



# 中华人民共和国国家标准

GB 14755—2010

食品安全国家标准

食品添加剂 维生素 D<sub>2</sub>（麦角钙化醇）

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 14755—1993《食品添加剂 维生素 D<sub>2</sub>》。

本标准与 GB 14755—1993 相比，主要变化如下：

- 增加了红外光谱鉴别；
- 维生素 D<sub>2</sub> 的测定系统适用性试验所用样品由维生素 D<sub>2</sub> 改为维生素 D<sub>3</sub>，高效液相色谱含量测定方法由内标法改为外标法；
- 洋地黄皂苷试验检查麦角甾醇修改为薄层色谱法；
- 增加了还原性物质指标和试验方法；
- 增加了重金属指标和试验方法；
- 增加了砷指标和试验方法。

本标准的附录 A 和附录 B 为规范性附录，附录 C 为资料性附录。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB 14755-1993

# 食品安全国家标准

## 食品添加剂 维生素 D<sub>2</sub>（麦角钙化醇）

### 1 范围

本标准适用于以麦角甾醇为原料制得的食品添加剂维生素 D<sub>2</sub>。

### 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

9,10-开环麦角甾-5,7,10(19),22-四烯-3 $\beta$ -醇



#### 3.2 分子式

C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O

#### 3.3 结构式



#### 3.4 相对分子质量

396.66（按2007年国际相对原子质量）

### 4 技术要求

#### 4.1 感官要求：应符合表1的规定。

表1 感官要求

项    目	要    求	检验方法
色泽	无色或白色	取适量样品置于清洁、干燥的试管中，在自然光线下，观察色泽和组织状态，嗅其气味。
气味	无臭	
组织状态	针状结晶或结晶性粉末	

#### 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 D <sub>2</sub> (C <sub>28</sub> H <sub>44</sub> O) , / %	98.0~103.0	附录A中A.4
麦角甾醇, w /%	≤ 0.2	附录A中A.5
比旋光度 $\alpha_{\text{D}}(20^{\circ}\text{C}, \text{D}) / [(\text{^\circ}) \cdot \text{dm}^2 \cdot \text{kg}^{-1}]$	+102.0~ +107.0	附录A中A.6
质量吸收系数 $\alpha$ (265nm) / (L/cm • g)	46~49	附录A中A.7
还原性物质 (四唑蓝显色试验), w /%	≤ 0.002	附录A中A.8
砷 (As) /(mg/kg)	≤ 2	附录A中A.9
重金属 (以Pb计) /(mg/kg)	≤ 20	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，使用时需小心谨慎。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。

试验方法中所用杂质测定用标准溶液、制剂及制品，在没有注明其他要求时，均按 GB/T 602 、 GB/T 603 之规定制备。

#### A. 3 鉴别试验

##### A. 3. 1 醋酐浓硫酸呈色试验

###### A. 3. 1. 1 试剂和材料

A. 3. 1. 1. 1 三氯甲烷。

A. 3. 1. 1. 2 乙酸酐。

A. 3. 1. 1. 3 硫酸。

###### A. 3. 1. 2 分析步骤

取约0.5 mg实验室样品，加5 mL三氯甲烷溶解后，加0.3 mL醋酐与0.1 mL硫酸，振摇，初显黄色，渐变红色，迅即变为紫色，最后变为绿色。

##### A. 3. 2 红外光谱试验

采用溴化钾压片法，按照 GB/T 6040 进行试验，实验室样品的红外光谱应与对照的图谱一致（对照图谱见附录 B）。

#### A. 4 维生素D<sub>2</sub>的测定

##### A. 4. 1 方法提要

用高效液相色谱法，在选定的工作条件下，通过色谱柱使样品分离，用紫外吸收检测器检测，用外标法定量，计算样品中维生素 D<sub>2</sub>的含量。

##### A. 4. 2 试剂和材料

A. 4. 2. 1 正戊醇：色谱纯。

A. 4. 2. 2 正己烷：色谱纯。

A. 4. 2. 3 异辛烷：色谱纯。

A. 4. 2. 4 维生素D<sub>2</sub>对照品。

A.4.2.5 维生素D<sub>3</sub>对照品。

#### A.4.3 仪器和设备

高效液相色谱仪（HPLC）。

#### A.4.4 色谱分析条件

推荐的色谱柱及典型色谱操作条件见表 A.1，维生素 D<sub>3</sub> 系统适用性试验高效液相色谱图参见图 C.1，各组分的相对保留时间参见表 C.1。其他能达到同等分离程度的色谱柱和色谱条件均可使用。

表 A.1 色谱柱和典型色谱操作条件

色谱柱	柱长 250mm, 柱内径 4.6mm, 硅胶色谱柱
流动相	正己烷-正戊醇 (1000+3)
流速	2 mL/min
检测器检测波长	254 nm

#### A.4.5 分析步骤

##### A.4.5.1 维生素D<sub>3</sub>对照品系统适应性试验贮备液的制备

称取约 25 mg 维生素 D<sub>3</sub> 对照品，精确至 0.000 1 g，置 100 mL 棕色容量瓶中，加 80 mL 异辛烷，用超声处理助溶 1min，避免加热，使完全溶解，再加异辛烷至刻度，摇匀充氮密塞，避光，0℃以下保存。

##### A.4.5.2 实验室样品溶液的制备

称取约 25 mg 实验室样品，精确至 0.000 1 g，置 100 mL 棕色容量瓶中，加 80 mL 异辛烷，用超声处理助溶 1min，避免加热，使完全溶解，再加异辛烷至刻度，摇匀。量取 5 mL±0.05 mL 上述溶液，置 10 mL 棕色容量瓶中，加正己烷至刻度，摇匀。

##### A.4.5.3 维生素D<sub>2</sub>对照品溶液的制备

称取约 25 mg 维生素 D<sub>2</sub> 对照品，精确至 0.000 1 g，置 100 mL 棕色容量瓶中，加 80 mL 异辛烷，用超声处理助溶 1min，避免加热，使完全溶解，再加异辛烷至刻度，量取上述溶液 5 mL±0.05 mL，置 10 mL 棕色容量瓶中，加正己烷至刻度，摇匀。

##### A.4.5.4 系统适用性试验

以硅胶为填充剂的色谱柱，正己烷-正戊醇 (1000+3) 为流动相，检测波长 254 nm，流速约为 2 mL/min。量取维生素D<sub>3</sub>对照品贮备溶液 5 mL，置具塞玻璃容器中，充氮后密塞，置 90℃ 水浴加热 1h，取出迅速冷却，加正己烷 5 mL±0.05 mL，摇匀，置 1 cm 具塞石英吸收池中，在 2 支主波长分别为 254 nm 和 365 nm 的紫外光灯下，将石英吸收池斜放成 45°，并距灯管 5 cm~6 cm，照射 5 min，使溶液中含有前维生素D<sub>3</sub>、反式维生素D<sub>3</sub>、维生素D<sub>3</sub> 和 速甾醇D<sub>3</sub>。取此溶液注入液相色谱仪，测定维生素D<sub>3</sub>的峰值，先后进样 5 次，相对标准偏差应不大于 2.0%，前维生素D<sub>3</sub>（与维生素D<sub>3</sub>的比保留时间为 0.5）与反式维生素D<sub>3</sub>（与维生素D<sub>3</sub>的比保留时间约为 0.6）以及维生素D<sub>3</sub>与速甾醇D<sub>3</sub>（与维生素D<sub>3</sub>的比保留时间约为 1.1）的峰分离度均应大于 1.0。

##### A.4.5.5 测定

取 20 μL 实验室样品溶液注入液相色谱仪，记录色谱图，另取维生素D<sub>2</sub>对照品溶液，同法测定。按外标法以峰面积计算出供试品中维生素D<sub>2</sub>的含量。

#### A.4.6 结果计算

根据色谱图计算维生素D<sub>2</sub>的质量分数 $w_1$ ，数值以%表示，按公式(A.1)计算

$$w_1 = \frac{m_1 \times A_2}{A_1 \times m_2} \times 100\% \quad \dots \dots \dots \quad (\text{A.1})$$

式中：

$m_1$ ——对照品溶液中维生素D<sub>2</sub>的进样量的数值，单位为微克（ $\mu\text{g}$ ）；

$A_2$ ——实验室样品溶液中维生素D<sub>2</sub>的峰面积的数值；

$A_1$ ——对照品溶液中维生素D<sub>2</sub>的峰面积的数值；

$m_2$ ——实验室样品溶液中维生素D<sub>2</sub>的进样量的数值，单位为微克（ $\mu\text{g}$ ）。

取两次平行测定结果的算术平均值为测定结果，两次平行测定的允许绝对差不大于1.5%。

## A.5 麦角甾醇的测定

### A.5.1 方法提要

将维生素D<sub>2</sub>溶液点样于薄层板上，经展开，显色后，所得的色谱图与对照品溶液按同法所得的色谱图作对比，对维生素D<sub>2</sub>进行杂质检查。

### A.5.2 试剂和材料

A.5.2.1 角鲨烷氯仿溶液：10 g/L。

A.5.2.2 展开剂：环己烷-乙醚（1+1）。

A.5.2.3 维生素D<sub>2</sub>对照品。

A.5.2.4 麦角甾醇对照品。

### A.5.3 分析步骤

#### A.5.3.1 对照品溶液的配制

称取约50 mg维生素D<sub>2</sub>对照品，精确至0.000 2 g，用1 mL角鲨烷氯仿溶液溶解，得对照品溶液。

#### A.5.3.2 实验室样品溶液的配制

称取约50 mg维生素D<sub>2</sub>实验室样品，精确至0.000 2 g，用1 mL角鲨烷氯仿溶液溶解，得实验室样品溶液。

#### A.5.3.3 麦角甾醇对照溶液的配制

称取约5 mg麦角甾醇对照品，精确至0.1 mg，置于50 mL容量瓶中，加角鲨烷氯仿溶液40 mL溶解并稀释至刻度，摇匀。

#### A.5.3.4 显色剂的配制

取1.0 g三氯化锑，加20 mL乙酰氯溶解。

#### A.5.3.5 测定

分别取10  $\mu\text{L}$ 对照品溶液、实验室样品溶液及麦角甾醇对照溶液，分别点于以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶G薄层板上，用展开剂暗处展开，晾干，用显色剂显色。实验室样品溶液与对照品溶液的主斑点 $R_f$ 值及颜色应一致，实验室样品溶液的杂质斑点不得深于麦角甾醇对照溶液相应的斑点。

## A.6 比旋光度的测定

#### A. 6. 1 试剂和材料

无水乙醇。

#### A. 6. 2 仪器和设备

旋光仪。

### A. 6. 3 分析步骤

取实验室样品适量，精确至0.000 2 g，加无水乙醇制成1 mL中约含40 mg的溶液，其他按GB/T 613-2007规定的方法进行。（注：在溶液配制后30min内测定）。

#### A. 6.4 结果计算

比旋光度 $a_m(20^{\circ}\text{C}, \text{D})$ 按公式(A.2)计算：

武中：

$\alpha$  —— 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.7 质量吸收系数的测定

### A.7.1 试剂和材料

无水乙醇。

#### A.7.2 仪器和设备

紫外分光光度仪。

### A. 7.3 分析步骤

称取实验室样品适量，精确至0.000 2 g，加乙醇制成每1 mL中约含10  $\mu$ g样品的溶液，按照GB/T 9721 在265 nm $\pm$ 1 nm的波长处测定吸光度A，求其质量吸收系数。

#### A. 7.4 结果计算

根据吸光度 $A$ 计算维生素D<sub>2</sub>的质量吸收系数 $\alpha$ ，数值以 $(\text{°}) \cdot \text{dm}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ 表示，按公式(A.3)计算：

式中：

*A*——样品溶液的吸光度的数值；

*b*——光路长度（即吸收池厚度）的数值，单位为厘米（cm）；

$\rho_\alpha$ ——实验室样品溶液的质量浓度的数值，单位为克每升(g/L)。

## A. 8 还原性物质的测定

## A. 8. 1 方法原理

还原性物质在强碱性溶液中能将四唑蓝还原为有色甲月替（formazan），与对甲二酚无水乙醇还原物质的标准溶液颜色比较做限量检查。

#### A. 8. 2 试剂和材料

A. 8. 2. 1 无水乙醇。

A. 8. 2. 2 甲醇。

A. 8. 2. 3 冰乙酸。

A. 8. 2. 4 四唑蓝甲醇溶液：50 mg/mL。

A. 8. 2. 5 羟化四甲铵溶液：羟化四甲铵水溶液(100 g/L) -无水乙醇 (1+9)。

A. 8. 2. 6 对甲二酚无水乙醇溶液：0.2 μg/mL。

#### A. 8. 3 分析步骤

##### A. 8. 3. 1 实验室样品溶液的制备

称取约0.1 g实验室样品，精确至0.001 g，溶解于无水乙醇中，稀释至10 mL，加入0.5 mL四唑蓝甲醇溶液和0.5 mL羟化四甲铵溶液，静置5min，加入1.0 mL冰乙酸，摇匀。

##### A. 8. 3. 2 对照溶液的制备

量取10 mL±0.05 mL 0.2 μg/mL对甲二酚无水乙醇溶液，加入0.5 mL四唑蓝甲醇溶液和0.5 mL羟化四甲铵溶液，静置5min，加入1.0 mL冰乙酸，摇匀。

##### A. 8. 3. 3 空白溶液的制备

取10 mL无水乙醇，加入0.5 mL四唑蓝甲醇溶液和0.5 mL羟化四甲铵溶液，静置5min，加入1.0 mL冰乙酸，摇匀。

##### A. 8. 3. 4 测定

在525 nm波长处，用空白溶液调零，分别测定实验室样品溶液与对照溶液的吸光度，实验室样品溶液的吸光度不得大于对照溶液。

#### A. 9 砷的测定

取5 g±0.01 g实验室样品，用干灰化法处理样品。取相同量的氧化镁、硝酸镁与试样同法处理，做试剂空白试验。量取10 mL±0.05 mL砷标准溶液（含砷2.0μg），同法处理，制备砷限量标准。按GB/T5009.76—2003砷斑法的规定进行。

#### A. 10 重金属的测定

##### A. 10. 1 试剂和材料

A. 10. 1. 1 硝酸。

A. 10. 1. 2 硫酸。

A. 10. 1. 3 盐酸。

A. 10. 1. 4 甘油。

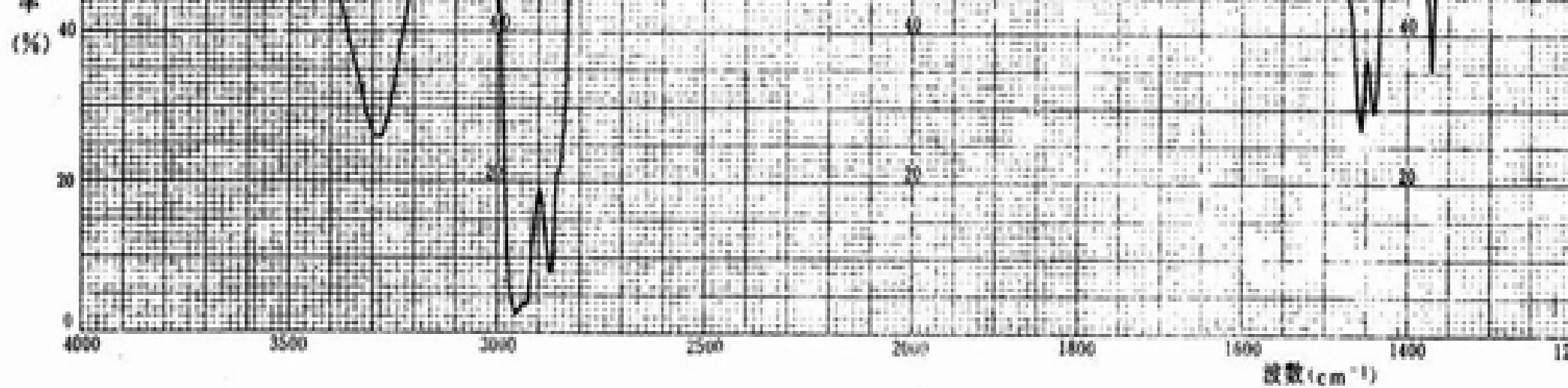
A. 10. 1. 5 乙酸铵。

A. 10. 1. 6 硝酸铅。

A. 10. 1. 7 硫代乙酰胺。

A. 10. 1. 8 氨试液：400→1000。

- A. 10. 1. 9 氢氧化钠溶液:  $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/L}$ 。
- A. 10. 1. 10 盐酸溶液:  $c(\text{HCl}) = 2 \text{ mol/L}$ 。
- A. 10. 1. 11 盐酸溶液:  $c(\text{HCl}) = 7 \text{ mol/L}$ 。
- A. 10. 1. 12 氨水溶液:  $c(\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}) = 5 \text{ mol/L}$ 。
- A. 10. 1. 13 酚酞指示液: 10g/L乙醇溶液。
- A. 10. 1. 14 乙酸盐缓冲液(pH3.5): 取25 g 乙酸铵, 加水25 mL溶解后, 加7 mol/L盐酸溶液38 mL, 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。
- A. 10. 1. 15 硫代乙酰胺试液: 取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. 10. 1. 16 铅标准溶液: 称取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, 摆匀, 作为贮备液。临用前, 移取(10±0.02) mL贮备液, 置于100 mL容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摆匀, 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. 10. 2 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, 具体方法如下:
- 取 $1 \text{ g} \pm 0.01 \text{ g}$  实验室样品, 缓缓灼烧至完全炭化, 放冷, 加 $0.5 \text{ mL} \sim 1.0 \text{ mL}$  硫酸, 使恰湿润, 用低温加热制硫酸除尽后, 加 $0.5 \text{ mL}$  硝酸, 蒸干, 至氧化氮蒸气除尽后, 放冷, 在 $500 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 炽灼至完全灰化, 放冷, 加 $2 \text{ mL}$  盐酸, 置水浴上蒸干后加 $15 \text{ mL}$  水, 滴加氨试液至对酚酞指示液显中性, 再加 $2 \text{ mL}$  乙酸盐缓冲液(pH3.5), 微热溶解后, 移置纳氏比色管甲管中, 加水稀释成 $25 \text{ mL}$ ; 另取配制实验室样品溶液的试剂, 置瓷皿中蒸干后, 加 $2 \text{ mL}$  乙酸盐缓冲液(pH3.5)与 $15 \text{ mL}$  水, 微热溶解后, 移置纳氏比色管乙管中, 加 $2 \text{ mL} \pm 0.02 \text{ mL}$  标准铅溶液, 再用水稀释成 $25 \text{ mL}$ ; 再在甲乙两管中分别加 $2 \text{ mL}$  硫代乙酰胺试液, 摆匀, 放置 $2\text{min}$ , 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。



注：引自《药品红外光谱集》第一卷（1995）

图B.1 维生素D<sub>2</sub>红外光谱图

## 附录 C

(资料性附录)

系统适用性试验高效液相色谱图和相对保留时间

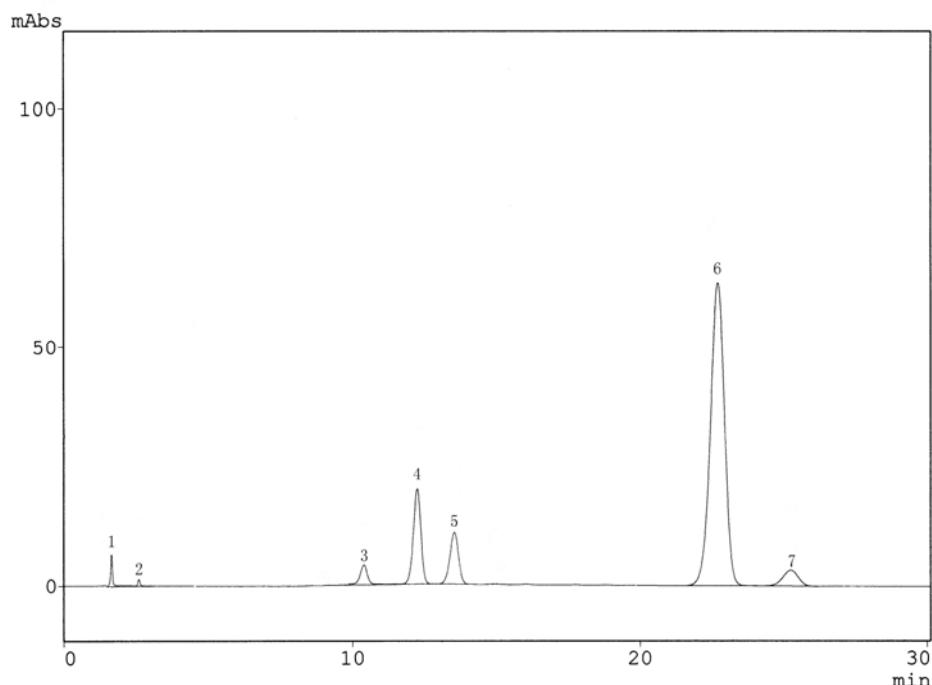


图 C.1 系统适用性试验高效液相色谱图

表 C.1 各峰保留时间和相对保留时间

峰序	组分名称	相对保留时间
1	溶剂峰	—
2, 3	未知峰	—
4	前维生素 D <sub>3</sub>	0.54
5	反式维生素 D <sub>3</sub>	0.60
6	维生素 D <sub>3</sub>	1.00
7	速甾醇 D <sub>3</sub>	1.11