

HPLC法测定学生营养餐中维生素B1、B2及营养分析

轩 辉* 程 敏 田军杰

商丘市疾病预防控制中心(河南 商丘 476000)



【摘要】目的 为有效监测学生营养餐中维生素B1、B2水平并评估营养摄入情况,本研究基于高效液相色谱技术,建立了学生营养餐中的维生素B1和B2的检测方法。**方法** 本研究收集了来自10所幼儿园、小学和中学的100份学生营养餐样品,使用HPLC对维生素B1和B2进行测定,并采用外标法定量。**结果** 通过标准曲线回归分析,维生素B1和B2在浓度范围内线性关系良好,相关系数均大于0.9990。维生素B1和维生素B2检出限分别为0.15mg/g和0.04mg/g,定量限分别为0.45mg/g和0.10mg/g,相对标准偏差(RSD)分别为1.55%和0.88%,表明方法具有较高的精确度和可靠性。本方法与现行中国食品安全国家标准中维生素B的分析方法在测定结果上具有较高的等效性。**结论** 采用本方法检测100份学生营养餐样品,其中,75%的样品维生素B1和B2摄入量符合推荐摄入量,13%的样品摄入量超出推荐摄入量,10%的样品摄入量偏低,2%的样品摄入量不足,适用于学生营养餐中维生素B1和B2的日常监测。

【关键词】 高效液相色谱法; 维生素B1; 维生素B2; 学生营养餐; 摄入充足性

【中图分类号】 R977.2+2

【文献标识码】 A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2026.7.042

Determination of Vitamin B1 and B2 in Student Nutrition Meals by HPLC and Nutritional Analysis

XUAN Hui*, CHENG Min, TIAN Jun-jie.

Shangqiu Center for Disease Control and Prevention, Shangqiu 476000, Henan Province, China

Abstract: Objective To effectively monitor the levels of vitamin B1 and B2 in students' nutritious meals and evaluate their nutrient intake status, this study established a detection method for vitamin B1 and B2 in students' nutritious meals based on high-performance liquid chromatography (HPLC) technology. **Methods** A total of 100 student nutrition meal samples were collected from 10 kindergartens, primary schools, and junior high schools. Vitamin B1 and B2 were determined by HPLC, quantitation employed external calibration curves. **Results** The standard curve regression analysis that two vitamins showed a good linearity in the concentration range, with correlation coefficients exceeding 0.9990. The limits of detection (LOD) for vitamin B1 and B2 were 0.15 mg/g and 0.04 mg/g, the limits of quantification (LOQ) were 0.45 mg/g and 0.10 mg/g, the relative standard deviations (RSD) were 1.55% and 0.88%, respectively, indicating high precision and reliability. This method has a high degree of equivalence in the determination results with the analytical method for vitamin B specified in the current national food safety standards of China. **Conclusion** Using this method, 75% of the samples had vitamin B1 and B2 intake levels meeting the recommended intake, 13% exceeded the recommendation, 10% were below, and 2% were insufficient. This method is suitable for routine monitoring of vitamin B1 and B2 in student nutrition meals.

Keywords: High-Performance Liquid Chromatography; Vitamin B1; Vitamin B2; School Meals; Intake Adequacy

学生时期是身体发育和智力成长的关键阶段,合理的营养摄入对学生的健康发展至关重要^[1]。维生素B1和维生素B2作为水溶性维生素,不仅在能量代谢中扮演着重要角色,还在维持神经系统正常功能、促进细胞代谢等方面发挥着不可替代的作用^[2]。维生素B1参与碳水化合物的代谢,是大脑和神经系统的能量来源;而维生素B2在细胞的氧化还原反应中起到重要作用,对皮肤、眼睛和肝脏的健康至关重要^[3-4]。缺乏这两种维生素会导致食欲减退、注意力不集中、神经系统功能障碍等问题,严重影响学生的体力和学习能力^[5]。因此,定期监测学生餐中的维生素含量,评估其营养充足性显得尤为重要。高效液相色谱法(HPLC)作为一种精确的分析技术,广泛应用于食品和饮料中的维生素含量检测。HPLC法具有分离效率高、灵敏度强、准确性高等优点,能够准确测定复杂样品中的微量维生素成分^[6-7]。因此,本研究采用HPLC技术,测定了来自10所幼儿园、小学和中学的100份学生营养餐样品中维生素B1和B2的含量。通过与《中国居民膳食营养素参考摄入量》及《学生餐营养指

南》中的推荐摄入量进行对比,评估学生餐中维生素B1和B2的摄入充足性,以便为学生餐营养优化提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 样品来源 本研究所使用的100份学生营养餐样品,均采自不同学校提供的午餐。样品选取10所幼儿园、小学和中学的学生营养餐,随机选取5天不同年级段的学生午餐样品,以确保样品具有广泛性、代表性和综合性。采集后的样品立即送至实验室进行处理与分析,所有过程严格遵循操作规程。

1.2 样品制备 所有样品在送至实验室后,首先进行去骨、去壳等处理,保留可食部分。使用高速匀浆机将样品制成均匀胶状物,处理后的样品根据不同分析需求进行保存。

1.3 检测方法

1.3.1 溶液配制 (1)1mol/L氢氧化钠溶液:称取10g氢氧化钠,加入250mL蒸馏水中,搅拌至完全溶解。(2)100g/L二乙烯三胺五醋酸溶液:称取6g二乙烯三胺五醋酸,溶解于60mL 1mol/L

【第一作者】轩 辉,男,主管技师,主要研究方向:理化检验检测技术。Email:SQJK0370@163.com

【通讯作者】轩 辉

氢氧化钠溶液中。(3)萃取溶液：取3.0g磷酸二氢钾，加入1L水中，搅拌直至完全溶解，加入37.5mL 0.5mol/L四丁基氢氧化铵甲醇溶液与60mL二乙烯三胺五醋酸溶液，最后用磷酸溶液调整pH值至7.00±0.05，加入375mL甲醇混合均匀，加水至2L，在棕色瓶内避光保存。(4)流动相A：称取0.94g己烷磺酸钠和1.0g柠檬酸，溶解于500mL水中，搅拌至溶解，再加入25mL乙腈，定容至500mL，使用0.22μm滤膜过滤。(5)流动相B：量取60mL乙腈与140mL水混匀，过滤后使用。

1.3.2 标准溶液配制 (1)标准储备液制备：准确称取维生素B1标准品20mg、维生素B2标准品30mg，分别溶解在萃取溶液中，定容至100mL，得到维生素B1和B2的标准储备液。(2)混合标准中间液制备：从储备液中取适量，分别移取维生素B1 8mL、维生素B2 4mL至100mL容量瓶中，加入萃取溶液定容摇匀。(3)标准工作液制备：从中间液中取1mL、2mL、5mL、8mL和10mL，分别加入至10mL容量瓶中，再加入萃取溶液定容至刻度，得到不同浓度的标准工作液。维生素B1和B2的浓度范围分别为0.0016mg/mL至0.0160mg/mL和0.0012mg/mL至0.0120mg/mL。

1.3.3 色谱条件 色谱柱：使用Waters ACQUITY UPLC C18色谱柱(2.1mm×50mm，1.7μm)；检测波长：维生素B1和维生素B2的检测波长分别为233nm和280nm；进样量：2μL；流速：0.5mL/min；柱温：30℃；梯度洗脱程序见表1。

1.3.4 样品处理 取1.2处样品约5.00g(精确至0.01g)，置于50mL具塞离心管中，加入20.0mL萃取溶液，充分振荡混匀。将离心管置于95℃水浴中加热30min，加热过程中每10min取出轻轻振荡1次，使维生素充分析出。取出后冷却至室温，用萃取溶液定容至25mL，混匀，置4000r/min离心10min，取上清液，经0.22μm微孔滤膜过滤，弃去初滤液约1mL，续滤液作为HPLC进样测定用的样品溶液。

1.4 质量控制 为确保样品检测的准确性与可重复性，采取了以下质量控制措施：(1)全程记录：从样品的采集、运输至实验室、到检测过程，所有步骤均详细记录，确保实验可追溯。(2)空白样品检测：使用空白样品进行实验，以排除可能的外部污染或实验误差。(3)平行样品检测：对同一样品进行平行实验，以验证检测结果的稳定性与可靠性。(4)样品加标回收：通过对样品进行不同浓度的加标处理，进行回收率测试，确保方法的准确性(回收率≥95%)。

1.5 营养评价 根据《中国居民膳食营养素参考摄入量》以及《学生餐营养指南》对样品中维生素B1和B2的摄入充足性进行分析，评估学生午餐维生素B1和B2含量是否满足推荐的维生素摄入需求，中国居民膳食水溶性维生素参考摄入量见表2。

将样品测定结果与推荐摄入量进行对比分析，计算每份样品中维生素的摄入量占推荐量的百分比，根据该百分比按

<60%、60%~80%、80%~100%、>100%分布进行分析评价。当比值低于60%，表示摄入不足；60%~80%之间，表示维生素摄入量偏低；80%~100%之间，表示符合推荐摄入量；高于100%，表示超出推荐摄入量。

2 结果

2.1 检测方法的对比 《食品安全国家标准食品中维生素B1的测定》(GB 5009.84-2016)和《食品安全国家标准食品中维生素B2的测定》(GB 5009.85-2016)中第一法均采用液相色谱法(HPLC)。本研究随机选取6份样品进行测定，具体结果见表3。为了评估两种方法在检测结果上的等效性，采用了TOST分析方法。结果表明，当等效标准为5%时，维生素B1和维生素B2的测定结果符合等效性要求；当等效标准放宽至10%时，维生素B1和维生素B2依然符合等效性标准。

2.2 方法学考察

2.2.1 标准曲线的建立 为了验证所用方法的准确性和灵敏度，我们首先制备了维生素B1和B2的标准工作溶液，并进行色谱分析，以色谱峰面积作为纵坐标，浓度作为横坐标绘制标准曲线。结果表明，维生素B1和B2在浓度范围内线性关系良好，相关系数(R²)分别为0.9993和0.9998，表示标准曲线具有很高的可靠性和准确性，见表4。

2.2.2 检出限和定量限 为了评估方法的灵敏度，通过测量低浓度样品并计算信噪比(S/N)，确定了方法的检出限和定量限。基于3倍信噪比(S/N=3)和10倍信噪比(S/N=10)的标准，我们得到了以下结果：维生素B1的检出限为0.15mg/g，定量限为0.45mg/g；维生素B2的检出限为0.04mg/g，定量限为0.10mg/g。

2.2.3 精密度实验 为验证该方法的精密度，对100份不同样品进行了平行测试，并计算了每个样品的相对标准偏差(RSD)。实验结果显示，维生素B1和B2的相对标准偏差分别为1.55%和0.88%，见表5。

2.2.4 加标回收试验 为了评估方法的准确性，对100份样品进行加标回收实验。在低、中、高不同浓度水平下进行加标，计算回收率。结果表明，维生素B1的回收率为93.12%~97.45%，维生素B2的回收率为94.78%~101.22%，见表6。

2.2.5 溶液稳定性 为确保样品溶液在测定过程中的稳定性，我们进行长时间的溶液保存实验。不同时间点(0h、2h、4h、6h、8h、10h、12h)进样并测量峰面积，计算相对标准偏差。结果显示，维生素B1和B2的相对标准偏差分别为0.62%和0.41%。

2.3 维生素B1、B2摄入充足性 100个样品中，只有2%样品的维生素摄入量不足，10%的样品摄入量偏低，75%的样品符合推荐摄入量，13%的样品摄入量超过推荐摄入量，见表7。

表2 中国居民膳食水溶性维生素参考摄入量

年龄(岁)/生理状况	维生素B1(RNI mg/d)		维生素B2(RNI mg/d)	
	男	女	男	女
1~	0.6	0.6	0.6	0.6
4~	0.8	0.8	0.7	0.7
7~	1.0	1.0	1.0	1.0
11~	1.3	1.1	1.3	1.1
14~17	1.6	1.3	1.5	1.2

表1 洗脱程序

时间(分钟)	流动相A(%)	流动相B(%)
0	96	4
4	60	40
4	96	4
6	96	4

表3 检测方法的对比

序号	维生素B1	维生素B1	维生素B2	维生素B2
	(本文方法)	(GB 5009.84-2016方法)	(本文方法)	(GB 5009.85-2016方法)
样品1	0.160	0.150	0.028	0.025
样品2	0.824	0.810	0.030	0.027
样品3	0.822	0.810	0.021	0.020
样品4	0.561	0.550	0.022	0.020
样品5	0.738	0.725	0.063	0.060
样品6	1.62	1.60	0.047	0.045

表4 标准曲线的回归方程

成分	线性范围(mg/mL)	线性方程	R ²
维生素B1	0.0015~0.0150	y=3322356.78x+450.12	0.9993
维生素B2	0.0010~0.0125	y=11052431.49x-85.67	0.9998

表5 精密度实验结果(n=100)

成分	含量(mg/g)	相对标准偏差(%)
维生素B1	1.54	1.55
维生素B2	1.48	0.88

表6 加标回收试验结果(n=100)

成分	回收率范围(%)
维生素B1	93.12%~97.45%
维生素B2	94.78%~101.22%

表7 维生素B1、B2摄入充足性(n, %)

	n	摄入不足	摄入量偏低	符合推荐摄入量	超过推荐摄入量
小学	30	1(3.33%)	3(10.00%)	21(70.00%)	5(16.67%)
初中	35	1(2.86%)	4(11.43%)	26(74.29%)	4(11.43%)
高中	35	0(0)	3(8.57%)	28(80.00%)	4(11.43%)
合计	100	2(2.00%)	10(10.00%)	75(75.00%)	13(13.00%)

3 结 论

本研究结果显示，75%的样品的维生素B1和B2摄入量符合推荐摄入量，13%的样品摄入量超出推荐标准，10%的样品摄入量偏低，2%的样品摄入量不足。这表明大多数学生的维生素B1和B2摄入量能够满足膳食要求，尤其是在小学和初中年级，学生的摄入情况较为充足。然而，仍有一定比例的学生摄入偏低或不足，尤其在高中阶段，部分学生的维生素B1和B2摄入量未达到推荐标准。维生素B1和B2摄入不足的原因可能与学生餐的膳食结构、食材选择及烹饪方式有关^[8-9]。在部分学校中，学生餐的食物种类相对单一，可能缺乏富含维生素B1和B2的食物，如全麦制品、动物肝脏和绿叶蔬菜等。这些食物在学生餐中的缺乏可能导致维生素B1和B2的摄入量不足。因此，改善学生餐的食物种类和结构，增加富含这两种维生素的食物，有助于提高学生的维生素B1和B2摄入量。

HPLC作为本研究的主要分析方法，展现了其在维生素测定中的高灵敏度和准确性。研究结果表明，HPLC法在维生素B1和B2的定量测定中具有较高的精密度与可靠性，且与国家标准方法(GB 5009.84-2016和GB 5009.85-2016)对比时，测定结果高度一

致。此外，标准曲线回归分析显示，维生素B1和B2在检测范围内线性关系良好，且相关系数均大于0.9990，表明该方法具有较高的准确性。通过本研究的精密度和回收率实验，进一步验证了HPLC法在维生素含量检测中的稳定性和高效性。HPLC法的优势在于其能够同时检测多种维生素成分，并能在复杂样品中提供高精度的测定结果^[10-12]。与传统方法相比，HPLC具有更高的分离效率和更短的检测时间，尤其在处理多组分食品样品时，HPLC具有独特的优势^[13]。因此，HPLC法不仅适用于学生餐中维生素的测定，也可广泛应用于食品质量控制和营养分析中^[14-15]。

综上所述，HPLC法能够有效地检测维生素B1和B2含量，并与国家标准方法具有较好的等效性。同时，大多数学生的维生素B1和B2摄入量符合或超过推荐标准，但仍有部分样品存在摄入不足的情况。

参考文献

[1] 李杉, 杨丽, 何其栋, 等. 河南省三地区中小学校学生餐营养供给状况[J]. 中国学校卫生, 2025, 46(1): 50-52, 57.

[2] 张静, 鹿尘, 孙翠霞, 等. 2021年周口市校园学生餐营养成分监测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2023, 33(14): 1774-1777.

[3] 陈伟, 黄银波, 乔勇升, 等. 酸提取快速测定法检测复合维生素中维生素B1、维生素B2的含量[J]. 中国饲料, 2024, (13): 129-133.

[4] 李春阳, 杨子忠, 程倩, 等. 反相高效液相色谱法测定多维片中维生素B1的含量[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(8): 302-306.

[5] 杨静, 刘春丽, 胡杰, 等. 超高效液相色谱法快速测定食品营养补充剂中维生素B1、维生素B2和维生素B9的含量[J]. 食品安全导刊, 2024, (32): 63-67.

[6] Palma-Duran SA, Morgan D, Combet E. Quantification of vitamin A in Edible oils: comparison of portable device iCheck Chroma3 to High-performance liquid chromatography[J]. Food Analytical Methods, 2024, 17(6): 847-854.

[7] 唐雯, 黄媛. 高效液相色谱-荧光法测定饲料中维生素B1和维生素B2[J]. 中国饲料, 2024, (3): 113-117.

[8] 张利锋, 杨瑞春, 翟志雷, 等. 河南省部分小学食堂午餐能量和营养素供应状况[J]. 现代预防医学, 2024, 51(19): 3518-3522.

[9] 王倩倩, 霍斌, 杨旸, 等. 2015-2016年北京某高中住校生食堂就餐营养摄入情况[J]. 卫生研究, 2020, 49(2): 302-305.

[10] Huan L, Xiaomin X, Li Z, et al. Ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of serum metabolomic characteristics in people with different vitamin D levels[J]. Open Medicine, 2023, 18(1): 20230658.

[11] 左家信, 梁静, 冯家力. 超高效液相色谱-荧光法测定市售水果中的维生素B1和B2[J]. 海峡预防医学杂志, 2023, 29(1): 5-8.

[12] Y. A, A. A, K. I A, et al. Simultaneous determination of B1, B2, B3, B6, B9, and B12 vitamins in premix and fortified flour using HPLC/DAD: effect of detection wavelength[J]. Journal of Food Quality, 2022, 23(1): 34-38.

[13] Sarah M E, Hervé A, Christophe M, et al. Exploring the unexplored: a characterization of vitamins and vitamers in white grape musts by high-performance liquid chromatography[J]. Food Chemistry, 2023, 398: 133860.

[14] 董欣, 赵佳宁, 王博, 等. 高效液相色谱串联质谱法测定大米中维生素B1含量[J]. 特种经济动植物, 2022, 25(8): 21-26.

[15] 张丽娟, 张浩. 高效液相色谱法测定多种维生素矿物质片中维生素B1的含量[J]. 中国食品工业, 2023, (6): 64-66, 69.

(收稿日期: 2025-12-10)
(校对编辑: 江丽华)
(排版编辑: 刘淮嘉)