

高效液相色谱法测定乳制品中烟酸和烟酰胺的含量

LC-416

摘要：本文建立了高效液相色谱法测定乳制品中烟酸和烟酰胺含量的方法。样品参照食品安全国家标准《GB5009.89-2023 食品中烟酸和烟酰胺的测定》中的前处理方式，进行提取、上机分析。结果显示烟酸和烟酰胺在 0.3~20.0 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内具有较好的线性关系，线性相关系数 r 均大于 0.9998，定量限分别为 0.022 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.027 $\mu\text{g/mL}$ ，校准曲线准确度在 95.6%~107.9% 之间。分别使用 0.3 $\mu\text{g/mL}$ 的两种物质标准品溶液混合液连续进样 6 针，保留时间 RSD 在 0.03%~0.04% 之间，峰面积 RSD 在 1.15%~1.63% 之间，系统精密度良好。加标奶粉的加标回收率在 98.88%~112.33% 之间。实验表明，该方法完全满足国家标准中的各项规定，可用于乳制品中烟酸和烟酰胺的检测。

关键词：高效液相色谱仪 烟酸 烟酰胺 乳制品

技术特点：

- ❖ 灵敏度高，减少一半进样量，便可以满足标准中定量限要求。
- ❖ 和标准相比，具更宽线性范围。

烟酸又称维生素 B₃、尼克酸、抗癞皮病因子等。烟酸在体内以烟酰胺（尼克酰胺）形式存在，两者总称为维生素 PP，它们在体内具有相同的生理活性。烟酸和烟酰胺参与多种氧化还原反应具有降血脂，抗动脉粥样硬化、对神经系统的保护等功效，被广泛添加在乳制品中。

食品安全国家标准《GB5009.89-2023 食品中烟酸和烟酰胺的测定》中第一法为高效液相色谱法，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，并对检测限和定量限做了明确的规定。

本实验参照食品安全国家标准中的实验条件，使用岛津 Nexera LC-40 液相色谱仪对乳制品婴幼儿配方奶粉中烟酸和烟酰胺的含量进行测定，结果表明，该方法检测灵敏度高，重复性好，可以满足标准中的检测要求。

实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，具体配置为：

系统控制器：	CBM-40	脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40D XR	自动进样器：	SIL-40C XR
柱温箱：	CTO-40C	检测器：	SPD-40V
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.101		

1.2 分析条件

- 色谱柱：Shim-pack GIST C18 (250 mm×4.6 mm I.D., 5 μm)，岛津（上海）实验器材有限公司，P/N:227-30017-08
- 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，用盐酸调节 pH 至 2.1±0.1。
- 流速：1.0 mL/min

柱温：30℃
检测波长：261 nm
进样体积：10 μL
洗脱方式：等度洗脱

1.3 样品前处理

根据标准 5.1.3 不含淀粉的食品的前处理方法，称取 5 g 某品牌婴幼儿配方奶粉，置于 50 mL 离心管中，加入 25 mL 50℃温水超声提取 10 min，之后取出试样，冷却至室温。用 5.0 mol/L 盐酸溶液调节 pH 值至 1.7，静置 2 min，再加入 5 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 4.5，置于 50℃超声振荡 20 min，中间颠倒混匀数次，转入 200 mL 容量瓶中，用水定容至刻度。快速定性滤纸过滤，收集 20 mL 上清液混匀后过 0.45 μm 滤膜，滤液待上机测定。

■ 结果与讨论

2.1 烟酸烟酰胺标准品溶液色谱图

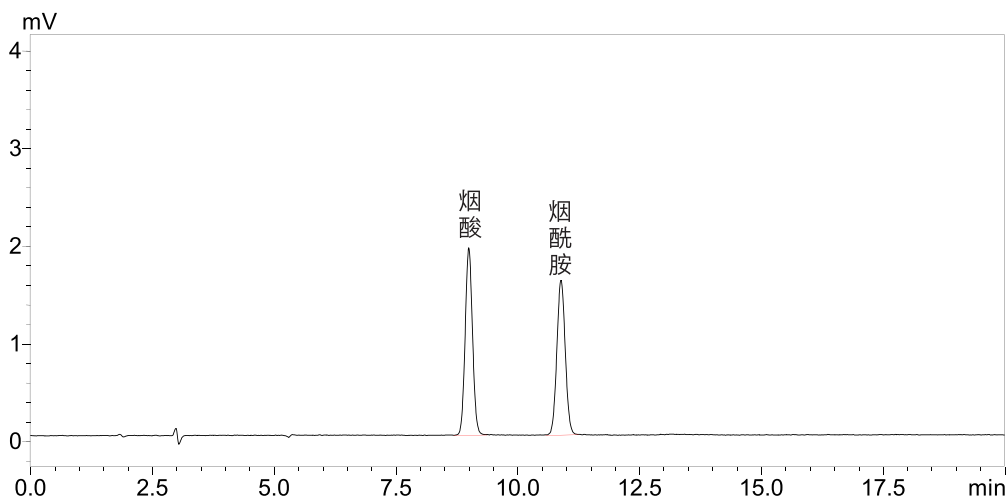


图 1 标准品溶液色谱图 (烟酸、烟酰胺 1.0 μg/mL)

2.2 校准曲线、检出限及定量限

精密量取烟酸和烟酰胺标准品适量，用 0.1 mol/L 盐酸配置浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液，再用水稀释成 0.3、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 μg/mL 七个浓度的标准溶液，取 10 μL 进样，以浓度为横坐标，面积为纵坐标，采用外标法建立校准曲线，结果如图 2 所示。

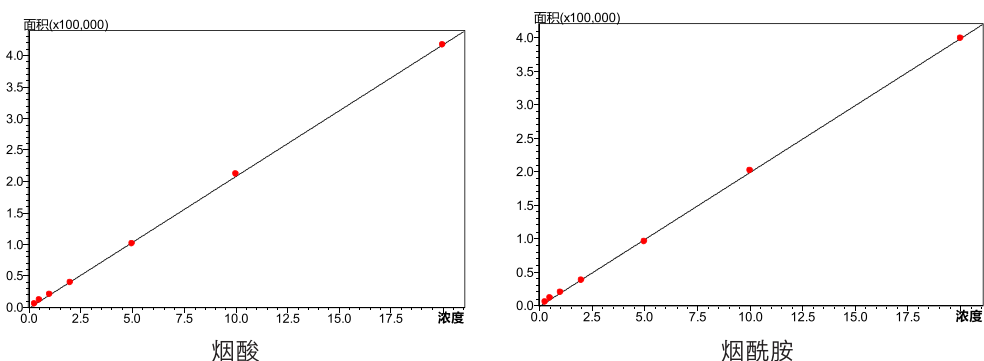


图 2 烟酸和烟酰胺标准品校准曲线图

校准曲线线性关系良好，相关系数均大于 0.9998，准确度在 95.6%~107.9% 之间。根据 0.3 μg/mL 标样数据，LabSolutions 软件依据信噪比自动计算检出限 (S/N=3) 及定量限 (S/N=10)，烟酸和烟酰胺线性方程、相关系数、检出限和定量限如表 1 所示。

表 1 校准曲线线性方程、检出限及定量限

名称	线性方程	相关系数	准确度	检出限 (μg/mL)	定量限 (μg/mL)
烟酸	$Y = (20914.0)X + (-1266.90)$	0.9998	95.6%-106.0%	0.007	0.022
烟酰胺	$Y = (20021.4)X + (-1338.05)$	0.9999	95.8%-107.9%	0.008	0.027

2.3 重复性试验

0.3 μg/mL 混合标准品溶液连续进样 6 次，考察仪器的重复性。烟酸和烟酰胺的保留时间的相对标准偏差在 0.03%~0.04% 范围内，峰面积的相对标准偏差在 1.15%~1.63% 范围内，测定结果见表 2。

表 2 烟酸和烟酰胺保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

名称	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)
烟酸	0.03	1.15
烟酰胺	0.04	1.63

2.4 加标回收率

取某品牌婴幼儿奶粉，按照 1.3 前处理方式进行处理，对实际样品进行测试，得到样品本底浓度，结果如表 3 所示。

向样品中添加一定浓度的目标物，制备出三个水平的加标样品，每个水平重复 3 次，进行加标回收率和精密密度试验。奶粉样品色谱图和加标样品色谱图，见图 3。表 3 为实验结果，平均回收率为 98.9%~112.3%，回收率相对标准偏差为 0.19%~0.93%。

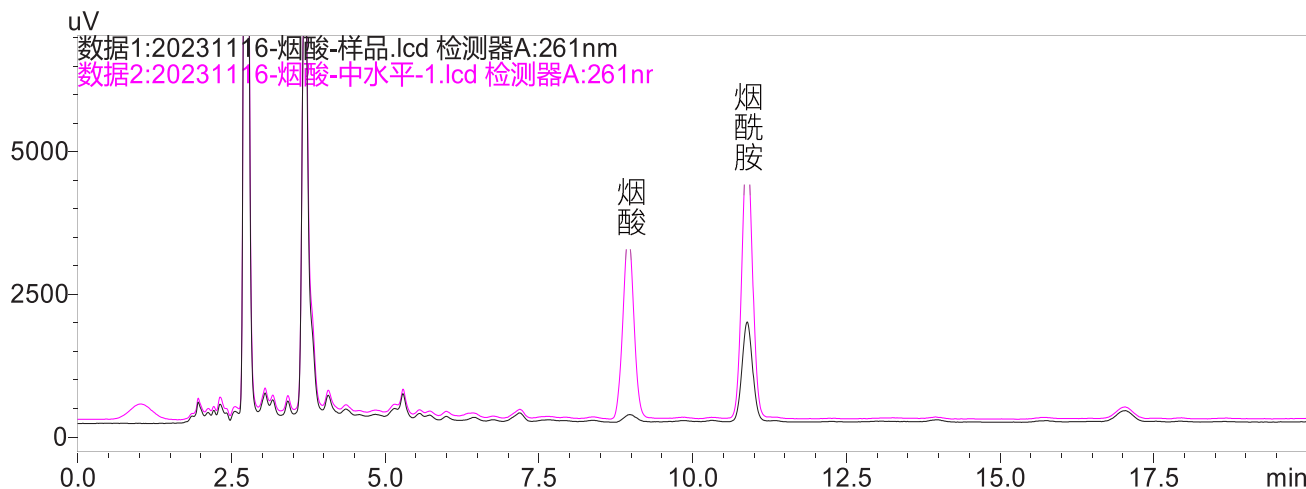


图 3 烟酸和烟酰胺奶粉样品（黑色曲线）和奶粉样品加标 6.8 mg/100 g（粉色曲线）色谱图

表3 加标回收率 (n=3)

目标物	本底浓度 (mg/100 g)	添加浓度 (mg/100 g)	平均回收率 (%)	RSD (%)
烟酸	<LLOQ ¹	1.80	98.9	0.19
		6.80	106.0	0.57
		10.00	100.0	0.91
烟酰胺	4.39	1.80	112.3	0.25
		6.80	107.9	0.54
		10.00	101.0	0.93

注：1、<LLOQ 表示检出，但低于定量下限

■ 结论

本文采用岛津高效色谱仪，参考《GB5009.89-2023 食品中烟酸和烟酰胺的测定》标准，建立了一种测定奶粉中烟酸和烟酰胺的方法。该方法检测灵敏度高、重复性好，系统精密度良好。实验表明，该方法拥有较标准更宽的线性范围，系统稳定性良好，结果准确度高，为食品安全检测行业检测工作提供参考依据。

岛津应用云

