

嬰兒配方乳品中菸鹼素之檢驗方法

Method of Test for Niacin in Milk-Based Infant Formula

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於嬰兒配方奶粉及奶水中菸鹼素(niacin)，包括菸鹼酸(nicotinic acid)與菸鹼醯胺(nicotinamide)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經酸水解後，以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC)搭配柱後以紫外光照射衍生化(post-column derivatization with uv irradiation)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 高效液相層析儀：
 - 2.1.1.1 檢出器：螢光偵測器(fluorescence detector, FLD)。
 - 2.1.1.2 層析管：YMC-Triart C18，5 μm ，4.6 mm $\times$ 25 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 柱後衍生化裝置(Post-column derivatization device)：線圈纏繞於紫外燈管上。
 - 2.1.2.1. 紫外燈管：VL-120BLB (black light blue)，20 W，365 nm，或同級品。
 - 2.1.2.2. 線圈：長度5 m，內徑0.5 mm，外徑1.6 mm，PTFE材質。
 - 2.1.3. 烘箱(Oven)。
 - 2.2. 試藥：磷酸二氫鉀(KH_2PO_4)、鹽酸、無水醋酸鈉、過氧化氫(30%)及硫酸銅($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)均採用試藥特級；去離子水(比電阻於25°C可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；菸鹼酸及菸鹼醯胺對照用標準品。
 - 2.3. 器具與材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：10 mL及50 mL。
 - 2.3.2. 離心管：50 mL，PP材質。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑0.45 μm ，Nylon材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 1 N鹽酸溶液：

取鹽酸4.17 mL，緩緩加入去離子水30 mL中，再加去離子水使成50 mL。
 - 2.4.2. 2.5 M醋酸鈉溶液：

稱取無水醋酸鈉10.25 g，以去離子水溶解使成50 mL。

2.4.3. 0.005 M硫酸銅溶液：

稱取硫酸銅0.06 g，以去離子水溶解使成50 mL。

2.5. 移動相溶液之調製：

稱取磷酸二氫鉀9.54 g，以去離子水800 mL溶解，加入過氧化氫7.6 mL及0.005 M硫酸銅溶液1 mL，再加去離子水使成1000 mL，臨用時配製。

2.6. 標準溶液之配製：

稱取菸鹼酸及菸鹼鹽胺對照用標準品各約10 mg，精確稱定，分別以去離子水溶解並定容至10 mL，作為標準原液，分裝於-18°C儲存。臨用時取適量各標準原液混合，以去離子水稀釋至菸鹼酸0.02~1 µg/mL及菸鹼鹽胺0.04~2 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

將檢體混勻，取奶粉檢體約0.5 g，奶水檢體約2.5 g，精確稱定，置於離心管中，依序加入1 N鹽酸溶液3 mL及去離子水27 mL，加蓋混勻，於100°C烘箱中水解1小時，冷卻至室溫，以2.5 M醋酸鈉溶液調整pH值至4.5，再以去離子水定容至50 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各50 µL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行分析。就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中菸鹼素之含量(niacin equivalent mg/100 g, mg N.E./100 g)：

$$\text{檢體中菸鹼素之含量(mg N.E./100 g)} = \frac{\sum C \times V \times F}{M \times 10}$$

C：由標準曲線求得檢液中菸鹼酸或菸鹼鹽胺之濃度
(µg/mL)

V：檢體最後定容之體積(50 mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

F：菸鹼素(niacin)轉換因子：

菸鹼酸：1

菸鹼鹽胺：1.008

高效液相層析測定條件^(註)：

螢光偵測器：激發波長322 nm；放射波長380 nm。

層析管：YMC-Triart C18，5 μm，4.6 mm ×25 cm。

層析管溫度：40°C。

注入量：50 μL。

移動相溶液：依2.5.節所調製之溶液。

移動相流速：1.5 mL/min。

註：上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

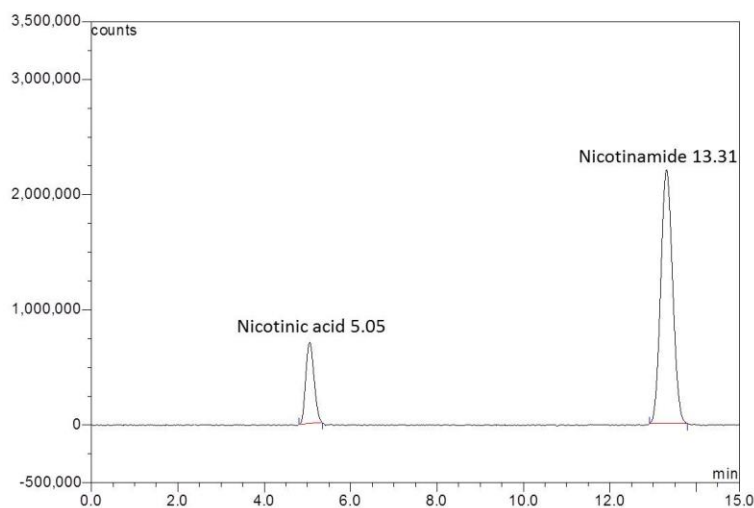
附註：1. 本檢驗方法之定量極限，奶粉之菸鹼酸為0.2 mg N.E./100 g，菸鹼醯胺為0.4 mg N.E./100 g；奶水之菸鹼酸為0.04 mg N.E./100 g，菸鹼醯胺為0.08 mg N.E./100 g。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

European Committee for Standardization. 2009. Foodstuffs – Determination of niacin by HPLC. BS EN 15652.

參考層析圖譜：



圖、菸鹼酸(nicotinic acid)與菸鹼醯胺(nicotinamide)標準品之HPLC圖譜