

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20170561

雅芳益美高牌多种维生素和矿物质片

【原料】 维生素预混料（维生素A醋酸酯、β-胡萝卜素、胆钙化醇、DL-α-生育酚醋酸酯、植物甲萘醌、硝酸硫胺素、核黄素、盐酸吡哆醇、氰钴胺素、L-抗坏血酸、蝶酰谷氨酸、烟酰胺、D-泛酸钙、D-生物素、麦芽糊精）、矿物质预混料（碳酸钙、碳酸镁、硫酸亚铁、氧化锌、硫酸锰、三氯化铬、硫酸铜、亚硒酸钠、麦芽糊精）

【辅料】 聚维酮K30、硬脂酸镁、包衣剂（羟丙甲纤维素、糊精、聚乙二醇6000、二氧化钛）

【生产工艺】 本品经制粒、干燥、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】 聚乙烯瓶应符合《食品包装用聚乙烯成型品卫生标准》（GB 9687）。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
杂质	无正常视力可见外来异物
色泽	包衣呈白色；片芯呈淡黄色，有斑点
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	片剂，片形完整，有适宜的硬度，允许有少量斑点

【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，%	≤65.0	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

【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A，mg/100g	13.63~33.24	1 维生素A的测定
β-胡萝卜素，mg/100g	81.82~199.4 3	2 β-胡萝卜素的测定
维生素D，mg/100g	0.23~0.56	3 维生素D的测定
维生素E，g/100g	0.78~1.75	4 维生素E的测定
维生素K，mg/100g	0.90~2.22	5 维生素K的测定
维生素B ₁ ，g/100g	0.20~0.49	6 维生素B ₁ 、维生素B ₂ 、维生素B ₆ 、叶酸、烟酰胺的测定
维生素B ₂ ，g/100g	0.20~0.49	6 维生素B ₁ 、维生素B ₂ 、维生素B ₆ 、叶酸、烟酰胺的测定
维生素B ₆ ，g/100g	0.20~0.49	6 维生素B ₁ 、维生素B ₂ 、维生素B ₆ 、叶酸、烟酰胺的测定
烟酰胺，g/100g	0.45~1.11	6 维生素B ₁ 、维生素B ₂ 、维生素B ₆ 、叶酸、烟酰胺的测定
叶酸，mg/100g	9.27~25.09	6 维生素B ₁ 、维生素B ₂ 、维生素B ₆ 、叶酸、烟酰胺的测定
维生素C，g/100g	8.36~20.39	7 维生素C的测定
维生素B ₁₂ ，mg/100g	0.22~0.53	8 维生素B ₁₂ 的测定
泛酸，g/100g	0.36~0.89	9 泛酸的测定

生物素, mg/100g	2.32~5.67	10 生物素的测定
钙（以Ca计）, g/100g	11.37~22.50	GB/T 5009.92中“原子吸收分光光度法”
镁（以Mg计）, g/100g	4.55~9.14	GB/T 5009.90
铁（以Fe计）, g/100g	0.34~0.68	GB/T 5009.90
锌（以Zn计）, g/100g	0.52~1.02	GB/T 5009.14
锰（以Mn计）, mg/100g	85.23~170.45	GB/T 5009.90
铬（以Cr计）, mg/100g	0.85~1.77	GB/T 5009.123
铜（以Cu计）, mg/100g	34.09~68.18	GB/T 5009.13
硒（以Se计）, mg/100g	1.03~2.04	GB 5009.93

1 维生素A的测定

1.1 试剂

1.1.1 甲醇：色谱纯。

1.1.2 无水乙醇：分析纯。

1.1.3 氨水溶液：0.02%。

1.1.4 酶：SAVINASE 6.0 TK。

1.1.5 维生素A醋酸酯标准品：购自Sigma公司，CAS# 127-47-9 PN# 4-6958 100mg，纯度99.3%。

1.2 仪器：Agilent 1200 HPLC，附紫外检测器。

1.3 色谱条件

1.3.1 色谱柱：ZOBAX SB-C18, 5μm, 4.6×250mm。

1.3.2 流动相：甲醇:水=97:3。

1.3.3 检测波长：326nm。

1.3.4 柱温：25℃。

1.3.5 流速：1.2 mL/min。

1.3.6 进样量：10μL。

1.3 标准溶液的制备：精密称取维生素A醋酸酯标准品10mg于100mL容量瓶中，用无水乙醇溶解并稀释到刻度，摇匀。精密吸取10mL置于另一100mL容量瓶中，用无水乙醇定容，即得。

1.4 样品溶液的制备：取适量样品使其含维生素A醋酸酯约1mg，精密称定，置于100mL容量瓶中，加入200mg酶和10mL0.02%氨水溶液，超声20min，再加入50mL无水乙醇，超声5min，用无水乙醇定容，摇匀，用0.45μm膜过滤，即得。

1.5 结果计算：以保留时间定性，峰面积外标法定量。

$$X = \frac{W_1 \times A_2 \times 100}{W_2 \times A_1 \times 1.147}$$

式中：

X—样品中维生素A含量，μg/g；

W₁—维生素A醋酸酯标准品重量，mg；

W₂—样品称取量，g；

A₁—标准品溶液峰面积；

A₂—样品溶液峰面积；

1.147—维生素A醋酸酯与维生素A之间的换算系数

2 β-胡萝卜素的测定

2.1 原理：样品中的β-胡萝卜素经过水溶液于温水浴中溶解处理后，用乙醚分次进行萃取，合并乙醚液用无水硫酸钠进行除水并通过减压旋蒸仪浓缩蒸干，再用氯仿将其溶解得到样品储备液，取适量的样品储备液用正己烷稀释得到样品上机液，再通过正相硅胶色谱柱分离，紫外检测器检测，最后用外标法计算样

品中β-胡萝卜素的含量。

2.2 仪器

- 2.2.1 液相色谱仪: Agilent HPLC 1200, 紫外检测器。
- 2.2.2 紫外可见分光光度计: Varian Cary 50 Probe。
- 2.2.3 天平(精确到0.0001g): METTLER TOLEDO AE200。
- 2.2.4 旋转蒸发器。
- 2.2.5 超声仪。
- 2.2.6 水浴锅。

2.3 试剂

如未注明规格, 所有试剂均指分析纯; 如未注明其他要求, 所有实验用水均指纯水。

- 2.3.1 乙醚: 分析纯。
- 2.3.2 三氯甲烷(氯仿): 分析纯。
- 2.3.3 无水乙醇: 分析纯。
- 2.3.4 无水硫酸钠: 分析纯。
- 2.3.5 正己烷: 色谱纯。
- 2.3.6 二氧六环: 色谱纯。
- 2.3.7 β-胡萝卜素标准品(β-carotene): CAS# 7235-40-7, 购自Sigma公司, 货号为C4582-5mg, LOT#076K70511, 纯度>95%。

2.4 样品溶液的制备: 称取适量样品(相当于β-胡萝卜素约1.25mg), 置于100mL容量瓶中, 加入50mL蒸馏水, 于60℃水浴中超声处理10min。冷却后转移至分液漏斗中, 40mL的无水乙醇分次洗涤容量瓶, 洗涤液并入分液漏斗中, 用80mL、60mL、60mL乙醚提取三次(最后一次得到的乙醚提取层应无色, 否则应加乙醚继续提取至无色)。合并提取的乙醚层, 将乙醚层用水洗涤二次, 每次50mL, 然后将乙醚层通过装有无水硫酸钠的滤器, 去除乙醚层中的水分。再用30mL的乙醚洗涤分液漏斗和滤器, 并入乙醚层中, 在60℃水浴的旋转蒸发器上将提取液蒸干, 残渣用25.0mL的氯仿溶解。吸取1.0mL的氯仿层于100mL容量瓶中, 用正己烷稀释至刻度, 摇匀, 作为样品溶液, 用0.45μm的滤膜过滤后置于HPLC中进行测定。

2.5 对照品溶液的制备: 称取β-胡萝卜素对照品约5mg, 置于100mL容量瓶中, 用氯仿溶解并稀释至刻度, 作为储备液。精密吸取1.0mL储备液于100mL容量瓶中, 用正己烷稀释至刻度, 作为对照品溶液。

2.6 β-胡萝卜素对照品溶液的测定: 精密吸取1.0mL储备液, 在旋转蒸发器上蒸干, 加入25.0mL正己烷溶解残渣作为测定液。以正己烷作为空白液, 用紫外可见分光光度计测定溶液在450nm波长附近的最大波长处的吸收值A。β-胡萝卜素对照溶液按下述方法计算:

$$\beta\text{-胡萝卜素对照品溶液}(\mu\text{g/mL}) = \frac{A \times 25 \times 100}{2590}$$

2.7 色谱条件

- 2.7.1 色谱柱: Lichrosorb Si 60, 5μm, 250mm×4.0mm。
- 2.7.2 流动相: 含4%二氧六环的正己烷, 等度洗脱。
- 2.7.3 流速: 0.7mL/min。
- 2.7.4 进样量: 50μL。
- 2.7.5 检测波长: 450nm。
- 2.7.6 计算方法: 峰面积外标法定量。

2.8 测定: 取过滤后的对照品溶液和样品溶液, 在相同条件下分别进样, 根据对照品溶液的保留时间进行定性, 用外标法校正数据进行定量。

2.9 结果计算

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

式中:

X—样品中β-胡萝卜素的含量, mg/g;

m—样品称取量, g;

A₁—样品溶液的峰面积, mAU;

A₂—标准溶液的峰面积, mAU;

C—标准溶液的浓度, mg/mL;

V—样品溶液的稀释体积, mL。

3 维生素D的测定

3.1 试剂

除特别注明外, 试验中所用的试剂均为分析纯, 水为相应纯度的水, 溶剂为水溶液。

- 3.1.1 无水乙醇: 分析纯。
- 3.1.2 氨水溶液: 0.02%。
- 3.1.3 酶: SAVINASE 6.0 TK。
- 3.1.4 正己烷: 色谱纯。
- 3.1.5 乙腈: 色谱纯。
- 3.1.6 正戊醇: 分析纯。
- 3.1.7 正辛醇: 分析纯。

3.1.8 正己烷：分析纯。

3.1.9 维生素D₃标准品：购自Sigma公司，CAS# 67-97-0 PN# 4-7763 100mg, purity# 99.9%。

3.2 仪器：Agilent 1200 HPLC，附紫外检测器。

3.3 色谱条件

3.3.1 色谱柱：Hypersil Si 5μm, 4.6×200mm。

3.3.2 流动相：正己烷-正辛醇-正戊醇-乙腈=99.4:0.25:0.25:0.1。

3.3.3 检测波长：264nm。

3.3.4 柱温：25℃。

3.3.5 流速：1.5mL/min。

3.3.6 进样量：10μL（FI样品含量较低的可适当加大进样倍数至80~100μL）

3.4 标准溶液的制备：精密称取维生素D₃标准品10mg于250mL容量瓶中，用乙醇溶解并稀释到刻度，摇匀。精密吸取5mL，置于另一250mL容量瓶中，用乙醇定容，摇匀。精密吸取20mL此溶液置一预先加入50mL正己烷和5mL水的100mL容量瓶中，充分混匀，静止分层，取上清液过滤即得。

3.5 样品溶液的制备：取适量样品使其含维生素D₃约10μg，精密称定，置于100mL容量瓶中，加入600mg酶和20mL0.02%氨水，超声20min，加50mL乙醇，超声5min，用无水乙醇定容；摇匀，过滤，精密吸取20mL此溶液置一预先加入50mL正己烷和5mL水的100mL容量瓶中，充分混匀，静止分层，取上清液过滤即得。

3.6 结果计算：以保留时间定性，峰面积外标法定量。

$$X = \frac{W_1 \times A_2 \times 8}{W_2 \times A_1 \times N}$$

式中：

X—样品中维生素D₃含量，μg/g；

W₁—维生素D₃标准品重量，mg；

W₂—样品称取量，g；

A₁—标准品溶液峰面积；

A₂—样品溶液峰面积；

N—样品溶液相对于标准溶液的进样倍数。

4 维生素E的测定

4.1 试剂

除特别注明外，试验中所用的试剂均为分析纯，水为相应纯度的水，溶剂为水溶液

4.1.1 甲醇：色谱纯。

4.1.2 无水乙醇：分析纯。

4.1.3 氨水溶液：0.02%。

4.1.4 酶：SAVINASE 6.0 TK。

4.1.5 维生素E醋酸酯标准品：购自德国Dr. Ehrenstorfer公司，CAS# 7695-91-2 CA17924320 0.5g 纯度92.0%。

4.2 仪器：Agilent 1200 HPLC，附紫外检测器。

4.3 色谱条件

4.3.1 色谱柱：ZOBAX SB-C18, 5μm, 4.6×250mm。

4.3.2 流动相：甲醇-水=97:3。

4.3.3 检测波长：285nm。

4.3.4 柱温：25℃。

4.3.5 流速：1.2mL/min。

4.3.6 进样量：10μL。

4.3 标准溶液的制备：精密称取维生素E醋酸酯标准品10mg于100mL容量瓶中，用无水乙醇溶解并稀释到刻度，摇匀。精密吸取25mL，置于另一50mL容量瓶中，用无水乙醇定容，即得。

4.4 样品溶液的制备：取适量样品使其含维生素E醋酸酯约5mg，精密称定，置于100mL容量瓶中，加入200mg酶和10mL 0.02%氨水溶液，超声20min，再加入50mL无水乙醇，超声5min，用无水乙醇定容，摇匀，用0.45μm膜过滤，即得。

4.5 结果计算：以保留时间定性，峰面积外标法定量。

$$X = \frac{W_1 \times A_2}{W_2 \times A_1 \times 2} \times 0.67$$

式中：

X—样品中维生素E含量，mg/g；

W₁—维生素E醋酸酯标准品重量，mg；

W₂—样品称取量，g；

A₁—标准品溶液峰面积；

A₂—样品溶液峰面积；

0.67—维生素E醋酸酯与维生素E之间的换算系数。

5 维生素K的测定

5.1 原理：样品中的维生素K₁经过酸性溶液溶解后，用正己烷进行多次萃取，合并萃取液浓缩、蒸干，再用四氢呋喃-无水乙醇（10:90）溶解残渣制得备测溶液，通过液相色谱柱分离，紫外检测器检测，最后用

外标法定量。

5.2 仪器

5.2.1 液相色谱仪: Agilent HPLC 1200, 紫外检测器。

5.2.2 减压旋转蒸发仪。

5.2.3 天平(精确到0.0001g): METTLER TOLEDO AE200。

5.2.4 水浴锅。

5.2.5 超声仪。

5.3 试剂

如未注明规格,所有试剂均指分析纯;如未注明其他要求,所有实验用水均指纯水。

5.3.1 甲醇: 色谱纯。

5.3.2 无水乙醇: 分析纯。

5.3.3 正己烷: 分析纯。

5.3.4 HCl溶液: 0.01mol/L, 临用新配。

5.3.5 四氢呋喃(THF): 分析纯。

5.3.2 维生素K₁标准品: CAS# 84-80-0, 购自德国Dr.Ehrenstorfer公司, 规格为0.25g, 纯度100.0%

5.4 样品溶液的制备: 称取适量样品置于250mL棕色容量瓶中, 加入20mL 0.01mol/L的HCl溶液, 置于65℃超声波水浴中处理5min, 取出, 冷却至室温后加入75mL乙醇, 摇匀, 在室温水浴中超声处理5min, 再冷却至室温, 用正己烷提取三次(100mL、50mL、50mL), 合并提取液, 用纯水洗涤提取液(每次50mL)至溶液澄清。用旋转蒸发仪将提取液蒸发干后, 加入THF-乙醇(10:90)溶液溶解后转至20~50mL容量瓶中, 用THF-乙醇(10:90)溶液稀释至刻度, 摇匀。取部分溶液过滤, 此溶液即为样品溶液。

5.5 标准溶液的制备: 精密称取维生素K₁标准品10mg(精确至0.1mg), 置于100mL容量瓶中, 用无水乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密吸取1mL, 置于另一50mL棕色容量瓶中, 用THF-乙醇(10:90)溶液稀释至刻度, 摇匀。即为维生素K₁的标准溶液。

5.6 色谱条件

5.6.1 色谱柱: Agilent ZORBAX SB-C18 4.6×250mm, 5μm。

5.6.2 流动相: 甲醇-水=96:4。

5.6.3 流速: 2.0mL/min。

5.6.4 进样量: 100μL。

5.6.5 检测波长: 248nm。

5.7 测定: 取过滤后的标准溶液和样品溶液, 在相同条件下分别进样, 根据标准溶液的保留时间进行定性, 用外标法校正数据进行定量。

5.8 结果计算: 峰面积外标法定量。

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

式中:

X—样品中维生素K₁的含量, μg/g;

m—样品称取量, g;

A₁—样品溶液的峰面积, mAU;

A₂—标准溶液的峰面积, mAU;

C—标准溶液的浓度, μg/mL;

V—样品溶液的稀释体积, mL。

6 维生素B₁、B₂、B₆、叶酸、烟酰胺的测定

6.1 试剂

6.1.1 甲醇: 色谱纯。

6.1.2 氨水: 分析纯。

6.1.3 冰乙酸: 分析纯。

6.1.4 己烷磺酸钠: 离子对试剂。

6.1.5 2%氨水溶液: 将8mL氨水(25%)用水稀释至100mL。

6.1.6 萃取液: 将10mL乙酸和50mL乙腈用水稀释至1000mL。

6.1.7 金属掩蔽剂: 吡咯烷二硫代氨基甲酸铵。

6.1.8 维生素B₁标准品: CAS Number:67-03-8 SGIMA/SUPELCO, 纯度99.9%。

6.1.9 维生素B₂标准品: CAS Number:83-88-5 SGIMA/SUPELCO, 纯度99.0%。

6.1.10 维生素B₆标准品: CAS Number:58-56-0 SGIMA/SUPELCO, 纯度100%。

6.1.11 叶酸标准品: CAS Number:75708-92-8 SGIMA/SUPELCO, 纯度99.0%。

6.1.12 烟酰胺标准品: CAS Number:98-92-0 SGIMA/SUPELCO, 纯度99.0%。

6.2 仪器: Agilent 1200 HPLC, 附紫外检测器。

6.3 色谱条件

6.3.2 色谱柱: ZORBAX SB-C18 5μm, 4.6×250mm。

6.3.3 柱温: 25℃。

6.3.4 流动相: 10mL乙酸和1.0g己烷磺酸钠溶于700mL纯水中, pH值约为2.5~2.6, 与250mL甲醇混合, 混合溶液的pH值约为2.8, 用纯水定容至1000mL, 减压抽滤, 即得。

6.3.5 流速: 1.0mL/min。

6.3.6 进样量：10μL。

6.3.7 检测波长：

	检测波长	最佳波长
维生素B ₁	280nm	246nm
维生素B ₂	280nm	276nm或445nm
维生素B ₆	280nm	290nm
叶酸	280nm	282nm
烟酰胺	280nm	262nm

6.4 储备液的制备：

6.4.1 维生素B₁储备液的制备：精密称取维生素B₁标准品10mg于50mL容量瓶中，用萃取液溶解并稀释到刻度。

6.4.2 维生素B₂储备液的制备：精密称取维生素B₂标准品10mg于500mL容量瓶中，用萃取液溶解并稀释到刻度；

6.4.3 维生素B₆储备液的制备：精密称取维生素B₆标准品10mg于50mL容量瓶中，用萃取液溶解并稀释到刻度；

6.4.4 烟酰胺储备液的制备：精密称取烟酰胺标准品10mg于50mL容量瓶中，用萃取液溶解并稀释到刻度；

6.4.5 叶酸储备液的制备：精密称取叶酸标准品10mg于100mL容量瓶中，用萃取液溶解并稀释到刻度；

6.5 标准溶液的制备：分别取维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、烟酰胺、叶酸储备液10mL、50mL、10mL、10mL、5mL，置于100mL棕色容量瓶中，用萃取液定容到刻度，即得。

6.6 维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、烟酰胺样品溶液的制备：精密称取样品1.0g，置于100mL容量瓶中，加入75mL萃取液，振摇，超声提取30min，用萃取液定容，摇匀，上清液用0.45μm膜过滤，即得。

6.7 叶酸样品溶液的制备：精密称取样品1.0g，置于100mL容量瓶中，加入2%氨水溶液10mL和50mL水，振摇，超声提取20min，用萃取液定容，摇匀，上清液用0.45μm膜过滤，即得。注：对于含有金属矿物质的样品（FI），可按0.1g/g加入金属掩蔽剂吡咯烷二硫代氨基甲酸铵。

6.8 结果计算：以保留时间定性，峰面积外标法定量。

$$X = \frac{W_i \times A \times 100}{W \times A_i \times N_i}$$

式中：

X—样品中维生素含量，mg/g；

W_i—维生素标准品重量，mg；

W—样品称取量，g；

N_i—维生素标准品稀释体积，mL；

A_i—标准品溶液峰面积；

A—样品溶液峰面积。

7 维生素C的测定

7.1 试剂

7.1.1 草酸溶液（0.5%）：称量5g草酸溶解于1000mL纯水中。

7.1.2 碘标准滴定溶液（0.1mol/L）：称取13g碘及35g碘化钾，溶于100mL水中，稀释至1000mL，摇匀，过夜，用棉花过滤，贮存于棕色瓶中。该溶液有效期为3个月。

7.1.3 乙二胺四乙酸二钠（EDTA）：分析纯

7.2 碘溶液的标定：称取50mg的抗坏血酸的标准品于100mL烧杯中，加入80mL0.5%的草酸溶液。使用自动电位滴定仪滴定（Pt电极，EP点为1）。用碘的标准溶液滴定，做3次平行。碘标准溶液浓度当量计算。标定的有效期为1个月，超出一个月需要重新标定。三次平行测定的RSD%应小于3%。

$$F \text{ (Factor)} = \frac{\text{mg Ascorbic Acid}}{\text{mL Iodine}}$$

7.3 样品测定：称取样品约0.1~0.5g（准确至0.0001g），置于100mL碘量瓶中，加100mL 0.5%的草酸溶液溶解后，超声5min，立即用碘标准滴定溶液（0.1mol/L）滴定。对于维生素预混料，称量0.1g。多维矿物质胶囊的原料称量0.5g。如果样品（如多维矿物质胶囊）中含有铜离子时可采用加入2g EDTA进行掩蔽，放超声水浴中超声5min。样品平行测定2次，两次结果的RSD%应小于5%。

7.4 结果计算

$$X = \frac{\text{Factor} \times V}{m}$$

式中：

X—样品中维生素C的含量，mg/g；

V—样品消耗碘标准滴定溶液的体积，mL；

m—样品称取量，g。

8 维生素B₁₂的测定

8.1 试剂

8.1.1 甲醇：色谱纯。

8.1.2 冰乙酸：分析纯。

8.1.3 己烷磺酸钠：分析纯。

8.1.4 维生素B₁₂标准品：CAS Number, 68-19-9 SGIMA/SUPELCO, 纯度99.0%。

8.1.5 蒸馏水。

8.2 色谱条件

8.2.1 色谱柱：Agilent ZORBAX SB-C18, 4.6×250mm, 5μm或NUCLEOSIL 100-10 C₁₈, 10μm, 125×4mm

8.2.2 流动相：每升水溶液中含300mL的甲醇, 1g的己烷磺酸钠和10mL的冰乙酸, 经过滤, 脱气后使用。

8.2.3 检测波长：546nm。

8.2.4 流速：0.5mL/min。

8.2.5 进样量：500μL。

8.2.6 计算方法：外标法峰面积定量。

8.2.7 保留时间：大约5~7min。

8.2.8 运行时间：20min。

8.3 对照品溶液的制备：称取维生素B₁₂对照品约5~6mg, 置于250mL容量瓶中, 加适量水使其溶解, 再用水稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。精密吸取2.0mL储备液于100mL容量瓶中, 用水稀释至刻度, 作为对照品溶液。

8.4 维生素B₁₂对照品溶液的浓度测定和计算：以水为空白溶液, 用紫外分光光度计测定维生素B₁₂储备液在359~363nm波长处的最大吸收波长处的吸收度A_{max}, 并按下式计算可得到的维生素B₁₂的储备液和对照品溶液的浓度。

$$\text{维生素B}_{12}\text{储备液}C_0(\mu\text{g/mL}) = \frac{A_{\text{max}} \times 200}{207} \times 50$$
$$\text{维生素B}_{12}\text{对照品溶液}C(\mu\text{g/mL}) = \frac{A_{\text{max}} \times 200}{207}$$

8.5 样品溶液的制备：取样品适量（含维生素B₁₂约8μg），置于125mL具塞锥形瓶中, 加入20.00mL的蒸馏水, 样品混匀后, 在超声水浴中超声处理15min。取适量于离心机离心5min, 取上清液通过0.45μm的滤膜, 作为样品溶液。

8.6 结果计算

$$X = \frac{A_i \times V \times C}{A_{\text{st}} \times W_s}$$

式中：

X—样品中维生素B₁₂的含量, mg/kg;

A_i—样品溶液维生素B₁₂的峰面积;

V—样品溶液稀释倍数;

C—对照品溶液维生素B₁₂的浓度, μg/mL;

A_{st}—对照品溶液维生素B₁₂的峰面积;

W_s—样品称取量, g。

9 泛酸的测定

9.1 原理：根据泛酸钙溶于水, 对酸和碱不稳定, 但在中性（pH=5.0~7.0）条件下很稳定的物理性质, 样品中的泛酸钙用水在超声振荡下提取, 定容, 取上清液过滤膜, 经C₁₈反相柱分离, 在紫外检测器200nm波长处检测, 根据色谱峰的保留时间定性, 外标法定量。

9.2 试剂

9.2.1 乙腈：色谱纯。

9.2.2 磷酸：分析纯。

9.2.3 磷酸二氢钾：分析纯。

9.2.4 0.02mol/L磷酸二氢钾溶液：取磷酸二氢钾2.722g, 加水溶解成1000mL, 用磷酸调节pH至3.0, 即得。

9.2.5 泛酸钙标准品：CAS Number, 137-08-6 SGIMA/SUPELCO, 纯度98.0%。

9.3 仪器：Agilent 1200 HPLC, 附紫外检测器。

9.4 色谱条件

9.4.1 色谱柱：ZOBAX SB-C18, 5μm, 4.6×250mm。

9.4.2 流动相：0.02mol/L磷酸二氢钾溶液（用磷酸调pH=3.0）-乙腈=95:5。

9.4.3 检测波长：200nm。

9.4.4 柱温：30℃。

9.4.5 流速：2.0mL/min。

9.4.6 进样量：10μL。

9.5 标准溶液的制备：精密称取泛酸钙标准品10mg, 置于100mL容量瓶中, 用纯水溶解并稀释到刻度, 摇匀。精密吸取10mL, 置于另一100mL容量瓶中, 用纯水定容, 即得。

9.6 样品溶液的制备：取适量样品使其含泛酸钙约1mg，精密称定，置于100mL容量瓶中，加入50mL纯水振摇，超声20min，用纯水定容，摇匀，上清液用0.45μm滤膜过滤，即得。

9.7 结果计算：以保留时间定性，峰面积外标法定量。

$$X = \frac{W_1 \times A_2}{W_2 \times A_1 \times 10 \times 1.088}$$

式中：

X—样品中泛酸的含量，mg/g；

W₁—泛酸钙标准品重量，mg；

W₂—样品称取量，g；

A₁—标准品溶液峰面积；

A₂—样品溶液峰面积；

1.088—泛酸钙与泛酸之间的换算系数。

10 生物素的测定

10.1 原理：样品中的生物素经过二甲亚砷的水溶液溶解提取后，离心、过滤，制得备测溶液，通过液相色谱柱分离，紫外检测器检测，最后用外标法定量。

10.2 仪器

10.2.1 液相色谱仪：Agilent HPLC 1200，紫外检测器。

10.2.2 天平（精确到0.0001g）：METTLER TOLEDO AE200。

10.2.3 水浴锅。

10.2.4 超声仪。

10.2.5 离心机。

10.3 试剂

如未注明规格，所有试剂均指分析纯；如未注明其他要求，所有实验用水均指纯水。

10.3.1 磷酸 85%：分析纯。

10.3.2 乙腈：色谱纯。

10.3.3 高氯酸钠：分析纯。

10.3.4 二甲亚砷（DMSO）：分析纯。

10.3.5 吡咯烷二硫化氨基四酸铵APDC（Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate）。

10.3.6 羧甲基亚氨基双亚乙基次氨基四醋酸DTPA（Diethylenetriaminepentaacetic acid）。

10.3.7 生物素标准品（d-Biotin）：CAS# 58-85-5，购自Sigma公司，规格为100mg，纯度99.0%

10.4 样品溶液的制备：称取适量样品置于100mL容量瓶中（若预混料中含有矿物质，再加入100mg的APDC和200mg的DTPA），加入10mL 10%二甲亚砷的水溶液，于60~70℃水浴中超声处理15min，冷却后用水稀释至刻度，摇匀。取适量于离心机中以3000r/min离心5min，取上清液通过0.45μm滤膜，作为样品溶液进行HPLC检测。

10.5 标准溶液的制备：精密称取生物素标准品约50mg（精确称定至0.1mg），置于100mL容量瓶中，加适量二甲亚砷使其溶解，再用二甲亚砷稀释至刻度，摇匀。精密吸取1.0mL于100mL容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀后作为生物素的标准溶液，其浓度约为5μg/mL。

10.6 色谱条件

10.6.1 色谱柱：Agilent ZORBAX SB-C8，4.6×150mm，5μm（PN：883975-906）

10.6.2 流动相A（将60mL乙腈、1g高氯酸钠和1mL的磷酸用水稀释至1000mL）；

流动相B为乙腈。

按下表进行洗脱：

时间（min）	流速（mL/min）	流动相A	流动相B
0	1.0	100	0
40	1.0	0	100
45	1.0	100	0

10.6.3 流速：1.0mL/min。

10.6.4 进样量：100μL。

10.6.5 检测波长：200nm。

10.7 测定：取过滤后的标准溶液和样品溶液，在相同条件下分别进样，根据标准溶液的保留时间进行定性，用外标法校正数据进行定量。

10.8 结果计算：峰面积外标法定量。

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

式中：

X—样品中生物素的含量VH，μg/g；

m—样品称取量，g；

A₁—样品溶液的峰面积，mAU；

A₂—标准溶液的峰面积，mAU；

C—标准溶液的浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；
V—样品溶液的稀释体积，mL。

【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. 矿物质预混料

矿物质预混料的质量要求

项目	指标
来源	碳酸钙、碳酸镁、硫酸亚铁、氧化锌、硫酸锰、三氯化铬、硫酸铜、亚硒酸钠、麦芽糊精
制法	混合、包装
色泽	褐色
性状	粉状
钙（以Ca计），g/100g	16.90～27.87
镁（以Mg计），g/100g	6.80～11.31
铁（以Fe计），mg/100g	506.76～844.59
锌（以Zn计），g/100g	0.76～1.26
锰（以Mn计），mg/100g	126.69～202.70
硒（以Se计），mg/100g	1.63～3.04
铜（以Cu计），mg/100g	50.68～84.45
铬（以Cr计），mg/100g	1.41～2.63
铅（以Pb计），mg/kg	≤ 0.5
砷（以As计），mg/kg	≤ 0.3
汞（以Hg计），mg/kg	≤ 0.3
菌落总数，CFU/g	≤ 1000
霉菌，CFU/g	≤ 25
酵母，CFU/g	≤ 25
大肠菌群，MPN/100g	≤ 30
致病菌（沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌）	不得检出

2. 维生素预混料

维生素预混料的质量要求

项目	指标
来源	L-抗坏血酸、DL- α -生育酚醋酸酯、烟酰胺、D-泛酸钙、 β -胡萝卜素、硝酸硫胺素、盐酸吡哆醇、D-生物素、氰钴胺素、核黄素、蝶酰谷氨酸、胆钙化醇、维生素A醋酸酯、植物甲萘醌、麦芽糊精
制法	混合、包装
色泽	黄褐色
性状	粉状
维生素A，mg/100g	57.70～77.16
β -胡萝卜素，mg/100g	346.16～458.65
维生素D，mg/100g	1.28～1.92
维生素E，g/100g	3.96～7.41

维生素K, mg/100g	5.00~9.37
维生素B ₁ , g/100g	1.11~2.07
维生素B ₂ , g/100g	1.11~2.07
维生素B ₆ , g/100g	1.11~1.92
维生素B ₁₂ , mg/100g	1.20~1.92
维生素C, g/100g	46.00~86.25
叶酸, mg/100g	56.62~76.92
烟酰胺, g/100g	2.50~4.67
泛酸, g/100g	2.00~3.75
生物素, mg/100g	12.80~19.23
铅(以Pb计), mg/kg	≤0.5
砷(以As计), mg/kg	≤0.3
汞(以Hg计), mg/kg	≤0.3
菌落总数, CFU/g	≤1000
霉菌, CFU/g	≤25
酵母, CFU/g	≤25
大肠菌群, MPN/100g	≤30
致病菌(沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌)	不得检出

3. 聚维酮K30：符合《中华人民共和国药典》的规定。

4. 包衣剂

包衣剂的质量要求

项目	指标
来源	羟丙甲纤维素、糊精、聚乙二醇6000、二氧化钛
制法	混合、包装
外观	白色粉末
分散度	≥95%过80目筛
色差, CIE	0.0~1.5
菌落总数, CFU/g	≤1000
霉菌、酵母, CFU/g	≤100
大肠埃希菌, /g	不得检出

5. 硬脂酸镁：符合《中华人民共和国药典》的规定。
