

《保健食品中泛酸的测定》国家标准（征求意见稿）编制说明

一、工作简况

（一）任务来源

根据《国家标准化管理委员会关于下达 2023 年第二批推荐性国家标准计划及相关标准外文版计划的通知》（国标委发〔2023〕37 号），《保健食品中泛酸的测定》（计划号 20230864-T-424）列入修订计划，由全国特殊食品标准化技术委员会归口，由中国食品发酵工业研究院有限公司等单位共同组织完成起草修订工作。

（二）简要起草过程

GB/T 22246-2008《保健食品中泛酸钙的测定》为高效液相色谱法。在实际使用过程中，各级实验室对该方法提出了许多意见，一是该方法仅适用于添加了泛酸钙的保健食品的测定，而最新版本的保健食品原料目录营养素补充剂（2023 年版）中增加营养素泛酸的来源增加了 D-泛酸钠，适用性需要扩展。二是该方法并未对不同剂型保健食品的处理进行详细的规定，导致软糖、蛋白粉等剂型的保健食品无法准确测定泛酸。三是由于泛酸的紫外检测波长在 200 nm，可能有部分保健食品的基质会干扰色谱检测，影响检测结果。四是该方法没有规定检出限和定量限。

为了改进原有方法中存在的这些问题，本次增加了对 D-泛酸钠的测定，修改了结果表述，增加了由泛酸换算为泛酸钙或泛酸钠的换

算系数，针对不同样品增加了详细的前处理方法，增加了去除蛋白质的除杂步骤，增加了方法的检出限和定量限。具体的修订过程如下：

2023年8月~2023年10月，成立标准修订组，确定标准制修订方案和工作计划，并开展了方法学验证。

2023年11月，全国特殊食品标准化技术委员会在北京召开《14项保健食品分析方法标准启动会》修订工作启动会，会上讨论了《保健食品中泛酸的测定》的修订方案。

2023年11月~2024年1月，起草组各单位根据《保健食品中泛酸的测定》标准修订方案开展实验室内方法验证的工作。

2024年1月，全国特殊食品标准化技术委员会组织各参与单位开展新修订保健食品中泛酸测定方法的实验室间方法验证工作。

2024年1月，起草工作组在前期工作基础上形成标准征求意见稿。

二、国家标准编制原则、主要内容及其确定依据

（一）标准编制原则：

本方法的主要参数、公式、性能要求等主要依据 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则》和 GB/T 20001.4-2015《标准编写规则》的要求进行编写。并且按照 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范、食品理化检测》、GB/T 27417-2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》对方法学进行了考察。

标准修订符合我国国情，方法满足片剂、胶囊、软糖、蛋白粉、固体饮料、口服液剂型的保健食品中添加的泛酸钙或泛酸钠测定，具

有普遍适用性。

（二）主要修订内容

1. 标准名称：

将标准名称修订为“保健食品中泛酸的测定”。

2. 适用范围：

在适用范围中增加了泛酸钠，增加了具体的适用剂型。将标准适用范围修改为：

本文件描述了保健食品中泛酸的液相色谱测定方法。

本文件适用于泛酸钙、泛酸钠作为膳食补充剂添加于固体饮料、软胶囊、蛋白粉、片剂、粉剂、软糖等试样类型中的高效液相色谱测定方法。

3. 标准溶液的制备

采用常见且更便宜的泛酸钙作为标准物质，进行泛酸的测定。并通过比较实验确定采用泛酸钙为标准物质可以准确测定泛酸钠中泛酸的含量。

标准溶液的配制中增加了泛酸钙浓度换算成泛酸浓度的换算系数，具体文本如下：

泛酸标准储备液（500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：准确称取 136 mg D-泛酸钙标准品（精确至 0.1mg），加水溶解并转入到 250 mL 容量瓶中，稀释至刻度，混匀。标准储备液-18 $^{\circ}\text{C}$ 及以下避光保存，可保存 3 个月。

泛酸标准中间溶液（100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：准确吸取标准储备溶液 20.0 mL 于 100 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度。临用现配。

泛酸标准工作溶液：分别准确吸取泛酸标准中间液 1.0 mL、2.0 mL、4.0 mL、8.0 mL、16.0 mL 和 32.0 mL 于 100 mL 容量瓶中，加

水稀释至刻度，得到浓度分别为 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、4.0 $\mu\text{g/mL}$ 、8.0 $\mu\text{g/mL}$ 、16.0 $\mu\text{g/mL}$ 和 32.0 $\mu\text{g/mL}$ 的泛酸标准工作溶液。临用现配。

4. 试样前处理的优化

1) 试样制备：近年保健食品的剂型不断增加，根据市场调查，目前保健食品中添加泛酸的剂型包括：片剂、粉剂、固体饮料、胶囊、凝胶糖果、蛋白粉、口服液等剂型，本方法根据不同的剂型分别规定了前处理方法：软胶囊和硬胶囊：取不少于20粒或不低于5 g样品，去其外壳，取其内容物，研细（必要时），混匀。固态试样（片剂、粉剂等）：取不少于20粒或不低于5 g样品，粉碎并混匀。凝胶糖果：取不少于20粒（对于不同色泽或风味混装的试样，则按色泽或种类均匀取样）或不低于10 g,剪成小块，振摇至完全分散。碳酸饮料：需超声波去除二氧化碳，其他液态试样：摇匀。

2) 试样的净化

部分试样中可能含有淀粉、蛋白质等大分子物质，会一定程度的影响提取液的过滤，并可能影响色谱检测。本方法经比较了淀粉酶酶解、蛋白酶、等电点沉淀蛋白、硫酸锌沉淀蛋白等方法，结果显示采用淀粉酶和蛋白酶酶解可以有效去除这2类大分子的影响，提取试剂澄清，但部分样品会导致色谱基线漂移，严重影响检测结果，因此并未选择酶解法。而采用调节pH至蛋白质等电点并结合硫酸锌溶液沉淀后，经8000转离心能够满足提取液过滤和上机测定的要求。由于泛酸在pH值小于5.0的环境下可能不稳定，因此选择了pH=5.0 \pm 0.1作为沉淀蛋白的条件。修订文本为：用0.1 mol/L盐酸、1.0 mol/L盐酸、0.01

mol/L氢氧化钠或0.1 mol/L氢氧化钠调节pH至 5.0 ± 0.1 ，加入5 mL 0.5 mol/L硫酸锌溶液，充分混合。转入50 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度并充分混匀后，转入离心管，8000 r/min 离心2 min，取上清液过0.45 μm 滤膜，滤液待上机测定。

5. 色谱参考条件

经多种剂型的比对，现有色谱条件基本能够满足市场销售产品的需求，为了提高检测的灵敏度提高了进样量，具体色谱推荐条件如下：

a) 色谱柱：ODS C18（粒径 5 μm ，250 mm \times 4.6 mm）或具有同等性能的色谱柱。

b) 柱温：35 $^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ $^{\circ}\text{C}$ 。

c) 检测波长：200 nm。

d) 流动相：0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液：乙腈=95：5。

e) 流速：1.0 mL/min。

f) 进样量：10 μL 或 20 μL 。

6. 线性范围的选择

考虑到部分产品泛酸添加量较低，为了扩大方法的适用范围，本方法增加了色谱检测的进样量，将线性范围修订为：1 $\mu\text{g/mL}$ ~32 $\mu\text{g/mL}$ 。

同时为了防止部分泛酸含量较高试样的测定浓度超出曲线范围，增加“注：必要时，试样测定液用水进行适当稀释（f），使试样浓度中泛酸浓度在1 $\mu\text{g/mL}$ ~ 32 $\mu\text{g/mL}$ 范围内”。

7. 计算公式的修订

本方法计算公式为计算食品中泛酸的含量公式。与原标准相比进行了以下几个方面的修订：

1) 与原标准相比, 由于泛酸的含量相对宏量营养素含量较低, 且主要的添加量均不及1g/100g, 因此将泛酸的含量单位修订为mg/100g, 更符合实际适用需求。

2) 原标准中标准溶液配制浓度为泛酸钙的浓度, 但在泛酸含量的计算公式中并未适用泛酸钙转化为泛酸的转换系数, 存在文本错误。本方法在标准溶液的配制过程已经转换为泛酸的浓度, 可直接计算泛酸的含量。

3) 由于试样前处理过程可能需要进行额外的稀释, 故在公式中增加了稀释倍数“*f*”。

4) 增加了由泛酸含量换算为D-泛酸钠含量的换算系数。

5) 修改了单位换算系数。

具体计算公式如下:

试样中泛酸的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{\rho \times V \times f}{m} \times \frac{100}{1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X——试样中泛酸含量, 固态试样单位为毫克每百克(mg/100g), 液态试样为毫克每百毫升(mg/100mL);

ρ ——由标准曲线得到的试样溶液中泛酸的浓度, 单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V——试样测定液总体积, 单位为毫升(mL);

f——试样测定液稀释倍数;

m——试样的取样量, 单位为克(g);

100、1000——换算系数。

结果如以泛酸钙计量，应乘以1.087，如以泛酸钠计量，应乘以1.099。

计算结果保留三位有效数字。

8. 检出限和定量限的修订

经过实验确定了方法的检出限和定量限为当称样量为1 g，定容至50 mL时，检出限为0.5 mg/100g，定量限为1.5 mg/100g，显著的降低了方法的检出限和定量限，扩大的方法的适用范围。

三、试验验证分析

方法线性关系：以泛酸钙为定量外标，在0.1~6 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，相关系数 R^2 大于0.999，线性关系良好。方法准确度和精密度：该方法的回收率在97.17%~98.89%范围区间，6次平行实验结果的RSD%在0.08%~1.49%范围区间，说明该方法精确度较好，能够满足保健食品中泛酸的准确测定。方法重现性：方法验证基础上，起草工作组组织6家实验室进行验证，结果符合验证比对要求。

具体方法验证和实验室比对情况见附件一。

四、预期经济社会效益

随着食品工业的发展，更多的保健食品被开发出来，为了适应市场的需求，本次方法修订在原标准的基础上，优化了试样前处理和净化的步骤，提高了检测的灵敏度，并通过评估方法检测成本与结果可信度对方法进行优化，控制关键步骤，确保标准方法可操作性强。本标准的修订能够更好的契合保健食品中泛酸的测定，弥补检测了方法上存在的不足，有利于规范和促进泛酸在保健食品中的应用。

五、与我国有关法律法规和其他标准的关系

本标准与现行法律、法规和强制性国家标准协调一致。

六、国外有关法律、法规和标准情况的说明

目前国外较多采用微生物和液质法测定泛酸，但考虑到微生物法和液质法操作过程较为复杂，对检测人员要求较高，且保健食品基质较为简单，干扰较少，故考虑到方法适用性，本次修订仍采用高效液相色谱法。

表 1 本标准与国内外法律、法规和标准的关系

序号	来源国家或组织	标准号	标准名称	方法名称	检测范围/适用基质
1	AOAC	992.07	Pantothenic Acid in Milk-Based Infant Formula Microbiological Turbidimetric Method	微生物法	婴幼儿配方奶粉
2	ISO/AOAC	20639:2015/2012.16	Pantothenic Acid (Vitamin B5) in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula	液质联用	婴幼儿配方奶粉和成人营养品

七、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准制定过程中无重大分歧意见。

八、涉及专利的有关说明

本标准不涉及专利。

九、实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议

建议标准实施前有6个月以上的宣贯培训期、缓冲期和过渡准备时间。

十、 其他应当说明的事项

无。

附件：方法学验证报告

附件

保健食品中泛酸的测定方法学验证

1、特异性

1) 泛酸钠与泛酸钙的比对

比较了泛酸钠单独进样，泛酸钙单独进样、泛酸钠泛酸钙等比例混进样3种进样模式，结果显示，三种进样出峰时间一致，混合进样也未出现干扰峰。泛酸钙和泛酸钠在流动相的作用下均转化为泛酸，故而出峰一致。

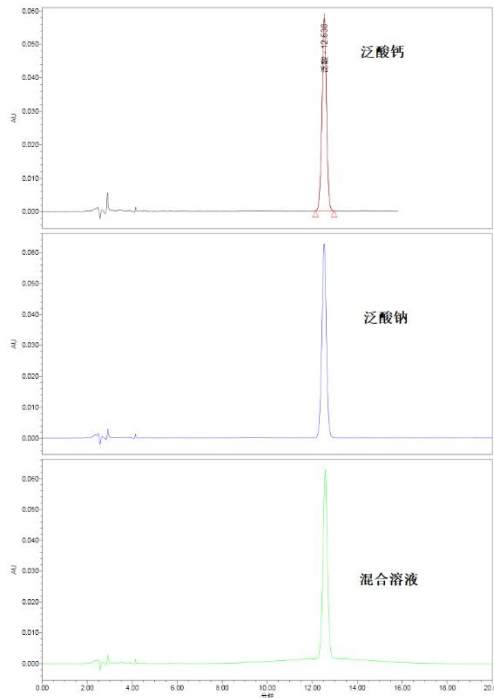


图 1 三种标准溶液色谱图对比

为比较泛酸钙和泛酸钠的色谱响应，按照标准中规定的标准曲线配制方案，分别配制泛酸钙标准曲线、泛酸钠标准曲线和等比例混合标准曲线，结果见表 2，经单因素方差分析，斜率无显著差异，证明泛酸钙、泛酸钠以及等比例混合标准溶液响应值无显著差异。泛酸钙

可以对泛酸钠进行准确定量。

表 2 三种标准曲线色谱检测结果

泛酸钙			泛酸钠			等比例混合		
浓度	峰面积	斜率	浓度	峰面积	斜率	浓度	峰面积	斜率
0.974	22859	23469.2	1.025	25235	24619.51	0.9995	25093	25105.55
1.948	50394	25869.61	2.05	51587	25164.39	1.999	51604	25814.90
3.896	99465	25530.03	4.1	105472	25724.88	3.998	105829	26470.48
7.792	199380	25587.78	8.2	217848	26566.83	7.996	209352	26182.09
15.584	391318	25110.24	16.4	431341	26301.28	15.992	417708	26119.81
31.168	810348	25999.36	32.8	863092	26313.78	31.984	880634	27533.58

2) 检测方法的特异性

选择片剂、口服液、凝胶糖果、软胶囊空白与泛酸标准进行比对，结果显示泛酸保留时间为 12.584，空白辅料中无色谱峰对泛酸检测造成干扰。

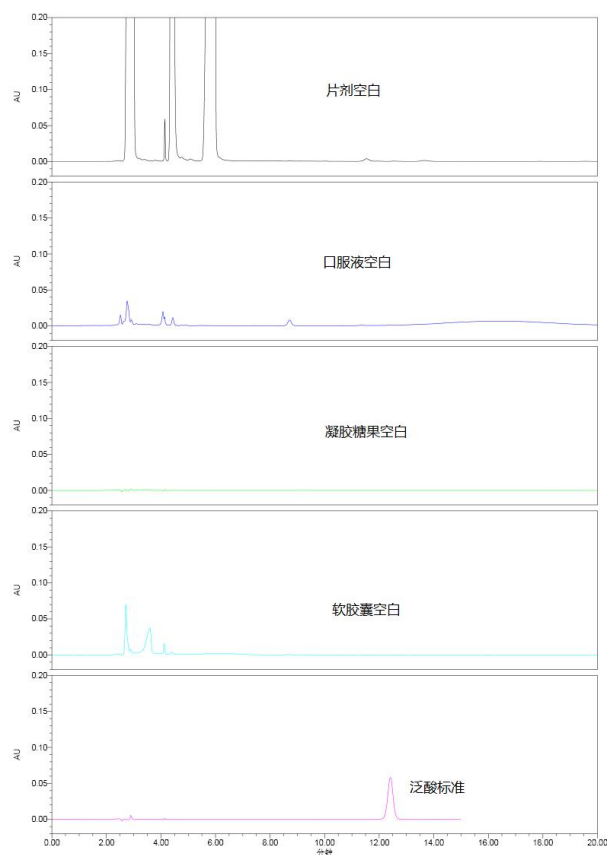


图 2 不同空白辅料的色谱图

2、前处理方法的比较

为了更好的比较不同前处理方法对泛酸检测的影响，选择了软胶囊、凝胶糖果、片剂、固体饮料和蛋白粉，对试样的前处理方法进行了比对。

由于泛酸属于水溶性维生素，采用加水超声提取的方式可以有效的提取试样中的泛酸，故本方法主要考虑了去除影响前处理和检测的主要干扰大分子成分：淀粉和蛋白质。

针对软胶囊试样，比较了不去除杂质、调节 pH=5.0 加硫酸锌溶液沉淀杂质和加入淀粉酶酶解后调节 pH=5.0 加硫酸锌溶液沉淀杂质三种前处理方法。结果见图 3。结果显示淀粉酶酶解会造成基线的波动，其余 2 种方法不会对上机造成影响。

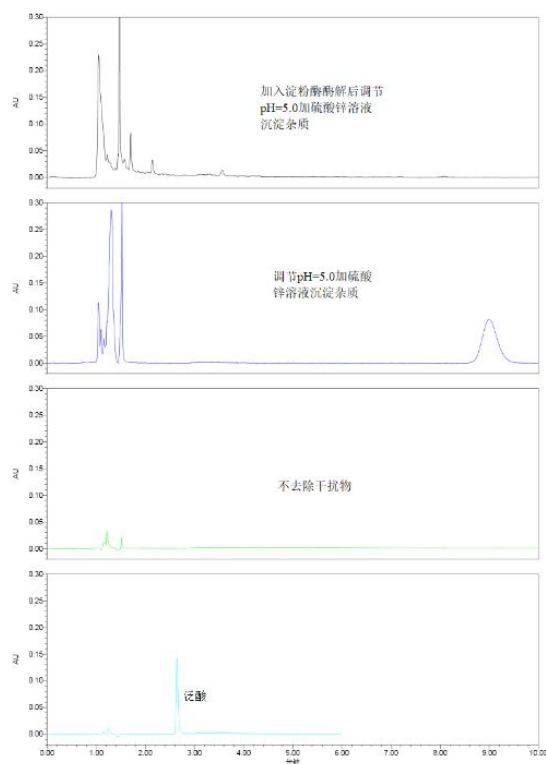


图 3 软胶囊三种前处理方法的比较

针对片剂也进行了以上三种除杂的方法，结果见图 4，淀粉酶酶解会造成基线波动，其余两种不干扰泛酸测定，但如不去除杂质，提取液经 0.45 微米滤膜过滤后，并不能完成澄清。

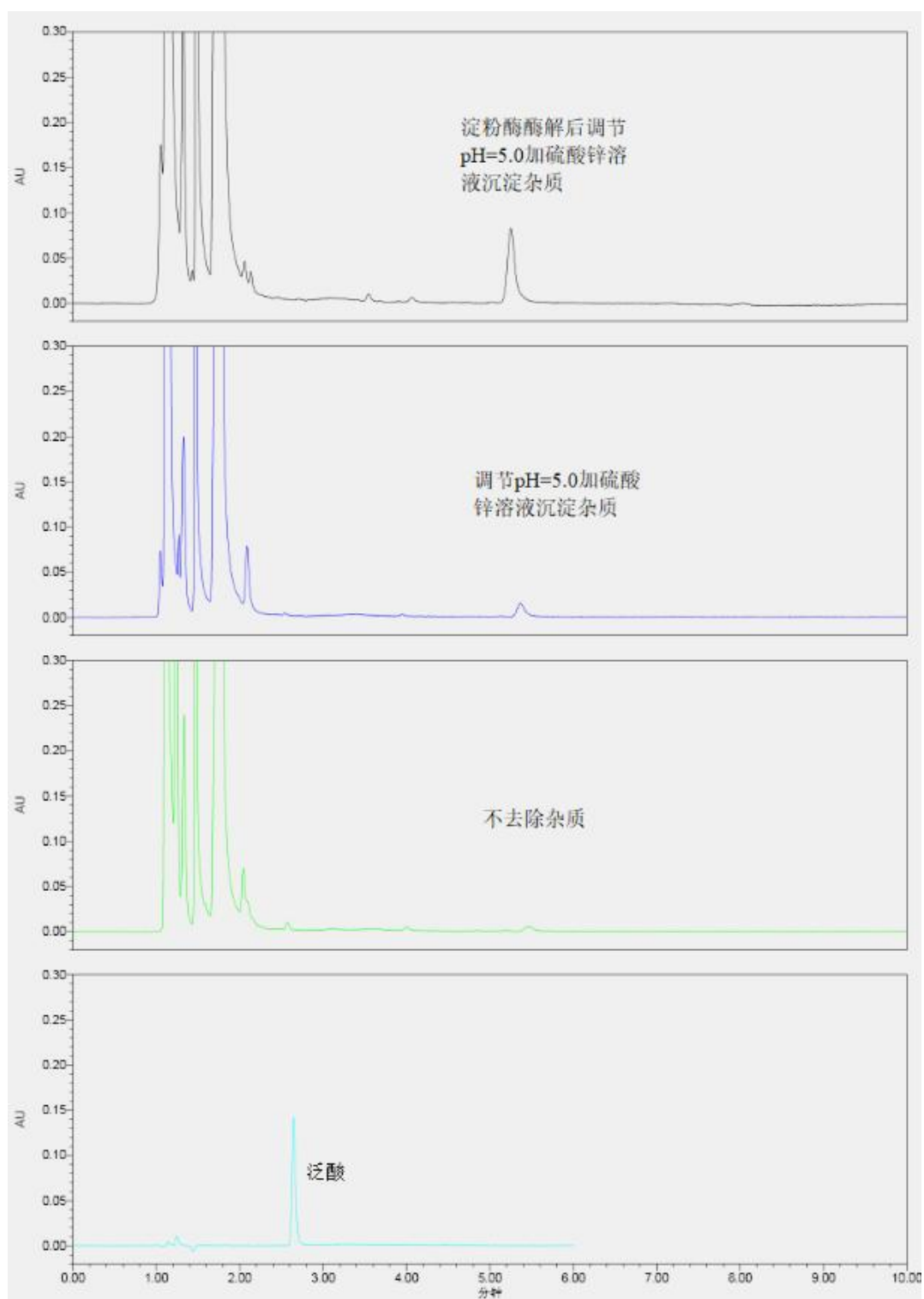


图 4 片剂三种前处理方法的比较

针对凝胶糖果也采用了以上三种前处理方法，结果见表 5，结果与片剂相同。

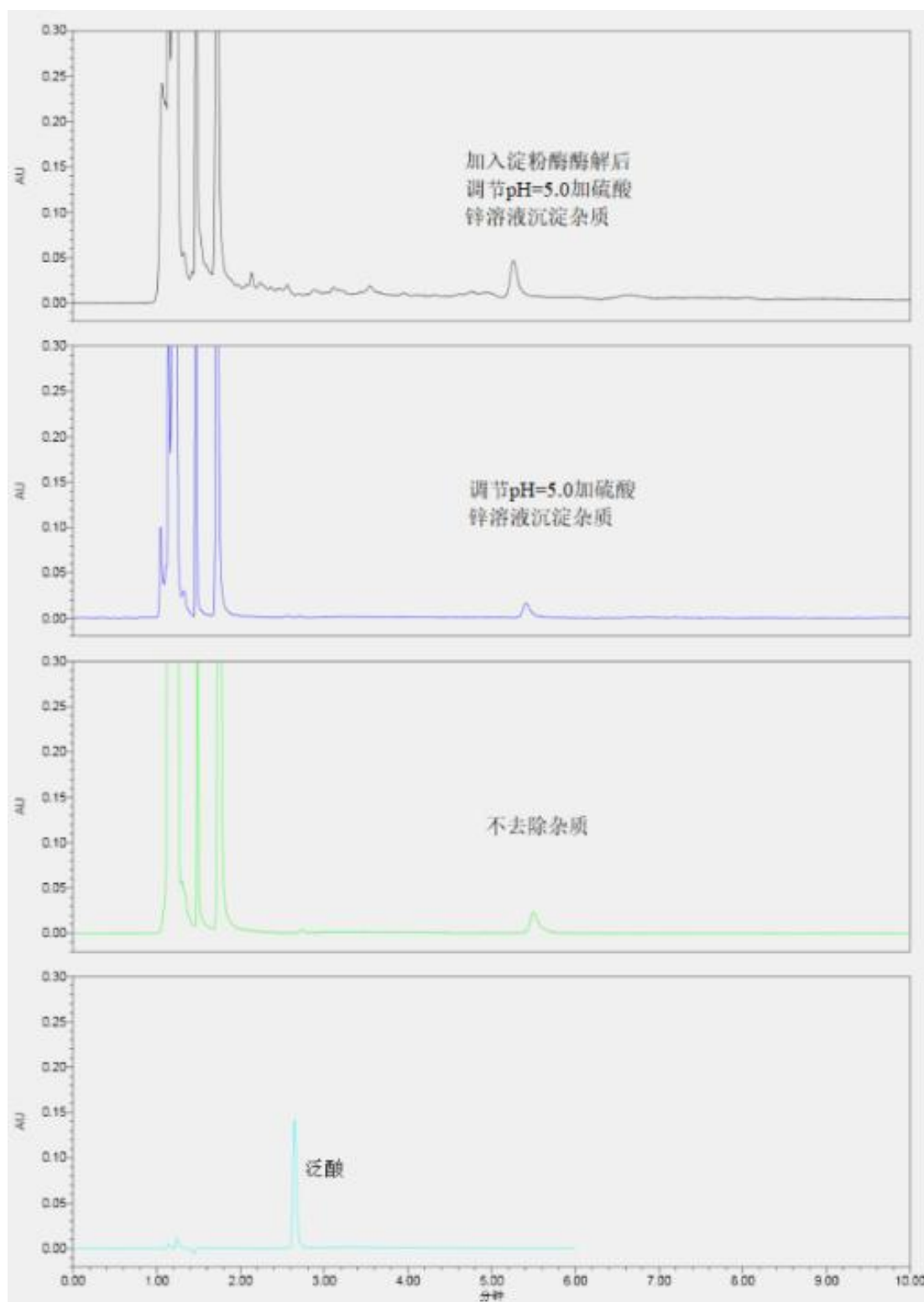


图 5 凝胶糖果三种前处理方法的比较

针对同时含有蛋白质和淀粉的固体饮料粉，选择了四种前处理方法不去除杂质、调节 pH=5.0 加硫酸锌溶液沉淀杂质、加入淀粉酶酶解后调节 pH=5.0 加硫酸锌溶液沉淀杂质、加入蛋白酶酶解后调节 pH=5.0 加硫酸锌溶液沉淀杂质。结果见图 6，如果不进行除杂，提取液无法过滤，不能上机测定，蛋白酶酶解和淀粉酶酶解后均会导致基线干扰严重，无法有效进行定量，而调节 pH=5.0 加硫酸锌溶液沉淀杂质则不干扰泛酸的测定。

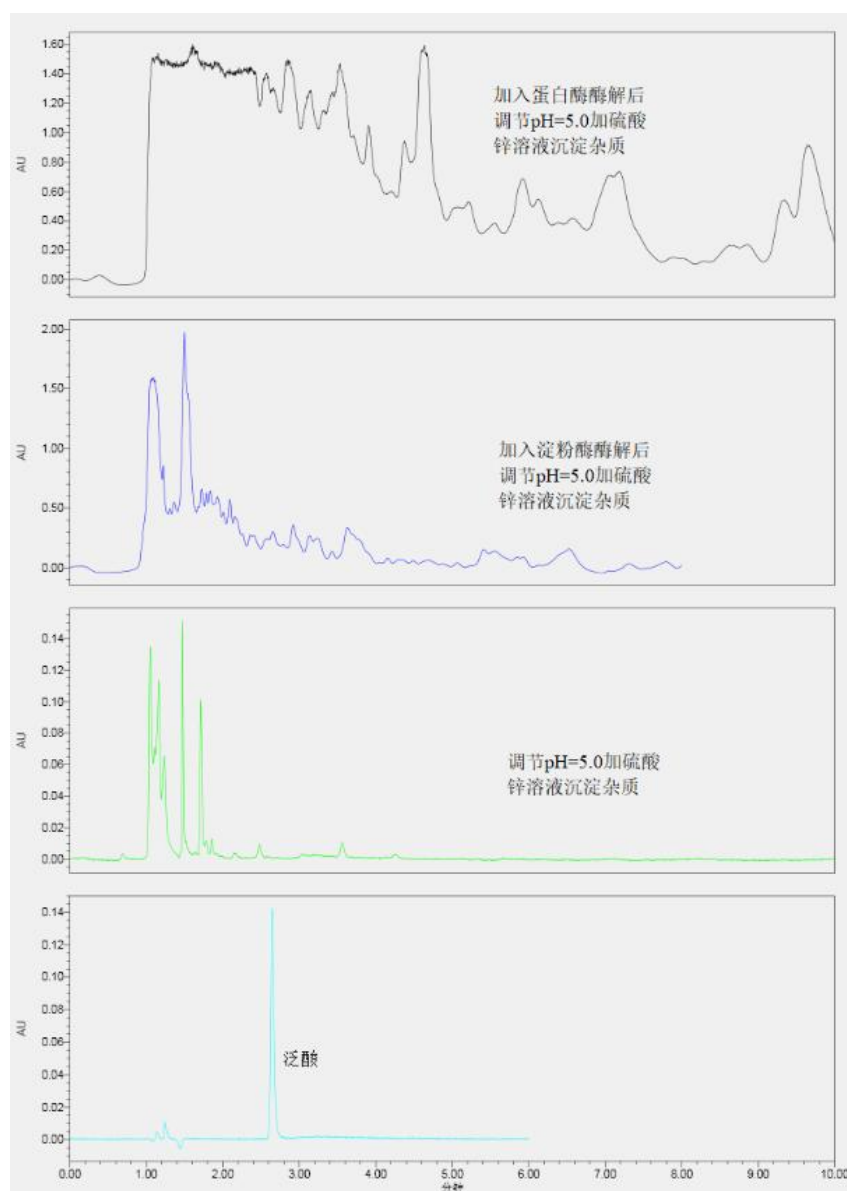


图 6 固体饮料粉四种前处理方法的比较

针对蛋白粉类蛋白含量高的样品，采用了不除杂质、调节 pH=5.0 加硫酸锌溶液沉淀杂质、加入蛋白酶酶解后调节 pH=5.0 加硫酸锌溶液沉淀杂质。结果见图 7，不进行除杂无法过滤，不能上机测定，蛋白酶酶解后基线干扰严重，调节 pH=5.0 加硫酸锌溶液沉淀杂质则不干扰泛酸的测定。

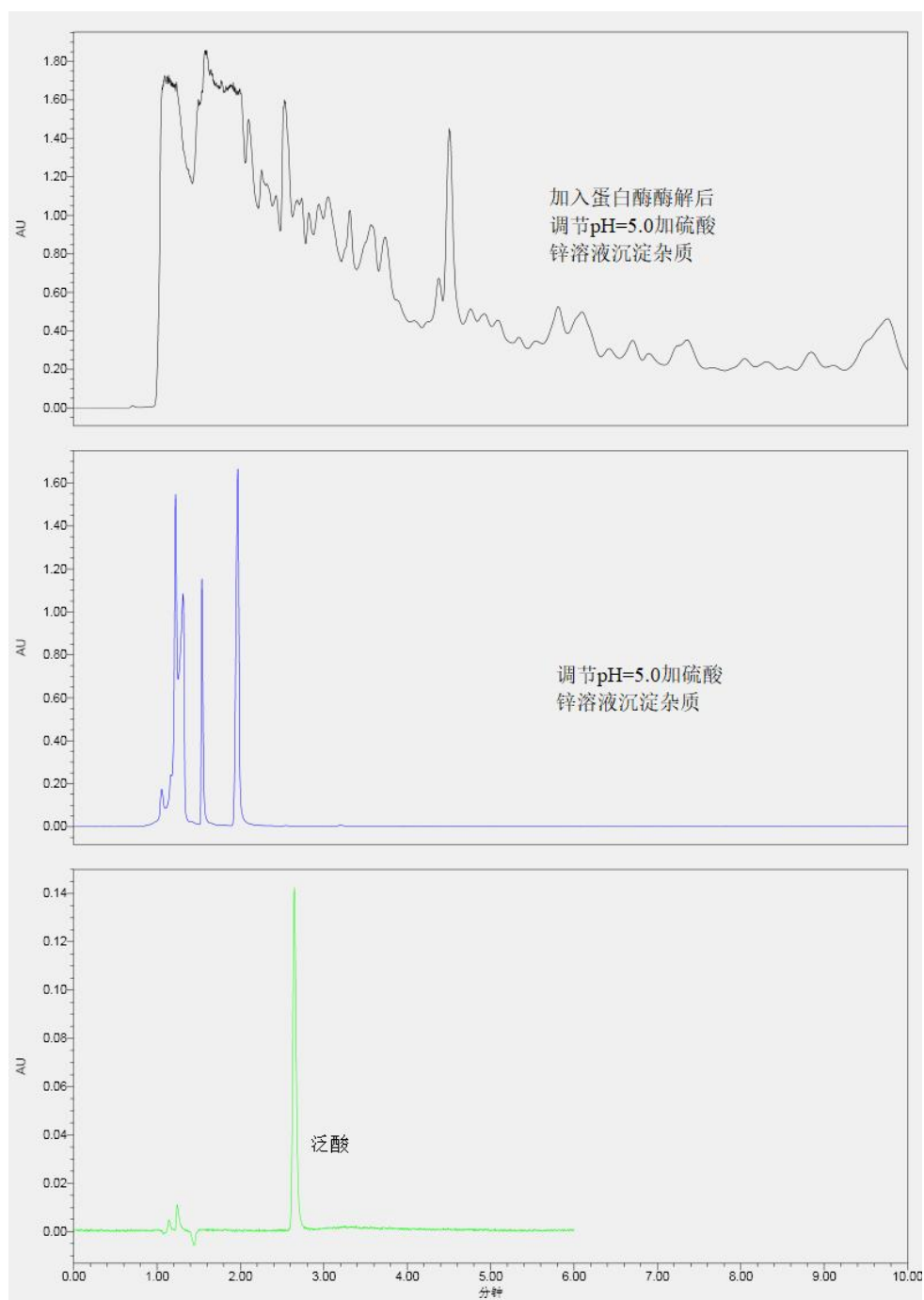


图 7 蛋白粉三种前处理方法的比较

综上所述，采用淀粉酶和蛋白酶酶解均会导致基线干扰，严重者不能有效测定泛酸，不进行除杂可能会导致样品无法过滤或过滤后不澄清。所以本方法选择了调节 pH=5.0 加硫酸锌溶液沉淀杂质的方法，既能有效去除大分子杂质，也不会干扰色谱测定。

3、检出限

检出限估值：采用信噪比法估计方法检出限：向空白样品基质添加目标分析物，信噪比为 3 时的添加浓度作为估算检出限。结果见表 3。

表 3 保健食品分析方法检出限验证估算结果

信噪比 (S: N=3:1)		
样品基质 (剂型)	取样量	最低检出浓度
固体饮料	1g	0.5 mg/100g
软胶囊	1g	0.5 mg/100g
蛋白粉	1g	0.5 mg/100g
片剂	1g	0.5 mg/100g
凝胶软糖	1g	0.5 mg/100g
口服液	1g	0.5 mg/100g

测定：选取空白样品基质至少 20 个平行样，分别添加估算检出限浓度的目标分析物，如目标分析物的检出概率不低于 95%，则定为检出限。

表 4 方法检出限验证结果

基质	目标分析物检出数量	目标分析物检出率
固体饮料	20	100%
软胶囊	20	100%
蛋白粉	20	100%
片剂	20	100%
凝胶软糖	20	100%
口服液	20	100%

4、定量限

估算：取对照品溶液，逐步稀释成一定的浓度，以信噪比 S:N=10:1 时的浓度作为定量限。

表 5 保健食品分析方法定量限验证估算结果

信噪比 (S: N=10:1)		
样品基质 (剂型)	取样量	最低定量浓度
固体饮料	1g	1.5 mg/100g
软胶囊	1g	1.5 mg/100g
蛋白粉	1g	1.5 mg/100g
片剂	1g	1.5 mg/100g
凝胶软糖	1g	1.5 mg/100g
口服液	1g	1.5 mg/100g

测定：采用估算定量限浓度水平的有证标准物质/标准样品、质控样品或标准添加样品进行独立检测，至少检测 6 个平行样品。

表 6 方法定量限验证结果

样品名称	本底值	添加定量限浓度 mg/100g	实测值 mg/100g	回收率 (%)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 RSD%
固体饮料	未检出	1.5	1.44	95.9	95.6	5.4
			1.31	87.3		
			1.40	93.1		
			1.46	97.0		
			1.54	103		
			1.46	97.2		
软胶囊	未检出	1.5	1.47	98.1	96.8	3.9
			1.36	90.8		
			1.51	101		
			1.50	99.9		
			1.41	94.2		
			1.45	97.0		
蛋白粉	未检出	1.5	1.50	99.8	97.3	2.0
			1.45	96.7		
			1.42	94.6		
			1.48	98.5		
			1.44	95.9		
			1.48	98.4		
片剂	未检出	1.5	1.38	92.1	96.	5.2
			1.34	89.3		
			1.55	103.7		
			1.43	95.5		
			1.45	96.4		
			1.48	98.8		
凝胶软糖	未检出	1.5	1.57	104.7	101.6	4.0
			1.49	99.4		
			1.53	102.1		
			1.55	103.6		
			1.58	105.3		
			1.42	94.7		

口服液	未检出	1.5	1.38	91.9	97.4	6.5
			1.49	99.3		
			1.34	89.3		
			1.43	95.1		
			1.55	103.3		
			1.58	105.3		

5、测定范围

采用标准曲线法定量，定量方法标准曲线的线性相关系数应大于等于 0.99，并具有 6 个数据点（不包括 0 点）。

表 7 方法的标准曲线

浓度 μg/mL	1	2	4	8	16	32
峰面积	91.19063	142.43211	243.01785	446.41751	853.21765	1666.81788
	标准曲线 $Y=50.827x+40.168$ 相关系数 $R^2=0.99999$					

6、正确度和重复性

以 1μg/ml， 10μg/ml 和 30 μg/ml，进行加标回收率实验，进行 6 次平行独立试验。计算每个样品中目标分析物的浓度，计算每个浓度的平均回收率，计算 6 次重复性实验的标准偏差。结果显示回收率在 92%~112%之间，详见表 8。

表 8 方法正确度和重复性验证结果

样品名称	本底值	添加水平 mg/100g	实测值 mg/100g	回收率 (%)	平均回收 率 (%)	相对标 准偏差 RSD%
固体饮料	未检出	5.0	5.18	104	102	3.1
			5.19	104		
			4.84	96.8		
			5.04	101		
			5.26	105		
			5.23	105		

		50	49.3	98.6	96.3	1.9
			49.0	98.1		
			47.5	95.0		
			48.3	96.7		
			47.7	95.5		
			46.9	93.8		
		150	145	96.7	95.7	0.8
			145	96.5		
			143	95.5		
			142	94.6		
			143	95.2		
			143	95.6		
软胶囊	未检出	5.0	4.95	99.0	98.7	4.3
			4.97	99.4		
			4.61	92.2		
			4.81	96.1		
			5.07	101		
			5.22	104		
		50	46.2	92.3	92.8	0.7
			46.8	93.6		
			46.7	93.4		
			46.3	92.6		
			46.4	92.7		
			46.0	92.1		
		150	144	96.2	94.9	0.8
			143	95.2		
			143	95.3		
			141	94.2		
			141	94.0		
			142	94.7		
蛋白粉	未检出	5.0	4.80	96.1	101	3.8
			4.82	96.4		
			5.03	101		
			5.25	105		
			5.10	102		

			5.22	104		
		50	48.4	96.9	97.2	0.3
			48.8	97.6		
			48.4	96.9		
			48.6	97.2		
			48.5	97.1		
			48.8	97.5		
		150	148	99.0	97.4	1.2
			148	98.8		
			145	96.4		
			144	96.1		
			145	97.0		
			146	97.3		
片剂	3.51	5	8.81	106	99.8	5.
			8.35	96.7		
			8.50	100		
			8.05	90.7		
			8.77	105		
			8.53	100		
		50	52.3	97.6	101	3.2
			52.8	98.6		
			53.2	99.4		
			55.3	104		
			55.4	104		
			56.1	105		
		150	152	98.7	98.9	1.2
			154	100		
			150	97.4		
			153	100		
			150	97.6		
			153	99.4		
凝胶糖果	未检出	5.0	5.35	107	107	2.9
			5.24	105		
			5.46	109		
			5.49	110		

			5.46	109			
			5.09	102			
		50		50.4	101	101	0.6
				50.1	100		
				50.6	101		
				50.7	101		
				50.7	101		
				50.0	100		
		150		149	99.5	100	0.7
				150	99.7		
				151	100		
				151	101		
				152	101		
				150	99.7		

7、重现性（实验室间方法验证）

本方法经过中国疾病预防控制中心营养与健康所、上海市质量监督检验技术研究院、南京市食品药品监督管理局、杭州市疾病预防控制中心、浙江省食品药品检验研究院、江苏艾兰得营养品有限公司等单位根据标准草案进行实验室间方法验证（包括检出限、定量限、测定范围、正确度和再现性），结果符合要求，实际样品再现性验证结果见表9。

表9 实际样品实验室间比对结果

编号	泛酸含量 (mg/100 g)						RSD (%)
	Lab1	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	Lab6	
样品1 软胶囊 FS-01S	2077	2146	2023	2239	2087	2384	6.14
样品2 硬胶囊	588	570	566	598	603	595	2.61

FS-03S							
样品 3 凝胶糖果 FS-05S	16.3	15.5	16.1	16.1	16.6	16.3	2.28