



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 B₂（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 B₂（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 B₂（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 B₂（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

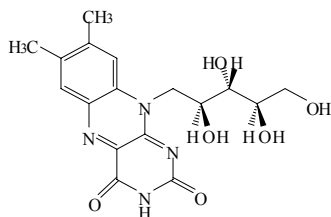
3.1 化学名称

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

C₁₇H₂₀N₄O₆

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	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。
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	

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 ₂ (核黄素) (以干基计), w/%	98.0~102.0	附录 A 中 A.4
比旋光度 $\alpha_m(20^\circ\text{C}, \text{D}) / ((^\circ) \cdot \text{dm}^2 \cdot \text{kg}^{-1})$	-120~-140	附录 A 中 A.5
感光黄素的吸光度 \leq	0.025	附录 A 中 A.6
干燥减量, w/% \leq	1.5	附录 A 中 A.7
灼烧残渣, w/% \leq	0.3	附录 A 中 A.8
重金属 (以 Pb 计) / (mg/kg) \leq	10	附录 A 中 A.9
砷 (As) / (mg/kg) \leq	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 B₂ (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 B₂ (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 B₂ (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 B₂ (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 nm±1 nm、375 nm±1 nm与267 nm±1 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0.31~0.33和 $A_{444\text{nm}}/A_{267\text{nm}}$ 的比值为0.36~0.39。

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B₂的测定

A.4.1 方法原理

维生素B₂（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 nm±1nm处，以水为空白对照，测定吸光度（A）。

A.4.5 结果计算

维生素B₂（核黄素）的质量分数 w_1 ，数值以%表示，按公式（A.1）计算：

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

式中：

5000——实验室样品稀释体积，单位为毫升（mL）；

323——维生素B₂（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 B₂ (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: $c(\text{HCl}) = 0.1 \text{ mol/L}$ 。

A.5.2.4 无碳酸盐氢氧化钾溶液: 取20 g氢氧化钾, 加100 mL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中含维生素B₂ (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B₂ (核黄素) 的比旋光度 α_m (20°C, D) 按公式(A.2)计算:

$$\alpha_m(20^\circ\text{C}, \text{D}) = \frac{\alpha}{l\rho_\alpha} \dots\dots\dots(\text{A.2})$$

式中:

α —— 测得的旋光角, 单位为度(°);

l —— 旋光管的长度, 单位为分米(dm);

ρ_α —— 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 B₂ (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 B₂ (核黄素) 的干扰后, 在此波长处测定, 作限量检查。但维生素 B₂ (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

甲烷。

A. 6. 2 试剂和材料

A. 6. 2. 1 无水硫酸钠。

A. 6. 2. 2 无醇三氯甲烷：取500 mL三氯甲烷，用水洗涤3次，每次50 mL，分取三氯甲烷层，用无水硫酸钠干燥12h以上，用脱脂棉过滤，蒸馏，即得。临用前配制。

A. 6. 3 仪器和设备

A. 6. 3. 1 紫外-可见分光光度仪。

A. 6. 3. 2 石英池（1 cm）。

A. 6. 4 分析步骤

A. 6. 4. 1 实验室样品溶液的制备：称取约0.025 g实验室样品，精确至0.000 1 g，加10 mL无醇三氯甲烷，振摇5min，过滤。

A. 6. 4. 2 测定

取实验室样品溶液，在波长440 nm处，以无醇三氯甲烷为空白，测定吸光度（A）。

A. 7 干燥减量的测定

A. 7. 1 仪器和设备

A. 7. 1. 1 扁形称量瓶。

A. 7. 1. 2 恒温干燥箱。

A. 7. 2 分析步骤

称取约 0.5 g 实验室样品，精确至 0.000 1 g，置于 105 °C±2 °C 干燥至恒重的扁形称量瓶中，厚度不可超过 5 mm，105 °C±2 °C 干燥至恒重。

A. 7. 3 结果计算

维生素 B₂（核黄素）干燥减量的质量分数 w_2 ，数值以%表示，按公式（A.3）计算：

$$w_2 = \frac{m_1 - m_2}{m} \times 100\% \dots\dots\dots (A.3)$$

式中：

m_1 ——干燥前实验室样品和称量瓶的总质量数值，单位为克（g）；

m_2 ——干燥后实验室样品和称量瓶的总质量数值，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 0.05%。

A. 8 灼烧残渣的测定

A. 8. 1 方法原理

样品加硫酸经灼烧后所留的硫酸盐，用重量法测定。

A. 8. 2 试剂和材料

硫酸。

A. 8. 3 仪器和设备

A. 8. 3. 1 瓷坩埚。

A. 8. 3. 2 高温炉。

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 °C±50 °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 °C±50 °C 灼烧至恒重。

A.8.5 结果计算

维生素 B₂ (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：

$$w_3 = \frac{m_3 - m_4}{m} \times 100\% \dots\dots\dots (A.4)$$

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： $c(\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}) = 5 \text{ mol/L}$ 。

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±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 μg 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℃~600℃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 \pm 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。

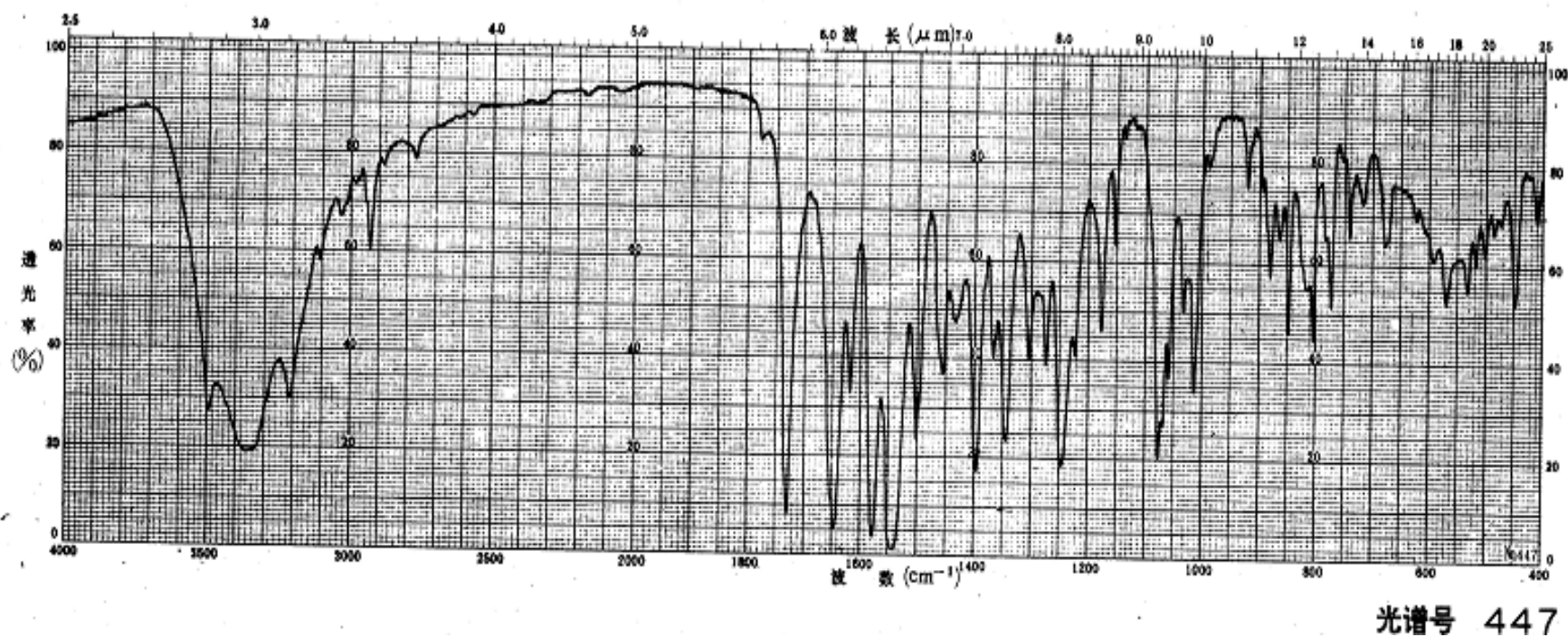
A. 10 砷盐的测定

称取5.0 g \pm 0.01 g实验室样品、量取 10 mL \pm 0.05 mL限量砷标准溶液（每1 mL溶液相当于1 μg 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 B₂ 红外光吸收图谱



光谱号 447

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B₂红外光吸收图谱