

## 烟酸微孔板法即用型试剂盒

(产品货号:GVT2005)

版本GNAD[02]09.24

适用于MGN052403批次

### 1. 简介

本产品是根据国标GB 5009.89-2023《食品安全国家标准 食品中烟酸和烟酰胺的测定》“第二法 微生物法”研制的烟酸和烟酰胺检测微孔板法即用型试剂盒,每盒产品包含3套试剂。

### 2. 检测原理

烟酸和烟酰胺是植物乳植杆菌*Lactiplantibacillus plantarum* (ATCC 8014) 生长所必需的营养素,在烟酸测定培养基中,植物乳植杆菌的生长与烟酸(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。

### 3. 套装组成

烟酸标准品(冻干)	3瓶
烟酸检测菌球(冻干)	3瓶
烟酸测定培养基添加剂(冻干)	3瓶
烟酸测定培养基基础(20 mL)	3瓶
无菌水(30mL)	3瓶
无菌96孔微孔板	3块
封板膜	3片

4. 贮藏条件:于2-8°C避光保存一年。

### 5. 其他试剂、耗材和设备(本试剂盒不提供)

5.1 无菌工作台(无菌操作时使用)	5.2 恒温培养箱,36°C±1°C
5.3 酶标仪(540nm~610nm)	5.4 高压灭菌锅
5.5 超声波振荡器	5.6 涡旋振荡器
5.7 移液枪及无菌枪头,10-100 μL,100-1000 μL,500-5000 μL	5.8 三角瓶和容量瓶
5.9 无菌离心管:1.5 mL或2 mL,15 mL(需带有旋转盖)	5.10 无菌注射器与0.22 μm无菌滤膜

### 6. 培养基和标准溶液制备(无菌操作)

- 制备烟酸测定培养基:移取1.0 mL烟酸测定培养基基础加入烟酸测定培养基添加剂中,溶解3min,使其充分混匀,全部转入20 mL烟酸测定培养基基础中,混匀。
- 不接种标准0对照管培养基:取上述培养基200 μL于1.5 mL无菌离心管中,作为不接种标准0对照管用培养基。
- 接种烟酸测定培养基:取1瓶烟酸检测菌球,加入制备好的烟酸测定培养基(6.1)中,混匀后即可使用。

### 7. 标准系列管制备(无菌操作):

准确吸取1.40 mL无菌水于烟酸标准品中,溶解后充分混匀。取1 mL加入9 mL无菌水中,混匀,即为烟酸标准工作液。取10个1.5 mL(或2 mL)无菌离心管,按表1配制系列浓度标准溶液。

表1 标准曲线系列管

标准品管序号	UN	IN	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
烟酸含量/ng	0.00	0.00	10	20	30	40	50	60	80	100
标准溶液/μL	0	0	100	200	300	400	500	600	800	1000
无菌水/μL	1000	1000	900	800	700	600	500	400	200	0

### 8. 试样系列管制备

- 试样按照GB 5009.89-2023对应的步骤“12.2”进行制备、提取和稀释,其中稀释范围相应比国标扩大一倍,即稀释后试样提取液中烟酸含量为10 ng/mL~24 ng/mL。
- 将制备好的试样稀释液用0.22 μm无菌滤膜过滤,按照表2顺序制备试样系列管。

表2 试样系列管

试样管序号	1	2	3	4
试样提取液/μL	200	400	600	800
无菌水/μL	800	600	400	200

## 9. 检测步骤 (无菌操作)

- 9.1 取出无菌微孔板,记录板孔位置,标准溶液和试样提取液做3孔平行试验,另外准备1孔加入150 μL无菌水作为未接种空白孔(UN)。
- 9.2 在每个微孔中加入150μL制备好的烟酸测定培养基(6.3),其中未接种空白孔(UN)加入150 μL未接种空白孔用培养基(6.2)。
- 9.3 吸取150 μL标准曲线系列离心管和试样系列离心管至指定微孔中。
- 9.4 用封板膜密封微孔条上的各个微孔,按压封板膜,保证各个微孔充分密闭(特别注意微孔的边缘部分)。

## 10. 培养

置于36°C±1°C恒温培养箱中避光培养44h-48 h。

## 11. 测定

- 11.1取出微孔板,再次按压封板膜,保证封板膜充分密封各个微孔,反复颠倒振荡,使微生物充分混匀。
- 11.2 对角揭开封板膜,用针刺破各微孔表面的气泡。
- 11.3用酶标仪在540 nm~550 nm或610 nm~630 nm处测定吸光度值。  
未接种空白孔(UN)内培养液应是澄清的,否则测定无效。

## 12. 分析结果表述

按照国标GB 5009.89-2023中“13 分析结果的表述”进行结果分析。

- 12.1 标准曲线:以烟酸标准品的浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。
- 12.2 试样结果计算:

试样中烟酸(或烟酰胺)含量按式(1)计算:

$$X = \frac{\rho \times V}{m} \times \frac{V_1}{V_2} \times f \times \frac{100}{1\ 000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 试样中烟酸(或烟酰胺)的含量μg/100 g(mL);
- ρ —— 试样提取液中烟酸(或烟酰胺)质量浓度的总平均值,ng/mL;
- V —— 试样提取液的定容体积 mL;
- m —— 试样的质量或体积 g或mL;
- V<sub>1</sub> —— 过滤前的定容体积 mL;
- V<sub>2</sub> —— 过滤后吸取滤液的体积 mL;
- f —— 试样提取液稀释倍数;
- 100 —— 换算系数;
- 1000 —— 换算系数。

结果保留三位有效数字。

注 对于特殊用途饮料等不经处理直接定容的样品,式中去除V<sub>1</sub>和V<sub>2</sub>。

## 北京陆桥技术股份有限公司

地址:北京市朝阳区高碑店北路甲3号(100123)  
山东:青岛市市北区台柳路177号和达中心A座703室(266033)  
广东:广州市番禺区石北工业路金河产业园A栋东4楼(511400)  
东北:哈尔滨市松北区科技创新城创新一路2727号国乳中心808室  
成都:四川省成都高新西区中海国际橙郡一期1栋1单元204(610096)  
上海:上海市漕河泾松江新兴产业园区研展路455号B座4层406室  
销售热线:010-51203999 0532-82689263  
020-38011430 0451-87821139  
网 址:[www.beijinglandbridge.com](http://www.beijinglandbridge.com)  
E-mail:[tech\\_e@beijinglandbridge.com](mailto:tech_e@beijinglandbridge.com)