

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20060199

金能原牌多维片

- 【原料】胆碱、烟酰胺、泛酸钙、维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、叶酸、生物素、维生素B₁₂
- 【辅料】玉米淀粉、硬脂酸镁、苋菜红、柠檬黄、亮蓝
- 【生产工艺】本品经混合、制粒、干燥、压片、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】食用聚乙烯塑料瓶应符合GB 4806.7的规定。
- 【感官要求】应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	黄色底花斑片
滋味、气味	具有B族维生素特有的滋味和气味
性状	片剂，完整光洁，无裂片
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
水分，g/100g	≤8	GB 5009.3
灰分，g/100g	≤10	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
崩解时限，min	≤30	《中华人民共和国药典》

【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	667-1500	GB/T 5009. 197
维生素B ₂ , mg/100g	667-1500	GB 5009. 85
维生素B ₆ , mg/100g	667-1500	GB/T 5009. 197
维生素B ₁₂ , mg/100g	0. 67-1. 5	1 维生素B ₁₂ 的测定
烟酰胺, mg/100g	1333-3000	GB/T 5009. 197
叶酸, mg/100g	27-60	《中华人民共和国药典》
泛酸, mg/100g	667-1500	GB 5413. 17
生物素, mg/100g	2. 7-6. 0	2 生物素的测定
胆碱, mg/100g	26667-60000	GB 5413. 20

1 维生素B₁₂的测定

1.1 适用范围：本方法适用于各类食物中维生素B₁₂的测定。

1.2 引用标准

1.2.1 应用营养食品所字第0025号（2000）食品中维生素B₁₂的测定方法。

1.2.2 参考《食物营养成分测定法》中维生素B₁₂的测定方法。

1.3 操作步骤：

1.3.1 精确称重，加入PH=4.5的醋酸钠缓冲液及0.15mol/L氰化钾溶液，100℃水解2h。

1.3.2 制备菌种（大肠杆菌E. Coli44110），37℃培养16~20h。

1.3.3 制备标准管和样品试液管，制备接种液（E. Coli 44110），37℃培养16~20h。

1.3.4 消毒（121℃，高压10min）

1.3.5 接种（37℃，培养16~20h）

1.3.6 测量吸光度（分光光度计，640nm）

1.4 结果计算：以维生素B₁₂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。由样品测定管中的光密度值在曲线上查出相对应的样品测定管中的维生素B₁₂的含量，再按以下公式计算样品中维生素B₁₂的含量。

$$X = \frac{C \times V \times f}{M \times 1000} \times 100$$

式中：

X——样品中维生素B₁₂的含量，μg/100g；

c----测定管中的维生素B₁₂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；
100/1000---单位换算系数。

1.5 说明

整个实验应避光操作。

2 生物素的测定

2.1 样品制备

2.1.1 固体样品用粉碎机将样品打成均匀的匀浆或粉末。

2.1.2 胶囊样品 用剪刀将一些胶囊一端剪破，挤出内容物混匀备用。

2.1.3 液体样品摇样品瓶至充分混匀。

2.2 样品水解

2.2.1 普通样品：称取适量样品于三角瓶中，加入50mL 1.0mol/L H₂SO₄，振荡摇匀，放入高压锅中于121℃水解90min；取出冷却至室温，以溴甲酚绿为外指示剂，用10mol/L氢氧化钠溶液调节pH为4.5，将水解液移至100mL容量瓶中，定容，过滤。根据样品中生物素浓度，取适量水解液于25mL具塞刻度试管中，加入蒸馏水到20mL左右，以溴麝香草酚蓝为外指示剂，用0.1mol/L氢氧化钠调节至pH为6.8，用蒸馏水定容至刻度，摇匀，过滤。

2.2.2 强化型样品：称取适量样品于三角瓶中，加入80mL 1:1（1+1）乙醇溶液溶解，提取，放置过夜，转移至100mL容量瓶中，定容。根据样品中生物素的浓度，稀释。

2.3 标准管及样品管制备

2.3.1 样品管制备：取三支已标号的样品管分别加入样液1.0、2.0、3.0mL，补充水至体积为5.0mL，加入生物素培养基溶液5.0mL，混匀。

2.3.2 标准管的制备：取2组6支已标号的样品管，分别加入0.2ng/mL标准工作液0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL，补充水至体积为5.0mL，加入生物素培养基溶液5.0mL，混匀。

2.3.3 灭菌：将以上各管塞上棉塞，用纸包住棉塞头，121℃高压灭菌15min。

2.4 菌种的制备

2.4.1 贮备菌种：实验前一天将Lp(ATCC 8104)菌种转接至琼脂培养基37±0.5℃恒温培养16h。

2.4.2 接种液的制备：取两支5mL离心管，分别加2mL生物素标准应用液和3mL基本培养基，制成种子培养液，塞好棉塞，于121℃高压灭菌10分钟，取出，冷却后备用。无菌条件下将贮备菌种用接种环转种至2支含生物素的种子培养液中，37±0.5℃恒温培养箱中培养20h。临用前种子液在3000r/min下离心10分钟，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。

2.5 接种：在无菌操作条件下将上述接种液滴加1滴至已灭菌的标准管、样品管中混匀。置于37℃±0.5℃恒温培养箱中培养。

2.6 测定：于560nm波长下，以标准0管调节零点，测定各管的吸光度值。以标准管中生物素含量为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制生物素标准曲线。以插入法计算样品生物素浓度。

2.7 结果计算

$$C(\mu\text{g}/100\text{g}) = \frac{a \times V \times F \times 100}{W \times v_1 \times 1000}$$

2.8 试剂配制方法

试剂名称	配制方法
3 mol/L硫酸溶液	在600mL水中加入166.7mL浓硫酸，稀释至1000mL。
1 mol/L硫酸溶液	取500mL3mol/L硫酸溶液到量筒中，定容到1500mL，倒入烧杯混匀。
10mol/L氢氧化钠溶液	溶解200g氢氧化钠于蒸馏水中，定容至500mL
生理盐水	称取9.0g氯化钠溶于蒸馏水中，定容至1000mL。
1:1乙醇溶液	量取100mL无水乙醇溶液，定容至200mL。

生物素培养基溶液	称取7.5g Difco公司生物素培养基，加100mL 蒸馏水溶解，加热至微沸，冷却备用，临用现配。
生物素标准储备液（50 μ g/mL）	准确称取25mg生物素标准品（Sigma公司），用1:1乙醇溶液溶解并定容至500mL。储存于棕色瓶中，4℃冰箱中贮存。
生物素标准中间液 I（1 μ g/mL）	准确吸取4.0mL生物素标准储备液，用1:1乙醇溶液定容至200mL。储存于棕色瓶中，4℃冰箱中贮存。
生物素标准中间液 II（10ng/mL）	准确吸取1.0mL生物素标准中间液 I，用1:1乙醇溶液定容至100mL。储存于棕色瓶中，4℃冰箱中贮存。
生物素标准工作液（0.2ng/mL）	准确吸取2.0mL生物素标准中间液 II，用蒸馏水定容至100mL，临用现配。
0.04%溴麝香草酚蓝溶液	称取0.1g溴麝香草酚蓝于小研钵内，加1.6mL 0.1 mol/L氢氧化钠研磨，加少许水继续研磨，直至完全溶解，用水稀释至250mL
0.04%溴甲酚绿溶液	称取0.1g溴甲酚绿于小研钵中，加入1.4mL 0.1 mol/L氢氧化钠研磨，加少许水继续研磨，直至完全溶解，用水稀释至250mL。
盐溶液A	称取25g磷酸二氢钾和25g磷酸氢二钾溶于500mL水中，加5滴浓盐酸。
盐溶液B	称取10.0gMgSO ₄ ·7H ₂ O、1.0gKCl、0.5g MnSO ₄ ·4H ₂ O、0.5gFeSO ₄ ·7H ₂ O、23mL85% H ₃ PO ₄ ，溶于水中并定容至500mL
琼脂培养基	在烧杯中加入葡萄糖1.0g，蛋白胨0.8g，酵母提取物干粉0.2g，三水合乙酸钠1.7g，盐溶液A0.2mL，盐溶液B0.2mL，琼脂1.2g，加水至100mL，置电炉上煮至琼脂完全熔化，调节pH 6.8 $\pm$ 0.1。尽快倒入试管中，每管3~5mL，塞上棉塞，121℃高压灭菌15min，取出后直立试管，冷却至室温。于冰箱内保存

【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】

- 胆碱：应符合国家药品标准WS-10001-（HD-1250）-2002《重酒石酸胆碱》的规定。
- 烟酰胺：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 泛酸钙：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 维生素B₁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 维生素B₂：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 维生素B₆：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 叶酸：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 生物素：应符合国家药品标准WS-10001-（HD-1052）-2002《D-生物素》的规定。
- 维生素B₁₂：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 玉米淀粉：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 硬脂酸镁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 苋菜红：应符合GB 4479.1《食品安全国家标准 食品添加剂 苋菜红》的规定。
- 柠檬黄：应符合GB 4481.1《食品安全国家标准 食品添加剂 柠檬黄》的规定。
- 亮蓝：应符合GB 1886.217《食品安全国家标准 食品添加剂 亮蓝》的规定。
