



# 中华人民共和国国家标准

GB 14752—2010

食品安全国家标准

食品添加剂 维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）

2010-12-21 发布

2011-02-21 实施

中华人民共和国卫生部 发布

## 前　　言

本标准代替 GB 14752—1993 《食品添加剂 维生素 B<sub>2</sub> (核黄素)》。

本标准与 GB 14752—1993 相比,主要变化如下:

——鉴别试验增加了紫外-可见分光光度法和红外分光光度法鉴别, 修改了荧光法鉴别;

——砷指标由≤3 mg/kg 修改为≤2 mg/kg。

本标准的附录 A 和附录 B 为规范性附录。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

—— GB 14752—1993。

# 食品安全国家标准

## 食品添加剂 维生素 B<sub>2</sub> (核黄素)

### 1 范围

本标准适用于经化学合成法及生物发酵法制得的食品添加剂维生素 B<sub>2</sub> (核黄素)。

### 2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修改单)适用于本标准。

### 3 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

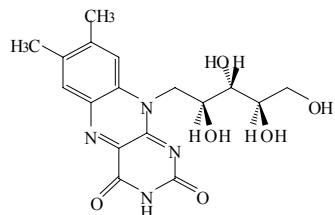
#### 3.1 化学名称

7,8-二甲基-10-[ (2S,3S,4R) -2,3,4,5-四羟基戊基]-3,10-二氢苯并蝶啶-2,4-二酮

#### 3.2 分子式

C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>

#### 3.3 结构式



#### 3.4 相对分子质量

376.36 (按 2007 年国际相对原子质量)

### 4 技术要求

#### 4.1 感官要求：符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项 目	要 求	检验方法
色 泽	橙黄色	
气 味	微臭	
组织状态	结晶性粉末	
性 状	约在 280℃时熔融，同时分解。溶液易变质。在碱性溶液中或遇光变质更快	取适量样品置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光线下，观察其色泽和组织状态，嗅其气味。

#### 4.2 理化指标：应符合表 2 的规定。

表2 理化指标

项 目	指 标	检验方法
维生素 B <sub>2</sub> (核黄素) (以干基计), w/%	98.0~102.0	附录 A 中 A.4
比旋光度 $\alpha_D(20^\circ\text{C},D)/ ((^\circ)\cdot\text{dm}^2\cdot\text{kg}^{-1})$	-120~ -140	附录 A 中 A.5
感光黄素的吸光度	≤ 0.025	附录 A 中 A.6
干燥减量, w/%	≤ 1.5	附录 A 中 A.7
灼烧残渣, w/%	≤ 0.3	附录 A 中 A.8
重金属 (以 Pb 计) / (mg/kg)	≤ 10	附录 A 中 A.9
砷 (As) /(mg/kg)	≤ 2	附录 A 中 A.10

## 附录 A

### (规范性附录) 检验方法

#### A. 1 安全提示

本标准试验方法中使用的部分试剂具有毒性或腐蚀性，按相关规定操作，操作时需小心谨慎。若溅到皮肤上应立即用水冲洗，严重者应立即治疗。在使用挥发性酸时，要在通风橱中进行。

#### A. 2 一般规定

本标准所用试剂除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和 GB/T 6682—2008 中规定的三级水。未指明的溶液为水溶液。

试验中所用标准滴定溶液和其他所需溶液，在未注明其他要求时，均按 GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603 之规定制备。

#### A. 3 鉴别试验

##### A. 3. 1 荧光试验

###### A. 3. 1. 1 方法原理

维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）具芳香环和杂环，有长共轭结构的  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁，具有荧光性，在酸、碱性条件下及加入各种还原剂均会使维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）转变为无荧光的物质。

###### A. 3. 1. 2 试剂和材料

A. 3. 1. 2. 1 盐酸溶液：1+2。

A. 3. 1. 2. 2 氢氧化钠溶液：40 g/L。

A. 3. 1. 2. 3 连二亚硫酸钠。

###### A. 3. 1. 3 分析步骤

取约 1 mg 实验室样品，加 100 mL 水溶解后，溶液在透射光下显淡黄绿色并有强烈的黄绿色荧光；分成二份：一份中加盐酸溶液或氢氧化钠溶液，荧光即消失；另一份中加连二亚硫酸钠少许，摇匀后，黄色即消褪，荧光亦消失。

##### A. 3. 2 紫外-可见吸收光谱鉴别

###### A. 3. 2. 1 方法原理

维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）具苯环结构，有多个共轭双键，其紫外-可见吸收光谱中有三个吸收峰（444 nm，375 nm 与 267 nm），用  $A_{444\text{nm}} / A_{267\text{nm}}$  及  $A_{375\text{nm}} / A_{267\text{nm}}$  的比值来鉴别维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）。

###### A. 3. 2. 2 试剂和材料

A. 3. 2. 2. 1 冰乙酸。

A. 3. 2. 2. 2 乙酸钠溶液：14 g/L。

A. 3. 2. 2. 3 实验室样品溶液：避光操作。取约 0.075 g 实验室样品，精确至 0.001 g，置烧杯中，加 1 mL 冰乙酸与 75 mL 水，加热溶解后，加水稀释，冷却至室温，移置 500 mL 棕色容量瓶中，再加水稀释至

刻度，摇匀；精密量取10 mL，置100 mL棕色容量瓶中，加7 mL乙酸钠溶液，并用水稀释至刻度，摇匀。

### A. 3. 2. 3 仪器和设备

### A. 3. 2. 3. 1 紫外-可见分光光度仪。

A. 3. 2. 3. 2 石英池 (1cm)。

#### A. 3. 2. 4 分析步骤

取实验室样品溶液扫描，在波长  $444\text{ nm}\pm1\text{ nm}$ 、 $375\text{ nm}\pm1\text{ nm}$  与  $267\text{ nm}\pm1\text{ nm}$  处有最大吸收，并测定吸光度（A），计算  $A_{375\text{nm}}/A_{267\text{nm}}$  的比值为  $0.31\sim0.33$  和  $A_{444\text{nm}}/A_{267\text{nm}}$  的比值为  $0.36\sim0.39$ 。

### A. 3. 3 红外光吸收图谱鉴别

#### A. 3. 3. 1 试剂和材料

溴化钾：光谱纯，干燥品。

#### A. 3. 3. 2 分析步骤

在红外灯下进行，以防止吸潮。

将实验室样品和溴化钾粉末置入玛瑙乳钵中研匀，装入压片模具制备样片并进行扫描。本品的红外光吸收图谱应与对照的图谱（附录 B）一致。

#### A. 4 维生素B<sub>2</sub>的测定

#### A. 4. 1 方法原理

维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）具苯环结构，有多个共轭双键，在波长 444 nm 处有最大吸收，将样品溶液于该波长处测定吸光度，以百分吸光系数 ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ) 计算即得其质量分数。

#### A. 4. 2 试剂和材料

#### A. 4. 2. 1 冰乙酸。

#### A. 4. 2. 2 乙酸钠溶液: 14 g/L。

#### A. 4. 3 仪器和设备

同 A.3.2.3。

#### A. 4. 4 分析步骤

取实验室样品溶液（A.3.2.2.3），在波长 $444\text{ nm}\pm 1\text{ nm}$ 处，以水为空白对照，测定吸光度（A）。

#### A. 4. 5 结果计算

维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）的质量分数  $w_1$ ，数值以%表示，按公式（A.1）计算：

$$w_1 = \frac{5000 \times A}{323 \times m \times (1 - w_2) \times 100} \times 100\% \dots \dots \dots \quad (\text{A.1})$$

式中：

5000——实验室样品稀释体积，单位为毫升（mL）；

323——维生素 B<sub>2</sub> (核黄素) 的百分吸光系数 ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ );

*A*——实验室样品溶液(A.3.2.2.3)的吸光度数值；

*m*——实验室样品质量的数值，单位为克(g)；

$w_2$ ——A.7 测得的干燥减量的数值，%。

两次平行测定结果的绝对差值不大于1.5%。

## A. 5 比旋光度的测定

#### A. 5. 1 方法原理

维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）的核糖醇侧链 2,3,4-位有三个不对称碳原子，具有旋光活性，在碱性条件下，呈左旋光性，以此检查样品的比旋度。

#### A. 5. 2 试剂和材料

A. 5. 2. 1 二硝基苯肼试液：取1.5 g 2,4-二硝基苯肼，加20 mL硫酸溶液（1+1），溶解后，加水使成100 mL，过滤。

A. 5.2.2 无醛乙醇：取2.5 g乙酸铅，置具塞锥形瓶中，加5 mL水溶解后，加1000 mL乙醇，摇匀，缓缓加25 mL乙醇制氢氧化钾溶液(1→5)，放置1h，强力振摇后，静置12h，倾取上清液，蒸馏即得。

检查：取 25 mL 无醛乙醇，置锥形瓶中，加 75 mL 二硝基苯肼试液，置水浴上加热回流 24h，蒸去乙醇，加 200 mL 硫酸溶液（2→100），放置 24h 后，应无结晶析出。

A. 5. 2. 3 盐酸标准滴定溶液:  $c(HCl) = 0.1 \text{ mol/L}$ 。

A.5.2.4 无碳酸盐氢氧化钾溶液：取20 g氢氧化钾，加100mL无醛乙醇，放置过夜后，吸取上清液，加无醛乙醇稀释成0.1 mol/L的溶液，用0.1 mol/L盐酸标准滴定溶液标定后，再精密量取18 mL，加新沸过的冷水至100 mL，摇匀。

A.5.2.5 实验室样品溶液：称取约0.25 g实验室样品，精确至0.000 1 g，加无碳酸盐氢氧化钾溶液溶解并定量稀释制成每1 mL中约含维生素B<sub>2</sub>（核黄素）5 mg的溶液，摇匀。

### A. 5. 3 仪器和设备

#### A. 5. 3. 1 旋光仪。

#### A. 5. 3. 2 旋光测定管。

#### A. 5. 4 分析步骤

取实验室样品溶液，按 GB/T 613 测定。

## A. 5. 5 结果计算

维生素B<sub>2</sub>（核黄素）的比旋光度  $\alpha_m$  (20℃, D) 按公式(A.2)计算:

式中：

$\alpha$  —— 测得的旋光角, 单位为度(°);

$l$  —— 旋光管的长度, 单位为分米(dm);

$\rho_a$  —— 溶液中有效组分的质量浓度, 单位为克每毫升(g/mL)。

## A. 6 感光黄素的测定

### A. 6. 1 方法提要

维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）几乎不溶于三氯甲烷，杂质感光黄素溶于三氯甲烷，在 440 nm 处有紫外吸收，因此用三氯甲烷提取感光黄素，排除维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）的干扰后，在此波长处测定，作限量检查。但维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）在乙醇中稍有溶解，为克服测定时的干扰，所以必须使用无醇三氯



#### A. 8. 4 分析步骤

称取约 1.0 g 实验室样品，精确至 0.000 1 g，置于已在  $550\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 50\text{ }^{\circ}\text{C}$  灼烧至恒重的瓷坩埚中，用小火缓缓加热至完全炭化，冷却至室温后，加 1 mL 硫酸使湿润，低温加热至硫酸蒸气除尽后，移入高温炉中，在  $550\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 50\text{ }^{\circ}\text{C}$  灼烧至恒重。

## A. 8.5 结果计算

维生素 B<sub>2</sub>（核黄素）灼烧残渣的质量分数  $w_3$ ，数值以%表示，按公式（A.4）计算：

式中：

$m_3$ ——残渣和坩埚的总质量数值,单位为克(g);

$m_4$  —— 坩埚的质量数值, 单位为克 (g);

*m*——实验室样品的质量数值，单位为克（g）。

取平行测定结果的算术平均值为测定结果，两次平行测定结果的绝对差值不大于 0.02%。

## A. 9 重金属的测定

#### A. 9. 1 方法原理

样品中杂质金属在酸性(pH3.5)条件下，与硫化氢或硫化钠试液显色。样品与标准铅溶液同法测定，以此检查其限度。

#### A.9.2 试剂和材料

#### A. 9. 2. 1 硝酸。

#### A. 9. 2. 2 硫酸。

#### A. 9. 2. 3 盐酸。

#### A. 9. 2. 4 甘油。

#### A. 9. 2. 5 乙酸铵。

#### A. 9. 2. 6 硝酸铅。

### A. 9. 2. 7 硫代乙酰胺。

A. 9. 2. 8 氨试液: 400→1000。

#### A. 9. 2. 9 氢氧化钠溶液: $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/L}$

A. 9. 2. 10 盐酸溶液:  $c(\text{HCl}) = 2 \text{ mol/L}$ 。

A. 9.2.11 盐酸溶液:  $c(\text{HCl}) = 7 \text{ mol/L}$ 。

### A. 9. 2. 12 氨水溶液: $c(\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}) = 5$

A. 9. 2. 13 酚酞指示液: 10g/L乙醇溶液。

A. 9. 2. 14 乙酸盐缓冲液 (pH3.5): 取25 g乙酸铵，加水25 mL溶解后，加38 mL 7 mol/L盐酸溶液，用2 mol/L盐酸溶液或氨水溶液准确调节pH至3.5 (pH计)，用水稀释至100 mL，即得。

A.9.2.15 硫代乙酰胺试液：取约4 g硫代乙酰胺，精确至0.01 g，加水使溶解成100 mL，置冰箱中保存。临用前取5.0 mL混合液（由1 mol/L 15 mL氢氧化钠溶液、5.0 mL水及20 mL甘油组成），加上述1.0 mL硫代乙酰胺溶液，置水浴上加热20s，冷却，立即使用。

A. 9. 2. 16 铅标准溶液：称取约0.160 g硝酸铅，精确至0.000 2g,置于1000 mL容量瓶中，加5 mL硝酸与50 mL水溶解后，用水稀释至刻度，摇匀，作为贮备液。临用前，移取10 mL $\pm$ 0.02 mL贮备液，置

于100 mL容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，即得（每1mL相当于10  $\mu\text{g}$ 的Pb）。配置与贮存用的玻璃仪器均不得含铅。

#### A. 9.3 分析步骤

按《中华人民共和国药典》2005年版二部附录VIII H重金属检查法第二法测定，具体方法如下：

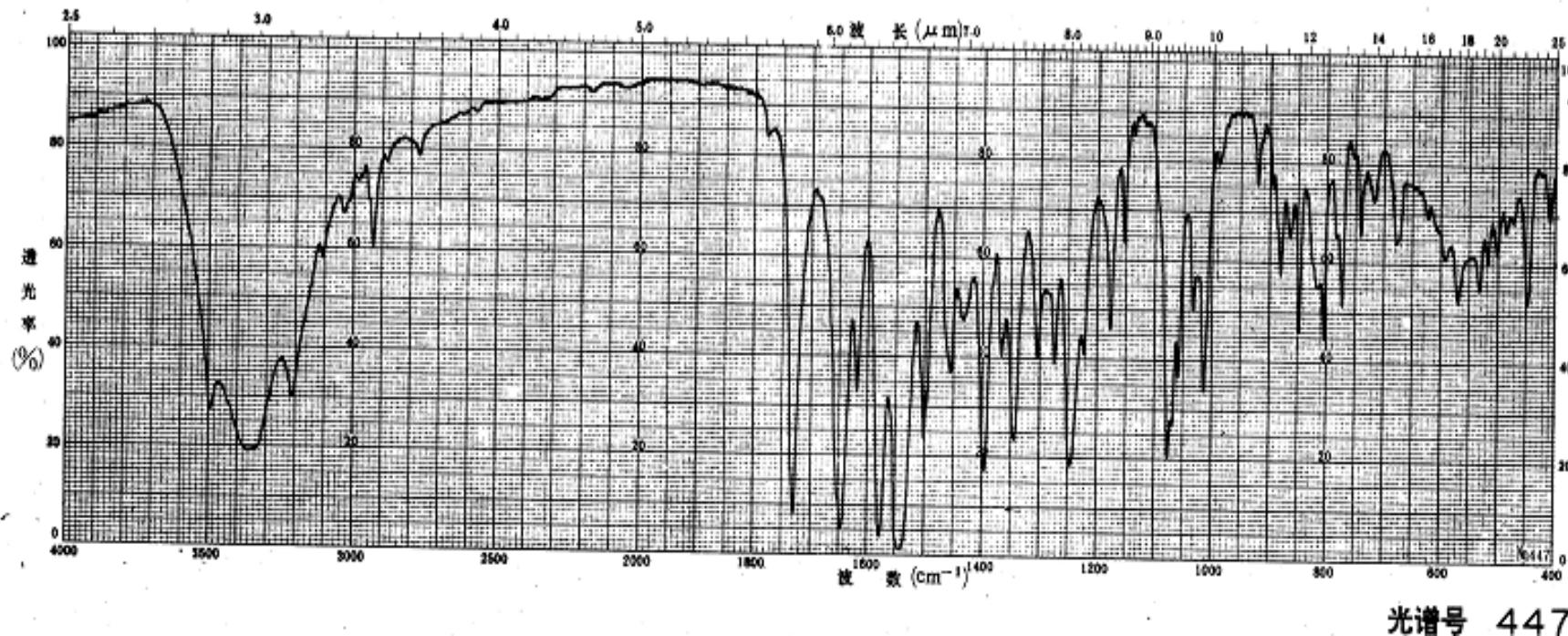
取A. 8中遗留的残渣，加0.5 mL硝酸，蒸干，至氧化氮蒸气除尽后（或取1.0 g实验室样品，缓缓灼烧至完全炭化，冷却至室温，加0.5mL ~1.0mL硫酸，使恰湿润，用低温加热至硫酸除尽后，加0.5 mL硝酸，蒸干，至氧化氮蒸气除尽后，冷却至室温，在500°C~600°C灼烧至完全灰化），冷却至室温，加2 mL盐酸，置水浴上蒸干后加15 mL水，滴加氨试液至对酚酞指示液显中性，再加2 mL乙酸盐缓冲液（pH3.5），微热溶解后，移置纳氏比色甲管中，加水稀释成25 mL；另取配制实验室样品溶液的试剂，置瓷皿中蒸干后，加2 mL乙酸盐缓冲液（pH3.5）与15 mL水，微热溶解后，移置纳氏比色乙管中，加1 mL±0.01 mL标准铅溶液，再用水稀释成25 mL；再在甲乙两管中分别加硫代乙酰胺试液各2 mL，摇匀，放置2min，同置白纸上，自上向下透视，甲管中显示的颜色与乙管比较，不得更深。

#### A. 10 砷盐的测定

称取5.0 g±0.01 g实验室样品、量取 10 mL±0.05 mL限量砷标准溶液（每1 mL溶液相当于1  $\mu\text{g}$ 砷），分别按GB/T 5009.76—2003第一法中5.2.2干灰化法处理试样后，按第二法砷斑法检测样品。试样的砷斑不得深于标准砷斑。

附录 B

(规范性附录)  
维生素 B<sub>2</sub>红外光吸收图谱



注：引自《药品红外光谱集》447图 第一卷（1995）中华人民共和国卫生部药典委员会编

图B.1 维生素B<sub>2</sub>红外光吸收图谱