

国家市场监督管理总局国产保健食品
注册证书

产品名称	善存®多种维生素矿物质片		
注册人	赫力昂（苏州）制药有限公司		
注册人地址	苏州市宝带西路4号		
审批结论	经审核，该产品符合《中华人民共和国食品安全法》和《保健食品注册与备案管理办法》的规定，现予批准注册。		
注册号	国食健注G 20170477	有效期至	2028年09月10日
附件	附1 产品说明书、附2 产品技术要求		
备注	2024年03月15日，批准该产品注册人名称“惠氏制药有限公司”变更为“赫力昂（苏州）制药有限公司”。		



国家市场监督管理总局

保健食品产品说明书

国食健注G 20170477

善存® 多种维生素矿物质片

【原料】 碳酸钙粉（碳酸钙、麦芽糊精）、碳酸镁、维生素C（L-抗坏血酸）、维生素E粉（d α -醋酸生育酚、麦芽糊精、辛烯基琥珀酸淀粉钠、二氧化硅）、硫酸锌、矿物质预混剂（磷酸氢钙、三氯化铬、钼酸钠、亚硒酸钠、微晶纤维素）、富马酸亚铁、烟酰胺、 β -胡萝卜素粉（ β -胡萝卜素、辛烯基琥珀酸淀粉钠、玉米淀粉、葡萄糖浆、抗坏血酸钠、d α -生育酚）、泛酸（D-泛酸钙）、生物素粉（D-生物素、无水磷酸氢钙）、硫酸锰、维生素B₂（核黄素）、维生素D₃粉（胆钙化醇、明胶、蔗糖、玉米淀粉、部分氢化大豆油、d α -生育酚）、硫酸铜、维生素B₆（盐酸吡哆醇）、维生素A粉（维生素A醋酸酯、明胶、玉米淀粉、蔗糖、二丁基羟基甲苯）、维生素B₁（硝酸硫胺素）、维生素K₁粉（维生素K₁、阿拉伯胶、蔗糖）、维生素B₁₂粉（氰钴胺素、辛烯基琥珀酸淀粉钠、柠檬酸钠、柠檬酸、二氧化硅）、叶酸

【辅料】 微晶纤维素、羧甲基淀粉钠、薄膜包衣预混剂（羟丙基甲基纤维素、二氧化钛、滑石粉、聚葡萄糖、麦芽糊精、中链甘油三酯、亮蓝铝色淀、靛蓝铝色淀）、硬脂酸镁、二氧化硅

【功效成分及含量】 每片含：视黄醇当量（维生素A加 β -胡萝卜素）533 μ gRE、维生素D 5 μ g、维生素E 16mg、维生素B₁ 1.6mg、维生素B₂ 3mg、维生素B₆ 2.1mg、维生素C 75mg、维生素B₁₂ 4 μ g、生物素 50 μ g、叶酸 200 μ g、烟酰胺 15mg、泛酸 7.5mg、维生素K 25 μ g、钙 280mg、镁 111.5mg、铁 6.5mg、铜 0.65mg、锌 12mg、锰 2mg、铬 30 μ g、钼 40 μ g、硒 45 μ g

【适宜人群】 需要补充多种维生素和矿物质的成人

【不适宜人群】 17岁以下人群、孕妇、乳母

【保健功能】 补充多种维生素和矿物质

【食用量及食用方法】 每日1次，每次1片，餐后服用，效果更佳

【规格】 1.7g/片

【贮藏方法】 遮光、密封、室温、置干燥处

【保质期】 24个月

【注意事项】 本品不能代替药物；适宜人群外的人群不推荐食用本产品；不宜超过推荐量或与同类营养素补充剂同时食用；高硒地区人群不宜食用；置于儿童不宜触及处

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G 20170477

善存® 多种维生素矿物质片

【原料】碳酸钙粉（碳酸钙、麦芽糊精）、碳酸镁、维生素C（L-抗坏血酸）、维生素E粉（d1-α醋酸生育酚、麦芽糊精、辛烯基琥珀酸淀粉钠、二氧化硅）、硫酸锌、矿物质预混剂（磷酸氢钙、三氯化铬、钼酸钠、亚硒酸钠、微晶纤维素）、富马酸亚铁、烟酰胺、β胡萝卜素粉（β胡萝卜素、辛烯基琥珀酸淀粉钠、玉米淀粉、葡萄糖浆、抗坏血酸钠、d1-α生育酚）、泛酸（D-泛酸钙）、生物素粉（D-生物素、无水磷酸氢钙）、硫酸锰、维生素B₂（核黄素）、维生素D₃粉（胆钙化醇、明胶、蔗糖、玉米淀粉、部分氢化大豆油、d1-α生育酚）、硫酸铜、维生素B₆（盐酸吡哆醇）、维生素A粉（维生素A醋酸酯、明胶、玉米淀粉、蔗糖、二丁基羟基甲苯）、维生素B₁（硝酸硫胺素）、维生素K₁粉（维生素K₁、阿拉伯胶、蔗糖）、维生素B₁₂粉（氰钴胺素、辛烯基琥珀酸淀粉钠、柠檬酸钠、柠檬酸、二氧化硅）、叶酸

【辅料】微晶纤维素、羧甲基淀粉钠、薄膜包衣预混剂（羟丙基甲基纤维素、二氧化钛、滑石粉、聚葡萄糖、麦芽糊精、中链甘油三酯、亮蓝铝色淀、靛蓝铝色淀）、硬脂酸镁、二氧化硅

【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G B 4806.7的规定；瓶盖垫片应符合YBB0015 2005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	蓝色薄膜包衣片，片芯呈带有细小斑点的白色至类黄色
滋味、气味	无异味、无霉变
状态	光滑、完整的椭圆形薄膜包衣片；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
铅（以Pb计），m g/kg	≤2.0	G B 5009.12中“第一法 石墨炉原子吸收光谱法”
总砷（以A s计），m g/kg	≤1.0	G B 5009.11中“第三法 银盐法”，按灰化进行试样处理
总汞（以H g计），m g/kg	≤0.3	G B 5009.17
水分，%	≤5	G B 5009.3中“第二法 减压干燥法”
灰分，%	≤70	G B 5009.4
崩解时限，m in	≤60	《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	G B 4789.2
大肠菌群，M PN /g	≤0.92	G B 4789.3 M PN 计数法
霉菌和酵母，CFU/g	≤50	G B 4789.15
金黄色葡萄球菌	≤0/25g	G B 4789.10
沙门氏菌	≤0/25g	G B 4789.4

【功效成分指标】应符合表4 的规定。

表4 功效成分指标

项 目	指 标	检测方法
叶酸，m g/100g	9.44-21.2	5 维生素B ₁ 、维生素B ₂ 、维生素B ₆ 、烟酰胺、叶酸、泛酸的测定
烟酰胺，g/100g	0.706-1.59	5 维生素B ₁ 、维生素B ₂ 、维生素B ₆ 、烟酰胺、叶酸、泛酸的测定
泛酸，g/100g	0.353-0.794	5 维生素B ₁ 、维生素B ₂ 、维生素B ₆ 、烟酰胺、叶酸、泛酸的测定
维生素K ₁ ，m g/100g	1.18-2.65	4 维生素K ₁ 的测定
钙（以Ca计），g/100g	14.9-20.6	9 钙、铜、铁、锌、镁、锰的测定
镁（以M g计），g/100g	5.9-8.2	9 钙、铜、铁、锌、镁、锰的测定
铁（以Fe计），g/100g	0.306-0.478	9 钙、铜、铁、锌、镁、锰的测定
铜（以Cu计），g/100g	0.0306-0.0478	9 钙、铜、铁、锌、镁、锰的测定
锌（以Zn计），g/100g	0.565-0.883	9 钙、铜、铁、锌、镁、锰的测定
锰（以M n计），g/100g	0.0944-0.148	9 钙、铜、铁、锌、镁、锰的测定
铬（以Cr计），m g/100g	1.41-2.64	10 铬、钼、硒的测定
钼（以M o计），m g/100g	1.88-3.53	10 铬、钼、硒的测定
硒（以Se计），m g/100g	2.12-3.98	10 铬、钼、硒的测定
视黄醇当量（维生素A 加 β胡萝卜素），μgRE /100g	25100-47100	1 视黄醇当量（维生素A 加 β胡萝卜素）的测定
维生素D，m g/100g	0.235-0.529	2 维生素D 的测定
维生素E （以 α生育酚当量计），g/100g	0.753-1.69	3 维生素E 的测定
维生素B ₁ ，g/100g	0.0753-0.169	5 维生素B ₁ 、维生素B ₂ 、维生素B ₆ 、烟酰胺、叶酸、泛酸的测定
维生素B ₂ ，g/100g	0.141-0.317	5 维生素B ₁ 、维生素B ₂ 、维生素B ₆ 、烟酰胺、叶酸、泛酸的测定
维生素B ₆ ，g/100g	0.0992-0.223	5 维生素B ₁ 、维生素B ₂ 、维生素B ₆ 、烟酰胺、叶酸、泛酸的测定
维生素C，g/100g	3.53-7.94	6 维生素C 的测定
维生素B ₁₂ ，m g/100g	0.188-0.423	7 维生素B ₁₂ 的测定
生物素，m g/100g	2.35-5.29	8 生物素的测定

1 视黄醇当量的测定（维生素A 加 β胡萝卜素）

1.1 维生素A 的测定

1.1.1 原理：样品中的维生素A 经甲苯：甲醇（2：1）（v/v）（含0.1% 2，6-二叔丁基对甲酚）溶液萃取后，用高压液相色谱，紫外检测器外标法定量测定。

1.1.2 试剂

所有试剂，如未注明规格，均指分析纯；所有实验用水，如未注明其他要求，均指三级水。

1.1.2.1 甲醇：色谱级。

1.1.2.2 甲基叔丁基醚：色谱纯。

1.1.2.3 甲苯：色谱纯。

1.1.2.4 氨水（25% -28% ）：分析纯。

1.1.2.5 氯化钠：分析纯。

1.1.2.6 2，6-二叔丁基对甲酚（BHT）99%：分析纯。

1.1.2.7 碱性蛋白酶6-L：Bio-Cat。

1.1.2.8 85% 磷酸：分析纯。

1.1.2.9 4% 氨水（pH 9.5）：吸取143m L氨水（25%）至1L容量瓶中，加水稀释至刻度，混匀。用85% 磷酸调pH 至9.5。

1.1.2.10 甲苯：甲醇（2：1）（v/v）（含0.1% 2，6-二叔丁基对甲酚）-1.2g 2，6-二叔丁基对甲酚溶于800m L甲苯和400m L甲醇中，混匀。

1.1.2.11 碱性蛋白酶溶液：取1m L碱性蛋白酶6-L置100m L容量瓶中，加水稀释至刻度并摇匀。（注：碱性蛋白酶溶液必须临用新配。）

1.1.2.12 维生素A 醋酸酯（V itam in A A cetate）对照品：约500000IU /g。

1.1.3 仪器

1.1.3.1 常用实验室仪器。

1.1.3.2 50 m L离心管。

1.1.3.3 超声清洗器。

1.1.3.4 机械振摇器。

1.1.3.5 离心机。

1.1.3.6 高压液相色谱仪：具可变波长的紫外检测器、数据处理系统或记录仪。

1.1.4 操作步骤：照高效液相色谱法《中华人民共和国药典》测定。避光操作。

1.1.5 系统适用性试验：用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（建议色谱柱：W aters Reso lve C18，3.9m m ×300m m ，5 μm ），以甲醇为A 相，水为B 相，甲基叔丁基醚为C 相，按表A 1进行梯度洗脱；流速为1.5m L/m in；检测波长为280nm ，柱温为25℃，进样量为10 μL。待基线平稳后，用对照品溶液重复进样6次，维生素A 峰面积的RSD 不大于3.0%，维生素A 的拖尾因子均不大于2.0。

表A.1. 色谱系统梯度洗脱程序，A：甲醇；B：水；C：甲基叔丁基醚

时间（m in）	流动相A，%	流动相B，%	流动相C，%
0.0	92	8	0
15.0	92	8	0
15.1	97	3	0
36.0	97	3	0
36.1	100	0	0
38.0	100	0	0
38.1	40	0	60
40.0	40	0	60
40.1	100	0	0
42.0	100	0	0
42.1	92	8	0
45.0	92	8	0

注：梯度洗脱程序可根据实际情况进行适当调整。

1.1.6 对照品溶液的制备：准确称取20m g维生素A 醋酸酯对照品到100m L避光容量瓶中，加10.0m L 4% 氨水（pH 9.5）震荡，加1.0m L碱性蛋白酶溶液，密塞，摇匀。置55℃水浴超声15m in，不断用手振摇；放冷至室温，加约4g氯化钠到容量瓶中，混匀。精密加入30.0m L甲苯：甲醇（2：1）（v/v）（含0.1% 2，6-二叔丁基对甲酚）溶液置容量瓶中，密塞，摇匀，机械振摇20m in。转移上层溶液至离心管中，3000转/m in离心使分层（大约5m in）。精密吸取5.0m L上清液，置于25m L棕色容量瓶，用甲苯：甲醇（2：1）（v/v）（含0.1% 2，6-二叔丁基对甲酚）溶液定容，摇匀，经0.45 μm 滤膜过滤，取续滤液，此为维生素A 对照品溶液。

1.1.7 样品溶液的制备：取样品20片，粉碎成细粉。精密称取约3.2片量样品粉末，置100m L避光容量瓶。加4% 氨水（pH 9.5）25m L。加碱性蛋白酶溶液1.0m L，密塞，摇匀。置55℃水浴超声15m in，不断用手振摇。冷至室温。加4g氯化钠，精密加入40.0m L甲苯：甲醇（2：1）（v/v）（含0.1% 2，6-二叔丁基对甲酚）溶液置容量瓶，密塞，摇匀。机械振摇20m in。转移上层溶液约40m L置50m L避光离心管。3000转/m in离心约5m in。取上清液，经0.45 μm 滤膜过滤，取续滤液，即得。

1.1.8 测定法：分别注入等体积（10 μL）的对照品溶液和样品溶液，测定。

1.1.9 结果计算

$$A s\times c\times f$$

$$\text{样品中维生素A 的含量（}\mu\text{gRE/g）}=\frac{\hspace{1.5cm}}{\hspace{1.5cm}}$$

$$A st\times W$$

式中：

A_s—样品溶液的峰面积；
A_{st}—对照品溶液的峰面积；
C—对照品溶液的浓度（其中1IU VA=0.3 μgRE）；
f—样品稀释倍数；
W—样品的重量，g。

1.2 β胡萝卜素的测定

1.2.1 原理：样品中的β胡萝卜素经甲苯：甲醇（2：1）（v/v）（含0.1% 2，6-二叔丁基对甲酚）溶液萃取后，用高压液相色谱，紫外检测器外标法定量测定。

1.2.2 试剂

所有试剂，如未注明规格，均指分析纯；所有实验用水，如未注明其他要求，均指三级水。

- 1.2.2.1 碱性蛋白酶6-L：Bio-Cat。
- 1.2.2.2 异丙醇：色谱纯。
- 1.2.2.3 甲醇：色谱纯。
- 1.2.2.4 甲基叔丁基醚：色谱纯。
- 1.2.2.5 甲苯：色谱纯。
- 1.2.2.6 三乙醇胺（TEA）：分析纯。
- 1.2.2.7 氨水（25% -28%）：分析纯。
- 1.2.2.8 乙酸铵：分析纯。
- 1.2.2.9 氯化钠：分析纯。
- 1.2.2.10 2，6-二叔丁基对甲酚（BHT）99%：分析纯。
- 1.2.2.11 85% 磷酸：分析纯。
- 1.2.2.12 4% 氨水（pH 9.5）：吸取143mL氨水（25%）至1L容量瓶中，加水稀释至刻度，混匀。用85% 磷酸调pH至9.5。
- 1.2.2.13 0.1% BHT 甲苯溶液：1g 2，6-二叔丁基对甲酚溶于1L甲苯。
- 1.2.2.14 0.1% BHT 异丙醇溶液：1g 2，6-二叔丁基对甲酚溶于1L异丙醇。
- 1.2.2.15 甲苯：甲醇（2：1）（v/v）（含0.1% BHT）-1.2g 2，6-二叔丁基对甲酚溶于800mL甲苯和400mL甲醇中，混匀。
- 1.2.2.16 碱性蛋白酶溶液：取1mL碱性蛋白酶6-L置100mL容量瓶中，加水稀释至刻度并摇匀。（注：碱性蛋白酶溶液必须临用新配。）
- 1.2.2.17 甲醇（含0.01% TEA 和0.05 mol/L乙酸铵）：加3.85g乙酸铵和100 μL TEA到1L甲醇，混匀。
- 1.2.2.18 β胡萝卜素（Beta-Carotene）对照品：约20%（W/W）。

1.2.3 仪器

- 1.2.3.1 常用实验室仪器及50mL离心管。
- 1.2.3.2 超声波清洗器。
- 1.2.3.3 离心机。
- 1.2.3.4 振荡器。
- 1.2.3.5 高压液相色谱仪：具可变波长的紫外检测器、数据处理系统或记录仪。

1.2.4 操作步骤：照高效液相色谱法，按《中华人民共和国药典》测定，避光操作。

1.2.5 系统适用性试验：用三十烷基硅烷键合硅胶为填充剂（建议色谱柱：YMC Carotenoid C30 column，4.6mm × 250mm，5 μm），以甲醇（含0.01% TEA 和0.05 mol/L乙酸铵）为A相，甲基叔丁基醚为B相，按表A 2进行梯度洗脱；流速为1.0 mL/min；检测波长为415nm；柱温为30℃，进样量为10 μL。待基线平稳后，用对照品溶液重复进样6次，β胡萝卜素总峰面积的RSD 应不大于3.0%，反式（trans）β胡萝卜素的拖尾因子应在0.75~2.0之间。（注：出峰顺序为cisA β胡萝卜素；transβ胡萝卜素；cisB β胡萝卜素。其中，transβ胡萝卜素是三个色谱峰中间的最大色谱峰）

表A.2. 色谱系统梯度洗脱程序：

时间，min	溶液A，%	溶液B，%
0.0	90.0	10.0
2.0	90.0	10.0
20.0	60.0	40.0
30.0	10.0	90.0
33.0	10.0	90.0
33.1	90.0	10.0
40.0	90.0	10.0

注：梯度洗脱程序可根据实际情况进行适当调整。

1.2.6 对照品溶液的制备：精密称量20mg β胡萝卜素对照品置于100mL棕色容量瓶中。加10.0mL 4% 氨水（pH 9.5）置容量瓶中。加1.0mL碱性蛋白酶溶液，密塞，摇匀。置55℃水浴超声15min，不断用手振摇。放冷至室温。加约1.6g氯化钠，混匀；然后，精密量取30.0mL甲苯：甲醇（2：1）（v/v）（含0.1% BHT）溶液至容量瓶中，密塞，摇匀；机械振摇20min。转移上层溶液至离心管中，3000转/min离心使分层（约5min）。移取5.0mL上清液，

置于50m L棕色容量瓶，用0.1% BHT 甲苯溶液定容，摇匀。移取上步溶液5.0m L置于25m L棕色容量瓶。用0.1% BHT 异丙醇溶液定容，摇匀，经0.45 μm 滤膜过滤，取续滤液，此为对照品溶液。

1.2.7 样品溶液的制备：取样品20片，粉碎成细粉。精密称取约3.2片量样品粉末，置于100m L棕色容量瓶。加4% 氨水（pH 9.5）25m L。加碱性蛋白酶溶液1.0m L，密塞，摇匀。置55℃水浴超声15m in，不断用手振摇。然后冷至室温。加4g氯化钠，精密加入40.0m L甲苯：甲醇（2：1）（v/v）（含0.1% BHT）溶液置容量瓶，密塞，摇匀。机械振摇20m in。转移上层溶液约40m L至50m L避光离心管。3000转/m in离心约5m in，移取2.0m L上层溶液，置于25m L容量瓶，用0.1% BHT 甲苯溶液定容，摇匀，此溶液为样品储备溶液；吸取上步溶液5.0m L，置于25m L容量瓶，用0.1% BHT 异丙醇溶液定容，摇匀，经0.45 μm 滤膜过滤，取续滤液，此为样品溶液。

1.2.8 测定法：分别注入等体积（10 μL）的对照品溶液和样品溶液，测定。

1.2.9 结果计算

$$A_s \times c \times f$$

样品中 β胡萝卜素的含量（μg/g）= $\frac{\hspace{1.5cm}}{A_{st} \times W}$

$$A_{st} \times W$$

式中：

- A_s—样品溶液的 β胡萝卜素峰面积；
- A_{st}—对照品溶液的 β胡萝卜素峰面积；
- C—对照品溶液的浓度，μg/mL；
- f—样品稀释倍数；
- W —样品的重量，g。

1.3 视黄醇当量（维生素A 加 β胡萝卜素）

1.3.1 结果计算

视黄醇当量（μgRE/g）= 维生素A 的量（μgRE/g）+ β胡萝卜素的量（μg/g）× 1/6

式中：

1/6—转化系数，指1 μg视黄醇当量相当于6 μg β胡萝卜素。

2 维生素D 的测定

2.1 原理：样品中的维生素D 经正己烷萃取后，用高压液相色谱，紫外检测器外标法定量测定。

2.2 试剂

所有试剂，如未注明规格，均指分析纯；所有实验用水，如未注明其他要求，均指三级水。

2.2.1 异丙醇：色谱纯。

2.2.2 正己烷：色谱纯。

2.2.3 二甲亚砜：分析纯。

2.2.4 二甲亚砜的水溶液（75%）：750m L二甲亚砜中加入250m L纯水，混匀。

2.2.5 维生素D 对照品（Cholecalciferol）：纯度约100%。

2.3 仪器

2.3.1 常用实验室仪器及50m L离心管。

2.3.2 离心机。

2.3.3 振荡器。

2.3.4 超声波清洗器。

2.3.5 高压液相色谱仪：具可变波长的紫外检测器、数据处理系统或记录仪。

2.4 操作步骤：照高效液相色谱法，按《中华人民共和国药典》测定，避光操作。

2.5 系统适用性试验：用硅胶为填充剂（建议色谱柱：SupelcosiLC-SI 4.6m m × 250m m，5 μm），以0.45% 异丙醇的正己烷溶液为A 相，20% 异丙醇的正己烷溶液为B 相，按表A 3进行梯度洗脱；流速为1.0m L/m in；检测波长为265nm；进样量为40 μL；柱温为25℃。待基线平稳后，分别进对照品溶液和样品溶液。对照品溶液重复进样6次，维生素D 峰面积的RSD 应不大于3.0%，维生素D 的拖尾因子不大于2.0。

表A 3.色谱系统梯度洗脱程序

时间，m in	流动相A，%	流动相B，%
0.00	100	0
25.00	100	0
26.00	0	100
30.00	0	100
31.00	100	0
37.00	100	0

注：A 相中的异丙醇可以适当调整；梯度洗脱程序可根据实际情况进行适当调整。

2.6 对照品溶液的制备：精密称取25m g维生素D 对照品于100m L棕色容量瓶中。加适量正己烷使溶解，并稀释至刻度，摇匀，为标准储备溶液。精密量取5.0m L标准储备溶液于100m L棕色容量瓶中，用正己烷稀释至刻度，摇匀，为中间标准储备溶液；精密量取5.0m L该中间标准储备溶液于100m L棕色容量瓶中，用正己烷稀释至刻度，

摇匀，即为维生素D 对照品溶液。（注：维生素D 标准储备溶液可冰箱保存14天）

2.7 样品溶液的制备：取样品20片，粉碎成细粉，精密称取约2片量样品粉末，于50m L离心管中（注意避光操作）。加入约20m L二甲亚砜的水溶液（3：1），密塞，摇匀。将离心管置于45℃±5℃水浴超声15m in，并时时振摇离心管；然后，冷却至室温。精密加入15.0m L正己烷，机械振摇90m in。3000转离心约5m in，取上清液，即为样品溶液。

2.8 测定法： 分别注入等体积（40 μL）的对照品溶液和样品溶液。

2.9 结果计算

$$\text{样品中维生素D}_3\text{的含量 (}\mu\text{g/g)} = \frac{A_s \times c \times f \times 1.09}{A_{st} \times W}$$

式中：

- A_s—样品溶液的峰面积；
- A_{st}—对照品溶液的峰面积；
- C—对照品溶液的浓度，μg/mL；
- f—样品稀释倍数；
- W—样品的重量，g；
- 1.09-U SP转换因子用于计算维生素D 总量，包括Vitamin D 和 Pre-vitamin D 。

3 维生素E 的测定

3.1 原理：样品中的维生素E 经7% 冰醋酸溶液破包衣后，溶解于异丙醇-冰醋酸混合溶液，用高压液相色谱，紫外检测器外标法定量测定。

3.2 试剂

所有试剂，如未注明规格，均指分析纯；所有实验用水，如未注明其他要求，均指三级水。

- 3.2.1 甲醇：色谱级。
- 3.2.2 异丙醇：色谱纯。
- 3.2.3 甲基叔丁基醚：色谱纯。
- 3.2.4 冰醋酸：分析纯。
- 3.2.5 2% /7% 冰醋酸溶液：分别吸取2m L/7m L冰醋酸至100m L容量瓶中，加水稀释至刻度，混匀。
- 3.2.6 维生素E 醋酸酯油（DL-Alpha-TocopherylAcetate Oil）对照品：纯度约100%

3.3 仪器

- 3.3.1 常用实验室仪器及50m L离心管。
- 3.3.2 超声清洗器。
- 3.3.3 机械振摇器。
- 3.3.4 离心机。
- 3.3.5 高压液相色谱仪：具可变波长的紫外检测器、数据处理系统或记录仪。

3.4 操作步骤：照高效液相色谱法，按《中华人民共和国药典》测定，避光操作。

3.5 系统适用性试验：用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（建议色谱柱：Waters Resolve C18，3.9mm×300mm，5μm），以甲醇为A相，水为B相，甲基叔丁基醚为C相，按表A 4进行梯度洗脱；流速为1.5m L/m in；检测波长为265nm，柱温为25℃，进样量为50 μL。待基线平稳后，用对照品溶液重复进样6次，维生素E 峰面积的RSD 不大于3.0%，维生素E 的拖尾因子均不大于2.0。

表A 4. 色谱系统梯度洗脱程序，A：甲醇；B：水；C：甲基叔丁基醚

时间，m in	流动相A，%	流动相B，%	流动相C，%
0.0	92	8	0
15.0	92	8	0
15.1	97	3	0
36.0	97	3	0
36.1	100	0	0
38.0	100	0	0
38.1	40	0	60
40.0	40	0	60
40.1	100	0	0
42.0	100	0	0
42.1	92	8	0
45.0	92	8	0

注：梯度洗脱程序可根据实际情况进行适当调整。

3.6 对照品溶液的制备：准确称取48mg维生素E醋酸酯油对照品到100mL避光容量瓶中，加10mL预热至47℃的2%冰醋酸溶液，置于47℃水浴振摇10min；加约70mL预热至47℃的异丙醇，漩涡混匀，置于47℃水浴振摇10min，放冷至室温，异丙醇定容至刻度。此为维生素E标准储备液。取50.0mL维生素E标准储备液于100mL容量瓶中，用异丙醇定容至刻度，混匀。此为维生素E对照品溶液。

3.7 样品溶液的制备：取样品20片，粉碎成细粉。精密称取约1片量样品粉末，置100mL避光容量瓶。加15mL预热至60℃的7%冰醋酸溶液，置于60℃水浴振摇10min；再于60℃水浴超声处理15min。加约35mL预热至60℃的异丙醇，漩涡混匀，置于60℃水浴振摇10min，冷却至室温，异丙醇定容至刻度。此溶液离心后取上清液，即得，为样品溶液。

3.8 测定：分别注入等体积（50μL）的对照品溶液和样品溶液，测定。

3.9 结果计算：

$$\text{样品中维生素E的含量 (以 } \alpha\text{-生育酚计, mg/g)} = \frac{A_s \times C \times f}{A_{st} \times W \times 1.49}$$

式中：

A_s —样品溶液的峰面积；

A_{st} —对照品溶液的峰面积；

C —对照品溶液的浓度；

f —样品稀释倍数；

W —样品的重量，g；

1.49—1mg维生素E（以 α -生育酚当量计）相当于1.49mg维生素E醋酸酯。

4 维生素K₁的测定

4.1 原理：本方法参考GB 5430.10-2010婴幼儿食品和乳品中维生素K₁的测定原理。样品中的维生素K₁经7%冰醋酸溶液破包衣后，溶解于乙醇-冰醋酸混合溶液，用高压液相色谱分离，柱后还原维生素K₁，荧光检测器定量测定，外标法定量。

4.2 试剂：

所有试剂，如未注明规格，均指分析纯；所有实验用水，如未注明其他要求，均指三级水。

4.2.1 盐酸：试剂级。

4.2.2 乙醇：色谱级无水乙醇。

4.2.3 甲醇：色谱级。

4.2.4 异丙醇：色谱纯。

4.2.5 正己烷：试剂级。

4.2.6 冰醋酸：分析纯。

4.2.7 无水醋酸钠：试剂级。

4.2.8 无水氯化锌：试剂级。

4.2.9 锌粉：试剂级。

4.2.10 7%冰醋酸溶液：量取7mL冰醋酸至93mL水中，混匀。

4.2.11 锌缓冲液：称取27.2g氯化锌，8.2g醋酸钠和取2mL冰醋酸于200mL容量瓶中，加约120mL甲醇并机械振摇30min，再加20mL乙醇，并用甲醇加至临近刻度线，冷却至室温，用甲醇定容。

4.2.12 维生素K₁对照品：纯度约100%。

4.3 仪器

4.3.1 常用实验室仪器及50mL离心管。

4.3.2 超声清洗器。

4.3.3 机械振摇器。

4.3.4 离心机。

4.3.5 高压液相色谱仪：荧光检测器、数据处理系统或记录仪。

4.4 操作步骤：照高效液相色谱法，按《中华人民共和国药典》测定，避光操作。

4.5 系统适用性试验：色谱柱：包括分析柱Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18，5μm，3mm×150mm，或具同等性能的色谱柱；反应柱：4mm×20mm锌粉柱；预柱：Agilent Eclipse XDB-C18或具同等性能的预柱。流动相为：在1L的瓶中，加800mL甲醇，200mL乙醇，10mL锌缓冲液，混匀。流速为0.8mL/min；荧光检测器激发波长为243nm，发射波长为430nm。柱温为25℃，进样量为10μL。样品盘温度为：8℃。待基线平稳后，用对照品溶液重复进样6次，维生素K₁峰面积的RSD不大于2.0%，维生素K₁的拖尾因子均不大于2.0。维生素K₁的保留时间约6min。注：从进样器到检测器方向安装色谱柱：分析柱，反应柱，C18预柱。

4.6 对照品溶液的制备：准确称取30mg维生素K₁到100mL棕色容量瓶中，用正己烷溶解并定容至刻度，该溶液为S1，在冷藏条件下可保存1个月。移取5.0mL的标准储备液S1至100mL棕色容量瓶中，用异丙醇定容至刻度，该溶液为中间储备液S2，在冷藏条件下可保存1个月；移取3.0mL的中间储备液S2到500mL棕色容量瓶中，用甲醇定容至刻度，该溶液为S3，浓度约为0.090μg/mL，在冷藏条件下可保存1个月。

4.7 样品溶液的制备：取样品20片，粉碎成细粉。精密称取约0.5片量样品粉末，置50mL避光离心管中，加15mL 7

% 冰醋酸并将样品漩涡分散，将离心管放入60℃水浴振摇10m in，再于60℃水浴超声处理15m in，移出，趁热再次漩涡振荡5~10秒；加10m L乙醇，漩涡振荡混匀。将离心管放入60℃水浴振摇10m in，移出水浴，趁热再次漩涡振荡5~10秒；冷却至室温，精密加入10.0m L正己烷，漩涡振荡15秒，确保无泄漏，机械振荡20m in；将离心管在2500rpm 的转速下离心5m in，移取3.0m L的上清液于50m L的棕色容量瓶中，用甲醇定容，摇匀，为样品溶液。

4.8 测定法： 分别注入等体积（10 μL）的对照品溶液和样品溶液，测定。

4.9 结果计算

$$\text{维生素K}_1\text{的含量 (}\mu\text{g/g)} = \frac{A_s \times c \times f}{A_{st} \times W}$$

式中：

- A_s—样品溶液的峰面积；
- A_{st}—对照品溶液的峰面积；
- c—对照品溶液的浓度， μg/mL；
- f—样品稀释因子；
- W —样品的重量， g。

5 维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、烟酰胺、叶酸、泛酸的测定

5.1 原理：样品中的维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、烟酰胺、叶酸、泛酸在弱酸性缓冲溶液中经提取后，用高压液相色谱，紫外检测器外标法定量测定。

5.2 试剂

所有试剂，如未注明规格，均指分析纯；所有实验用水，如未注明其他要求，均指三级水。

- 5.2.1 甲醇：色谱纯。
- 5.2.2 二甲基亚砜（DMSO）：试剂级。
- 5.2.3 冰醋酸：试剂纯。
- 5.2.4 碳酸钠：试剂级。
- 5.2.5 磷酸（85%）：试剂级。
- 5.2.6 磷酸二氢钾（KH₂PO₄）：试剂级。
- 5.2.7 己烷磺酸钠（C₆H₁₃NaO₃S）：色谱级。
- 5.2.8 硫氰酸铵（NH₄CNS）：试剂级。
- 5.2.9 硫酸钠（Na₂SO₄）：试剂级。
- 5.2.10 碳酸钠溶液：4.0g碳酸钠，加4000m L水溶解，混匀。
- 5.2.11 提取液：在1L的容量瓶中，称取5g硫氰酸铵，960m L的DMSO和40m L冰醋酸，混匀至溶解。
- 5.2.12 稀释液：称取28.4g硫酸钠，加80m L冰醋酸，再加3920m L水混匀。
- 5.2.13 STD 稀释液：取100m L提取液和900m L稀释液混匀。
- 5.2.14 维生素B₁（Thiamine Mononitrate）对照品：约100%。
- 5.2.15 维生素B₂（Riboflavin）对照品：约100%。
- 5.2.16 维生素B₆（Pyridoxine HCl）对照品：约100%。
- 5.2.17 烟酰胺（Nicotinamide）对照品：约100%。
- 5.2.18 泛酸钙（Calcium Pantothenate）对照品：约100%。
- 5.2.19 叶酸（Folic acid）对照品：约91%。

5.3 仪器

- 5.3.1 常用实验室仪器。
- 5.3.2 水浴恒温振荡器。
- 5.3.3 振荡器。
- 5.3.4 pH计。
- 5.3.5 高压液相色谱仪：具可编程的紫外检测器、数据处理系统或记录仪。

5.4 操作步骤：照高效液相色谱法，按《中华人民共和国药典》测定，避光操作。

5.5 色谱条件与系统适用性试验：色谱柱：Agilent Zorbax poroshell 120EC-C18 2.7 μm 100mm × 4.6mm，或具同等性能的色谱柱；流动相A：称取1.2g己烷磺酸钠和3.4g磷酸二氢钾溶于1L超纯水中，用10% 的磷酸溶液调pH至4.0；甲醇为流动相B相，按表A5进行梯度洗脱；流速为1.0m L/m in；检测波长：250nm处烟酰胺；210nm处泛酸；280nm处维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆和叶酸；各组分的出峰顺序为：烟酰胺、泛酸、维生素B₆、叶酸、维生素B₁、维生素B₂，进样量为10 μL；柱温为30℃。开始时检测波长250nm，当烟酰胺出峰结束后，波长转为210nm，等泛酸出峰结束后再调到280nm。连续6针对照品各峰面积的RSD应不大于2.0%；分离度不低于2.0；所有主峰的拖尾因子不超过2.0。

表A 5.色谱系统梯度洗脱程序

时间，m in	流动相A	流动相B
0.00	95	5

4.00	95	5
16.00	75	25
20.00	75	25
20.50	95	5
24.00	95	5

注意：因为食品级样品中干扰测定的杂质峰较多，可通过调整两相梯度的比例来调节色谱峰的分离程度，并同步调整检测波长的时间范围。

5.6 对照品溶液的制备：准确称取320mg烟酰胺、32mg维生素B₆、110mg泛酸钙、25mg维生素B₁和28mg维生素B₂于200mL棕色容量瓶中，加20mL提取液，超声5min；再加20mL稀释液，超声5min；再加100mL稀释液，机械振摇30min。用稀释液定容至刻度，摇匀。此溶液为标准储备液A。

准确称取28mg叶酸于100mL棕色容量瓶中，加75mL碳酸钠溶液，超声5min，用碳酸钠溶液定容至刻度。此溶液为标准储备液B。

精密移取2.0mL标准储备液B于100mL棕色容量瓶中，加适量STD稀释液，混匀，再加20.0mL标准储备液A，用STD稀释液定容至刻度，摇匀，用0.45μm的滤膜过滤，即得对照品溶液。（注：对照品标准储备液可冰箱保存23天。）

5.7 样品溶液的制备：取样品20片，粉碎成粉末。准确称取约1.4片量样品粉末，置于100mL棕色容量瓶中。加入10mL提取液到容量瓶中，振荡至完全湿润样品粉末，超声5min；加10mL稀释液到容量瓶中，超声5min；加60mL稀释液，机械振摇30min。用稀释液定容至刻度，混匀，用0.45μm的滤膜过滤，即得样品溶液。

5.8 测定：分别取对照品溶液和样品溶液10μL注入液相色谱仪。

5.9 计算结果

$$\begin{aligned} \text{样品中维生素B}_1\text{的含量 (mg/g)} &= \frac{A_s \times c \times f \times 1.030}{A_{st} \times W} \\ \text{样品中维生素B}_2\text{的含量 (mg/g)} &= \frac{A_s \times c \times f}{A_{st} \times W} \\ \text{样品中维生素B}_6\text{的含量 (mg/g)} &= \frac{A_s \times c \times f}{A_{st} \times W} \\ \text{样品中烟酰胺的含量 (mg/g)} &= \frac{A_s \times c \times f}{A_{st} \times W} \\ \text{样品中叶酸的含量 (mg/g)} &= \frac{A_s \times c \times f \times 0.92}{A_{st} \times W} \end{aligned}$$

式中：

- A_s—样品溶液的峰面积；
- A_{st}—对照品溶液的峰面积；
- C—对照品溶液的浓度，mg/mL；
- f—样品稀释倍数；
- W—样品的重量，g；
- 1.030—盐酸硫胺对硝酸硫胺的分子量比；
- 0.92—泛酸和泛酸钙的转换因子。

6 维生素C的测定

6.1 原理：样品中的维生素C溶解于水后，采用电位滴定法用碘液滴定。

6.2 试剂

所有试剂，如未注明规格，均指分析纯；所有实验用水，如未注明其他要求，均指三级水。

6.2.1 乙醇95%：试剂级。

6.2.2 硫酸：试剂级。

6.2.3 碘滴定液：0.05mol/L。

6.2.4 0.2mol/L硫酸：吸取22.0mL的浓硫酸至约含1500mL纯水的2000mL容量瓶中，摇匀，冷却后定容，再混匀。

6.2.5 0.05mol/L硫酸：吸取5.5mL的浓硫酸至约含1500mL纯水的2000mL容量瓶中，摇匀，冷却后定容，再混匀。

6.2.6 维生素C（Ascorbic Acid）对照品，纯度约100%。

6.3 仪器

6.3.1 常用实验室仪器。

6.3.2 磁力搅拌器。

6.3.3 电位滴定仪：METTLER TOLEDO DL53 Titrator。

6.3.4 电极：DM il40-SC氧化还原滴定用复合铂丝电极。

6.3.5 滴定杯：250m L玻璃滴定杯。

6.4 系统验证

6.4.1 系统验证溶液的制备：准确称取60m g维生素C对照品至250m L大口径滴定杯中。用20m L乙醇完全润湿标准品。加入90m L 0.05m ol/L的硫酸至大口径滴定杯。加入50m L纯水。用搅拌棒或用搅拌转子在搅拌器上将溶液混匀。

6.4.2 系统验证步骤：浸没铂电极到系统验证溶液中，0.05m ol/L的碘滴定液滴定，电位滴定法确定终点。每1m L的碘滴定液（0.05m ol/L）相当于8.806m g的维生素C。系统验证溶液中计算所得的维生素C的含量应在维生素C标准品实际含量的97% ~103% 范围内。

6.5 样品溶液的制备：取样品20片，粉碎成细粉。准确称取约0.8片量样品粉末至250m L的大口径滴定杯中。加入20m L乙醇，将样品完全润湿。加入90m L 0.2m ol/L的硫酸至大口径滴定杯。加入50m L纯水。用搅拌棒或用搅拌转子在搅拌器上将溶液混匀。注意：为确保充分混匀，可将样品溶液高速搅拌，在系统里可设置转速。维生素C水溶液易被空气氧化，因此溶液制备完后应尽快滴定，不要延误。

6.6 样品溶液的滴定：浸没铂电极到样品溶液中，0.05m ol/L的碘滴定液滴定，电位滴定法确定终点。每1m L的碘滴定液（0.05m ol/L）相当于8.806m g的维生素C（C₆H₈O₆）。

6.7 结果计算

$$\text{样品中维生素C的含量 (m g/g)} = \frac{V \times 8.806 \times N F}{W}$$

式中：

V—消耗0.05m ol/L碘滴定液的毫升数；

8.806—每毫升0.05m ol/L碘滴定液相当于维生素C的毫克数；

N F—0.05m ol/L碘滴定液的浓度因子；

W —样品的重量，g。

7 维生素B₁₂的测定

7.1 原理：本方法参考G B/T 5009.217-2008保健食品中维生素B₁₂的测定。样品中的维生素B₁₂经甲醇/0.5% 硫氰酸铵溶液经提取后，用高压液相色谱，紫外检测器外标法定量测定。

7.2 试剂

所有试剂，如未注明规格，均指分析纯；所有实验用水，如未注明其他要求，均指三级水。

7.2.1 乙腈：色谱级。

7.2.2 甲醇：色谱级。

7.2.3 磷酸：试剂级。

7.2.4 0.5% 硫氰酸铵溶液：称取5g硫氰酸铵至1L的容量瓶中，用纯水定容。

7.2.5 0.1% 磷酸溶液：取2m L磷酸至2L的容量瓶中，用纯水定容。

7.2.6 甲醇/0.5% 硫氰酸铵溶液（50/50）：将500m L的甲醇和500m L的0.5% 硫氰酸铵溶液等量混匀。

7.2.7 0.1% 磷酸溶液/乙腈（90/10）：将900m L的0.1% 磷酸溶液和100m L的乙腈混匀。

7.2.8 维生素B₁₂对照品：纯度约100%。

7.3 仪器

7.3.1 常用实验室仪器及50m L离心管。

7.3.2 超声清洗器。

7.3.3 机械振荡器。

7.3.4 离心机。

7.3.5 高压液相色谱仪：紫外检测器、数据处理系统或记录仪。

7.4 操作步骤：照高效液相色谱法，按《中华人民共和国药典》测定，避光操作。

7.5 系统适用性试验：色谱柱：W aters Sym m etry C18，4.6×250m m，5 μm，或具同等性能的色谱柱。流动相：A相为0.1% H₃P O₄，B相为乙腈，见表A6色谱系统梯度表。流速为0.5m L/m in；检测器波长为550nm；柱温为25℃，进样量为200 μL。待基线平稳后，用对照品溶液重复进样6次，维生素B₁₂峰面积的RSD 不大于3.0%，维生素B12的拖尾因子均不大于2.0。

表A.6.色谱系统梯度表

时间，m in	0.1% H ₃ P O ₄ （M P A）	乙腈A ce（M P B）	流速，m L/m in
0.00	90	10	0.5
20.00	50	50	0.5
21.00	5	95	0.5

30.00	5	95	0.5
31.00	90	10	0.5
40.00	90	10	0.5

注：梯度洗脱程序可根据实际情况进行适当调整

- 7.6 对照品溶液的制备：准确称取29mg B₁₂对照品到200mL棕色容量瓶中，用甲醇/0.5% 硫氰酸铵溶液（50/50）溶解，机械振荡约15min，并定容至刻度，混匀，此溶液为标准储备液。移取4.0mL的标准储备液至200mL棕色容量瓶中；用0.1% 磷酸溶液/乙腈（90/10）溶解并定容至刻度，混匀，此溶液为标准中间液。移取5.0mL标准中间液至100mL棕色容量瓶中。用0.1% 磷酸溶液/乙腈（90/10）溶解并定容至刻度，混匀。此溶液为对照品溶液。
- 7.7 样品溶液的制备：取样品20片，粉碎成粉末。准确称取约2片量样品粉末，置于50mL避光离心管中；加25.0mL甲醇/0.5% 硫氰酸铵溶液（50/50）到离心管溶解，振荡，摇匀；高速机械振摇30min；离心管离心5min；移取3.0mL 0.1% 磷酸溶液至合适的避光容器中；移取2.0mL过滤后的样品溶液到同一避光容器中，混匀；上述溶液用0.45μm的滤膜过滤至进样小瓶中。此溶液为样品溶液。
- 7.8 测定：分别注入等体积（200μL）的对照品溶液和样品溶液，测定。
- 7.9 结果计算

$$\text{样品中维生素B}_{12}\text{的含量（}\mu\text{g/g）} = \frac{A_s \times c \times f}{A_{st} \times W}$$

式中：

- A_s—样品溶液的峰面积；
- A_{st}—对照品溶液的峰面积；
- c—对照品溶液的浓度，μg/mL；
- f—样品稀释倍数；
- W—样品的重量，g。

8 生物素的测定

- 8.1 原理：样品中的生物素经7.5% 磷酸溶液溶解、水浴提取后，用高压液相色谱，紫外检测器外标法定量测定。
- 8.2 试剂
- 所有试剂，如未注明规格，均指分析纯；所有实验用水，如未注明其他要求，均指三级水。
- 8.2.1 乙腈（CH₃CN）：色谱级。
- 8.2.2 硫氰酸铵（NH₄SCN）：试剂级。
- 8.2.3 甲醇：色谱级。
- 8.2.4 磷酸85% w/w（H₃PO₄）：色谱级。
- 8.2.5 二水合磷酸二氢钠（NaH₂PO₄·2H₂O）：试剂级。
- 8.2.6 十二水合磷酸氢二钠（Na₂HPO₄·12H₂O）：试剂级。
- 8.2.7 标准稀释液：称取35.8g十二水合磷酸氢二钠（Na₂HPO₄·12H₂O）到合适的容器中，加2L水溶解混匀。
- 8.2.8 0.5% 硫氰酸铵（w/v）的甲醇：称取5g硫氰酸铵到1000mL甲醇中，溶解，混匀。
- 8.2.9 洗针溶液：10% v/v 乙腈/水。
- 8.2.10 7.5% 磷酸溶液：量取88mL 85% 磷酸溶液至1000mL容量瓶中，用水稀释定容。
- 8.2.11 SealWash溶液：10% v/v 乙腈/水。
- 8.2.12 生物素对照品：纯度约100%。

8.3 仪器

- 8.3.1 常用实验室仪器及50mL离心管。
- 8.3.2 超声清洗器。
- 8.3.3 机械振荡器。
- 8.3.4 离心机。
- 8.3.5 高压液相色谱仪：紫外检测器、数据处理系统或记录仪。
- 8.4 操作步骤：照高效液相色谱法，按《中华人民共和国药典》测定，避光操作。
- 8.5 系统适用性试验：色谱柱：Gemini C18，4.6mm×250mm，3μm，或具同等性能的色谱柱。预柱：Gemini C18，4.0mm×3.0mm，Phenomenex part# AJO-7597（Guard Cartridge Kit，Phenomenex part# AJO-4282），或具同等性能的预柱。
- 流动相A相：称取15.6g二水合磷酸二氢钠（NaH₂PO₄·2H₂O）和4.9g磷酸85%到2L的容器中，加2L的水，溶解，混匀；B相为通过0.45μm的滤膜过滤的标准稀释液；C相为50% v/v 乙腈/水。其中，流动相A中磷酸的量可在±10%的范围内适当调节，以满足更好的分离效果。按表A7色谱系统梯度表运行。
- 流速为1.0mL/min；检测器波长为210nm；柱温为45±2℃，进样量为200μL。待基线平稳后，用对照品溶液重复进样6次，生物素峰面积的RSD不大于2.0%。

表A7. 色谱系统梯度表

时间，min	A，%	B，%	C，%
--------	-----	-----	-----

0.00	82.0	0.00	18.0
9.80	82.0	0.00	18.0
9.90	47.0	47.0	6.00
20.0	47.0	47.0	6.00
20.1	0.00	0.00	100
23.0	0.00	0.00	100
23.1	82.0	0.00	18.0
40.0	82.0	0.00	18.0

注：梯度洗脱程序可根据实际情况进行适当调整

8.6 对照品溶液的制备：准确称取25m g生物素对照品到100m L棕色容量瓶中，加约50m L标准稀释液，超声并不断振摇直至溶解（约1m in），用标准稀释液定容至刻度，摇匀，此为标准储备液。移取3.0m L标准储备液至250m L棕色容量瓶中；用水定容至刻度，混匀，此溶液为对照品溶液。

8.7 样品溶液的制备：取样品20片，粉碎成粉末。准确称取约3.7片量样品粉末，置于100m L棕色容量瓶；加10m L 0.5% 硫氰酸铵的甲醇，旋涡分散，超声5m in。缓慢滴加20m L 7.5% 磷酸溶液，加水至50m L，振摇。将样品置于65度水浴15m in。将样品移出水浴，趁热高速机械振摇15m in。冷却至室温，用水定容至刻度，摇匀。将样品在3500转速下离心5m in。用0.2 μm 滤膜过滤上清液至进样小瓶中，初滤液丢弃。此溶液为样品溶液。注意：操作过程中一定要缓慢滴加7.5% 磷酸溶液，边加边摇，直到反应平息。

8.8 测定：分别注入等体积（200 μL）的对照品溶液和样品溶液，测定。

8.9 结果计算

$$\text{样品中生物素的含量}(\mu\text{g/g}) = \frac{A_s \times c \times f}{A_{st} \times W}$$

式中：

- A_s—样品溶液的峰面积；
- A_{st}—对照品溶液的峰面积；
- C—对照品溶液的浓度，μg/mL；
- F—样品稀释倍数；
- W—样品的重量，g。

9 钙、铜、铁、锌、镁、锰的测定

9.1 原理：本方法参考GB 5413.21-2010婴幼儿食品和乳品中钙、铁、锌、钠、钾、镁、铜和锰的测定第二法。样品经混酸溶液消化，稀释至合适体积后用电感耦合等离子体原子发射光谱仪测定，内标法定量。

9.2 试剂

9.2.1 硝酸：优级纯。

9.2.2 盐酸：优级纯。

9.2.3 混合酸溶液：取 750 mL 盐酸和375 mL 硝酸至2000m L容量瓶，用水稀释至接近刻度，冷却，用水定容至刻度，混匀。

9.2.4 参考标准溶液：Ca、Mg标准溶液：10000 μg/mL；Cu、Fe、Mn、Zn标准溶液：1000 μg/mL

9.2.5 参考标准溶液：钇（Y）标准溶液：1000 μg/mL

9.3 仪器

9.3.1 电热板。

9.3.2 等离子发射光谱ICP。

表A 8：等离子发射光谱参数（测试波长可根据不同的仪器型号进行适当的调整）

常量元素	波长，nm
钙 Ca	317.933
铜 Cu	324.752
铁 Fe	259.939
镁 Mg	279.077
锰 Mn	257.610
锌 Zn	213.857
Y（IS）钇（内标）	371.029

9.4 对照品溶液的制备

9.4.1 50 μg/mL钇内标溶液的制备：吸取10.0m L1000 μg/mL的钇标准溶液至200m L容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。该标准溶液为：50 μg/mL Y（IS）。

9.4.2 100 μg/mL铜标准溶液的制备：吸取10.0m L1000 μg/mL的铜标准溶液至100m L容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。该标准溶液为：100 μg/mL Cu标准溶液。

9.4.3 常量空白溶液的制备：吸取0.5m L的混酸溶液和2.0m L 50 μg/mL Y（IS）至100m L容量瓶中，用水定容至刻度

，混匀。该溶液为常量空白溶液。

9.4.4 常量储备标准溶液：吸取表A 9参考标准溶液至100m L容量瓶中，加20m L混酸溶液，用水定容至刻度，混匀。该复合储备标准溶液为：常量储备标准溶液。

表A 9：常量储备标准溶液

元素	标准溶液体积，m L	浓度， μg/m L
Ca， 10000 μg/m L	8.0	800
Cu， 100 μg/m L	2.0	2.0
Fe， 1000 μg/m L	4.0	40
M g， 10000 μg/m L	2.0	200
M n， 1000 μg/m L	1.3	13
Z n， 1000 μg/m L	4.0	40

9.5 常量工作标准溶液的制备：分别移取2.0m L、5.0m L、10.0m L、15.0m L、20.0m L常量储备标准溶液至5个100m L容量瓶。分别加入2.0m L 50 μg/m L钇内标溶液。纯水稀释至刻度，摇匀。（分别制备得常量工作标准溶液STD 1、2、3、4、5）

9.6 常量工作标准溶液浓度

表A 10：常量工作标准溶液浓度：

元素	W orking STD 1 C onc., μg/m L	W orking STD 2 C onc., μg/m L	W orking STD 3 C onc., μg/m L	W orking STD 4 C onc., μg/m L	W orking STD 5 Co nc., μg/m L
Ca	16	40	80	120	160
Cu	0.04	0.1	0.2	0.3	0.4
Fe	0.8	2.0	4.0	6.0	8.0
M g	4	10.0	20.0	30.0	40.0
M n	0.26	0.65	1.3	1.95	2.6
Z n	0.8	2.0	4.0	6.0	8.0
Y（IS）	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

9.7 样品溶液的制备

9.7.1 常量样品储备溶液的制备：取样品20片，粉碎成细粉。精密称取相当于5片的样品粉末至250m L烧杯中，加50m L混酸，使其静置反应15m in。将样品置于已预热的电热板上，温和加热并消化样品，避免煮沸，样品溶解后继续加热30m in，不时搅拌。如果溶液开始沸腾，将烧杯从电热板上移开，当溶液停止沸腾后，再将烧杯置于电热板（注：在消化的最后10m in内不要搅拌混匀）。将上层溶液转移至200m L容量瓶中；再加50m L混酸至原烧杯中，在电热板上进一步消化30m in；将烧杯中溶液转移至上述200m L容量瓶中，用水冲洗，一并转移；冷却至室温，用水定容至刻度，混匀；用W hatm an # 541或相当滤纸过滤，弃去10-15m L初滤液。此滤液为常量样品储备溶液。

9.7.2 常量样品工作溶液的制备：移取3.0m L常量样品储备溶液和5.0m L 50 μg/m L Y（IS）至250m L容量瓶。纯水稀释至刻度，摇匀。此溶液为常量样品工作溶液。

9.8 系统适应性测试：系统平衡后，测试空白溶液和标准工作液，线性回归系数r²应≥0.99，r≥0.995。连续读取3次读数，要求钙、铁、镁、锰和锌的读值的相对标准偏差应不大于5.0%，铜的读值的相对标准偏差应不大于10.0%。

9.9 测定：按照仪器和参数项下的要求，用空白液冲洗和稳定仪器，用工作标液校准常量元素的分析谱线，定出优化设置，分别在等离子发射光谱上测试对照品溶液和样品溶液，测定。

9.10 结果计算

$$\text{样品中钙、铜、铁、锌、镁、锰的含量 (mg/g)} = \frac{\text{SplC onc} \times \text{D F}}{\text{W} \times 1000}$$

式中：

SplC onc—测得样品溶液的浓度， μg/m L；

D F—样品稀释因子， m L；

W —样品的重量， g；

1000—1m g= 1000 μg。

10 铬、钼、硒的测定

10.1 原理： 本方法参考G B 5413.21-2010婴幼儿食品和乳品中钙、铁、锌、钠、钾、镁、铜和锰的测定第二法。样品经混酸溶液消化，稀释至合适体积后用电感耦合等离子体原子发射光谱仪测定，内标法定量。

10.2 试剂

10.2.1 硝酸：优级纯。

10.2.2 盐酸：优级纯。

10.2.3 混合酸溶液：取750m L盐酸和375m L硝酸至2000m L容量瓶，用水稀释至接近刻度，冷却，用水定容至刻度

，混匀。

10.2.4 参考标准溶液：Cr、Mo和Se：1000 µg/mL。

10.2.5 参考标准溶液：钪（Sc）标准溶液：1000 µg/mL。

10.3 仪器

10.3.1 电热板。

10.3.2 等离子发射光谱ICP。

表A 11：等离子发射光谱参数（测试波长可根据不同的仪器型号进行适当的调整）

微量元素	波长，nm
Cr	267.716
Se	196.026
Mo	202.030
Sc（IS）	361.383

10.4 对照品溶液的制备

10.4.1 基质溶液的制备：称取86.9g不含Cr、Mo、Se的空白辅料于2000m L容量瓶中，加1000m L混酸溶液，置于电热板加热30m in直至溶解，冷却至室温，用水定容，摇匀，过滤；此溶液为基质溶液。

10.4.2 20 µg/mL钪内标溶液的制备：吸取2.0m L钪标准溶液至100m L容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。该标准溶液为：20 µg/mL Sc（IS）。

10.4.3 微量空白溶液的制备：吸取10.0m L超纯水和1.0m L 20 µg/mL Sc（IS）至100m L容量瓶中，用基质溶液定容至刻度，混匀。该溶液为：微量空白溶液。

10.4.4 微量储备标准溶液：吸取表A 12参考标准溶液至500m L容量瓶中，加50m L混酸溶液，用水定容至刻度，混匀。该复合储备标准溶液为：微量储备标准溶液。

表A 12：微量储备标准溶液

元素	标准溶液体积，m L	浓度，µg/mL
Cr，1000 µg/mL	4.0	8
Se，1000 µg/mL	6.0	12
Mo，1000 µg/mL	5.0	10

10.4.5 微量工作标准溶液的制备：分别移取5.0m L、10.0m L、20.0m L微量储备标准溶液至3个100m L容量瓶。分别加入1.0m L 20 µg/mL钪内标溶液。用基质溶液稀释至刻度，摇匀。（分别制备得微量工作标准溶液STD 1，2，3）

10.4.6 微量工作标准溶液浓度

表A 13：微量工作标准溶液浓度：

元素	Working STD 1 Conc., µg/mL	Working STD 2 Conc., µg/mL	Working STD 3 Conc., µg/mL
Cr	0.4	0.8	1.6
Se	0.6	1.2	2.4
Mo	0.5	1.0	2.0
Sc（IS）	0.2	0.2	0.2

10.5 微量供试品溶液的制备：取样品20片，粉碎成细粉。精密称取相当于5片的样品粉末至250m L烧杯中，加50m L混酸，使其静置反应15m in。将样品置于已预热的电热板上，温和加热并消化样品，避免煮沸，样品溶解后继续加热30m in，不时搅拌。如果溶液开始沸腾，将烧杯从电热板上移开，当溶液停止沸腾后，再将烧杯置于电热板（注：在消化的最后10m in内不要搅拌混匀）。将上层溶液转移至已加入2.0m L 20 µg/mL Sc（IS）200m L容量瓶中；再加50m L混酸至原烧杯中，在电热板上进一步消化30m in；将烧杯中溶液转移至上述200m L容量瓶中，用水冲洗，一并转移；冷却至室温，用水定容至刻度，混匀；用Whatman # 541或相当滤纸过滤，弃去10~15m L初滤液。此滤液为微量样品溶液（此滤液也可用作常量样品储备溶液。）

10.6 系统适应性测试：系统平衡后，测试空白溶液和标准工作液，线性回归系数r²应≥0.99，r≥0.995。连续读取3次读数，要求铬、钼的读值的相对标准偏差应不大于5.0%，硒的读值的相对标准偏差应不大于10.0%。

10.7 测定法：按照仪器和参数项下的要求，用空白液冲洗和稳定仪器，用工作标液校准微量元素的分析谱线，定出优化设置，分别在等离子发射光谱上测试对照品溶液和样品溶液，测定。

10.8 结果计算

$$\text{样品中铬、钼、硒的含量（µg/g）} = \frac{\text{SplConc} \times \text{DF}}{W}$$

式中：

SplConc为测得样品溶液的浓度，µg/mL；

DF—样品稀释因子，m L；

W —样品的重量，g。

【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A 粉

项 目	指 标
来源	维生素A 醋酸酯、明胶、玉米淀粉、蔗糖、二丁基羟基甲苯
制法	经溶解、乳化（40～90℃）、喷雾干燥（进风温度77～93℃，出风温度50～60℃）、混合、分装等主要工艺制成
感官要求	淡黄色流动性颗粒
干燥失重，%	≤8
维生素A 含量，IU /g	≥500000
铅（以Pb计）,m g/kg	≤2
总砷（以As计）,m g/kg	≤2
总汞（以Hg计）,m g/kg	≤0.3
菌落总数,CFU /g	≤1000
霉菌和酵母菌数,CFU /g	≤100
大肠杆菌	≤0/10g
金黄色葡萄球菌	≤0/10g
沙门氏菌	≤0/25g

2.维生素D₃粉

项 目	指 标
来源	胆钙化醇、明胶、蔗糖、玉米淀粉、部分氢化大豆油、d1-α生育酚
制法	经溶解、乳化（40～90℃）、喷雾干燥（进风温度77～93℃，出风温度50～60℃）、分装等主要工艺制成
感官要求	类白色至淡黄色的易流动的颗粒
干燥失重，%	≤8
鉴别	（TLC）供试品溶液所显主斑点的颜色和位置应与维生素D ₃ 对照品溶液1的主斑点相同.
维生素D ₃ 含量,IU /g	100000～110000
铅（以Pb计）,m g/kg	≤2
总砷（以As计）,m g/kg	≤2
总汞（以Hg计）,m g/kg	≤0.3
菌落总数,CFU /g	≤1000
霉菌和酵母菌数,CFU /g	≤100
大肠杆菌	≤0/10g
金黄色葡萄球菌	≤0/10g
沙门氏菌	≤0/25g

3.β胡萝卜素粉

项 目	指 标
来源	β胡萝卜素、辛烯基琥珀酸淀粉钠、玉米淀粉、葡萄糖浆、抗坏血酸钠、d1-α生育酚
制法	经溶解、乳化（40～90℃）、减压蒸馏、喷雾干燥（进风温度77～93℃，出风温度40～50℃）、分装等主要工艺制成
感官要求	红棕色的颗粒状粉末
干燥失重，%	≤8
β胡萝卜素含量,%	≥20
铅（以Pb计）,m g/kg	≤2
总砷（以As计）,m g/kg	≤2
总汞（以Hg计）,m g/kg	≤0.3
菌落总数,CFU /g	≤1000
霉菌和酵母菌数,CFU /g	≤100
大肠杆菌	≤0/10g
金黄色葡萄球菌	≤0/10g
沙门氏菌	≤0/25g

4.维生素E 粉

项 目	指 标
来源	d1-α醋酸生育酚、麦芽糊精、辛烯基琥珀酸淀粉钠、二氧化硅
制法	经溶解、乳化（40～90℃）、喷雾干燥（进风温度77～93℃，出风温度40～50℃）、混合、分装等主要工艺制成
感官要求	本品为白色至浅黄色粉末
干燥失重，%	≤5
鉴别	在含量测定项下记录的色谱图中，供试品主峰的保留时间应与维生素E对照品峰的保留时间一致
维生素E 含量，%	≥50.0
铅（以Pb计），m g/kg	≤2
总砷（以As计），m g/kg	≤2
总汞（以Hg计），m g/kg	≤0.3
菌落总数，CFU /g	≤1000
霉菌和酵母菌数，CFU /g	≤100
大肠杆菌	≤0/10g
金黄色葡萄球菌	≤0/10g
沙门氏菌	≤0/25g

5.维生素K₁ 粉

项 目	指 标
来源	维生素K ₁ 、阿拉伯胶、蔗糖
制法	经溶解、乳化（40～90℃）、喷雾干燥（进风温度77～93℃，出风温度50～60℃）、分装等主要工艺制成
感官要求	本品为微黄色至黄色粉末
干燥失重，%	≤5
鉴别	(HPLC)供试品主峰保留时间应与对照品主峰的保留时间一致
顺式异构体	不得过21.0%
维生素K ₁ 含量，%	≥5.0
铅（以Pb计），m g/kg	≤2
总砷（以As计），m g/kg	≤2
总汞（以Hg计），m g/kg	≤0.3
菌落总数，CFU /g	≤1000
霉菌和酵母菌数，CFU /g	≤100
大肠杆菌	≤0/10g
金黄色葡萄球菌	≤0/10g
沙门氏菌	≤0/25g

6.生物素粉

项 目	指 标
来源	D-生物素、无水磷酸氢钙
制法	经混合、分装等主要工艺制成
感官要求	本品为白色粉末；无臭，无味
干燥失重，%	≤5
鉴别	在含量测定项下，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
生物素含量，%	应为标示量的100.0%～120.0%
铅（以Pb计），m g/kg	≤2
总砷（以As计），m g/kg	≤2
总汞（以Hg计），m g/kg	≤0.3
菌落总数，CFU /g	≤1000
霉菌和酵母菌数，CFU /g	≤100
大肠杆菌	≤0/10g
金黄色葡萄球菌	≤0/10g
沙门氏菌	≤0/25g

7.维生素B₁₂粉

项 目	指 标
来源	氰钴胺素、辛烯基琥珀酸淀粉钠、柠檬酸钠、柠檬酸、二氧化硅
制法	经溶解、喷雾干燥（进风温度77~93℃，出风温度40~50℃）、混合、分装等主要工艺制成
感官要求	粉红色细粉
干燥失重，%	≤5
鉴别	溶液在361±2nm 和550±3nm 有最大吸收
维生素B ₁₂ 含量	≥1.0%
铅（以Pb计）,m g/kg	≤2
总砷（以A s计）,m g/kg	≤2
总汞（以H g计）,m g/kg	≤0.3
菌落总数,CFU /g	≤1000
霉菌和酵母菌数,CFU /g	≤100
大肠杆菌	≤0/10g
金黄色葡萄球菌	≤0/10g
沙门氏菌	≤0/25g

8.碳酸钙粉

项 目	指 标
来源	碳酸钙、麦芽糊精
制法	经制粒、流化床干燥(约110℃)、过筛、包装等主要工序制成
感官要求	白色至类白色有流动性的颗粒
干燥失重，%	≤5
鉴别	符合规定
钙含量，%	≥37.0
碳酸钙含量，%	≥92.4
铅（以Pb计）,m g/kg	≤0.5
总砷（以A s计）,m g/kg	≤0.3
总汞（以H g计）,m g/kg	≤0.5
菌落总数,CFU /g	≤1000
霉菌和酵母菌数,CFU /g	≤100
大肠菌群，M PN /g	≤0.92
金黄色葡萄球菌	≤0/10g
沙门氏菌	≤0/25g

9.矿物质预混剂

项 目	指 标
来源	磷酸氢钙、三氯化铬、钼酸钠、亚硒酸钠、微晶纤维素
制法	经配料、投料、过筛、混合、过滤等主要工序制成
感官要求	白色至类白色粉末，间有深绿色晶体
干燥失重，%	≤5
铬 (ICP)，m cg/g	561.0~792.0
钼 (ICP)，m cg/g	748.0~1056.0
硒 (ICP)，m cg/g	879.75~1242.0
钙 (ICP)，m g/g	215.336~287.114
铅（以Pb计）,m g/kg	≤2
总砷（以A s计）,m g/kg	≤2
总汞（以H g计）,m g/kg	≤1
菌落总数,CFU /g	≤1000
霉菌和酵母菌数,CFU /g	≤100
大肠菌群，M PN /g	≤0.92
金黄色葡萄球菌	≤0/10g
沙门氏菌	≤0/25g

10.碳酸镁：应符合G B 25587《食品安全国家标准 食品添加剂 碳酸镁》的规定。

- 11.硫酸锰：应符合GB 29208《食品安全国家标准 食品添加剂 硫酸锰》的规定。
- 12.硫酸铜：应符合GB 29210《食品安全国家标准 食品添加剂 硫酸铜》的规定。
- 13.维生素C（L-抗坏血酸）：应符合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。
- 14.叶酸：应符合GB 15570《食品安全国家标准 食品添加剂 叶酸》的相应规定。
- 15.烟酰胺：应符合《中华人民共和国药典》的相应规定。
- 16.维生素B₆（盐酸吡哆醇）：应符合GB 14753《食品安全国家标准 维生素B₆（盐酸吡哆醇）》的相应规定。
- 17.维生素B₂（核黄素）：应符合GB 14752《食品安全国家标准 维生素B₂（核黄素）》的相应规定。
- 18.富马酸亚铁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 19.硫酸锌：应符合GB 25579《食品安全国家标准 食品添加剂 硫酸锌》的相应规定。
- 20.泛酸（D-泛酸钙）：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 21.维生素B₁（硝酸硫胺素）：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 22.薄膜包衣预混剂

项 目	指 标
来源	羟丙基甲基纤维素、二氧化钛、滑石粉、聚葡萄糖、麦芽糊精、中链甘油三酯、亮蓝铝色淀、靛蓝铝色淀
制法	经称量、混合、包装等主要工序制成
感官要求	蓝色粉末，样品中不应有杂质
色差	样品制备的供试卡片与标准品卡的色差应符合下列要求： $\Delta E \leq 2.5$
铅（以Pb计），mg/kg	≤ 1.5
总砷（以As计），mg/kg	≤ 0.5
红外鉴别	与对照品图谱一致
灰分，%	38.18~46.18
需氧菌总数，CFU/g	≤ 1000
霉菌和酵母，CFU/g	≤ 100
大肠埃希菌	每1g不得检出

- 23.二氧化硅：应符合GB 25576《食品安全国家标准 食品添加剂 二氧化硅》的规定。
- 24.羧甲基淀粉钠：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 25.硬脂酸镁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 26.微晶纤维素：应符合《中华人民共和国药典》的规定。