

分别将维生素 D₂ (或 D₃) 标准工作液注入液相色谱仪中 , 得到峰高 (或峰面积) , 参见附录 D。以峰高 (或峰面积) 为纵坐标 , 维生素 D₂ (或 D₃) 标准工作液浓度为横坐标分别绘制标准曲线。

③ 维生素 D 试样的测定

吸取维生素 D 测定液 100 μL 注入液相色谱仪中 , 得到峰高 (或峰面积) , 根据标准曲线得到维生素 D 测定液中维生素 D₂ (或 D₃) 的浓度。

维生素 D 回收率测定结果记为回收率校正因子 f , 代入测定结果计算公式 , 对维生素 D 含量测定结果进行校正。

四、实验结果分析

1. 维生素 A 含量的计算

维生素 A 含量按下式计算 :

$$X_1 = \frac{c_{s1} \times 10 / 2 \times 5 \times 100}{m}$$

式中 X_1 ——试样中维生素 A 的含量 , μg/100 g ;

c_{s1} ——从标准曲线得到的维生素 A 待测液的浓度 , μg/mL ;

m ——试样的质量 , g。

注 : 1 μg 视黄醇 = 3.33 IU 维生素 A。

以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示 , 结果保留 3 位有效数字。

2. 维生素 D 含量的计算

维生素 D 含量按下式计算：

$$X_2 = \frac{c_{s2} \times 10 / 7 \times 2 \times 2 \times 100}{m \times f}$$

式中 X_2 —— 试样中维生素 D₂ (或 D₃) 的含量， $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ；

c_{s2} —— 从标准曲线得到的维生素 D₂ (或 D₃) 待测液的浓度， $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；

m —— 试样的质量， g ；

f —— 回收率校正因子。

注：试样中维生素 D 的含量以维生素 D₂ 和 D₃ 的含量总和计。

以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留 3 位有效数字。

3. 维生素 E 含量的计算

维生素 E 含量按下式计算：

$$X_3 = \frac{c_{s3} \times 10 / 2 \times 5 \times 100}{m \times 1000}$$

式中 X_3 —— 试样中维生素 E (α -生育酚) 的含量， $\text{mg}/100\text{ g}$ ；

c_{s3} —— 从标准曲线得到的维生素 E 待测液的浓度， $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；

m —— 试样的质量， g 。

以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留 3 位有效数字。

4. 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值，维生素 A、E 不得超过算术平均值的 5%，维生素 D 不得超过算术平均值的 10%。

5. 其他

本标准检出限：维生素 A 为 1 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ，维生素 E 为 10.00 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ，维生素 D 为 0.20 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 。

II 乳品中维生素 B₁ 含量的测定

维生素 B₁ 又称硫胺素或抗神经炎素，是由嘧啶环和噻唑环结合而成的一种 B 族维生素。其在体内的含量虽然很少，但在人体生长、代谢、发育过程中却发挥着重要的作用，因而成为婴儿配方奶粉的重要组成部分。维生素 B₁ 含量的测定方法较多，如分光光度法、荧光比色法和反相高效液相色谱法等。本实验采用反相高效液相色谱法对维生素 B₁ 的含量进行检测。

一、实验原理

样品在稀盐酸环境中恒温水解，酶解，样液用碱性铁氰化钾衍生，正丁醇（或异丁醇）萃取后，经 C₁₈ 反相色谱柱分离，用荧光检测器（ λ_{Ex} ：375 nm， λ_{Em} ：435 nm）检测，外标法定量。

二、试剂和仪器

1. 试剂

除非另有规定，本实验所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

- (1) 正丁醇或异丁醇；
- (2) 铁氰化钾；
- (3) 氢氧化钠；

(4) 浓盐酸；

(5) 三水合乙酸钠；

(6) 冰乙酸；

(7) 甲醇：色谱纯；

(8) 维生素 B₁ 标准品：硫胺素盐酸盐或硫胺素硝酸盐，纯度≥99%；

(9) 铁氰化钾溶液 (20 g/L)：称取 2 g 铁氰化钾，用水溶解并定容至 100 mL (临用前配制)；

(10) 氢氧化钠溶液 (100 g/L)：称取 25 g 氢氧化钠，用水溶解并定容至 250 mL；

(11) 碱性铁氰化钾溶液：将 5 mL 铁氰化钾溶液与 200 mL 氢氧化钠溶液混合 (临用前配制)；

(12) 盐酸 (0.1 mol/L)：吸取 9 mL 浓盐酸，溶于 1 000 mL 水中；

(13) 盐酸 (0.01 mol/L)：吸取 0.1 mol/L 盐酸 50 mL，用水稀释并定容至 500 mL；

(14) 乙酸钠溶液 (0.05 mol/L)：称取 6.80 g 三水合乙酸钠，加 900 mL 水溶解，用冰乙酸调 pH 至 4.0~5.0，定容至 1 000 mL，经 0.45 μm 微孔滤膜过滤；

(15) 乙酸钠溶液 (2.0 mol/L)：称取 27.22 g 三水合乙酸钠，用水溶解并定容至 100 mL；

(16) 混合酶溶液：称取 2.345 g 木瓜蛋白酶 (活力单位≥600 U/g)、1.175 g 淀粉酶 (活力单位≥4 000 U/g)，用水溶解并定容至 50 mL (临用前配制)。

(17) 标准溶液

① 维生素 B₁ 标准储备液 (500 μg/mL)：称取相当于硫胺素 50 mg (精确至 0.1 mg) 的维生素 B₁ 标准品，用 0.01 mol/L 盐酸溶解并定容于 100 mL。置于 0~4 °C 冰箱中，保存期

为 3 个月。

② 维生素 B₁ 标准中间液：准确吸取 2.00 mL 标准储备液，用水稀释并定容至 100 mL，此溶液中维生素 B₁ 浓度为 10 μg/mL（临用前配制）。

③ 维生素 B₁ 标准工作液：分别吸取维生素 B₁ 标准中间液 0，0.50，1.00，2.00，5.00，10.00 mL，用水溶解并定容至 100 mL。该标准系列工作液浓度分别为 0，0.05，0.10，0.20，0.5，1.00 μg/mL（临用前配制）。

2. 仪 器

- (1) 高效液相色谱仪：带有荧光检测器；
- (2) 高压灭菌锅；
- (3) 离心机：转速≥4 000 r/min；
- (4) pH 计：精度 0.01 pH；
- (5) 组织捣碎机：转速在 0~12 000 r/min 可调；
- (6) 0.45 μm 微孔有机滤膜；
- (7) 天平：感量为 0.001 g 和 0.000 1 g。

三、实验步骤

1. 试样的处理

(1) 试液提取

称取 5~10 g（精确至 0.01 g）试样（如有必要，将试样放入捣碎机中捣碎；试样中含维

生素 B₁ 5 μg 以上) 于 100 mL 三角瓶中 , 加 60 mL 0.1 mol/L 盐酸 , 充分摇匀 , 用棉花塞和牛皮纸封口 , 放入高压灭菌锅内 , 在 121 °C 下灭菌 30 min , 待冷却至 40 °C 以下后取出 , 轻摇数次 ; 用 2.0 mol/L 乙酸钠溶液调 pH 至 4.0 左右 , 加入 2.0 mL (可根据酶活力不同适当调整用量) 混合酶液 , 摇匀后 , 置于 37 °C 培养箱中过夜 ; 将酶解液转移至 100 mL 容量瓶中 , 用水定容至刻度 , 滤纸过滤 , 取滤液备用。

(2) 试液衍生化

取上述滤液 10.00 mL 于 25 mL 具塞比色管中 , 加入 5 mL 碱性铁氰化钾 , 充分混匀后 , 加 10.00 mL 正丁醇 (或异丁醇) , 强烈振荡后静置约 10 min , 充分分层 , 吸取正丁醇 (或异丁醇) 相 (上层) 于 4 000 ~ 6 000 r/min 离心 5 min , 取上清液经微孔有机滤膜过滤 , 供进样用。

另取 10.00 mL 标准工作液 , 与试液同步进行衍生化。

注 : ① 室温下衍生产物在 4 h 内稳定。

② 操作过程应在避免强光照射的环境下进行。

2. 测 定

(1) 色谱参考条件

色谱柱 : C₁₈ 反相色谱柱 (粒径 5 μm , 250 mm×4.6 mm) , 或性能相当的色谱柱。

流动相 : 0.05 mol/L 乙酸钠-甲醇溶液 (65 + 35)。

流速 : 1.00 mL/min。

检测波长 : 激发波长 375 nm , 发射波长 435 nm。

进样量 : 20 μL。

(2) 标准曲线绘制

将维生素 B₁ 标准系列工作液衍生物依次按上述推荐色谱条件上机测定，记录色谱峰面积，色谱图参见附录 D。以峰面积为纵坐标、浓度为横坐标，绘制标准曲线。

(3) 试液测定

将试液衍生物按上述推荐色谱条件进样测定，从标准曲线中查得试液相应的浓度。

3. 分析结果

(1) 试样中维生素 B₁ 的含量按下式计算：

$$X = \frac{c \times V \times 100}{m \times 1000}$$

式中 X ——试样中维生素 B₁ 的含量（以硫胺素计），mg/100 g；

c ——试液的进样浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

V ——试样定容体积，mL；

m ——试样质量，g。

以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留 3 位有效数字。

(2) 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%。

(3) 其他

当取样量为 10.00 g 时，本标准中方法定量检出限为 0.05 mg/100 g。

III 乳品中维生素 B₂ 含量的测定

维生素 B₂ 又称核黄素,是维持机体正常结构与功能的必需营养物质,具有多种生理功能,参与碳水化合物、脂肪及蛋白质代谢,促进生长发育;与呼吸链的能量产生有关;强化肝功能,调节肾上腺素的分泌;保护皮肤毛囊黏膜及皮脂腺的功能;在维生素 B₆、叶酸转化成辅酶及合成色氨酸反应中也发挥着重要作用。常用的维生素 B₂ 含量检测方法有微生物法、荧光法、分光光度法、电化学法、化学发光法、毛细管电泳法和高效液相色谱法。本实验采用反相高效液相色谱法检测乳品中维生素 B₂ 的含量。

一、实验原理

试样在稀盐酸环境中恒温水解,酶解,经 C₁₈ 反相色谱柱分离,用荧光检测器(λ_{Ex} : 462 nm, λ_{Em} : 522 nm)检测,外标法定量。

二、试剂和仪器

1. 试剂

除非另有规定,本实验所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

(1) 盐酸;

(2) 三水合乙酸钠;

(3) 冰乙酸;

(4) 甲醇:色谱纯;

(5) 维生素 B₂ (核黄素)标准品:纯度≥99%;

(6) 盐酸(1+1):量取 100 mL 浓盐酸,缓慢倒入 100 mL 水中,混匀;

(7) 盐酸 (0.1 mol/L): 吸取 9 mL 浓盐酸, 溶于 1 000 mL 水中;

(8) 盐酸 (0.01 mol/L): 吸取 0.1 mol/L 盐酸 50 mL, 用水稀释并定容至 500 mL;

(9) 乙酸钠溶液 (0.05 mol/L): 称取 6.80 g 三水合乙酸钠, 加 900 mL 水溶解, 用冰乙酸调 pH 至 4.0~5.0, 用水定容至 1 000 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤;

(10) 乙酸钠溶液 (2.0 mol/L): 称取 27.22 g 三水合乙酸钠, 用水溶解并定容至 100 mL;

(11) 混合酶溶液: 称取 2.345 g 木瓜蛋白酶 (活力单位 \geq 600 U/g)、1.175 g 淀粉酶 (活力单位 \geq 4 000 U/g) 和 1.000 g 酸性磷酸酶 (活力单位 \geq 4 000 U/g), 用水定容至 50 mL (临用前配制);

(12) 标准溶液

① 维生素 B₂ 标准储备液 (250 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 称取 25 mg (精确至 0.1 mg) 维生素 B₂ 标准品, 加入盐酸 2 mL, 超声溶解后, 立即用水转移并定容至 100 mL。置于棕色玻璃容器中, 在 0~4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存, 保存期为 3 个月。

② 维生素 B₂ 标准中间液: 准确吸取 4.00 mL 标准储备液, 用水稀释并定容至 100 mL, 此溶液中维生素 B₂ 浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (临用前配制)。

③ 维生素 B₂ 标准系列工作液: 分别吸取维生素 B₂ 标准中间液 0.00, 0.50, 1.00, 2.00, 5.00, 10.00 mL, 用水溶解并定容至 100 mL。该标准系列工作液浓度分别为 0.00, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50, 1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。临用前配制。

2. 仪 器

(1) 高效液相色谱仪: 带有荧光检测器;

(2) 高压灭菌锅;

- (3) pH 计：精度为 0.01 pH；
- (4) 组织捣碎机；
- (5) 0.45 μm 微孔水相滤膜；
- (6) 天平：感量 1 mg 和 0.1 mg。

三、实验步骤

1. 试样的处理

称取 5 ~ 10 g (精确至 0.01 g) 试样 (如有必要, 将试样放入捣碎机中捣碎; 试样中含维生素 B₂ 5 μg 以上) 于 100 mL 三角瓶中, 加 60 mL 0.1 mol/L 盐酸, 充分摇匀, 用棉花塞和牛皮纸封口, 放入高压灭菌锅内, 在 121 $^{\circ}\text{C}$ 下灭菌 30 min, 待冷却至 40 $^{\circ}\text{C}$ 以下后取出, 轻摇数次; 用 2.0 mol/L 乙酸钠溶液调 pH 至 4.0 左右, 加入 2.0 mL 混合酶溶液, 摇匀后, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中过夜; 将酶解液转移至 100 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 用定量滤纸过滤, 取滤液再经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取滤液备用。

注：操作过程应避免强光照射。

2. 测 定

(1) 色谱参考条件

色谱柱：C₁₈ 反相色谱柱 (粒径 5 μm , 250 mm \times 4.6 mm) 或同等性能的色谱柱。

流动相：0.05 mol/L 乙酸钠-甲醇溶液 (65 + 35)。

流速：1.0 mL/min。

检测波长：激发波长 462 nm, 发射波长 522 nm。

进样量：20 μL。

(2) 标准曲线绘制

将维生素 B₂ 标准系列工作液依次进行色谱测定（其标准样品色谱图参见附录 D 中图 D.6），记录色谱峰面积。以峰面积为纵坐标、维生素 B₂ 浓度为横坐标，绘制标准曲线。

(3) 试液测定

将试液进行色谱测定，从标准曲线中查得试液相应的浓度。

(4) 空白试验

除不加试样外，按上述操作步骤进行。

3. 分析结果

(1) 试样中维生素 B₂ 的含量按下式计算：

$$X = \frac{c \times V \times 100}{m \times 1000}$$

式中 X ——试样中维生素 B₂ 的含量（以核黄素计），mg/100 g；

c ——试液的进样浓度，μg/mL；

V ——试样定容体积，mL；

m ——试样质量，g。

以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留 3 位有效数字。

(2) 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

(3) 其他

本标准方法定量检出限为：当取样量为 10.00 g 时，0.05 mg/100 g。

IV 乳品中维生素 B₆ 含量的测定

目前，市场上出售的奶粉成分中一般都含有维生素 B₆，特别在婴幼儿配方奶粉中是必须添加的一种维生素。测定食品中维生素 B₆ 含量的方法有化学法和生物法，化学法主要是仪器分析，如液相色谱法、气相色谱法、荧光光度法、紫外分光光度法等。本实验采用液相色谱法测定维生素 B₆ 含量。

一、实验原理

试样经热水提取等前处理后，经 C₁₈ 色谱柱分离，荧光检测器检测，外标法定量测定维生素 B₆ (吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺) 的含量。

二、试剂和仪器

1. 试剂

除非另有规定，本实验所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

(1) 淀粉酶：酶活力 ≥ 1.5 U/mg；

(2) 辛烷磺酸钠：优级纯；

(3) 冰乙酸：优级纯；

(4) 甲醇：色谱纯；

(5) 三乙胺：色谱纯；

(6) 盐酸：5.0 mol/L、0.1 mol/L；

(7) 氢氧化钠溶液：5.0 mol/L、0.1 mol/L。

(8) 标准溶液

① 维生素 B₆ (吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺) 标准储备液 (1 mg/mL)：称取 0.05 g (精确至 0.000 1 g) 吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺标准品，分别置于 50 mL 容量瓶中，用水溶解并定容。

② 维生素 B₆ (吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺) 混合标准中间液 (20 μg/mL)：分别准确吸取吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺标准储备液 1 mL，置于 50 mL 容量瓶中，用水定容。

③ 维生素 B₆ (吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺) 混合标准系列工作液：分别准确吸取维生素 B₆ 混合标准中间液 0.0，1.0，2.0，3.0，5.0 mL，置于 100 mL 容量瓶中，用水定容。该标准系列工作液浓度分别为 0.00，0.20，0.40，0.60，1.00 μg/mL。临用前配制。

2. 仪 器

(1) 超声波振荡；

(2) 高效液相色谱仪：带荧光检测器；

(3) 天平：感量为 0.1 mg；

(4) pH 计：精度为 0.01 pH；

(5) 培养箱：30~80 °C。

三、实验步骤

1. 试样预处理

(1) 含淀粉的试样：称取混合均匀的固体试样约 5.0 g (精确至 0.000 1 g)，加入约 25 mL 45~50 °C 的水，或称取混合均匀的液体试样约 20.0 g (精确至 0.000 1 g) 于 150 mL 锥形瓶中。加入约 0.5 g 淀粉酶，混匀后向锥形瓶中充氮，盖上瓶塞，置 50~60 °C 培养箱内约 30 min。取出冷却至室温。

(2) 不含淀粉的试样：称取混合均匀的固体试样约 5.0 g (精确至 0.000 1 g)，加入约 25 mL 45~50 °C 的水，或称取混合均匀的液体试样约 20.0 g (精确至 0.000 1 g) 于 150 mL 锥形瓶中。混匀并充分溶解，静置 5~10 min，冷却至室温。

(3) 待测液的制备

① 用盐酸调节试样溶液的 pH 至 1.7 ± 0.1 ，放置约 1 min。再用氢氧化钠溶液调节试样溶液的 pH 至 4.5 ± 0.1 。

② 将试样溶液转移至 50 mL 容量瓶中，用水冲洗锥形瓶。洗液合并于 50 mL 容量瓶中，用水定容至 50 mL。

③ 把上述容量瓶放入超声波振荡器中，超声振荡约 10 min。

④ 另取 50 mL 三角瓶，上面放入三角漏斗和滤纸，把超声波振荡的试样溶液倒入其中，自然过滤。滤液再经 0.45 μm 微孔滤膜加压过滤，用试管收集，即为试样待测液。

2. 试样测定

(1) 参考色谱条件

色谱柱：C₁₈ 柱 (粒径 5 μm ，150 mm×4.6 mm) 或同等性能的色谱柱。

流动相：甲醇 50 mL、辛烷磺酸钠 2.0 g、三乙胺 2.5 mL，用水溶解并定容到 1 000 mL

后，用冰乙酸调 pH 至 3.0 ± 0.1 ，再经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜加压过滤。

流速：1.0 mL/min。

检测波长：激发波长 293 nm，发射波长 395 nm。

进样量：10 μL 。

(2) 标准曲线绘制

将维生素 B₆ 混合标准系列工作液依次进行色谱测定（其标准样品色谱图参见附录 D 中图 D.7）。记录各组分的色谱峰面积或峰高，以峰面积或峰高为纵坐标、标准工作液的浓度为横坐标，绘制标准曲线。

将试样待测液进行色谱测定。记录各组分色谱峰面积或峰高，根据标准曲线计算出试样待测液中维生素 B₆ 各组分的浓度 c_i 。

3. 分析结果

(1) 试样中维生素 B₆ 各组分的含量按下式计算：

$$X_i = \frac{c_i \times V \times 100}{m}$$

式中 X_i ——试样中维生素 B₆ 各组分的含量， $\mu\text{g}/100 \text{g}$ ；

c_i ——试样待测液中维生素 B₆ 各组分的浓度， $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；

m ——试样的质量，g；

V ——试样溶液的体积，mL。

(2) 试样中维生素 B₆ 的含量按下式计算：

$$X = X_{\text{醇}} + X_{\text{醛}} \times 1.012 + X_{\text{胺}} \times 1.006$$

式中 X ——试样中维生素 B₆ 含量， $\mu\text{g}/100 \text{g}$ ；

$X_{\text{醇}}$ ——试样中吡哆醇含量， $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ；

$X_{\text{醛}}$ ——试样中吡哆醛含量， $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ；

$X_{\text{胺}}$ ——试样中吡哆胺含量， $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ；

1.012——吡哆醛的含量换算成吡哆醇的系数；

1.006——吡哆胺的含量换算成吡哆醇的系数。

注：试样中维生素 B_6 含量以吡哆醇计。

以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留 3 位有效数字。

(3) 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

(4) 其他

本标准检出限为：吡哆醇 $1.5\ \mu\text{g}/100\text{ g}$ ，吡哆醛 $1.3\ \mu\text{g}/100\text{ g}$ ，吡哆胺 $1.6\ \mu\text{g}/100\text{ g}$ 。

V 乳品中维生素 B_{12} 含量的测定

目前，测定维生素 B_{12} 的含量主要有 4 种方法：比色法、原子吸收分光光度法、高效液相色谱法和微生物法。其中微生物法是通用方法，该法灵敏度很高，适用于维生素 B_{12} 含量低于仪器检出限样品的检测。本实验采用微生物法检测乳品中维生素 B_{12} 的含量。

一、实验原理

利用莱士曼氏乳酸杆菌 (*Lactobacillus leichmannii*) 对维生素 B_{12} 的特异性和灵敏性，定

量测定出试样中维生素 B₁₂ 的含量。在测定用培养基中供给除维生素 B₁₂ 以外的所有营养成分，这样微生物生长产生的透光率就会同标准曲线工作液及未知待测溶液中维生素 B₁₂ 的含量相对应。以不同浓度标准溶液的透光率为纵坐标、各浓度水平标准物质的浓度为横坐标，绘制标准曲线，根据标准曲线即可计算出试样中维生素 B₁₂ 的含量。

二、试剂和仪器

1. 试剂

除非另有规定，本实验所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的二级水。

(1) 菌株：莱士曼氏乳酸杆菌 (*Lactobacillus leichmannii*) ATCC 7830。

(2) 维生素 B₁₂ (Vitamin B₁₂ 或 Cyanocobalamin) 标准品，纯度≥99%。

(3) 培养基

① 乳酸杆菌琼脂培养基：见附录 C。

② 乳酸杆菌肉汤培养基：见附录 C。

③ 维生素 B₁₂ 测定用培养基：见附录 C。

注：一些商品化合成培养基效果良好，商品化合成培养基按标签说明进行配制。

(4) 9 g/L 氯化钠溶液 (生理盐水)：称取 9.0 g 氯化钠，溶解于 1 000 mL 水中，分装于具塞试管，每管 10 mL。121 °C 灭菌 15 min。

(5) 乙醇溶液：体积分数为 25%。

(6) 无水磷酸氢二钠 (Na₂HPO₄)。

(7) 无水偏重亚硫酸钠 (Na₂S₂O₅)。