

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20170545

宝诺美®B族维生素片

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

【辅料】 山梨糖醇、硬脂酸镁、二氧化硅、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 480 6.7）。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	包衣呈透明无色，色泽均匀，片芯呈黄色
滋味、气味	具产品特有的滋味、气味，无异味
性状	片剂，无破损，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，%	≤6	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
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 （以盐酸硫胺素计），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
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“高效液相色谱法”
维生素B ₆ （以盐酸吡哆醇计），g/100g	0.73~1.36	GB/T 5009.197
维生素B ₁₂ ，μg/100g	727.2~1363.64	2 维生素B ₁₂ 的测定
叶酸，mg/100g	29.10~54.54	3 叶酸的测定
生物素，mg/100g	9.54~18.19	4 生物素的测定

1 维生素B₂的测定

1.1 原理：试样中含维生素B₂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）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B₂（核黄素）标准品：纯度≥99%

1.2.7 盐酸（1+1）：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 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 标准溶液的制备：称取10mg（精确至0.01 mg）维生素B₂标准品（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，即得维生素B₂标准溶液（100μg/mL）。

1.5 样品溶液的制备：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2

min, 并将其置于加入适量65~70℃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, 即得。备用

注: 操作过程应避免强光照射。

1.6 测定法: 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 色谱条件

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

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

1.7.3 流速: 1.0mL/min。

1.7.4 检测波长: 激发波长462nm, 发射波长522nm。

1.7.5 进样量: 20μL。

1.8 结果分析

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

式中:

X - 样品中维生素B₂的含量 (以核黄素计), mg/100g, 以两次独立测定结果的算术平均值表示, 结果保留三位有效数字;

c - 样液的进样浓度, μg/mL;

V - 样品定容体积, mL;

m - 样品质量, g。

2 维生素B₁₂的测定

参照GB/T 17819进行检测, 详细检测过程如下

2.1 标准品储备液的制备: 取维生素B₁₂对照品约10mg, 精密称定, 置于100mL棕色容量瓶中, 用25%乙醇溶液溶解定容至刻度, 摇匀。

2.2 标准品溶液的制备: 准确移取标准品储备液1mL至100mL棕色容量瓶中, 用流动相稀释定容至刻度, 摇匀。

2.3 样品溶液制备: 取样品约5g (精密至±0.0001g) 至50mL棕色容量瓶中, 加入约30mL去离子水, 涡旋2min, 再超声提取15min, 取出, 冷却至室温, 用去离子水定容至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 余同GB/T 17819标准规定进行检测。

3 叶酸的测定

参照《中国药典》中“叶酸片”项下“含量测定”的测定方法测定; 详细检测步骤如下:

3.1 色谱条件与系统适用性试验: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 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) 为流动相; 检测波长为254nm。理论板数按叶酸峰计算不低于1500。

3.2 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。

3.3 样品溶液的制备: 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, 即得。

3.4 测定法: 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。

4 生物素的测定

参照GB/T 17778-2005进行测定: 高效液相色谱法

4.1 原理

样品中的生物素用水提取后, 将过滤离心后的试样溶液注入高效液相色谱仪中进行分离, 用紫外检测器测定, 外标法计算生物素的含量。

4.2 试剂

除非另有说明，本法所用试剂均为分析纯，水为蒸馏水，色谱用水为去离子水，符合GB/T 6682中一级用水规定。

4.2.1 二乙三胺五乙酸(DTPA)

4.2.2 三氟乙酸溶液0.05%(体积分数)：用氢氧化钠溶液[c(NaOH)=5 mol/L]调节pH至2.5。

4.3 仪器

4.3.1 实验室用超声波清洗机

4.3.2 高效液相色谱仪（配有紫外或二极管矩阵检测器）

4.4 生物素标准溶液的制备

4.4.1 生物素标准储备溶液：精密称取生物素标准品10mg至100mL容量瓶中，加入纯化水约80mL，置于80℃水浴下水浴30min，再于超声波清洗机中超声提取20min，取出，冷却至室温，用水定容至刻度，摇匀。

4.4.2 生物素标准工作溶液：移取标准品储备液1.00mL至50mL容量瓶中，用水稀释定容，得到浓度约为2μg/mL的标准品溶液。

4.5 样品溶液的制备：取试样约1g(精密至0.0001g)至50mL容量瓶中(若试样中含有矿物质，加入0.05gDPTA)，加入纯化水约40mL，置于80℃水浴下水浴30min，再于超声波清洗机中超声提取20min，取出，冷却至室温，用水定容至刻度，摇匀，即得。

4.6 测定法：按高效液相色谱仪说明书调整仪器操作参数。向色谱柱注入标准工作液及试样溶液，得到色谱峰面积的响应值，取标准溶液峰面积的平均值定量计算。

标准工作液应在分析始末分别进样，样品多时，分析中间应插入标准工作液校正出峰时间。

4.7 色谱条件

4.7.1 色谱柱：长250mm，内径4.6mm，粒度5μm的C₁₈柱。

4.7.2 流动相：850mL三氟乙酸溶液(4.2.2)加150mL乙腈(色谱纯)。

4.7.3 流动相流速：1.0mL/min。

4.7.4 进样体积：20μL

4.7.5 检测器：紫外或二极管矩阵检测器，使用波长210nm。

4.8 结果计算

$$X = \frac{S_1 \times V \times C_0 \times V_0}{S_0 \times V_1 \times m}$$

式中：

X— 样品中生物素的含量，mg/kg，每个试样取两份试料进行平行测定，以其算术平均值为测定结果，保留三位有效数字；

m— 样品质量，g；

S₀— 标准工作液峰面积；

S₁— 样品提取液峰面积；

C₀— 标准工作液浓度，μg/mL；

V₀— 标准工作液进样体积，μL；

V₁— 样品溶液液进样体积，μL；

V— 试样提取液总体积，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. 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。

2. 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。

3. 烟酰胺：符合《中华人民共和国药典》的规定。

4. 泛酸（D-泛酸钙）：符合《中华人民共和国药典》的规定。
5. 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。
6. 维生素B₁₂粉

维生素B₁₂粉的质量标准

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
感官	粉红色粉末，无臭，无味
维生素B ₁₂ ，（以干品计，%）	≥0.10
干燥失重，%	≤5.0
铅（以Pb计），mg/kg	≤2.0
砷（以As计），mg/kg	≤1.0
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

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》。
10. 硬脂酸镁：符合《中华人民共和国药典》的规定。
11. 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。
12. 薄膜包衣预混剂

薄膜包衣预混剂的质量标准

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	经混合、包装等
外观	类白色粉末
灰分，%	≤3
菌落总数，CFU/g	≤30000
霉菌和酵母，CFU/g	≤100
大肠埃希菌	不得检出

