

## 月旭科技 食品中维生素 K<sub>1</sub> 的测定

### 1、适用范围及原理

水果、蔬菜等低脂性植物样品,用异丙醇和正己烷提取其中的维生素 K<sub>1</sub>,经维生素 K<sub>1</sub> 前处理小柱净化,去除叶绿素等干扰物质。用 C18 液相色谱柱将维生素 K<sub>1</sub> 与其他杂质分离,经柱后还原,荧光检测器检测,外标法定量。(本实验选用菠菜和苹果)

参考标准:《GB 5009.158-2016 食品安全国家标准 食品中维生素 K<sub>1</sub> 的测定》

### 2、溶液的配制

维生素 K<sub>1</sub> 标准贮备溶液(1mg/mL):精确称取 50mg(精确至 0.1mg)维生素 K<sub>1</sub> 标准品于 50mL 容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度。将溶液转移至棕色玻璃容器中。在-20℃下避光保存,保存期 2 个月。

维生素 K<sub>1</sub> 标准中间液(100µg/mL):准确吸取标准贮备溶液 10.00mL 于 100mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。将溶液转移至棕色玻璃容器中,在-20℃下避光保存,保存期 2 个月

维生素 K<sub>1</sub> 标准使用液(1.00µg/mL):准确吸取标准中间液 1.00mL 于 100mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。

正己烷-乙酸乙酯混合液(90+10):量取 90mL 正己烷,加入 10mL 乙酸乙酯,混匀

流动相:量取甲醇 900mL,四氢呋喃 100mL,冰乙酸 0.3mL,混匀后,加入氯化锌 1.5g,无水乙酸钠 0.5g,超声溶解后,用 0.22 µm 有机系滤膜过滤。

### 3、提取步骤

精确称取 5g 经均质匀浆的样品于 50mL 离心管中,加入 5mL 异丙醇,旋涡 1min,超声 5min,再加入 10mL 正己烷,旋涡震荡提取 3min,6000r/min 离心 5min,移取上清液至 25mL 棕色容量瓶中,向下层溶液中加入 10mL 正己烷,重复提取 1 次,合并上清液于上述容量瓶中,正己烷定容至刻度。用移液管准确移取上清液 5mL 至 15mL 离心管中,氮气轻吹至干,加入 1mL 正己烷溶解,待净化。

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编:321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

## 4、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom®维生素 K1 前处理小柱，规格：2g/6mL。

活化：5mL 正己烷，弃去

上样：待净化液全部上样，弃去

淋洗：5mL 正己烷淋洗，弃去

洗脱：15mL 正己烷-乙酸乙酯混合液洗脱，收集于 50mL 离心管中，抽干

氮吹至近干，用甲醇定容至 5mL，并过 0.22 μm 滤膜，上 HPLC 检测。

## 5、注意事项

- 1) 上样速度不能过快，保持在 1s/滴，整个过程填料保持湿润
- 2) 最终洗脱，标准中的 6mL，洗脱不是很完全，此处增加到 15mL
- 3) 加标水平：苹果样品加标为 5g 样中加入 0.25mL 1mg/L 标品，加标水平为 0.05μg/g，机读数为 10ng/mL。菠菜样品加标为 5g 样中加入 0.05mL 100mg/L 标品，加标水平为 1μg/g，机读数为 200ng/mL（因苹果和菠菜本身基质中就含有维生素 K<sub>1</sub>，此处加标是按照基质中含维生素 K<sub>1</sub> 的量进行加标的）
- 4) 前处理过程尽量避光

## 6、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate® XB-C18 4.6×250mm, 5μm

Ultimate® Zn 4.6×50mm

流动相：甲醇 900mL，四氢呋喃 100mL，冰乙酸 0.3mL，混匀后，加入氯化锌 1.5g，无水乙酸钠 0.5g

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编：321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

流速: 1.0mL/min

柱温: 30°C

进样量: 10 $\mu$ L

检测波长: 激发波长为 243nm, 发射波长为 430nm

## 7、色谱图或者加标回收率结果

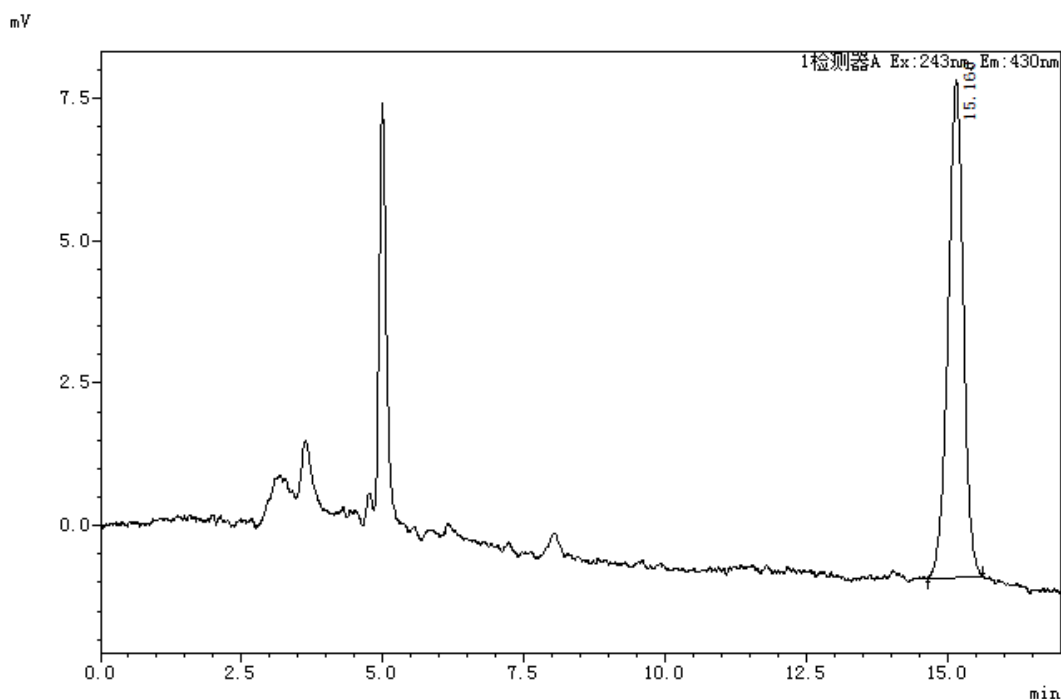


图 1.维生素 K<sub>1</sub> 对照 10ng/mL

峰号	保留时间	面积	高度	理论塔板数	拖尾因子
1	15.160	163812	8730	15116	0.952

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

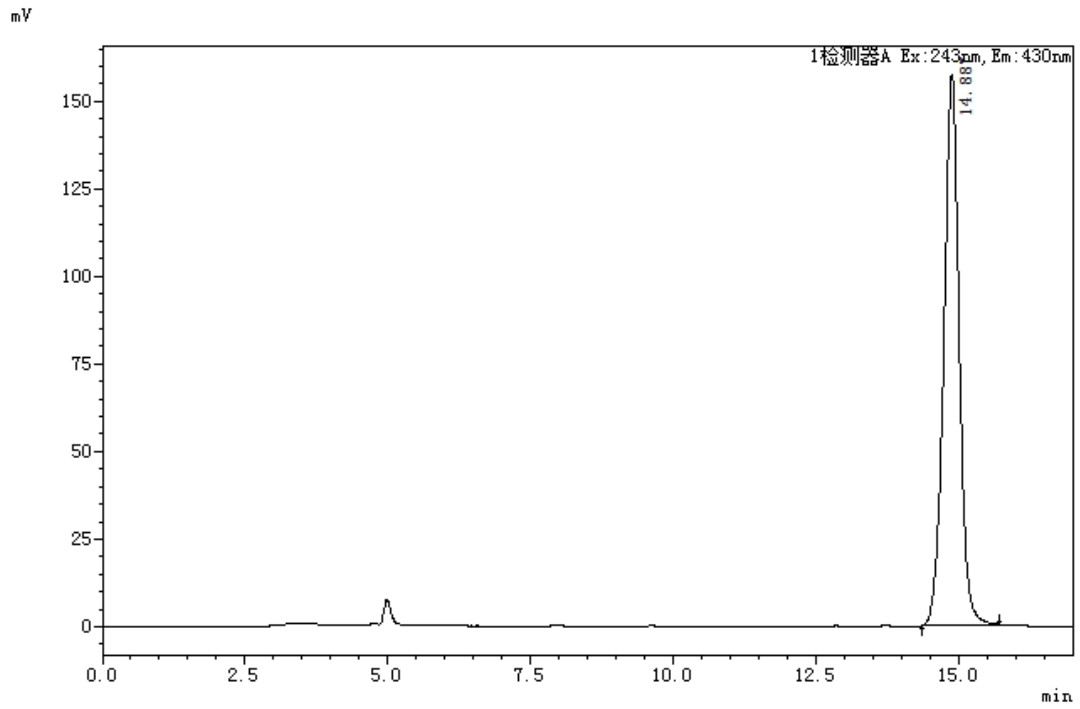


图 2.维生素 K<sub>1</sub> 对照 200ng/mL

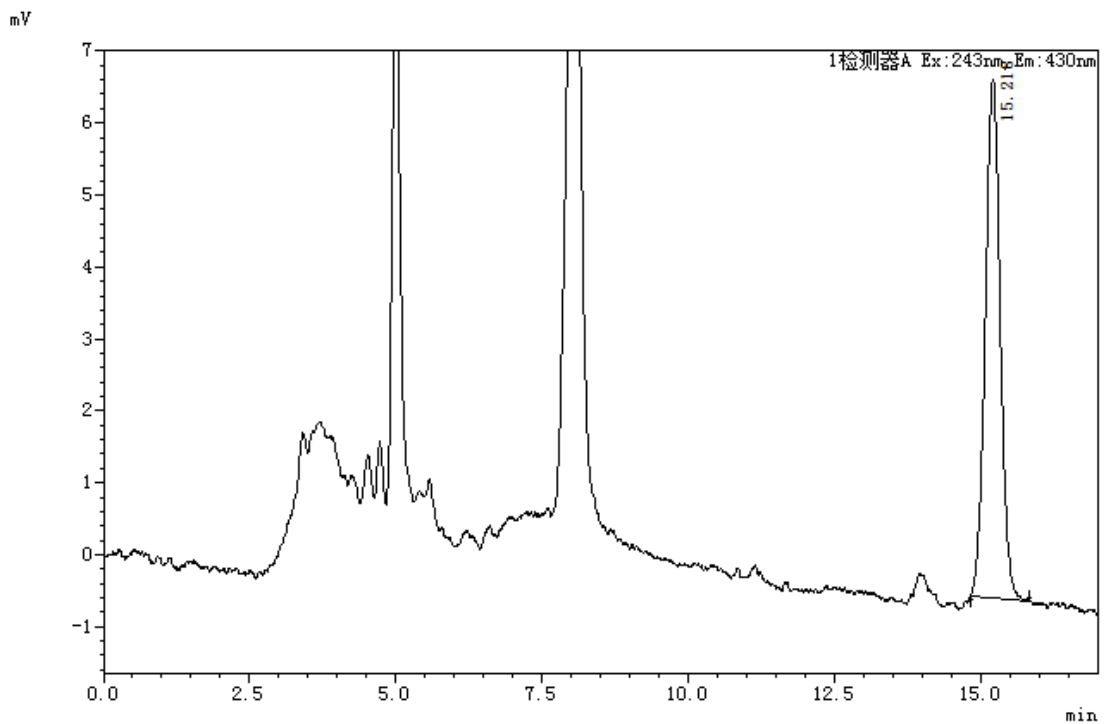


图 3.苹果原样

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编:321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

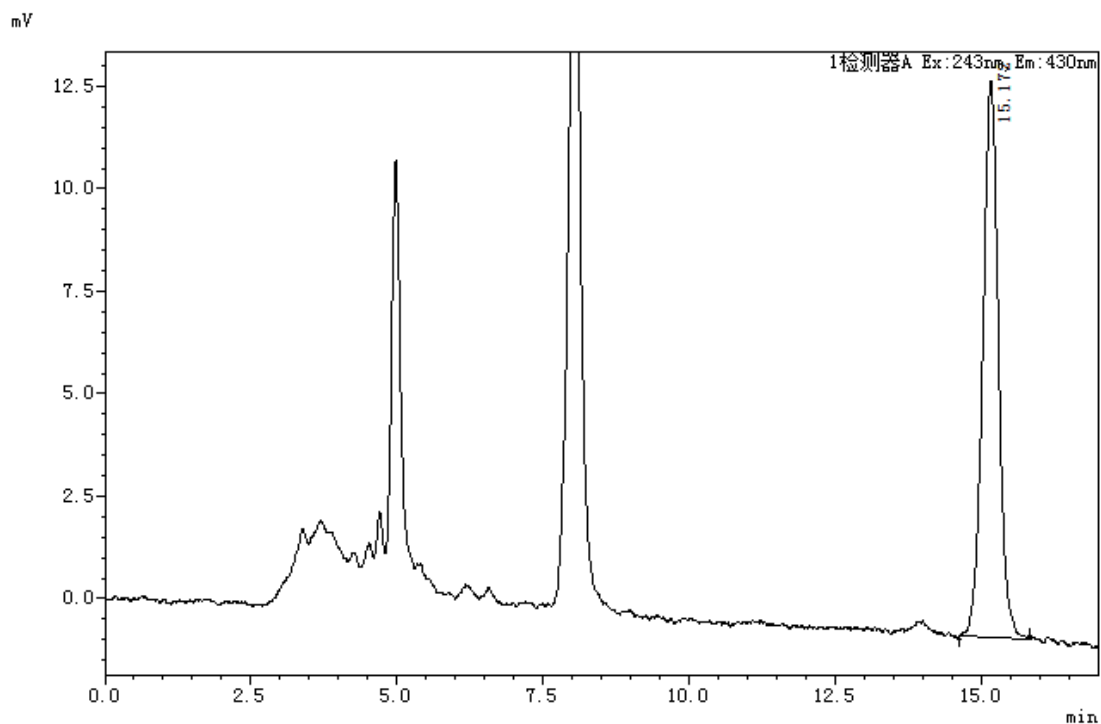


图 4.苹果样+标 0.05µg/g

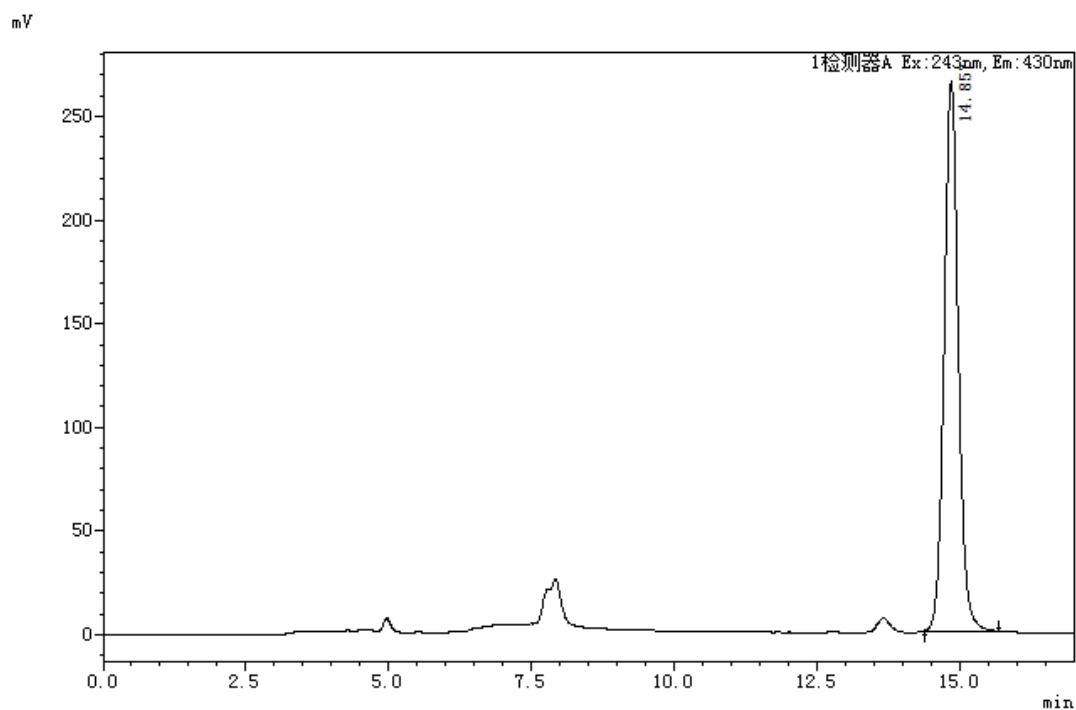


图 5.菠菜原样

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编:321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

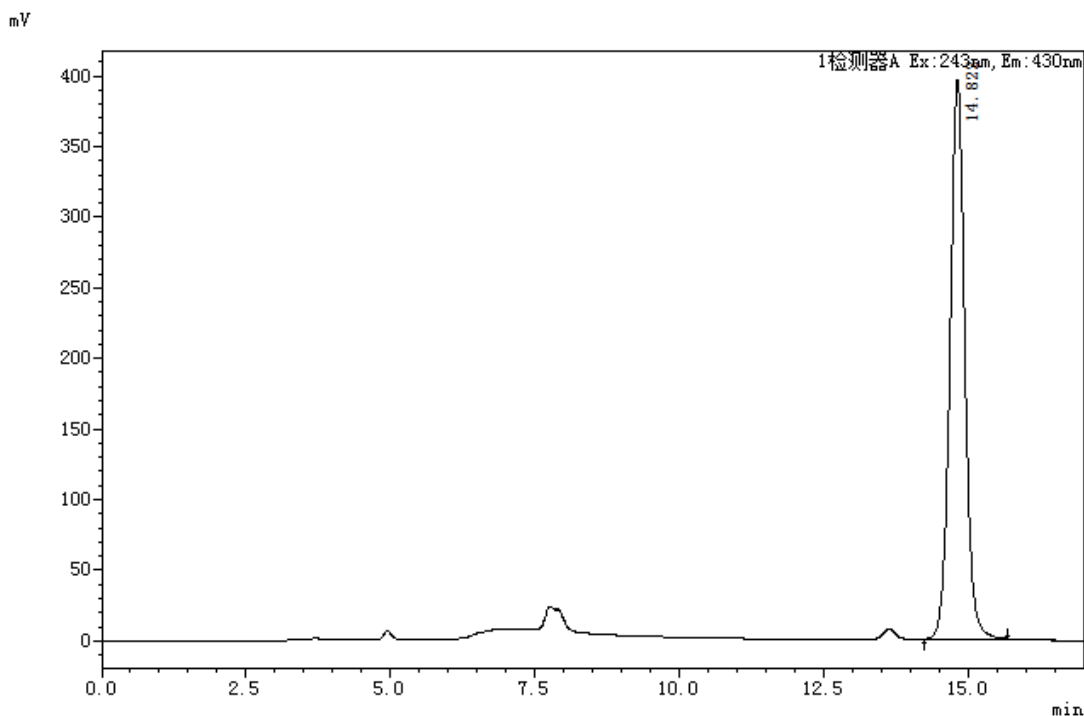


图 6.菠菜样+标 1 $\mu$ g/g

表 1：加标回收率

名称	基质	原样峰面积	对照品峰面积	样加标峰面积	加标水平 $\mu$ g/g	回收率%	RSD% N=3
维生素 K <sub>1</sub>	苹果	119239	163812 (10ng/mL)	253349	0.05 $\mu$ g/g	82	3.86
				251519		81	
				261381		87	
	菠菜	4540233	2657936 (200ng/mL)	6764112	1 $\mu$ g/g	84	3.50
				6887698		88	
				6919257		90	

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编:321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

## 8、相关产品信息

货号	名称	规格
00573-20036	Welchrom®维生素 K1 前处理小柱	2g/6ml, 30pk
00000-30016	50mL 螺口尖底离心管	50 支/包
	15mL 螺口尖底离心管	50 支/包
00824-31001	Welch 固相萃取装置	12 位方缸
00821-32291	盖子+垫子	预切口红色色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	2ml 透明短螺纹广口样品瓶 (带手写处), 11.6*32mm, 一级水解玻璃 100pk
00201-31041	Ultimate® XB-C18	4.6×250mm, 5μm
00225-51037	Ultimate® XB-C18	4.6×50mm
00826-V030P01 G	维生素 K1 标准品	CAS No. :84-80-0, 1000mg

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com