

《食品安全国家标准 食品中生物素的测定》（征求意见稿）

编制说明

一、标准起草基本情况

本标准于 2017 年立项（项目编号 spaq-2017-062），项目承担单位为国家乳制品质量监督检验中心和浙江清华长三角研究院。2017 年 11 月 16 日正式启动，2017 年 11 月 16 日召开国家标准项目启动会。2017 年 12 月至 2018 年 9 月广泛调查研究和讨论的基础上，起草了本标准，并邀请 4 家以上专业技术机构进行方法标准实验室间验证工作。2018 年 9 月 3 日~9 月 4 日在上海举行了标准修订专家研讨会。2018 年 12 月形成草案，2019 年 3 月至 2020 年 3 月向有关机构和专家广泛征求意见，期间未收到重大分歧意见，经整理归纳后，2020 年 4 月形成草稿。2021 年 7 月 14 日，第一法液相色谱-串联质谱法经第二届食品安全国家标准审评委员会理化检验方法与规程专业委员会第七次会议审查通过。2021 年 3 月 31 日，第二法微生物法经第二届食品安全国家标准审评委员会微生物检验方法与规程专业委员会第五次会议审查通过。

二、标准的主要技术内容

本标准第一法液相色谱-串联质谱法适用于调制乳粉、特殊膳食用食品中生物素的测定。第二法微生物法适用于食品中生物素的测定。第一法为新增加的方法，优化了样品制备过程，将样本基质划分为固体、半固体、液体；优化了前处理过程，通过调节 pH 值、高速离心、过膜等方式，除去蛋白质等杂质；优化了液相色谱条件及质谱条件的参数，选择 D₄ 同位素作为内标，避免离子通道的相互干扰，并对文本的语言表述做了规范。第二法微生物法主要增加了微孔板培养法，同时对方法的样品类别、前处理、标准曲线、样品提取液、检出限和定量限、线性范围等进行了修订。

第一法为液相色谱-串联质谱法，当称样量为 5.0 g 时，定容体积为 50 mL，方法的检出限为：0.300 μg/100 g；方法的定量限为：1.00 μg/100 g。当生物素的浓度在 1 ng/mL~25 ng/mL 范围内时，线性良好，平均加标回收率为 86.8 %~109.4 %，相对标准偏差为 1.80 %~6.12 %。

第二法为微生物法，需要提取的样品：当称样量为 2 g，本标准定量限为 2.5 μg/100 g。特殊用途饮料等不需要提取的样品：当称样量为 10 g，定量限为 0.1 μg/100 g。标准曲线浓度范围为 0 ng/mL~1.0 ng/mL。

四家以上实验室间的方法验证结果指标也均符合GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》中附录F规定的检测方法确认的技术要求。因此，本方法灵敏度高、准确性好、精密度高，可满足日常检测的要求。

三、国内外相关法规标准情况

1 国内相关标准情况

我国标准 GB 14880—2012《食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准》的附录 B 允许使用的营养强化剂化合物来源名单中规定了维生素 B₆ 的化合物来源为 D-生物素；表 A.1 中规定，调制乳粉（仅限儿童用乳粉）中使用量为 38 μg/kg~76 μg/kg；GB 10765—2021《食品安全国家标准 婴幼儿配方食品》、GB 10766—2021《食品安全国家标准 较大婴儿配方食品》、GB 10767—2021《食品安全国家标准 幼儿配方食品》、GB 25596—2010《食品安全国家标准 特殊医学用途婴儿配方食品通则》和 GB 10769—2010《食品安全国家标准 婴幼儿谷类辅助食品》，生物素指标为 0.17 μg/100kJ~2.39 μg/100kJ。涉及到的国内相关标准情况如表 1 所示。

2 国外相关标准情况

本标准增加的第一法-液相色谱-串联质谱法与 AOAC Official Method 2016.02 及 AOAC Official Method 2016.11 检测目标相同，前处理过程、检测原理有所不同，本方法为同位素稀释-液相色谱串联质谱法，AOAC 2016.02 是免疫亲和柱净化-高效液相色谱法（紫外检测器），AOAC 2016.11 是免疫亲和柱净化-高效液相色谱法（荧光检测器）。本方法与 ISO/DIS 23305 检测目标、检测原理均不同，本方法测定目标物生物素，ISO/DIS 23305 为免疫亲和柱净化-高效液相色谱法（二极管阵列检测器），测定目标为生物素与生物胞素。涉及到的国内相关标准情况如表 1 所示。

表 1 国内相关检测标准

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	与制修订标准的关系
1	中国	GB 14880—2012	食品营养强化剂使用标准	基础标准	适用于食品中营养强化剂的使用。	和本标准配合
2	中国	GB 1903.25—2016	食品营养强化剂 D-生物素	高效液相色谱法	适用于食品营养强化剂 D-生物素。	适用范围不同
3	中国	GB 10765—2021	婴幼儿配方食品	产品标准	适用于婴幼儿配方食品	和本标准配合
4	中国	GB 10766—2021	较大婴儿配方食品	产品标准	适用于较大婴儿配方食品	和本标准配合

5	中国	GB 10767—2021	幼儿配方食品	产品标准	适用于幼儿配方 6 食品	和本标准配合
6	中国	GB 10769—2010	食婴幼儿谷类辅助食品	产品标准	适用于 6 月龄以上婴幼儿和幼儿食用的婴幼儿谷类辅助食品	和本标准配合
7	中国	GB 25596—2010	特殊医学用途婴儿配方食品通则	产品标准	适用于特殊医学用途婴儿配方食品	和本标准配合
8	USA	Difco™ &BBLT™ Manual Manual	Biotin Assay Medium	Microbiological Method	未说明	参考
9	AOAC	AOAC Official Method 2016.02	Biotin in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formulas	Liquid Chromatography Coupled with Immunoaffinity Column Cleanup Extraction	Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formulas	方法原理不同
10	AOAC	AOAC Official Method 2016.11	Biotin in Infant, Pediatric, and Adult Nutritionals	High-Performance Liquid Chromatography and Fluorescence Detection	Infant, Pediatric, and Adult Nutritionals	方法原理不同
11	ISO	ISO/DIS 23305	Determination of Total Biotin	Liquid Chromatography Coupled with Immunoaffinity Column Clean-up Extraction	Fortified Milk Powders, Infant Formula and Adult Nutritionals	方法原理不同

四、其他需要说明的事项

无。