

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20080492

太阳神®多种维生素矿物质咀嚼片

【原料】 β-胡萝卜素、维生素B₁（硝酸硫胺素）、维生素B₂（核黄素）、维生素B₆（盐酸吡哆醇）、维生素B₁₂（氰钴胺素）、维生素C（L-抗坏血酸）、叶酸、富马酸亚铁、葡萄糖酸锌、亚硒酸钠

【辅料】 乳糖、蔗糖、D-甘露糖醇、柠檬酸、甜橙香精、阿斯巴甜（含苯丙氨酸）、硬脂酸镁、包衣剂（羟丙甲纤维素、滑石粉、二氧化钛、吐温-80、1,2-丙二醇、日落黄铝色淀）

【生产工艺】 本品经粉碎、混合、制粒、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《口服固体药用高密度聚乙烯瓶》（YBB00122002）；CP20压敏密封片应符合外观白色或本白色，胶粘剂白色或有微黄色，薄膜表面应平整、洁净，不得有穿孔、异物，边口光洁；无异味；无异常反应或死亡情况；瓶口应完整密封；厚度为0.5~0.8mm；水蒸气透过量≤5.5g/（m²•24h）；水蒸气透过量≤1500g/（m²•24h）；蒸发残渣（65%乙醇≤30mg/L；4%乙酸≤30mg/L）；高锰酸钾消耗量（水）≤10mg/L；重金属（以Pb计）4%乙酸≤1mg/L；菌落总数≤1000cfu/100cm²；霉菌和酵母≤100cfu/100cm²；大肠埃希菌（MPN/100cm²）不得检出。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	包衣呈橙色，色泽均匀；片芯呈白色带棕色斑点
滋味、气味	具果香味、甜、微酸，无异味
性状	椭圆形包衣片剂，完整光洁
杂质	无肉眼可见的外来杂质

【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

水分，%	≤7.0	GB 5009.3
灰分，%	≤2.5	GB 5009.4
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
日落黄，g/kg	≤0.1	GB/T 5009.35

【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
金黄色葡萄球菌	≤0/25g	GB 4789.10
沙门氏菌	≤0/25g	GB 4789.4

【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 ，mg/100g	15.0～26.7	GB/T 5009.84
维生素B ₂ ，mg/100g	16.7～26.7	GB/T 5009.85
维生素B ₆ ，mg/100g	11.7～20.0	《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版）中“ ”保健食品中盐酸硫胺素、盐酸吡哆醇、烟酸、烟酰胺和咖啡因的测定
维生素B ₁₂ ，μg/100g	26.7～40.0	1 维生素B ₁₂ 的测定
维生素C，g/100g	1.334～2.00	2 维生素C的测定
叶酸，mg/100g	4.47～6.67	3 叶酸的测定
维生素A，mgRE/100g	11.67～15.56	4 维生素A的测定
铁（以Fe计），mg/100g	277～356	GB/T 5009.90
锌（以Zn计），mg/100g	225～333	GB/T 5009.14
硒（以Se计），μg/100g	583～1000	GB 5009.93

1 维生素B₁₂的测定

1.1 试剂

所用水为蒸馏水，所用试剂均为分析纯。

1.1.1 0.2mol/L醋酸钠缓冲液（pH=4.5）：称取32.81g醋酸钠，溶解于水中，以溴甲酚绿为指示剂，用冰醋酸调pH值至4.5，定容至2000mL。

1.1.2 0.15mol/L氰化钾：将1g氰化钾用少量蒸馏水溶解后定容至100mL。

1.1.3 10mol/L氢氧化钠：称取40g氢氧化钠，溶于少量蒸馏水中，定容至100mL。

1.1.4 生理盐水：称取9.0g氯化钠，溶于1000mL水中，每次使用时分别倒入2~4支试管中，每支约10mL，塞好棉塞，于121℃高压灭菌10min，备用。

1.1.5 0.4g/L溴麝香草酚蓝溶液：称取0.1g溴麝香草酚蓝于小研钵内，加1.6mL0.1mol/L氢氧化钠溶液，研磨，加少许水继续研磨，直至完全溶解，用水稀释至250mL。

1.1.6 维生素B₁₂标准储备液（200μg/mL）：将10mg维生素B₁₂标准品（购自Sigma公司）溶于乙醇溶液（1+3），定容至50mL，置于棕色试剂瓶中，于4℃冰箱保存。

1.1.7 维生素B₁₂标准中间液（1μg/mL）：取5mL维生素B₁₂标准储备液，用乙醇溶液（1+3）定容至1000mL，滴加5滴氰化钾，置于棕色试剂瓶中，于4℃冰箱保存。

1.1.8 维生素B₁₂标准应用液（10ng/mL）：取1mL维生素B₁₂标准中间液，用蒸馏水定容至100mL，临用新配。

1.1.9 基本培养基：称取磷酸氢二钾7.0g、磷酸二氢钾3.0g、柠檬酸钠0.5g、硫酸镁0.1g、硫酸铵1.0g、葡萄糖10.0g、天门冬酰胺4.0g、精氨酸0.1g、谷氨酸0.1g、甘氨酸0.1g、组氨酸0.1g、脯氨酸0.1g、色氨酸0.1g，溶于300mL水中，以溴麝香草酚蓝为外指示剂，用10mol/L氢氧化钠溶液调pH值至6.8，定容至500mL。

1.1.10 琼脂培养基的制备：溶解磷酸氢二钾7g、磷酸二氢钾3g、葡萄糖1g、硫酸铵1g、蛋白胨2g、维生素B₁₂5μg、琼脂20g，溶于1L水中，用10mol/L氢氧化钠溶液调pH值至6.8，分装于试管中，于121℃高压灭菌后，制成斜面培养基。

1.2 仪器

1.2.1 电热恒温培养箱。

1.2.2 水浴锅。

1.2.3 液体快速混合器。

1.2.4 离心机。

1.2.5 分光光度计。

1.3 操作步骤(整个试验尽量避光操作)

1.3.1 样品处理：称取含0.1~1.0μg维生素B₁₂的样品，置于锥形瓶中，加入40mL0.2mol/L醋酸钠缓冲液（pH=4.5）、1滴0.15mol/L氰化钾溶液，混匀，置100℃水浴中加热2h，冷却，定容至50mL，过滤，备用。

1.3.2 菌种与培养液的制备

1.3.2.1 储备菌种的制备：将大肠杆菌E. Coli 44110接种于斜面琼脂培养管中，在37±0.5℃恒温箱中培养16~20h，取出后放入冰箱中保存，每隔两周至少传种一次。在实验前一天必须传种一次。

1.3.2.2 种子培养液的制备：加0.2mL10ng/mL维生素B₁₂标准应用液、3mL基本培养基于10mL离心管中，塞好棉塞，于121℃高压灭菌10min，取出，冷却后，置于冰箱中保存。每次制备两管，备用。

1.3.2.3 接种液的配制：使用前一天，将已在琼脂管中生长16~20h的大肠杆菌E. Coli 44110接种于种子培养液中，在37±0.5℃培养16~20h，取出后离心10min（3000r/min），弃去上清液，用已灭菌的生理盐水淋洗2次，再加入3mL灭菌生理盐水，混匀后，将此液倒入已灭菌的注射器中，立即使用。

1.3.3 样品试管的制备：每组平行样管中加入0.05、0.1、0.2mL样品水解液，加入5mL水，然后再加入5mL基本液体培养基。

1.3.4 标准系列管的制备：每组试管中分别加入维生素B₁₂标准工作液0.0、0.02、0.04、0.08、0.12、0.16、0.20mL，使每组试管中维生素B₁₂的含量为0.0、0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0ng，加入5mL水，再加入5mL基本液体培养基，需做三组标准曲线。

1.4.5 灭菌：样品管与标准管均用棉塞塞好，于121℃高压灭菌10min。

1.4.6 接种与培养：待试管冷却至室温后，每管接种一滴种子菌液，于 $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中培养16~20 h。

1.4.7 标准曲线的制备：以维生素 B_{12} 标准系列的不同纳克数为横坐标，光密度值为纵坐标，绘制标准曲线。

1.4.8 样品测定：在640nm波长下，以标准系列中的零管调节仪器零点，测定样品管及标准管液体的光密度值。根据样品管的光密度值，在标准曲线上查出相对应的样品管中维生素 B_{12} 的含量，再按照下列公式计算样品中维生素 B_{12} 的含量。

1.5 结果计算

$$X = \frac{c \times v \times f}{1000} \times 100$$

式中：

X—样品中维生素 B_{12} 含量， $\mu\text{g}/100\text{g}$ ；

c—样品管中维生素 B_{12} 的含量， ng/mL ；

v—样品水解液的定容体积， mL ；

f—样品液的稀释倍数；

m—样品重量，g。

2 维生素C的测定

2.1 原理：样品经溶解、稀释、过滤后，使用附紫外检测器的高效液相色谱仪测定维生素C，根据色谱峰的保留时间定性，峰面积定量。（以下实验过程均需避光操作）

2.2 试剂

除特殊说明，所用试剂均为分析纯，实验用水为去离子水或同等程度的蒸馏水。

2.2.1 甲醇：色谱纯。

2.2.2 0.1%的草酸溶液。

2.2.3 维生素C标准品：纯度为99.0%。

2.2.4 维生素C标准溶液：准确称量0.5g左右的维生素标准品，置于100.0mL容量瓶中，用0.1%草酸溶液溶解、定容，准确吸取2.0mL上述溶液，置于100.0mL容量瓶中，用0.1%草酸溶液定容，备用。此溶液浓度为10.0mg/100.0mL。

2.2.5 高效液相色谱仪：附紫外检测器。

2.2.6 离心机。

2.3 样品收集和准备：精密称取均匀粉碎的样品适量（约含维生素C10.0mg），置于100.0mL容量瓶中，用0.1%草酸溶液溶解、定容，过0.45 μm 滤膜，即为样品处理液。

2.4 色谱条件

2.4.1 色谱柱： C_{18} 柱， $250\times4.6\text{mm}$ ，5 μm 。

2.4.2 流动相：0.1%草酸溶液。

2.4.3 流速：1mL/min。

2.4.4 检测波长：254nm。

2.4.5 柱温：室温。

2.5 测定：分别取维生素C标准溶液及试样处理液各10 μL ，注入色谱仪中，以保留时间定性，峰面积定量。

2.6 结果计算

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

式中：

X—样品中维生素C的含量， $\text{mg}/100\text{g}$ ；

A_1 —样品的峰面积;
 A_2 —标准的峰面积;
 C —标准溶液的浓度, mg/100mL;
 V —样品稀释体积, mL;
 M —样品取样量, g。

3 叶酸的测定

3.1 试剂

除特殊说明外, 所有试剂均为分析纯, 水为蒸馏水。

3.1.1 甲苯

3.1.2 生理盐水: 使用前进行灭菌处理。

3.1.3 菌种: 酪乳酸杆菌 (Lactobacillus Casei, ATCC 7469)

3.1.4 磷酸缓冲液 (pH6.8): 称取4.35g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、10.39g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、50mg巯基乙醇, 溶解于800mL水中。临用前用约5g抗坏血酸调节pH值至6.8。

3.1.5 鸡胰酶: 购自Difco公司

3.1.6 鸡胰酶溶液: 称取100mg干燥的鸡胰酶, 加入20mL磷酸缓冲液磨成匀浆, 以3000r/min离心10min, 取上清液备用, 临用新配。

3.1.7 蛋白酶: 购自Sigma公司

3.1.8 淀粉酶: 购自Sigma公司

3.1.9 蛋白酶-淀粉酶溶液: 分别称取200mg蛋白酶和淀粉酶, 加入20mL磷酸缓冲液, 制成匀浆, 以3000r/min离心10min, 取上清液备用, 临用新配。

3.1.10 乙醇溶液 (2+8): 量取20mL无水乙醇溶液, 加入80mL水混匀。

3.1.11 0.01mol/L氢氧化钠溶液: 称取0.4g氢氧化钠, 加乙醇溶液 (2+8) 溶解并稀释至1L。

3.1.12 0.1mol/L氢氧化钠溶液: 称取4g氢氧化钠, 加水溶解并稀释至1L。

3.1.13 10mol/L氢氧化钠溶液: 称取400g氢氧化钠, 加水溶解并稀释至1L。

3.1.14 叶酸标准品: 购自Sigma公司

3.1.15 叶酸标准储备液 (200 $\mu\text{g/mL}$): 准确称取200mg叶酸标准品, 用0.01mol/L氢氧化钠溶液溶解并定容至1L。储存于棕色瓶中。

3.1.16 叶酸标准中间液 (200ng/mL): 吸取1.0mL叶酸标准储备液, 用0.01mol/L氢氧化钠溶液溶解并定容至1L。储存于棕色瓶中, 待标定。

3.1.17 叶酸标准中间液浓度的标定: 吸取1mL叶酸标准中间液, 用0.1mol/L氢氧化钠溶液定容至10mL。以0.1mol/L氢氧化钠溶液调零点, 以1cm比色杯, 在256nm波长处, 测定吸光度值3次, 取平均值, 按下式计算标准中间液浓度。

$$X_1 = \frac{A \times M \times 10 \times 10^6}{E}$$

式中:

X_1 —叶酸标准中间液浓度, ng/mL;

A —标准中间液平均吸光度值;

E —24500, 摩尔消光系数;

M —441.42, 维生素 K_1 分子量;

10—测定吸光度值时的稀释倍数;

10^6 —由g/L换算成ng/mL的换算系数。

3.1.18 叶酸标准应用液 (0.2ng/mL): 吸取1.0mL叶酸标准中间液, 用磷酸缓冲液稀释定容至1L。

3.1.19 碳酸氢钠。

3.1.20 去维生素酪蛋白: 购自Sigma公司。

3.1.21 胰酶: 购自Sigma公司。

- 3.1.22 硅藻土。
- 3.1.23 冰乙酸。
- 3.1.24 活性碳。
- 3.1.25 2.4mol/L盐酸溶液：量取20mL浓盐酸，加水稀释至100mL。
- 3.1.26 基础培养基：酶解酪蛋白溶液100mL、腺嘌呤-鸟嘌呤-尿嘧啶溶液2.5mL、黄嘌呤溶液2.5mL、维生素溶液5mL、吐温-80溶液2.5mL、L-天冬氨酸0.3g、L-盐酸半胱氨酸0.2g、色氨酸0.2g、还原型谷胱甘肽溶液2.5mL、葡萄糖20g、乙酸钠20g、甲盐溶液2.5mL，加水至250mL，搅拌，用10mol/L氢氧化钠溶液调节pH值至 6.8 ± 0.1 ，加入乙盐溶液2.5mL、磷酸缓冲液200mL，用水补至500mL。该溶液在4℃冰箱内可保存一周。
- 3.1.26.1 酶解酪蛋白溶液：将8g碳酸氢钠溶解于1L水中，加入60g去维生素酪蛋白，用10mol/L氢氧化钠溶液调节pH值至8.0。加入300mg胰酶，搅拌20min，使胰酶混合充分，再加入2.5mL甲苯，置37℃恒温箱酶解48~72h。将酪蛋白液从恒温箱中取出，于121℃高压加热30min以终止反应，去除甲苯。冷却，加10g硅藻土搅拌，用垫有滤纸的布氏漏斗过滤，滤液中加入约60mL冰乙酸调节pH值至3.7。称取活性碳12g，加入滤液中，搅拌10min，用布氏漏斗过滤，重复3次。每次过滤时，布氏漏斗内加有10g硅藻土协助过滤，滤液用水稀释至1200mL，于4℃冰箱中保存1年。取10mL酶解后的酪蛋白溶液，加入已称重的蒸发皿中，沸水浴蒸发至干。将蒸发皿置于100℃恒温烤箱内干燥至恒重，在干燥器内冷却至室温。称量蒸发皿的重量，如蒸发皿内固体重量小于400mg，即每毫升酪蛋白溶液中固体含量小于40mg，则弃除酪蛋白液，重新制备。
- 3.1.26.2 黄嘌呤溶液：取0.4g黄嘌呤，加入10mL氨水，加热溶解，用水稀释至100mL。于冰箱中保存。
- 3.1.26.3 腺嘌呤-鸟嘌呤-尿嘧啶溶液：分别称取硫酸腺嘌呤、盐酸鸟嘌呤、尿嘧啶各0.2g，加入20%盐酸溶液10mL，加热溶解，用水稀释至100mL，室温贮存。
- 3.1.26.4 1.7mol/L乙酸缓冲液（pH=4.5）：取38.65g无水乙酸钠、19.8mL冰乙酸，加水稀释至500mL。
- 3.1.26.5 维生素溶液：取10mg核黄素，溶解于40mL乙酸缓冲液中。取0.2mg生物素、2.5mgNaHCO₃、20mg对氨基苯甲酸、40mg盐酸吡哆醇、4mg盐酸硫胺素、8mg泛酸钙、8mg尼克酸，溶解于50mL水中，将上述两种溶液混合，加水至100mL。
- 3.1.26.6 吐温-80溶液：将2g吐温-80加入100mL45℃水中，混匀。
- 3.1.26.7 还原型谷胱甘肽溶液：取0.1g还原型谷胱甘肽，加水至100mL。
- 3.1.26.8 甲盐溶液：称取5g磷酸氢二钾、2g磷酸二氢钾，加水溶解至100mL，液面上加入少许甲苯保存。
- 3.1.26.9 乙盐溶液：称取2g硫酸镁、0.5g硫酸亚铁、0.5g硫酸锰，加水至100mL，液面上加入少许甲苯保存。
- 3.1.27 琼脂培养基：称取葡萄糖1g、蛋白胨0.8g、酵母提取物干粉0.2g、乙酸钠（NaAc·3H₂O）1.7g、甲盐溶液0.2mL、乙盐溶液0.2mL、琼脂1.2g，加水至100mL，置水浴煮至琼脂完全熔化，调节值至pH 6.8 ± 0.1 。尽快倒入试管中，每管3~5mL，塞上棉塞，于121℃高压灭菌15min，取出后直立试管，冷却至室温，于冰箱内保存。
- 3.1.28 储备菌种：将Lactobacillus Casei ATCC 7469纯菌种转接至2个或多个琼脂培养基管中，于37±0.5℃恒温培养箱中培养16~24h，贮存于冰箱内，每周转种一次留作储备菌种。
- 3.1.29 种子培养液：取2mL叶酸标准使用液、10mL基础培养基，混匀。分装至4支5mL离心管中，塞上棉塞，于121℃高压灭菌15min，临用新配。
- 3.2 仪器
- 3.2.1 恒温培养箱。
- 3.2.2 离心机。
- 3.2.3 高压消毒锅。
- 3.2.4 振荡器。
- 3.2.5 接种针和接种环。
- 3.2.6 分光光度计。

3.3 样品处理：用样品粉碎机将样品磨为粉末，称取一定量样品（约含叶酸100~300ng），置于100mL锥形瓶中，加入50mL磷酸缓冲液，混匀，于121℃高压水解15min，定容至100mL，过滤。根据样品中叶酸含量，将上述滤液用磷酸缓冲液稀释到一定倍数，使叶酸终浓度为0.1~0.4ng/mL。

3.4 标准系列管的制备：取2套试管，每套试管中分别加入叶酸标准使用液0.0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL（相当于叶酸0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0ng），加水补至体积为5.0mL，再加5mL基础培养基，混匀。

3.5 样品管的制备：取4支试管，每支试管中分别加入制备后的样品液1.0、2.0、3.0、4.0mL，补充水至5.0mL，再加5mL基础培养基，混匀。同样做酶空白管。

3.6 灭菌：将标准系列管、样品管和酶空白管都塞上棉塞，于121℃高压灭菌15min。

3.7 接种

3.7.1 接种液的制备：接种前一天，用灭菌的接种针将菌种由储备菌种管中转种至2支已灭菌的种子培养液中，于37±0.5℃恒温培养箱中培养16~24h。混悬种子培养液，无菌操作下用接种针将20滴种子培养液转移至另2支无菌种子培养液中，37±0.5℃再培养6h。振荡混匀，制成菌种混悬液，立即使用。

3.7.2 接种：待标准系列管、样品管和酶空白管冷却至室温，在无菌操作条件下每管接种一滴接种液，直接滴在培养基内混匀。留一支标准零管不接种，用于测定光密度时调零。

3.8 培养：置于37±0.5℃恒温培养箱中培养20~40h。

3.9 测定：用分光光度计，在540nm波长下，以未接种的标准零管调零点，测定标准管、样品管和酶空白管的光密度值。

3.10 标准曲线的制备：以标准系列管中叶酸含量为横坐标，光密度值为纵坐标，绘制标准曲线。

3.11 结果计算

$$X = \frac{(c-p) \times 100 \times F \times 100}{m \times V \times 1000}$$

式中：

X—样品中叶酸的含量，μg/100g；

c—从标准曲线上查得的样品测定管中叶酸含量，ng；

p—从标准曲线上查得的酶空白管中叶酸含量，ng；

100—样品制备时定容体积，mL；

F—样品稀释倍数；

V—制备样品测定管时加入的样品液体积，mL；

m—样品质量，g；

100/1000—样品含量由ng/g换算成μg/100g的系数。

4 维生素A的测定

4.1 原理：样品中的β-胡萝卜素，用石油醚+丙酮（80+20）混合液提取，经三氧化二铝纯化，然后以高效液相色谱测定，以保留时间定性，峰高或峰面积定量。

4.2 试剂

4.2.1 石油醚：沸程30℃~60℃。

4.2.2 甲醇：色谱纯。

4.2.3 丙醇。

4.2.4 己烷。

4.2.5 四氢呋喃。

4.2.6 三氯甲烷。

4.2.7 氢氧化钾（1+1）。

4.2.8 乙腈：色谱纯。

- 4.2.9 三氧化二铝：层析用，100目~200目，140℃活化2h，取出放入干燥器备用。
- 4.2.10 含碘异辛烷溶液：精确称取碘1mg，用异辛烷溶液溶解并稀释至25mL，摇匀备用。
- 4.2.11 A-胡萝卜素标准溶液：精确称取1mg α -胡萝卜素，加入少量三氯甲烷溶解，然后用石油醚溶解并洗涤烧杯数次溶液转入25mL容量瓶中，用石油醚定容，浓度为40 μ g/mL，于-18℃储存备用。
- 4.2.12 β -胡萝卜素标准溶液：精确称取 β -胡萝卜素12.5mg于烧杯中，先用少量三氯甲烷溶解，再用石油醚溶解并洗涤烧杯数次，溶液转入50mL容量瓶中，用石油醚定容，浓度为250 μ g/mL，-18℃储存备用。两个月内稳定。根据所需溶度取一定量的 β -胡萝卜素标准液用移动相稀释成100 μ g/mL。
- 4.2.13 β -胡萝卜素标准使用液：分别吸取 β -胡萝卜素标准溶液0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL于10mL容量瓶中，各加移动相至刻度，摇匀后，即得 β -胡萝卜素标准系列，分别含 β -胡萝卜素5、10、20、30、40、50 μ g/mL。
- 4.2.14 β -胡萝卜素异构体：精确称取4.5mL β -胡萝卜素于10mL容量瓶中，充入氮气，快速加入含碘异辛烷溶液10mL，盖上塞子，在距20W的荧光灯30cm处照射5min，然后在避光处用真空泵抽去溶剂。用少量三氯甲烷溶解结晶，再用石油醚溶解并定容至刻度，浓度为150 μ g/mL，-18℃保存。
- 4.3 仪器
- 4.3.1 高效液相色谱仪。
- 4.3.2 离心机。
- 4.3.3 旋转蒸发仪。
- 4.4 样品提取：称取本品粉末4.0g样品，置100mL锥形瓶中，加脱醛乙醇30mL，再加10mL氢氧化钾（1+1），回流加热30min（以上操作避光），用冰水迅速冷却后，用石油醚+丙酮（80+20）混合液振摇提取，吸取上层黄色液体并转入蒸发器中，重复提取直至提取液无色。合并提取液，于旋转蒸发器上蒸发至干（水浴温度为30℃）
- 4.5 纯化：将4.4项的样品提取液残渣，用少量石油醚溶解，然后进行氧化铝层析。氧化铝柱为4.5cm（内径） $\times$ 4cm（高）。先用洗脱液丙酮+石油醚（5+95）洗氧化铝柱，然后再加入溶解样品提取液的溶液，用丙酮+石油醚（5+95）洗脱 β -胡萝卜素，控制流速为20滴/min，收集于25mL容量瓶中，用洗脱液定容至刻度。用0.45 μ m微孔滤膜过滤，滤液作HPLC分析用。
- 4.6 色谱条件
- 4.6.1 色谱柱：SpherisorbC18柱4.6mm $\times$ 150mm。
- 4.6.2 流动相：甲醇+乙腈（90+10）。
- 4.6.3 流速：4.2mL/min。
- 4.6.4 波长：448nm。
- 4.7 样品测定：吸取4.5项中已纯化的溶液20 μ L依法操作，从标准曲线查得或回归求得所含 β -胡萝卜素的量。
- 4.8 标准曲线：分布进标准使用液20 μ L，进行HPLC分析，以峰面积对 β -胡萝卜素浓度作标准曲线。
- 4.9 结果计算

$$X = (V \times C) / M \times 1000 \times 1 / (1000 \times 1000)$$

式中：

- X—样品中 β -胡萝卜素的含量，g/kg；
V—定容后的体积，mL；
C—样品中 β -胡萝卜素的浓度， μ g/mL；
M—样品的量，g。

$$Y = X / 6 \times 1000$$

式中：

- Y—样品中维生素A的含量， μ gRE/g；
X—样品中 β -胡萝卜素的含量，g/kg。

【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. β -胡萝卜素：符合GB 8821《食品安全国家标准 食品添加剂 β -胡萝卜素》的规定。
2. 维生素B₁（硝酸硫胺素）：符合《中华人民共和国药典》的规定。
3. 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。
4. 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。
5. 维生素B₁₂（氰钴胺素）：符合《中华人民共和国药典》的规定。。
6. 维生素C（L-抗坏血酸）：符合GB 14754《食品安全国家标准 食品添加剂 维生素C（抗坏血酸）》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. 富马酸亚铁：符合《中华人民共和国药典》的规定。
9. 葡萄糖酸锌：符合GB 8820《食品安全国家标准 食品添加剂 葡萄糖酸锌》的规定。
10. 亚硒酸钠：符合GB 1903.9《食品安全国家标准 食品营养强化剂 亚硒酸钠》的规定。
11. 乳糖：符合《中华人民共和国药典》的规定。
12. 蔗糖：符合《中华人民共和国药典》的规定。
13. D-甘露糖醇：符合GB 1886.177《食品安全国家标准 食品添加剂 D-甘露糖醇》的规定。
14. 柠檬酸：符合GB 1886.235《食品安全国家标准 食品添加剂 柠檬酸》的规定。
15. 甜橙香精：符合 GB 30616《食品安全国家标准 食品用香精》的规定。
16. 阿斯巴甜（含苯丙氨酸）：符合GB 1886.47《食品安全国家标准 食品添加剂 天门冬酰苯丙氨酸甲酯（又名阿斯巴甜）》的规定。
17. 硬脂酸镁：符合《中华人民共和国药典》的规定。
18. 包衣剂
- 18.1 来源：羟丙甲纤维素、滑石粉、二氧化钛、吐温-80、1,2-丙二醇、日落黄铝色淀
- 18.2 滑石粉：符合GB/T 15342《滑石粉》的规定。

羟丙甲纤维素：符合《中华人民共和国药典》的规定。

二氧化钛：符合《中华人民共和国药典》的规定。

1,2-丙二醇：符合《中华人民共和国药典》的规定。

吐温-80：符合《中华人民共和国药典》的规定。

日落黄铝色淀：符合GB 1886.224《食品安全国家标准 食品添加剂日落黄铝色淀》的规定。

18.3 制法：经混合、包装等。
