



中华人民共和国国家标准

GB 5009.89—xxxx

食品安全国家标准  
食品中烟酸和烟酰胺的测定

(征求意见稿)

202x-xx-xx 发布

202x-xx-xx 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会  
国家市场监督管理总局

发布

## 前 言

本标准代替GB 5009.89-2016《食品安全国家标准 食品中烟酸和烟酰胺的测定》。

本标准与GB 5009.89-2016相比，主要变化如下：

- 增加了第二法中的微孔板法、试样处理后调节pH值的要求；
- 修改了第二法标准曲线浓度范围、精密度和定量限。

# 食品安全国家标准

## 食品中烟酸和烟酰胺的测定

### 1 范围

本标准规定了食品中烟酸和烟酰胺的测定方法。

本标准第一法适用于调制乳粉、特殊膳食用食品(不包括氨基酸配方与乳蛋白深度水解配方的特殊医学配方婴儿配方乳粉)和特殊用途饮料中烟酸和烟酰胺的测定,第二法适用于食品中烟酸(或烟酰胺)的测定。

### 第一法 高效液相色谱法

### 2 原理

样品经酶解、沉淀蛋白质等前处理后,在弱酸性环境下超声波振荡提取,以 $C_{18}$ 色谱柱分离,用紫外检测器检测,根据色谱峰的保留时间定性,外标法定量,计算试样中烟酸和烟酰胺含量。

### 3 试剂和材料

除非另有说明,水为GB/T 6682规定的一级水。

#### 3.1 试剂

- 3.1.1 盐酸(HCl):优级纯。
- 3.1.2 氢氧化钠(NaOH):优级纯。
- 3.1.3 高氯酸( $HClO_4$ ):优级纯。
- 3.1.4 甲醇( $CH_3OH$ ):色谱纯。
- 3.1.5 异丙醇( $C_3H_8O$ ):色谱纯。
- 3.1.6 庚烷磺酸钠( $C_7H_{15}NaO_3S$ ):色谱纯。
- 3.1.7 淀粉酶:酶活力 $\geq 1.5$  U/mg。

#### 3.2 试剂配制

- 3.2.1 盐酸溶液(5.0 mol/L):量取415 mL浓盐酸,加水定容至1 000 mL。
- 3.2.2 盐酸溶液(0.1 mol/L):吸取8.3 mL浓盐酸,加水定容至1 000 mL。
- 3.2.3 氢氧化钠溶液(5.0 mol/L):称取200 g氢氧化钠,加水定容至1 000 mL。
- 3.2.4 氢氧化钠溶液(0.1 mol/L):吸取20 mL氢氧化钠溶液(5.0 mol/L),加水定容至1 000 mL。

#### 3.3 标准品

- 3.3.1 烟酸( $C_6H_5NO_2$ , CAS号:59-67-6):纯度 $\geq 98\%$ ,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。
- 3.3.2 烟酰胺( $C_6H_6N_2O$ , CAS号:98-92-0):纯度 $\geq 98\%$ ,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

#### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 烟酸和烟酰胺标准储备溶液（1.000 mg/mL）：在含五氧化二磷的干燥器中取出干燥过夜后的烟酸和烟酰胺标准品，准确称取各0.1 g（精确到0.1 mg），用0.1 mol/L盐酸溶解，定容至100 mL（冷藏可保存1个月）。

3.4.2 烟酸和烟酰胺标准混合中间液（100.0 μg/mL）：准确吸取烟酸和烟酰胺标准储备液各10.0 mL于100 mL容量瓶中，加水定容至刻度，混匀。冷藏可保存1个月。

3.4.3 烟酸和烟酰胺标准混合工作液：分别准确吸取标准混合中间液1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL、10.0 mL、20.0 mL于100 mL容量瓶中，加水定容至刻度，混匀，得到浓度分别为1.0 μg/mL、2.0 μg/mL、5.0 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL的标准混合工作液。临用前配制。

## 4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪：配紫外检测器。

4.2 天平：感量为0.1 mg和0.01 g。

4.3 恒温培养箱：30 °C~80 °C。

4.4 超声波振荡器。

4.5 pH计：精度为0.1。

4.6 粉碎机。

## 5 分析步骤

### 5.1 样品前处理

#### 5.1.1 试样制备

样品预处理：取有代表性的样品至少200 g，块状或颗粒状样品用粉碎机粉碎，粉末状、糊状或液体样品充分混匀，置于密闭的容器内。

#### 5.1.2 淀粉类和含淀粉的食品

a) 称取混合均匀固体试样约5.0 g（精确到0.01 g）于150 mL锥形瓶中，加入约25 mL 45 °C~50 °C的水，加入约0.5 g淀粉酶，摇匀后向锥形瓶中充氮，盖上塞，置于50 °C~60 °C的培养箱内酶解约30 min，取出冷却至室温。

b) 称取混合均匀液体试样约20.0 g（精确到0.01 g）于150 mL锥形瓶中，加入约0.5 g淀粉酶，摇匀后向锥形瓶中充氮，盖上塞，置于50 °C~60 °C的培养箱内酶解约30 min，取出冷却至室温。

#### 5.1.3 不含淀粉的食品

a) 称取混合均匀固体试样约5.0 g（精确到0.01 g）于150 mL锥形瓶中，加入约25 mL 45 °C~50 °C的水，置于超声波振荡器中振荡约10 min以上充分溶解，静置5 min~10 min，并冷却至室温。

b) 称取混合均匀液体试样约20.0 g（精确到0.01 g）于150 mL锥形瓶中，置于超声波振荡器中振荡约10 min以上充分溶解，静置5 min~10 min，并冷却至室温。

#### 5.1.4 试样提取

待试样溶液降至室温后，用5.0 mol/L盐酸溶液和0.1 mol/L 盐酸溶液调节试样溶液的pH至 $1.7 \pm 0.1$ ，放置约2 min后，再用5.0 mol/L 氢氧化钠溶液和0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调节试样溶液的pH至 $4.5 \pm 0.1$ ，置于50 °C水浴超声波振荡器中振荡10 min以上充分提取，冷却至室温后转至100 mL容量瓶中，用水反复冲洗锥形瓶，洗液合并于100 mL容量瓶中，用水定容至刻度后混匀，经滤纸过滤。滤液再经0.45 μm微孔滤膜加压过滤，用样品瓶收集，即为试样测定液。

注：必要时，试样测定液用水进行适当的稀释（f），使试样测定液中烟酸和烟酰胺浓度在1 μg/mL~20 μg/mL范围内。

## 5.2 液相色谱参考条件

5.2.1 液相色谱柱：C<sub>18</sub>（粒径5 μm，250 mm×4.6 mm）或等效柱。

5.2.2 流动相：甲醇70 mL、异丙醇20 mL、庚烷磺酸钠1 g，用910 mL水溶解并混匀后，用高氯酸调节pH至2.1±0.1。

5.2.3 柱温：25 °C±0.5 °C。

5.2.4 流速：1.0 mL/min。

5.2.5 进样量：20 μL。

5.2.6 紫外检测波长：261 nm。

## 5.3 标准工作曲线的制备

按照已经确立的色谱条件，将烟酸及烟酰胺混合标准系列测定液依次按上述推荐色谱条件进行测定（标准样品色谱图见附录A图A.1）。记录各组分的色谱峰面积，以保留时间横坐标，以峰面积为纵坐标，以标准测定液的浓度为横坐标，绘制标准曲线。

## 5.4 试样溶液的测定

将试样测定液按上述推荐色谱条件进样测定。记录各组分色谱峰面积，根据标准曲线计算出试样测定液中烟酸及烟酰胺各组分的浓度ρ。

## 6 分析结果的表述

### 6.1 试样烟酸或烟酰胺含量计算

试样中烟酸或烟酰胺的含量按公式（1）计算：

$$X = \frac{\rho \times V \times 100}{m} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X——试样中烟酸或烟酰胺的含量，单位为微克每百克（μg/100 g）；

ρ——由标准曲线得到的试样溶液中烟酸或烟酰胺的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

V——样品定容的体积，单位为毫升（mL）；

m——试样的取样量，单位为克（g）。

### 6.2 试样烟酸和烟酰胺总含量计算

试样中烟酸和烟酰胺的总含量（以烟酸计）按公式（2）计算：

$$X = X_1 + X_2 \times 1.008 \dots \dots \dots (2)$$

式中：

X——试样中烟酸和烟酰胺总含量（以烟酸计），单位为微克每百克（μg/100 g）；

X<sub>1</sub>——试样中烟酸含量，单位为微克每百克（μg/100 g）；

X<sub>2</sub>——试样中烟酰胺含量，单位为微克每百克（μg/100 g）。

计算结果保留三位有效数字。

注：烟酰胺的结果乘以系数1.008，可以折算为烟酸的结果。

## 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%。

## 8 其他

固体样品：当称样量为5 g 时，烟酸检出限为30  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ，定量限为100  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ，烟酰胺检出限为40  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ，定量限为120  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 。

液体样品：当称样量为20 g 时，烟酸检出限为 7.5  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ，定量限为25  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ，烟酰胺检出限为10  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ，定量限为30  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 。

## 第二法 微生物法

### 9 原理

烟酸和烟酰胺是植物乳植杆菌 (*Lactiplantibacillus plantarum*) 生长所必需的营养素，在烟酸测定培养基中，植物乳杆菌的生长与烟酸（或烟酰胺）的含量呈相关性，根据烟酸（或烟酰胺）含量与透光率（或吸光度）的标准曲线计算出试样中烟酸（或烟酰胺）含量。

### 10 试剂和材料

除非另有规定，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682 规定的一级水或二级水。

#### 10.1 菌株

植物乳植杆菌 (*Lactiplantibacillus plantarum*)（原植物乳杆菌，*Lactobacillus plantarum*）ATCC 8014 或等效菌株。

#### 10.2 培养基

10.2.1 乳酸杆菌琼脂培养基：见附录B.1。

10.2.2 乳酸杆菌肉汤培养基：见附录B.2。

10.2.3 烟酸（或烟酰胺）测定用培养基：见附录B.3。

注：可使用商品化的合成培养基，按照说明书操作。

#### 10.3 试剂

10.3.1 无水乙醇 ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ )。

10.3.2 硫酸 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )：95%~98%。

10.3.3 氢氧化钠 ( $\text{NaOH}$ )。

10.3.4 氯化钠 ( $\text{NaCl}$ )。

#### 10.4 试剂配制

10.4.1 乙醇溶液（体积分数为25%）：量取250 mL无水乙醇，加水定容至1 000 mL。

10.4.2 硫酸溶液A（10 mol/L）：量取560 mL硫酸，加入水中，稀释至1 000 mL。

10.4.3 硫酸溶液B（0.5 mol/L）：量取50 mL硫酸溶液A（10 mol/L），加入水中，稀释至1 000 mL。

10.4.4 氢氧化钠溶液A（10 mol/L）：称取400 g氢氧化钠，加水溶解并稀释至1 000 mL。

10.4.5 氢氧化钠溶液B（0.1 mol/L）：吸取10 mL氢氧化钠溶液A（10 mol/L），加水稀释至1 000 mL。

10.4.6 无菌生理盐水：称取8.5 g 氯化钠溶于1 000 mL蒸馏水中，分装于具塞试管，每管10 mL，121  $^{\circ}\text{C}$  高压灭菌15 min。

## 10.5 标准品

10.5.1 烟酸 ( $C_6H_5NO_2$ , CAS号: 59-67-6): 纯度  $\geq 98\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

10.5.2 烟酰胺 ( $C_6H_6N_2O$ , CAS号: 98-92-0): 纯度  $\geq 98\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

## 10.6 标准溶液配制

10.6.1 烟酸 (或烟酰胺) 标准储备液 (50  $\mu\text{g/mL}$ ): 在含五氧化二磷的干燥器中取出干燥过夜后的烟酸 (或烟酰胺) 标准品, 按纯度称取, 使烟酸 (或烟酰胺) 含量为50.0 mg (精确至0.001 g), 用乙醇溶液 (25%) 溶解移入1 000 mL容量瓶, 定容至刻度。

10.6.2 烟酸 (或烟酰胺) 标准中间液 (500  $\text{ng/mL}$ ): 吸取1.0 mL烟酸 (或烟酰胺) 标准储备液 (50  $\mu\text{g/mL}$ ) 至100 mL容量瓶, 用乙醇溶液 (25%) 定容至刻度。

10.6.3 烟酸 (或烟酰胺) 标准工作液: 分两个浓度, 高浓度溶液的浓度为10  $\text{ng/mL}$ ; 低浓度溶液的浓度为5  $\text{ng/mL}$ 。从中间液中 (500  $\text{ng/mL}$ ) 吸取两次各5 mL, 分别移入250 mL和500 mL容量瓶, 用水定容至刻度。

注: 配制标准溶液使用棕色容量瓶, 配制后的标准溶液要用棕色试剂瓶冷藏于冰箱内。标准储备液和中间液保存期六个月, 标准使用液临用前配制。

## 11 仪器和设备

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外, 其他设备和材料如下:

11.1 分析天平: 感量为0.1 mg。

11.2 离心机。

11.3 涡旋混合器。

11.4 pH计: 精度为0.01。

11.5 恒温培养箱:  $36\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 。

11.6 分光光度计: 540 nm~660 nm。

11.7 酶标仪: 540 nm~660 nm。

11.8 冰箱:  $2\text{ }^\circ\text{C} \sim 8\text{ }^\circ\text{C}$ 。

11.9 无菌微孔板。

11.10 定量滤纸: 直径90 mm。

11.11 试管: 18 mm×180 mm。

11.12 容量瓶: 容量100 mL、250 mL、500 mL。

11.13 单刻度移液管: 1 mL、5 mL、10 mL。

11.14 刻度吸管: 5 mL (具0.1 mL刻度)。

11.15 玻璃漏斗: 直径100 mm。

11.16 锥形瓶: 容量250 mL。

11.17 烧杯：容量100 mL。

11.18 分液器：0 mL~10 mL。

11.19 微量移液器：1 000  $\mu$ L，200  $\mu$ L。

11.20 无菌离心管：1.5 mL。

11.21 针头过滤器：孔径0.22  $\mu$ m。

注：清洗后的玻璃器皿和金属器具应在250  $^{\circ}$ C干热1 h~2 h。

## 12 分析步骤

### 12.1 测试菌悬液制备

12.1.1 将植物乳植杆菌ATCC 8014菌株活化后，用接种针穿刺接种到乳酸杆菌琼脂培养基上，36  $^{\circ}$ C  $\pm$  1  $^{\circ}$ C培养16 h~24 h，再转种2代~3代以增强活力。以斜面培养物方式置冰箱冷藏，可保存1个月。

12.1.2 将24 h内活化后的菌株转种至已灭菌的乳酸杆菌肉汤中，36  $^{\circ}$ C  $\pm$  1  $^{\circ}$ C培养16 h~24 h。以3 000 r/min~5 000 r/min离心5 min，弃去上清液，加入10 mL生理盐水，用涡旋混合器振荡该悬液。再离心约5 min，弃去上清液。如前操作清洗2次~3次后，再加10 mL生理盐水，振荡混匀。吸取适量该菌悬液于10 mL生理盐水中，混匀制成测试菌悬液。

12.1.3 以生理盐水做空白，用分光光度计于550 nm波长下测定测试菌悬液透光率T（%），调整上述菌液加入量，使测试菌悬液透光率在60 T%~80 T%。

### 12.2 试样提取

块状、颗粒状试样需粉碎；乳粉、米粉等粉状试样需混匀；果蔬、肉、蛋、鱼、动物内脏等需制成食糜；半固体食品等试样需匀浆混匀；液体试样用前振摇混合。

12.2.1 固态试样：准确称取（精确至0.001 g）试样于锥形瓶中，其中新鲜果蔬试样2 g~5 g；谷类、豆类、坚果类、内脏、生肉、干制试样0.2 g~1 g；乳粉、米粉等试样2 g~3 g；一般营养素补充剂、复合营养强化剂0.1 g~0.5 g；其他食品0.2 g~1 g。

12.2.2 液体饮料或流质、半流质试样：称取5 g~10 g（精确至0.001 g）（或用单刻度移液管吸取适量体积）于锥形瓶中。特殊用途饮料称取样品后不需处理，称样后直接定容至100 mL（V）后，按12.2.4进行稀释。

如果试样烟酸（或烟酰胺）含量过低，可适当提高称样量。

12.2.3 加入试样质量（以克计）10倍的硫酸溶液 B（以毫升计），将上述混合物放入压力蒸汽灭菌器，121  $^{\circ}$ C水解30 min，取出迅速水浴冷却至室温。用氢氧化钠溶液 A和氢氧化钠溶液 B调节pH至4.5  $\pm$  0.2，移入250 mL（V<sub>1</sub>）容量瓶中用水定容至刻度。

用定量滤纸过滤，最初约10 mL滤液应弃去，吸取5 mL（V<sub>2</sub>）滤液于100 mL烧杯中，加水约20 mL，用氢氧化钠溶液 B调节pH至6.8  $\pm$  0.2，移入100 mL（V）容量瓶中加水定容至刻度。

12.2.4 稀释：根据试样中烟酸（或烟酰胺）含量用水对提取液进行适当稀释，使稀释后试样提取液中烟酸（或烟酰胺）浓度约为5 ng/mL~12 ng/mL。

### 12.3 试样测定

#### 12.3.1 试管培养法

##### 12.3.1.1 标准曲线系列管

按表1 顺序加入水、标准曲线工作液和烟酸测定用培养基至培养试管中，表1中每一编号需制作3



管。未接种空白试管（UN）、接种空白试管（IN）、标准系列管S1至S8中烟酸（或烟酰胺）浓度分别为0 ng、0 ng、5 ng/mL、10 ng/mL、15 ng/mL、20 ng/mL、25 ng/mL、30 ng/mL、40 ng/mL、50 ng/mL。

表1 标准曲线系列管

试管号	UN	IN	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
水（mL）	5	5	4	3	2	1	0	2	1	0
5 ng/mL标准曲线工作液（mL）	0	0	1	2	3	4	5	0	0	0
10 ng/mL标准曲线工作液（mL）	0	0	0	0	0	0	0	3	4	5
培养基（mL）	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

### 12.3.1.2 试样系列管

按表2顺序加入水、试样提取液和烟酸测定用培养基至培养试管中，表中每一编号需制作3管。

表2 试样系列管

试管号	1	2	3	4
水（mL）	4	3	2	1
试样提取液（mL）	1	2	3	4
培养基（mL）	5	5	5	5

### 12.3.1.3 灭菌

将标准曲线系列管和试样系列管放入压力蒸汽灭菌器，121 °C灭菌5 min（商品培养基按标签说明进行灭菌），取出后迅速用水浴冷却到室温。为了保证加热和冷却过程中温度均匀，灭菌试管不应距离灭菌器内壁过近，试管摆放不应过密，以免影响空气流通。

### 12.3.1.4 接种

在无菌条件下，向上述每管中（标准曲线未接种空白管UN 除外）各加入一滴（50 μL~100 μL）测试菌液，加盖，充分振荡混匀所有培养管。

### 12.3.1.5 培养

将试管放入恒温培养箱内，36 °C ± 1 °C培养18 h~24 h。

### 12.3.1.6 测定

培养结束后，对每支试管进行目测检查，未接种空白试管（UN）内培养液应是澄清的，标准曲线系列管和试样系列管中培养液的吸光度应有梯度差别。未接种空白试管（UN）若混浊，则测定无效。

12.3.1.6.1 以接种空白管（IN）做对照，在波长550 nm 条件下测定最高浓度标准曲线培养管（S8）的透光率，2 h后重新测定。两次结果透光率差值若小于2 %，则取出全部试管准备比色。

12.3.1.6.2 用未接种空白试管（UN）作空白，将分光光度计透光率调至100 %，读出接种空白试管（IN）的读数。再以接种空白试管（IN）为空白，调节透光率为100 %，依次读出其他试管的透光率 T（%）（或吸光度 A）。

12.3.1.6.3 用涡旋混合器充分混合每一支试管（也可以加一滴消泡剂）后，立即将培养液移入比色皿内，在550 nm波长下进行比色。待读数稳定后，读出透光率，每支试管稳定时间要相同。依次读出其他试管的透光率。透光率超出标准曲线管S1~S8覆盖的浓度范围的培养管要舍去。以烟酸或烟酰胺标准品的浓度为横坐标，透光率为纵坐标绘制标准曲线。

注：绘制标准曲线，也可使用吸光度A。

12.3.1.6.4 对每个编号的待测液的试管，用每支试管的透光率或吸光度计算每毫升试样提取液中烟酸（或烟酰胺）的浓度，并计算该编号提取液的烟酸（或烟酰胺）浓度平均值，每支试管测得的该浓度不得超过该平均值的±15 %，超过者要舍去。如果符合该要求的管数少于所有的四个编号的提取液的

总管数的2/3，用于计算试样含量的数据是不充分的，需要重新检验。如果符合要求的管数不少于原来管数的2/3，重新计算每一编号的有效试样管中每毫升提取液中烟酸（或烟酰胺）含量的平均值，以此平均值计算全部编号试样管的总平均值为 $\rho$ ，按式（3）根据稀释倍数和称样量计算出试样中烟酸（或烟酰胺）的含量。

### 12.3.2 微孔板培养法

#### 12.3.2.1 标准曲线系列离心管

将烟酸标准曲线工作液在无菌条件下过滤除菌至无菌离心管中，按表3标准溶液的制备方式，制备3套标准曲线系列离心管。未接种空白孔（UN）、接种空白孔（IN）、S1至S8中烟酸（或烟酰胺）浓度与试管法相同。

表3 标准曲线的制作

离心管号	UN	IN	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
水（ $\mu\text{L}$ ）	1000	1000	800	600	400	200	0	400	200	0
5 ng/mL标准曲线工作液（ $\mu\text{L}$ ）	0	0	200	400	600	800	1000	0	0	0
10 ng/mL标准曲线工作液（ $\mu\text{L}$ ）	0	0	0	0	0	0	0	600	800	1000

#### 12.3.2.2 试样系列离心管

将稀释后的试样提取液（12.2.4）无菌条件下过滤除菌，按表4试样提取液的制备方式，制备3套试样系列离心管。

表4 试样系列离心管

离心管号	1	2	3	4
水（ $\mu\text{L}$ ）	800	600	400	200
试样提取液（ $\mu\text{L}$ ）	200	400	600	800

#### 12.3.2.3 接种和培养

烟酸测定培养基灭菌冷却后（或者无菌条件下过滤除菌），每10 mL培养基中加入测试菌悬液（12.1.3）100  $\mu\text{L}$ ~200  $\mu\text{L}$ ，混匀，吸取150  $\mu\text{L}$ 加入微孔板中。UN（未接种空白）使用未加入菌悬液的培养基。从标准曲线系列离心管和试样系列离心管吸取150  $\mu\text{L}$ 加入微孔板中，覆膜，置于36  $^{\circ}\text{C} \pm 1$   $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养18 h~24 h。

#### 12.3.2.4 测定

培养结束后，对每个孔进行目测检查，未接种空白孔（UN）内培养液应是澄清的，否则测定无效。标准曲线孔和试样孔中培养液的吸光度应有梯度差别。将微孔板置于酶标仪内，在540 nm~550 nm（或者610 nm~630 nm）选择稳定波长进行比色。记录比色后的吸光度，数据处理同试管培养法12.3.1.6.3和12.3.1.6.4。计算全部编号试样孔的总平均值为 $\rho$ ，按式（3）根据稀释倍数和称样量计算出试样中烟酸（或烟酰胺）的含量。

## 13 分析结果的表述

试样中烟酸（或烟酰胺）含量按式（3）计算：

$$X = \frac{\rho \times V}{m} \times \frac{V_1}{V_2} \times f \times \frac{100}{1000} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$X$ ——试样中烟酸（或烟酰胺）含量，单位为微克每百克（ $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ）或微克每百毫升（ $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ ）；

$\rho$ ——试样提取液稀释液中烟酸（或烟酰胺）浓度的总平均值，单位为纳克每毫升（ $\text{ng}/\text{mL}$ ）；

$V_1$ ——过滤前的定容体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$V_2$ ——过滤后吸取滤液的体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$V$ ——试样提取液的定容体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$f$ ——试样提取液稀释倍数；

$m$ ——试样的质量或体积，单位为克（ $\text{g}$ ）或毫升（ $\text{mL}$ ）；

$\frac{100}{1000}$ ——换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

注1：对于不需要提取的样品，公式中去除 $V_1$ 和 $V_2$ 。

注2：如果用烟酸标准品配制标准溶液，测定结果则以烟酸计；如果用烟酰胺标准品配制标准溶液，则测定结果以烟酰胺计。

注3：烟酰胺的结果乘以换算系数1.008，可以转化为烟酸的结果。

注4：如果样品中烟酸（或烟酰胺）含量较高可适当进一步稀释；含量少的可适当提高样品称样量或降低稀释倍数。

注5：经过提取步骤测得的食品中的烟酸（或烟酰胺）含量包含原生的和强化的。

## 14 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15%。

## 15 其他

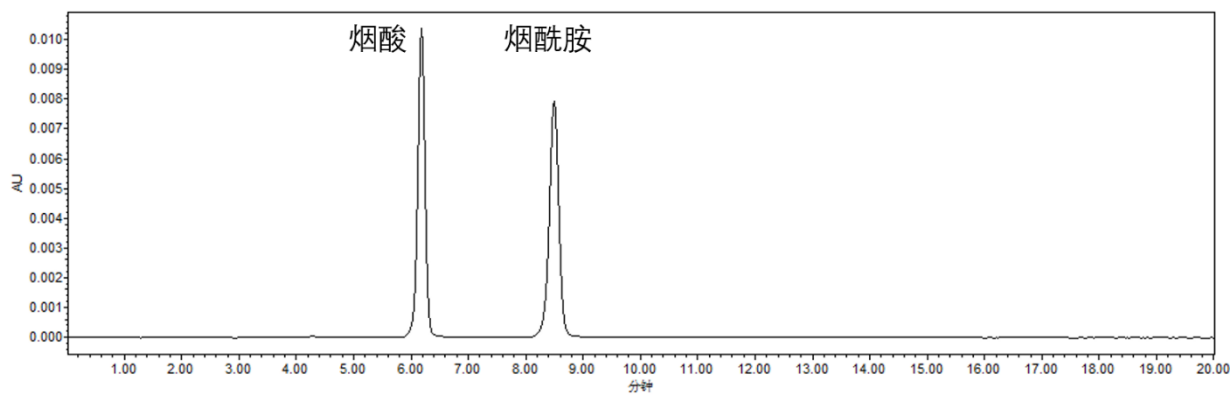
需要提取的样品：当称样量为2 g，本标准定量限为1 250  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 。

特殊用途饮料等不需要提取的样品：当称样量为10 g，定量限为5  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 。

## 附录 A

## 烟酸和烟酰胺标准溶液的液相色谱图

烟酸和烟酰胺标准溶液的液相色谱图见A.1。



图A.1 烟酸和烟酰胺标准溶液的液相色谱图

## 附录 B

## 培养基配制

## B.1 乳酸杆菌琼脂培养基

## B.1.1 成分

酪化乳	15.0 g
酵母浸膏	5.0 g
葡萄糖	10.0 g
番茄汁	100 mL
磷酸二氢钾	2.0 g
聚山梨糖单油酸酯	1.0 g
琼脂	10.0 g
蒸馏水	1 000 mL

## B.1.2 制法

将各成分加入蒸馏水中，加热溶解，搅拌的同时保持煮沸状态2 min~3 min，调节pH至6.8±0.2（20℃~25℃），混合均匀后分装试管，每管10 mL。高压灭菌121℃，15 min。

## B.2 乳酸杆菌肉汤培养基

## B.2.1 成分

酪化乳	15.0 g
酵母浸膏	5.0 g
葡萄糖	10.0 g
番茄汁	100 mL
磷酸二氢钾	2.0 g
聚山梨糖单油酸酯	1.0 g
蒸馏水	1 000 mL

## B.2.2 制法

将各成分加入蒸馏水中，加热溶解，搅拌的同时保持煮沸状态2 min~3 min，调节pH至6.8±0.2（20℃~25℃），混合均匀后分装试管，每管10 mL。高压灭菌121℃，15 min。

## B.3 烟酸（或烟酰胺）测定用培养基

## B.3.1 成分

去维生素水解酪蛋白 12.0 g，葡萄糖 40.0 g，乙酸钠 20.0 g，L-胱氨酸 0.4 g，DL-色氨酸 0.2 g，盐酸腺嘌呤 20.0 mg，盐酸鸟嘌呤 20.0 mg，尿嘧啶 20.0 mg，盐酸硫胺素 200.0 μg，泛酸钙 200.0 μg，盐酸吡哆醇 400.0 μg，核黄素 400.0 μg，对氨基苯甲酸 200.0 μg，生物素 0.8 μg，磷酸氢二钾 1.0 g，磷酸二氢钾 1.0 g，硫酸镁 0.4 g，氯化钠 20.0 mg，硫酸亚铁 20.0 mg，硫酸锰 20.0 mg，蒸馏水至1 000 mL。

## B.3.1 制法

将上述成分溶解于水中，加热溶解，搅拌的同时保持煮沸状态2 min~3 min，调节pH至6.8±0.2（20℃~25℃），备用。