

ICS 67.040
C 53



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.158—2003

蔬菜中维生素 K₁ 的测定

Determination of vitamin K₁ in vegetables

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准

蔬 菜 中 维 生 素 K_1 的 测 定

GB/T 5009.158—2003

*

中 国 标 准 出 版 社 出 版 发 行
北 京 西 城 区 复 兴 门 外 三 里 河 北 街 16 号
邮 政 编 码 : 100045

<http://www.bzecs.com>

电 话 : 63787337、63787447

2004 年 8 月 第 一 版 2004 年 11 月 电 子 版 制 作

*

书 号 : 155066 · 1-21574

版 权 专 有 侵 权 必 究
举 报 电 话 : (010)68533533

前 言

本标准对应于 AOAC.45 维生素和营养素部分食物中维生素 D 的测定(1995 年英文版),本标准与 AOAC.45 的一致性程度为非等效。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准起草单位:中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所。

本标准主要起草人:王竹、王光亚、周瑞华、王国栋、杨月欣。

引 言

本标准参考 AOAC. 45 维生素和营养素部分食物中维生素 D 的测定(1995 年版)的前处理过程,以磷酸盐处理过的氧化铝为色谱柱,应用高效液相色谱反相柱对蔬菜中维生素 K₁ 进行定性及定量分析。

蔬菜中维生素 K₁ 的测定

1 范围

本标准规定了蔬菜中维生素 K₁ 的测定方法。

本标准适用于各类蔬菜、绿色植物及其干制品中维生素 K₁ 的测定。

本标准方法出限为 0.5 μg, 线性范围为 1 μg/mL~100 μg/mL。

2 原理

蔬菜中的维生素 K₁ 经石油醚提取后, 注入经磷酸盐处理的氧化铝色谱柱中进行色谱分离, 除去干扰物。收集含维生素 K₁ 的淋洗液流分, 浓缩定容后注入高效液相色谱柱, 用紫外检测器, 在 248 nm 处测定。以外标法计算试样中维生素 K₁ 的含量。

3 试剂和材料

色谱用水和有机溶剂使用前均需重新蒸馏。

3.1 无水硫酸钠: 使用前需在 150℃ 的烘箱内烘烤 4 h~8 h, 以去除水分。

3.2 0.14 mol/L 硫酸钠溶液: 称取 20 g 无水硫酸钠, 用蒸馏水溶解后定容至 1 L。

3.3 丙酮。

3.4 石油醚: 沸程 30℃~60℃。

3.5 乙醚: 不含过氧化物。

3.5.1 过氧化物的检查方法: 用 5 mL 乙醚加 1 mL 0.6 mol/L 碘化钾溶液, 振摇 1 min, 如有过氧化物则放出游离碘, 水层呈黄色。或加 4 滴 5 g/L 淀粉液, 水层呈蓝色。则该乙醚含有过氧化物需处理后使用。

3.5.2 去除过氧化物的方法: 重蒸时瓶中加一段纯铁丝, 弃去首尾 10% 部分, 收集馏出的乙醚。再检查过氧化物, 应符合要求。

3.6 洗脱液: 石油醚+乙醚(97+3)。

3.7 甲醇: 优级纯。

3.8 正己烷: 优级纯。

3.9 中性氧化铝: 层析用, 100 目~200 目。

3.9.1 氧化铝的处理: 取 250 g 中性氧化铝, 20 g 磷酸氢二钠, 1.6 L 水, 放入容积为 2 L 的锥形瓶中, 置于沸水浴 30 min, 不时摇动。冷却, 倒掉上层液体(包括悬浮的细小颗粒), 然后用布氏漏斗抽滤。将残留物转至平底玻璃皿中, 于 150℃ 干燥箱中烘烤 3 h~5 h 至两次称量相差 3 g 以下。烘烤过程中不时搅拌, 以避免结块, 冷却后放入干燥器中保存。

3.9.2 失活: 将磷酸盐处理的氧化铝(3.9.1), 加入具塞锥形瓶中。按每 100 g 氧化铝加 9.0 mL 水的比例加入去离子水, 盖紧瓶塞, 蒸汽浴或 80℃ 干燥箱加热 3 min~5 min, 剧烈摇动锥形瓶, 使氧化铝可以自由流动, 无结块。冷却, 静置 30 min, 使水分分布均匀。

3.9.3 氧化铝的检验: 取标准使用液 1.0 mL, 用氮气(3.11)吹干, 再用石油醚(3.4)溶解定容至 1.0 mL。然后按 5.2.2.1 装柱, 将标准溶液加入柱上, 按 5.2.2.2 色谱分离步骤进行柱色谱, 用旋转蒸发瓶(4.5.1)收集含有维生素 K₁ 的洗脱馏分, 浓缩, 氮气吹干, 用正己烷(3.8)定容至 1.0 mL。进样, HPLC 测定, 记录峰面积或峰高(A)。另取标准应用液直接测定, 记录峰面积或峰高(A_r)。将 A 与 A_r 进行比较, 其值在 0.97~1.03 之间(A/A_r), 说明柱效较好, 氧化铝处理合格。否则需重新进行失活处