/kg~40.0 mg/kg 范围内,回收率均在 90%~110% 之间。

10 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)
对照品的信息

表 A.1 对照品的中文名称、英文名称、CAS 登记号、分子式、相对分子质量及结构式

序号	中文名称	英文名称	CAS 登记号	分子式	相对分子质量	结构式
1	核黄素	Riboflavin	83-88-5	$C_{17}H_{20}N_4O_6$	376.36	
2	烟酸	Nicotinic acid	59-67-6	$C_6H_5NO_2$	123.11	
3	烟酰胺	Nicotinamide	98-92-0	$C_6H_6N_2O$	122.12	
4	盐酸吡哆醛	Pyridoxal hydrochloride	65-22-5	$C_8H_{10}ClNO_3$	203.62	
5	吡哆醇	Pyridoxine	65-23-6	$C_8H_{11}NO_3$	169.18	
6	盐酸吡哆胺	Pyridoxamine dihydrochloride	524-36-7	$C_8H_{14}Cl_2N_2O_2$	241.11	

附录 B
(资料性附录)

维生素 B₂、维生素 B₃ 和维生素 B₆ 对照品溶液的液相色谱图及光谱图

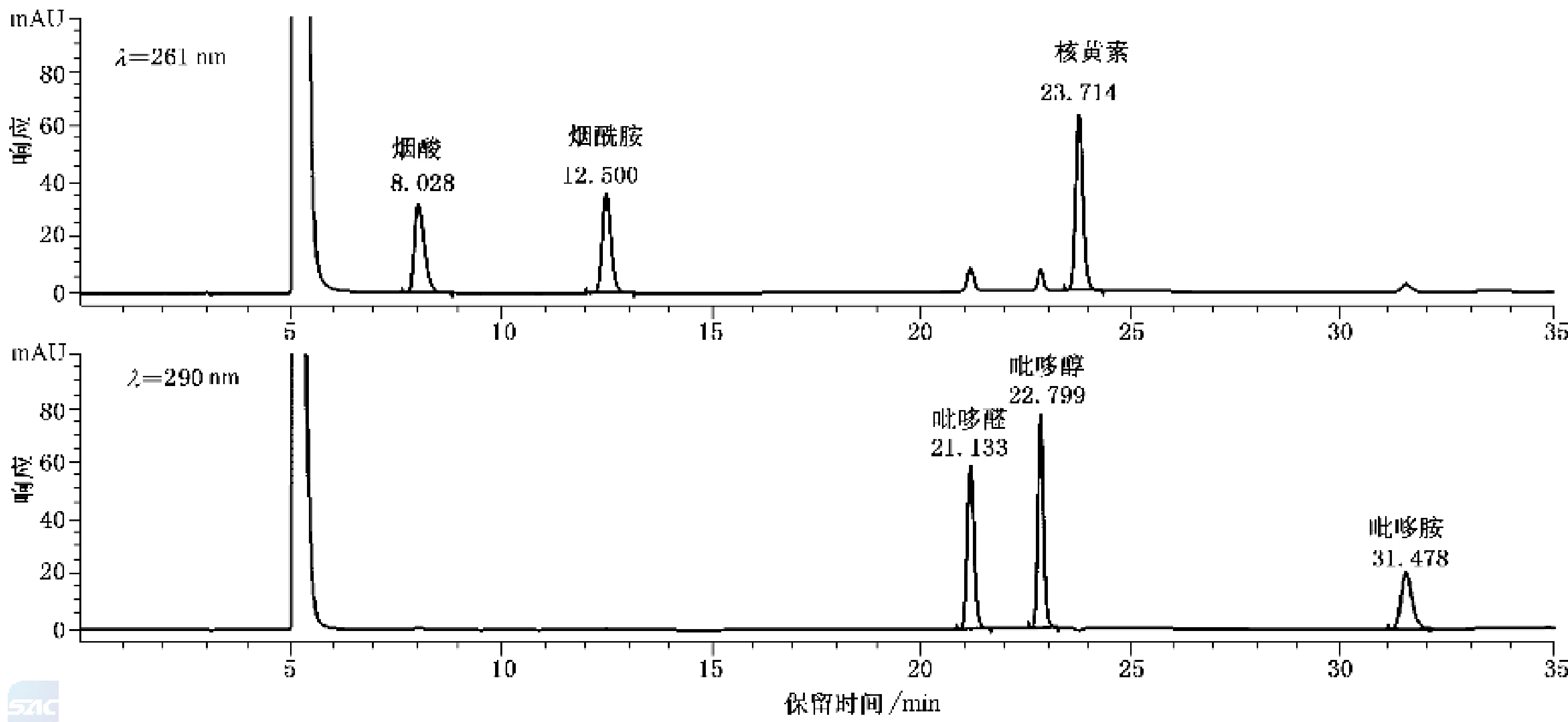


图 B.1 维生素 B₂、维生素 B₃ 和维生素 B₆ 对照品溶液的液相色谱图

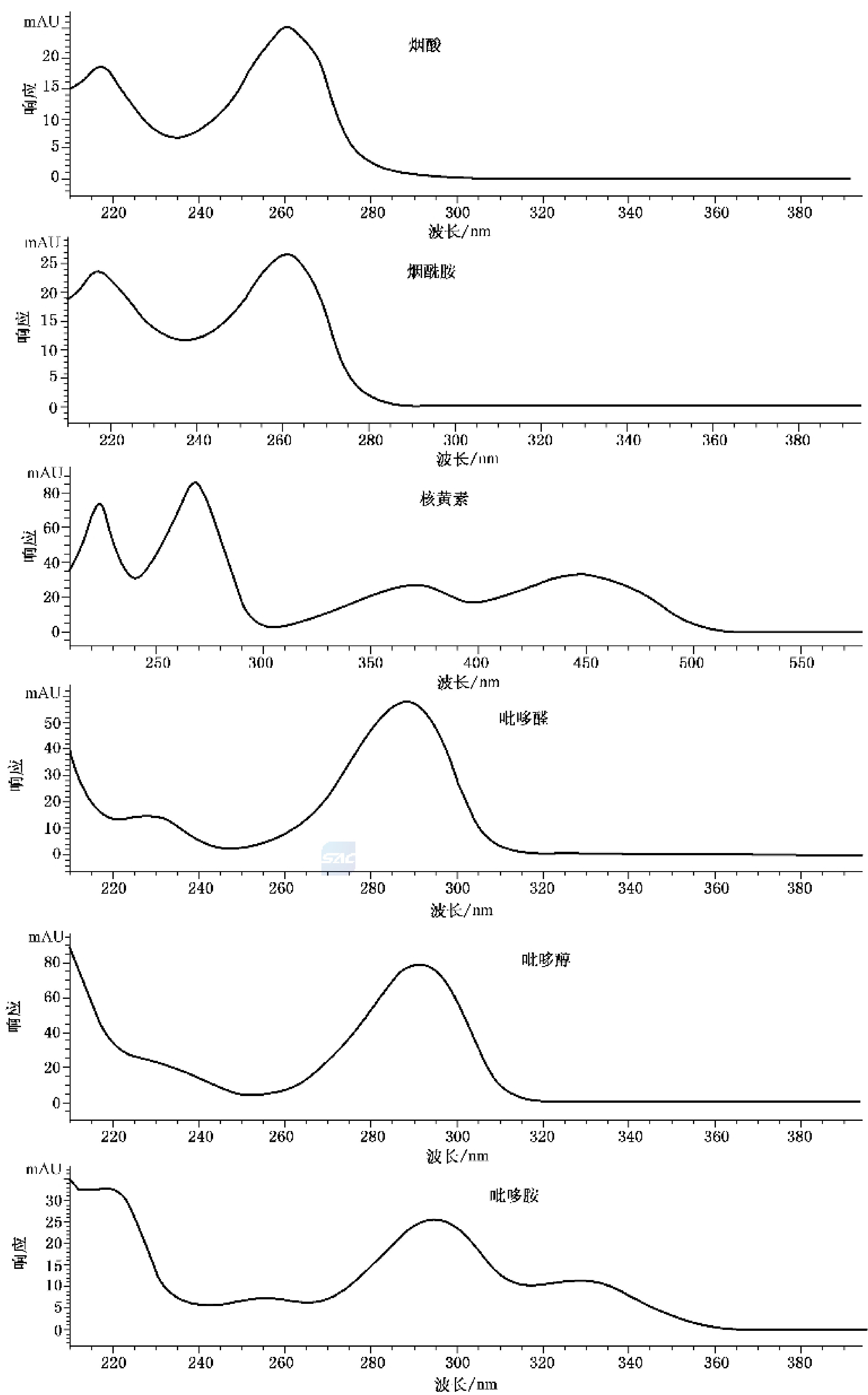


图 B.2 维生素 B₂、维生素 B₃ 和维生素 B₆ 对照品溶液的紫外吸收光谱图