

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20080494

尤维斯牌B族维生素软胶囊

【原料】

【辅料】

【生产工艺】 本品经混合、过滤、压丸、干燥、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】

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	外观呈黄色，内容物呈黄色
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	椭圆形软胶囊，外观完整光洁；内容物为糊状物
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
灰分，g/100g	≤20	GB 5009. 4
崩解时限，min	≤60	《中华人民共和国药典》
酸价，mgKOH/g	≤4	GB/T 5009. 37
过氧化值，meq/kg	≤5	GB/T 5009. 37

铅（以Pb计），mg/kg	≤1.5	GB 5009.12
砷（以As计），mg/kg	≤1.0	GB/T 5009.11
汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3	GB/T 5009.17
柠檬黄，g/kg	≤0.2	SN/T 2105
黄曲霉毒素B ₁ ，μg/kg	≤10	GB/T 5009.22

【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	≤1000	GB 4789.2
大肠菌群，MPN/100g	≤40	GB/T 4789.3-2003
霉菌，cfu/g	≤25	GB 4789.15
酵母，cfu/g	≤25	GB 4789.15
致病菌（指沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌）	不得检出	GB 4789.4、GB 4789.5、GB 4789.10、GB/T 4789.11

【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	128~288	GB/T 5009.84
维生素B ₂ ，mg/100g	120~270	GB/T 5009.85
维生素B ₆ ，mg/100g	96~216	GB/T 5413.13
维生素B ₁₂ ，mg/100g	0.22~0.49	GB/T 5413.14
烟酸，mg/100g	528~1188	GB/T 5009.89
叶酸，mg/100g	14.4~32.4	1 叶酸的测定
泛酸，mg/100g	388~873	GB/T 5413.17

1 叶酸的测定

1.1 原理：乳酪乳酸杆菌的生长必需叶酸，培养基中若缺乏叶酸则该细菌不能生长，在一定条件下，乳酪乳酸杆菌的生长及其代谢产物的浓度与培养基中叶酸含量相关，可测定细菌代谢物或菌体的浓度，即用酸度或浑浊度测定样品中叶酸的含量。

1.2 仪器

1.2.1 恒温培养箱

- 1.2.2 离心机
- 1.2.3 高压消毒锅
- 1.2.4 振荡器
- 1.2.5 接种针和接种环
- 1.2.6 分光光度计

1.3 试剂

除特殊注明外，所用试剂均为分析纯；所用水为蒸馏水。

1.3.1 菌种：酪乳酸杆菌（*Lactobacillus casei*, ATCC7469）

1.3.2 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 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ，溶解于800mL水中，临用前，用约5g抗坏血酸调节pH值至6.8（因叶酸易受到氧化破坏，抗坏血酸可用于保护叶酸）。

1.3.3 叶酸标准溶液

1.3.3.1 叶酸标准储备液（200 $\mu\text{g/mL}$ ）：用0.01mol/L氢氧化钠的乙醇溶液配制，储存于棕色瓶中。

1.3.3.2 叶酸标准使用液（0.2 $\mu\text{g/mL}$ ）：用磷酸缓冲液稀释并定容。

1.3.3.3 叶酸标准使用液的标定：吸取1mL叶酸标准储备液，用0.1mol/L NaOH溶液定容至25mL。以0.1mol/L NaOH调零点，以1cm比色池，于256nm波长处测定吸光度值，测定3次，取平均值。

1.3.3.4 叶酸标准储备液浓度的计算

$$C = \frac{A \times M \times 25 \times 10^3}{E}$$

式中：

C—叶酸标准储备液浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

A—标准使用液平均吸光度值；

E—摩尔消光系数24500；

M—维生素 K_1 相对分子质量（441.42）；

25—稀释倍数；

10^3 —由g/L换算成 $\mu\text{g/mL}$ 的换算系数。

1.3.4 叶酸培养基：可从Difco公司订购，也可按以下方法配制。

1.3.4.1 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 NaOH溶液调节pH值至8.0，加入300mg胰酶，搅拌20min，使胰酶充分混匀。再加入2.5mL甲苯，置37℃恒温箱中酶解48~72h。将酪蛋白也从恒温箱中取出，121℃高压水解30min。冷却后加10g硅藻土搅拌，用布氏漏斗过滤。滤液中加入约60mL冰乙酸调节pH值至3.7。称取活性炭12g，加入滤液中搅拌10min，用布氏漏斗过滤（漏斗内铺有10g硅藻土），重复3次，滤液用水稀释至1200mL，液面上加入少许甲苯，于4℃冰箱内可保存1年。

1.3.4.2 乙酸缓冲液（1.7mol/L，pH4.5）：取38.65mg乙酸钠、19.8mL乙酸，加水稀释至500mL，液面上加入少许甲苯，于4℃冰箱内保存。

1.3.4.3 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。液面上加入少许甲苯，于4℃冰箱内保存。

1.3.4.4 尿嘧啶液：称取尿嘧啶0.2g，加入20%HCL溶液40mL，加热溶解，用水稀释至100mL，液面上加入少许甲苯，于4℃冰箱内保存。

1.3.4.5 维生素溶液：取100mL核黄素，溶解于40mL乙酸缓冲液中。取0.2g生物素、2.5mg NaHCO_3 、20mg对氨基苯甲酸、40mg盐酸吡多醇、4mg盐酸硫胺素、8mg泛酸钙、8mg盐酸，溶解于50mL水中。将上述两种溶液混合，加水至100mL。液面上加入少许甲苯，4℃冰箱内保存。

1.3.4.6 吐温-80溶液（2%）：液面上加入少许甲苯，于4℃冰箱内保存。

1.3.4.7 还原型谷胱甘肽溶液（1mg/mL）：液面上加入少许甲苯，于4℃冰箱内保存。

1.3.4.8 甲盐溶液：含5%磷酸氢二钾和2%磷酸二氢钾，液面上加少许甲苯，于4℃冰箱内保存。

1.3.4.9 乙盐溶液：含2%硫酸镁、0.5%硫酸亚铁、0.5%硫酸锰，液面上加入少许甲苯，于4℃冰箱内保

存。

1.3.4.10 基础培养基：取酶解酪蛋白溶液100mL、黄嘌呤溶液2.5mL、尿嘧啶溶液2.5mL、维生素溶液5mL、吐温-80溶液2.5mL、还原型谷胱甘肽溶液2.5mL、甲盐溶液2.5mL、乙盐溶液2.5mL、L-盐酸半胱氨酸0.2g、L-天冬氨酸0.3g、色氨酸0.2g、乙酸钠20g、葡萄糖20g，混合，用10mol/L氢氧化钠溶液调节pH值至6.8，加入乙酸缓冲液200mL，用水稀释至500mL。

1.3.4.11 琼脂培养基：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，于水浴中煮至琼脂完全溶化，调节pH值至6.8±0.1，尽快倒入试管中，每管3~5mL，塞上棉塞，在121℃高压灭菌15min，取出后直立试管，冷却至室温，于冰箱内保存。

1.4 菌种制备与保存

1.4.1 储备菌种的制备：将酪乳酸杆菌纯菌种转接至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，贮于冰箱内，每周转种一次留作储备菌种。

1.4.2 种子培养液的制备：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，在121℃高压灭菌15min，临用新配。

1.4.3 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支灭菌的种子培养液中，于37±0.5℃恒温培养16~24h，混悬种子培养液，取0.2mL转移至另2支无菌的种子培养液中，于37±0.5℃再培养6h，振荡混匀，立即使用。

（以下所有操作均需避光进行）

1.5 样品处理：准确称取样品0.1~0.5g（约含叶酸100~300μg），置于100mL锥形瓶中，加入50mL磷酸缓冲液，121℃高压水解15min，定容至100mL，过滤。

1.6 样品管的制备：将1.5项滤液用磷酸缓冲液做适当稀释，使溶液中叶酸的浓度为0.1~0.4μg/mL。取4支试管，每支试管中分别加入样品液1.0、2.0、3.0、4.0mL，补充水至5.0mL，再加5mL基础培养基，混匀。同样制作酶空白管。将以上标准系列管、样品管和酶空白管全部塞上棉塞，于121℃高压灭菌15min。在无菌操作条件下，每根测定管接种一滴接种液，于37±0.5℃恒温培养箱中培养30~40h。

1.7 标准曲线的制备：按上法制作标准系列管，使系列管中叶酸含量分别为0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0μg，培养后测定光密度值并绘制标准曲线。

1.8 样品测定：用分光光度计于540nm波长中，以未接种标准零管调零点，测定标准管、样品管和酶空白管的光密度值。

1.9 结果计算

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times V_1 \times n \times 100}{m \times V_2 \times 1000}$$

式中：

X—样品中叶酸的含量，mg/100g；

m₁—根据标准曲线查得的样品测定液中叶酸的含量，μg；

m₂—根据标准曲线查得的酶空白管中叶酸的含量，μg；

V₁—样品定容体积，mL；

n—稀释倍数；

V₂—样品测定管中加入的样品液体积，mL；

m—样品质量，g；

100

——由μg/g换算成mg/100g的系数。

1000

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】

【原辅料质量要求】
