

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20170480

启美®维生素B族片

【原料】 烟酰胺、泛酸（D-泛酸钙）、维生素B₁（盐酸硫胺素）、维生素B₂（核黄素）、维生素B₁₂粉（氰钴胺素、柠檬酸、麦芽糊精、柠檬酸钠）、维生素B₆（盐酸吡哆醇）、叶酸、生物素（D-生物素）

【辅料】 山梨糖醇、二氧化硅、硬脂酸镁、薄膜包衣预混剂（羟丙甲纤维素、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮）

【生产工艺】 本品经过筛、混合、压片、包衣、包装等主要工艺加工制成。

【直接接触产品包装材料种类、名称及标准】 高密度聚乙烯瓶应符合《食品安全国家标准 食品接触用塑料材料及制品》（GB 4806.7）。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	片芯呈黄色，包衣呈透明无色
滋味、气味	具本品应有的滋味和气味，无异味
性状	片剂，完整光洁
杂质	无正常视力可见外来异物

【鉴别】 无

【理化指标】 应符合表2的规定。

表2 理化指标

项 目	指 标	检测方法
灰分，%	≤10	GB 5009.4
崩解时限，min	≤60	《中华人民共和国药典》
铅（以Pb计），mg/kg	≤2.0	GB 5009.12
总砷(以As计)，mg/kg	≤1.0	GB 5009.11

总汞(以Hg计), mg/kg	≤0.3	GB 5009.17
-----------------	------	------------

【微生物指标】 应符合表3的规定。

表3 微生物指标

项 目	指 标	检测方法
菌落总数, CFU/g	≤30000	GB 4789.2
大肠菌群, MPN/g	≤0.92	GB 4789.3 MPN计数法
霉菌和酵母, CFU/g	≤50	GB 4789.15
沙门氏菌	≤0/25g	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌	≤0/25g	GB 4789.10 第一法 金黄色葡萄球菌定性检验

【功效成分含量测定】 应符合表4的规定。

表4 功效成分含量测定

项 目	指 标	检测方法
维生素B ₁ , g/100g	1.45-2.73	GB/T 5009.197
维生素B ₂ , g/100g	1.45-2.73	1 维生素B ₂ 的测定
维生素B ₆ , g/100g	0.73-1.36	GB/T 5009.197
烟酰胺, g/100g	3.64-6.82	GB/T 5009.197
泛酸, g/100g	1.45-2.73	GB 5413.17中“第二法 高效液相色谱法”
叶酸, mg/100g	29.10-54.54	2 叶酸的测定
维生素B ₁₂ , μg/100g	727.2-1363.6 4	3 维生素B ₁₂ 的测定
生物素, mg/100g	7.27-13.64	4 生物素的测定

1 维生素B：

1.1 原理²：试样中含维生素B 经提取剂提取后，将过滤后的试样溶液经C18反相色谱柱分离，用荧光检测器（Ex：462nm， Em：522nm）²检测，外标法定量。

1.2 试剂

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。

1.2.1 盐酸

1.2.2 三水乙酸钠

1.2.3 冰乙酸

1.2.4 乙腈

1.2.5 甲醇：色谱纯

1.2.6 维生素B（核黄素）标准品：纯度≥99%

1.2.7 盐酸（1±1）²：量取100mL盐酸（1.2.1）缓慢倒入100mL水中，混匀。

1.2.8 乙酸钠溶液（0.05mol/L）：称取6.80g三水乙酸钠（1.2.2），加900mL水溶解，用冰乙酸调pH值至4.0~5.0，用水定容至1000mL。经0.45μm微孔滤膜过滤。

1.2.9 维生素B₂标准溶液（100μg/mL）：称取10mg（精确至0.01 mg）维生素B₂标准品²（1.2.6），加入盐酸（1.2.7）2mL，超声溶解后，立即用水转移并定容至100mL。

1.2.10²提取剂：冰乙酸-乙腈-水=1:5:94

1.3 仪器

1.3.1 高效液相色谱仪，带有荧光检测器。

1.3.2 实验室用超声波清洗机

1.3.3 0.45μm 微孔水相滤膜。

1.3.4 天平：感量0.1mg 和0.01mg。

1.4 试样溶液制备：取样品适量（含维生素B₂不超过10mg）至100mL棕色容量瓶中，加入提取剂（1.2.10）80mL，涡旋振荡2min，并将其置于加入适量²65-70℃水的超声波清洗机中超声提取10min，冷水浴冷却至室温后用提取剂定容，摇匀，0.45μm滤膜过滤备用。

注：操作过程应避免强光照射。

1.5 色谱条件

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

1.5.2 流动相：0.05mol/L乙酸钠溶液（1.2.8）-甲醇（1.2.5）= 65-35。

1.5.3 流速：1.0mL/min。

1.5.4 检测波长：激发波长462nm，发射波长522nm。

1.5.5 进样量：20μL。

1.6 测定：将维生素B₂标准溶液与试样溶液分别注入液相色谱仪，测定，即得。

1.7 结果计算

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

式中：

X—试样中维生素B₂的含量（以核黄素计），mg/100g；

c—试液的进样浓度，μg/mL；

V—试样定容体积，mL；

m—试样质量，g。

2 叶酸的测定

2.1 色谱条件

2.1.1 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂。

2.1.2 流动相：以磷酸盐缓冲液（PH6.3）（取磷酸二氢钾6.8g与0.1mol/L氢氧化钾溶液70mL，加水约800mL溶解，调节PH值至6.3，加甲醇80mL，用水稀释至1000mL）。

2.1.3 检测波长：254nm。

2.1.4 理论板数：按叶酸峰计算不低于1500。

2.2 对照品储备溶液的制备：取叶酸对照品约10mg，精密称定，置100mL容量瓶中，加0.5%氨溶液约60mL，置热水浴中加热20分钟，时时振摇使叶酸溶解，放冷，用水稀释至刻度，摇匀；精密移取2.00mL上述对照品溶液于20mL容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。

2.3 供试品溶液的制备：取供试品20片，研细，混合均匀。取混合均匀的样品约1000mg，精密称定，置50mL容量瓶中，加0.5%氨溶液约30mL，置热水浴中加热20分钟，时时振摇使叶酸溶解，放冷，用水稀释至刻度，摇匀。

2.4 测定：分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10μL，注入液相色谱仪，测定，即得。

3 维生素B₁₂的测定

3.1 维生素B₁₂标准储备液的制备：称取维生素B₁₂标准品10mg（精确至0.1mg），用5%乙醇溶解，并定容

至100mL棕色容量瓶中，混匀，得到维生素B₁₂的标准储备液。冷藏保存。

3.2 维生素B₁₂标准中间液的制备：精密吸取1.00mL储备液至50mL棕色容量瓶中，用水稀释得到维生素B₁₂的标准中间液。¹²

3.3 维生素B₁₂标准工作液的制备：吸取1.00mL标准中间液于10mL棕色容量瓶中，用水稀释得到维生素B₁₂标准工作液。¹²

3.4 供试品溶液的制备：取本品20片，研细，精密称取样品约0.8g(具体取样量视免疫亲和柱柱容积而定)，置于25mL棕色量瓶中，加入约15mL纯化水，涡旋5min，超声30min，并时时振摇，取出，涡旋5min，冷却至室温，用纯化水定容至25mL，摇匀，离心。

3.5 维生素B₁₂免疫亲和柱使用前先用10mL水淋洗小柱中未键合的化合物，精密吸取上述离心完的提取液1mL上样至免疫亲和柱上，再用5mL甲醇洗脱维生素B₁₂至蒸发皿中，整个过程速度约为1滴/s。于60℃~70℃水浴中蒸干溶剂，用1mL流动相溶解，溶液过0.45μm¹²有机滤膜，待高效液相色谱用。

3.6 其它检测过程按GB/T 5009.217标准规定进行。

4 生物素的测定

4.1 仪器：高效液相色谱仪，配有紫外检测器

4.2 试剂

4.2.1 实验用水均为超纯水

4.2.2 生物素免疫亲和柱

4.2.3 生物素对照品

4.2.4 甲醇：色谱级

4.2.5 乙腈：色谱级

4.3 试样处理：取片剂20片，研细，精密称取混合均匀的样品约0.8g（具体取样量视免疫亲和柱柱容积而定）置于25mL棕色比色管中，加入超纯水约20mL，涡旋1min，超声20min，并时时振摇使溶解。取出，冷却至室温，用超纯水定容至刻度，摇匀。离心，取上清液，用1mol/L氢氧化钠调pH至7.0，样液澄清待用。

4.4 富集、净化：生物素免疫亲和柱先用10mL超纯水淋洗，吸取提取液上样至小柱上，用3mL甲醇洗脱。将洗脱液用氮气流吹至近干，用5%乙腈定容至1.0mL，滤过，供高效液相色谱测定。

4.5 对照品溶液的制备：准确称取10.0mg标准品，用5%乙腈水溶液溶解并定容至100mL。精密吸取1mL至20mL容量瓶中，用5%乙腈水溶液稀释至刻度，摇匀，滤过，即得。

4.6 色谱分析

4.6.1 色谱柱：ZORBAX Extend-C18（4.6*150mm，3.5μm）或相当者

4.6.2 紫外检测器检测波长：201nm

4.6.3 柱温：30℃

4.6.4 流动相：乙腈:0.05mol/L磷酸二氢钾溶液=10:90

4.6.5 流速：1.0mL/min

4.6.6 进样体积：50.0μL

4.7 结果计算：分别精密吸取相同体积的对照品溶液和样品溶液注入高效液相色谱仪中，以保留时间定性，测得峰面积，以外标法计算样品中生物素的含量。

$$X = \frac{A_1 \times C \times V}{A_2 \times m} \times 100$$

式中：

X—样品中生物素的含量，mg/100g；

A —样品中生物素的峰面积；

C¹—对照品溶液的质量浓度，mg/mL；

A¹—对照品溶液中生物素的峰面积；

V²—样品溶液的定容体积，mL；

m—样品的质量，g；
100—单位转换系数。

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】 应符合《中华人民共和国药典》中“制剂通则”项下片剂的规定。

【原辅料质量要求】

1. 烟酰胺：符合《中华人民共和国药典》的规定。
2. 泛酸（D-泛酸钙）：符合《中华人民共和国药典》的规定。
3. 维生素B₁（盐酸硫胺素）：符合GB 14751《食品安全国家标准 食品添加剂 维生素B₁（盐酸硫胺）》的规定。
4. 维生素B₂（核黄素）：符合GB 14752《食品安全国家标准 食品添加剂 维生素B₂（核黄素）》的规定。
5. 维生素B₁₂粉

项 目	指 标
来源	氰钴胺素、柠檬酸、麦芽糊精、柠檬酸钠
制法	配料、喷雾干燥（水分≤5%）、混合、包装等
外观	粉红色粉末
滋味、气味	无臭、无味
干燥失重，%	≤5.0
维生素B ₁₂ （以干品计），%	≥0.1
铅（Pb），mg/kg	≤2.0
总砷（As），mg/kg	≤1.0
总汞（Hg），mg/kg	≤0.3
菌落总数，CFU/g	≤30000
大肠菌群，MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母，CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

6. 维生素B₆（盐酸吡哆醇）：符合GB 14753《食品安全国家标准 食品添加剂 维生素B₆（盐酸吡哆醇）》的规定。
7. 叶酸：符合GB 15570《食品安全国家标准 食品添加剂 叶酸》的规定。
8. 生物素（D-生物素）：符合国家药品标准 WS-10001-(HD-1052)-2002《D-生物素》的规定。
9. 山梨糖醇：符合GB 1886.187《食品安全国家标准 食品添加剂 山梨糖醇和山梨糖醇液》的规定。
10. 二氧化硅：符合GB 25576《食品安全国家标准 食品添加剂 二氧化硅》的规定。

11. 硬脂酸镁：符合《中华人民共和国药典》的规定。

12. 薄膜包衣预混剂

项 目	指 标
来源	羟丙甲纤维素、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮
制法	混合、包装等
外观	类白色粉末
菌落总数，CFU/g	≤30000
霉菌和酵母，CFU/g	≤100
大肠埃希菌	不得检出
