

中华人民共和国国家标准

GB 14758—2010

食品安全国家标准
食品添加剂 咖啡因

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 14758—1993《食品添加剂 咖啡因》。

本标准与 GB 14758—1993 相比，主要变化如下：

- 外观描述由白色结晶粉末改为白色或极微黄绿色结晶粉末；
- 咖啡因含量的允许差由相对差 0.3%改为绝对差 0.2%；
- 增加了红外光谱鉴别；
- 增加了澄清度项目；
- 砷指标由 0.0003%修改为 2 mg/kg；
- 增加了色谱纯度的要求。

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 14758-1993

食品安全国家标准

食品添加剂 咖啡因

1 范围

本标准适用于以氯乙酸或氰乙酸为原料化学合成法及以茶叶为原料提取法制得食品添加剂咖啡因。

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

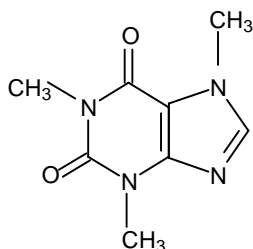
3.1 化学名称

1,3,7-三甲基黄嘌呤

3.2 分子式

$C_8H_{10}N_4O_2$ 或 $C_8H_{10}N_4O_2 \cdot H_2O$

3.3 结构式



3.4 相对分子质量

无水咖啡因：194.19(按 2007 年国际相对原子质量)

一水咖啡因：212.21(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	白色或带极微黄绿色且有丝光	取适量样品置于清洁、干燥的烧杯中，在自然光线下，观察色泽和组织状态，嗅其气味。用温开水漱口后，品尝滋味。
滋味、气味	味苦，无臭	
组织状态	针状结晶或结晶性粉末或颗粒。具有风化性	

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
咖啡因 (C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂ ,以干基计), w/%		98.5~101.0	附录 A 中 A.4
干燥减量, w/%	≤	0.5 (无水)	附录 A 中 A.5
		8.5 (含水)	
灼烧残渣, w/%		0.1	附录 A 中 A.6
其他生物碱		无沉淀产生	附录 A 中 A.7
色谱纯度, w/%	单个杂质 ≤	0.1	附录 A 中 A.8
	总杂质 ≤	0.1	
砷 (As) /(mg/kg)		2	附录 A 中 A.9
熔点 /°C		235.0~237.5	附录 A 中 A.10
澄清度试验 (20g/L 溶液)		通过试验	附录 A 中 A.11
重金属 (以 Pb 计) /(mg/kg)		10	附录 A 中 A.12
易炭化物		通过试验	附录 A 中 A.13

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。

试验方法中所用标准滴定溶液、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 601、GB/T 602、GB/T 603 的规定制备。

A.3 鉴别试验

A.3.1 试剂和材料

A.3.1.1 盐酸。

A.3.1.2 氯酸钾。

A.3.1.3 氨溶液: 10→100。

A.3.1.4 盐酸溶液: 10→100。

A.3.1.5 氢氧化钠溶液: 40g/L。

A.3.1.6 碘溶液: 0.1 mol/L。

A.3.2 分析步骤

A.3.2.1 紫脲酸呈色试验

取约10.0 mg实验室样品,加1mL盐酸溶液与0.1 g氯酸钾,置水浴上蒸干,残渣遇氨气即显紫色,再加氢氧化钠溶液数滴,紫色即消失。

A.3.2.2 咖啡因与碘试液及盐酸的沉淀反应

取5 mL实验室样品的饱和水溶液,加5滴碘溶液,不发生沉淀;再加3滴盐酸溶液,即出现红棕色的沉淀,能在稍过量的氢氧化钠溶液中溶解。

A.3.2.3 红外光谱鉴别

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图谱(见附录B)一致。

A.4 咖啡因的测定

A.4.1 试剂和材料

A.4.1.1 乙酸酐。

A.4.1.2 苯。

A.4.1.3 高氯酸标准滴定溶液: $c(\text{HClO}_4) = 0.1 \text{ mol/L}$ 。

A.4.2 仪器和设备

电位滴定仪。

A.4.3 分析步骤

取约 0.4 g 实验室样品，精确至 0.000 2 g，加 40 mL 乙酸酐，加热溶解，冷却，加 80 mL 苯，用高氯酸标准滴定液滴定，用电位法指示终点，并将滴定的结果用空白试验校正。

A.4.4 结果计算

咖啡因（以 $C_8H_{10}N_4O_2$ 计）的质量分数 w_1 ，数值以 % 表示，按公式（A.1）计算：

$$w_1 = \frac{(V - V_0) \times c \times M}{m \times (1 - w_2) \times 1000} \times 100\% \dots \dots \dots (A.1)$$

式中：

V ——实验室样品消耗高氯酸标准溶液的体积，单位为毫升（mL）；

V_0 ——空白试验消耗高氯酸标准溶液的体积，单位为毫升（mL）；

c ——高氯酸滴定液的摩尔浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

m ——实验室样品的质量的数值，单位为克（g）；

w_2 ——干燥减量的数值，%；

M ——咖啡因的摩尔质量的数值，单位为克每摩尔（g/mol） [$M(C_8H_{10}N_4O_2) = 194.2$]

取平行测定结果的算术平均值为测定结果，两次平行测定的绝对差值不大于 0.2%。

A.5 干燥减量的测定

A.5.1 分析步骤

取 1.0 g 实验室样品，精确至 0.000 2 g，置于已在 80℃ 干燥至恒重的称量瓶内，精密称量，置于 80℃ 烘箱中干燥至恒重。

A.5.2 结果计算

样品干燥减量的质量分数以 w_2 计，数值以 % 表示，按公式（A.2）计算：

$$w_2 = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} \times 100\% \dots \dots \dots (A.2)$$

式中：

m_1 ——干燥前实验室样品和称量瓶总质量的数值，单位为克（g）；

m_2 ——干燥后实验室样品和称量瓶总质量的数值，单位为克（g）；

m_3 ——称量瓶质量的数值，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.6 灼烧残渣的测定

A.6.1 试剂和材料

硫酸。

A.6.2 分析步骤

取 1.0 g 实验室样品，精确至 0.001 g，置于已在 750℃ ± 50℃ 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，加硫酸 0.5 mL ~ 1 mL 使湿润，低温加热至硫酸蒸气除尽后，移入高温炉中，在 750℃ ± 50℃ 高温炉中灼烧至恒重。

A.6.3 结果计算

灼烧残渣的质量分数以 w_3 计, 数值以%表示, 按公式 (A.3) 计算:

$$w_3 = \frac{m_4 - m_5}{m} \times 100\% \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

m_4 ——坩埚和残渣总质量的数值, 单位为克 (g);

m_5 ——坩埚质量的数值, 单位为克 (g);

m ——样品质量的数值, 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.7 其他生物碱的测定

A.7.1 试剂和材料

碘化汞钾试液: 取 1.36g 二氯化汞, 加 60mL 水使溶解, 另取 5g 碘化钾, 加 10mL 水使溶解, 将两液混合, 混合后加水稀释至 100mL。

A.7.2 分析步骤

称取 1 g 实验室样品, 加 50 mL 水, 取 10 mL 该溶液加 3 滴碘化汞钾试液, 不得产生沉淀。

A.8 色谱纯度的测定

A.8.1 试剂和材料

A.8.1.1 无水乙酸钠。

A.8.1.2 乙腈: 色谱纯。

A.8.1.3 四氢呋喃: 色谱纯。

A.8.1.4 冰乙酸。

A.8.1.5 茶碱对照品。

A.8.1.6 咖啡因对照品。

A.8.2 仪器和设备

高效液相色谱仪。

A.8.3 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, 咖啡因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。φ

表 A.1 色谱柱和典型色谱操作条件

色谱柱	十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱(填料粒径 5 μm, φ4.6 mm×150 mm 不锈钢柱)
流动相	称取约 1.64 g 无水乙酸钠, 精密称定, 加水溶解并稀释至 2000 mL, 混匀。取 1910 mL, 加乙腈 50 mL, 四氢呋喃 40 mL, 混合后用冰乙酸调 pH=4.5, 混匀, 过滤, 脱气
流速	约 1 mL/min
检测器检测波长	275 nm

A.8.4 分析步骤

A.8.4.1 对照品溶液: 称取约 2 mg 茶碱对照品, 精确至 0.000 1 g, 置 100 mL 容量瓶中, 加约 50 mL 流动相振摇, 并用超声波溶解, 用流动相稀释到刻度, 混匀。

A. 8. 4. 2 系统适用性试液的制备：称取约5.0 mg咖啡因对照品，精确至0.000 1 g，置25 mL容量瓶中，加5.0 mL对照品溶液和10 mL流动相，振摇，超声溶解，再用流动相稀释到刻度，混匀。

A. 8. 4. 3 实验室样品液的制备：称取约10 mg咖啡因实验室样品，精确至0.000 1 g，置50 mL容量瓶中，加10 mL流动相，振摇，超声溶解，再用流动相稀释到刻度，混匀。

A. 8. 4. 4 仪器准备：按照高效液相色谱仪操作规程准备仪器，设定流速为1 mL/min，检测波长为275 nm，用流动相平衡仪器后，开始进样操作。

A. 8. 4. 5 系统适应性试验：取10 μL系统适用性试液进样，记录色谱图，茶碱和咖啡因的相对保留时间依次约为0.69，1.0；两峰间的分离度不得小于6.0；每个峰的拖尾因子 $T \leq 2.0$ 。

A. 8. 4. 6 测定：取流动相和样品溶液各10 μL进样，记录色谱图至咖啡因主峰保留时间的两倍。按面积归一化法计算各杂质含量。

A. 8. 5 结果计算(面积归一化法)

杂质含量的质量分数以 w_4 计，数值以%表示，按公式(A.4)计算：

$$w_4 = \frac{A_{杂}}{\sum A} \times 100\% \dots\dots\dots (A.4)$$

式中：

$A_{杂}$ ——杂质峰的峰面积(除溶剂峰及主峰外)；

$\sum A$ ——所有峰的面积之和(溶剂峰除外)。

A. 9 砷的测定

取1.0 g±0.01 g实验室样品，加20 mL水，加热溶解，冷却至室温后转移至100 mL锥形瓶中，加5 mL盐酸、5 mL碘化钾试液，5滴酸性氯化亚锡溶液，按照GB/T 5009.76—2003砷斑法的规定进行。

A. 10 熔点的测定

按《中华人民共和国药典》2005年版二部附录VIC熔点测定法第一法进行。方法如下：

取实验室样品适量，研成细粉，在80℃烘箱中干燥4 h后，分取适量，置熔点测定用毛细管(简称毛细管，由中性硬质玻璃管制成，长9 cm以上，内径0.9 mm~1.1 mm，壁厚0.10 mm~0.15 mm，一端熔封；当所用温度计浸入传温液在6 cm以上时，管长应适当增加，使露出液面3 cm以上)中，轻击管壁或借助长短适宜的洁净玻璃管，垂直放在表面皿或其他适宜的硬质物体上，将毛细管自上口放入使自由落下，反复数次，使粉末紧密集结在毛细管的熔封端。装入实验室样品的高度为3 mm。另将温度计(分浸型，具有0.5℃刻度，经熔点测定用对照品校正)放入盛装传温液(硅油或液状石蜡)的容器中，使温度计汞球部的底端与容器的底部距离2.5 cm以上(用内加热的容器，温度计汞球与加热器上表面距离2.5 cm以上)；加入传温液以使传温液受热后的液面适在温度计的分浸线处。将传温液加热，待温度上升至较规定的熔点低限约低10℃时，将装有实验室样品的毛细管浸入传温液，贴附在温度计上(可用橡皮圈或毛细管固定)，位置须使毛细管的内容物适在温度计汞球中部；继续加热，调节升温速率为每分钟上升1.0℃~1.5℃，加热时须不断搅拌使传温液温度保持均匀，记录实验室样品在初熔至全熔时的温度，重复测定3次，取其平均值。

A. 11 澄清度的测定

A. 11. 1 试剂和材料

A. 11. 1. 1 乌洛托品溶液：10 g/L。

A. 11. 1. 2 浊度标准贮备液的制备：称取于105 °C干燥至恒重的1.00 g硫酸肼，置100 mL量瓶中，加水适量使溶解，必要时可在40 °C的水浴中温热溶解，并用水稀释至刻度，摇匀，放置4 h~6 h；取此溶液与等容量的乌洛托品溶液（100g/L）混合，摇匀，于25 °C避光静置24h，即得。本液置冷处避光保存，可在两个月内使用，用前摇匀。

A. 11. 1. 3 浊度标准原液的制备：取15.0 mL浊度标准贮备液，置1 000 mL量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，取适量，置1cm吸收池中，照紫外-可见分光光度法（《中华人民共和国药典》2005年版附录IV A），在550 nm的波长处测定，其吸光度应在0.12~0.15范围内。本液应在48h内使用，用前摇匀。

A. 11. 1. 4 0.5号浊度标准液制备：取2.50 mL浊度标准原液于100 mL容量瓶中，加97.50 mL水至刻度，摇匀，即得。本液应临用时制备，使用前充分摇匀。

A. 11. 2 分析步骤

按《中华人民共和国药典》2005年版二部 附录IX B 澄清度检查法。称取（1.0±0.01）g 实验室样品，加50 mL水，加热煮沸，冷却至室温，与同体积的水或0.5号浊度标准液比较，若显混浊，不得比0.5号浊度标准液更深。

A. 12 重金属的测定

A. 12. 1 试剂和材料

A. 12. 1. 1 硝酸。

A. 12. 1. 2 甘油。

A. 12. 1. 3 乙酸铵。

A. 12. 1. 4 硝酸铅。

A. 12. 1. 5 硫代乙酰胺。

A. 12. 1. 6 盐酸溶液： $c(\text{HCl}) = 2 \text{ mol/L}$ 。

A. 12. 1. 7 氨水溶液： $c(\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}) = 5 \text{ mol/L}$ 。

A. 12. 1. 8 氢氧化钠溶液： $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/L}$ 。

A. 12. 1. 9 盐酸溶液： $c(\text{HCl}) = 7 \text{ mol/L}$ 。

A. 12. 1. 10 乙酸盐缓冲液（pH3.5）：称取约25 g乙酸铵，精确至0.01 g，加25 mL水溶解后，加7 mol/L盐酸溶液38 mL，用2 mol/L盐酸溶液或5 mol/L氨水溶液准确调节pH至3.5（pH计），用水稀释至100 mL。

A. 12. 1. 11 硫代乙酰胺试液：称取约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. 12. 1. 12 铅标准溶液：称取约0.160 g硝酸铅，精确至0.0002g，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±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）。配制与贮存用的玻璃仪器均不得含铅。

A. 12. 2 分析步骤

按《中华人民共和国药典》2005年版 二部 附录VIII H 重金属检查法第一法进行。方法如下：

取25 mL纳氏比色管两支，甲管中加入0.5 mL±0.005 mL（含铅5.0 μg）铅（Pb）标准溶液与2 mL乙酸盐缓冲液后，加水稀释成25 mL，另称取0.5 g实验室样品，精确至0.01 g，置于纳氏比色管乙管中，

加20 mL水，加热溶解后，冷却至室温，加2 mL乙酸盐缓冲液（pH3.5）与水适量使成25 mL（必要时滤过），若该溶液带颜色，可在甲管中滴加少量的稀焦糖溶液或其他无干扰的有色溶液，使之与乙管一致；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，乙管中显出的颜色与甲管比较，不得更深。

A. 13 易炭化物的测定

A. 13. 1 试剂和材料

A. 13. 1. 1 硫酸溶液：94.5%~95.5%（质量分数）。

A. 13. 1. 2 氯化钴液：取氯化钴（ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ），溶于盐酸溶液（1→40）中，使成1 000 mL，取该液5.00 mL，置250 mL碘量瓶中，加入5 mL过氧化氢试液和15 mL氢氧化钠溶液（200g/L），煮沸10 min冷却，加入2 g碘化钾和20 mL硫酸溶液（1→4），待沉淀溶解，用0.1 mol/L硫代硫酸钠标准滴定溶液滴定释出的碘，至近终点时，加3 mL淀粉指示剂，继续滴定至蓝色消失。用等量的同一试剂作空白，并作必要的校正，1 mL硫代硫酸钠（0.1 mol/L）相当于23.79 mg氯化钴（ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ）。在剩余的原溶液中加入适量的盐酸溶液（1→10），使1 mL溶液中含有59.5 mg氯化钴（ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ）。

A. 13. 1. 3 三氯化铁比色液：取约27.5 g三氯化铁，加适量的盐酸溶液（1→40）使溶解成500 mL。量取10.0 mL，置碘量瓶中，加2 g碘化钾与5 mL盐酸，密塞，在暗处静置15 min，加100 mL水，用硫代硫酸钠标准滴定溶液（0.1 mol/L）滴定，至近终点时，加2 mL淀粉指示剂，继续滴定至蓝色消失。用等量的同一试剂作空白，并作必要的校正。1 mL硫代硫酸钠（0.1 mol/L）相当于27.03 mg三氯化铁（ $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ）。根据上述测定结果，在剩余的原溶液中加入适量的盐酸溶液（1→40），使1 mL溶液中含45.0 mg的三氯化铁（ $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ）。

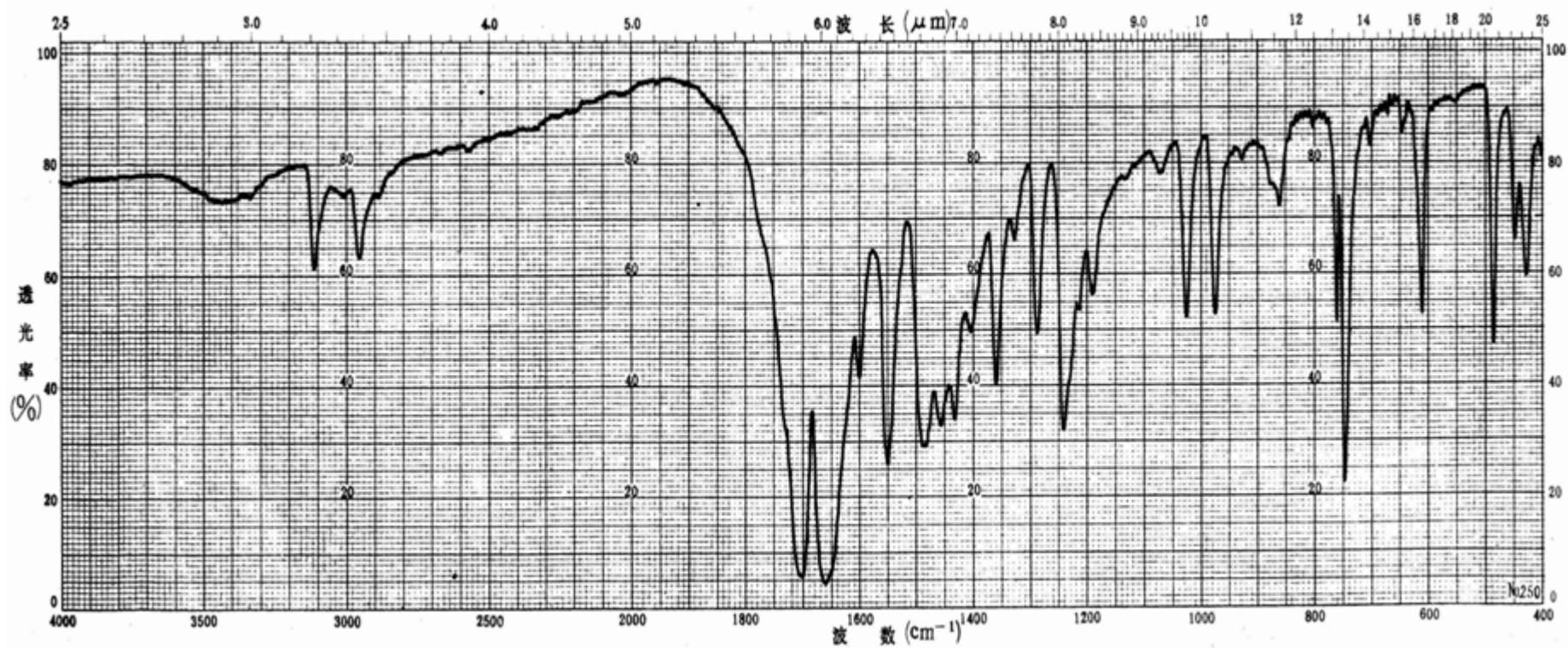
A. 13. 1. 4 硫酸铜比色液：取65 g硫酸铜（ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ）（GB665）溶于盐酸溶液（1→40）中，使成100 mL，取该溶液10.00 mL，置250 mL碘量瓶中，加40 mL水、4 mL乙酸、3 g碘化钾和5 mL盐酸，用硫代硫酸钠标准滴定溶液（0.1 mol/L）滴定释出的碘，至近终点时加3 mL淀粉指示剂继续滴定蓝色消失。用等量的相同试剂作空白，并作必要的校正。每1 mL 0.1 mol/L硫代硫酸钠相当于24.97 mg硫酸铜（ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ）。在剩余的原溶液中加入适量的盐酸溶液（1→40），使每1 mL溶液含62.4 mg硫酸铜（ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ）。

A. 13. 1. 5 比色液：取0.3 mL氯化钴比色液，0.6 mL三氯化铁比色液，0.4 mL硫酸铜比色液，加水稀释至5 mL。

A. 13. 2 分析步骤

取0.5 g±0.01 g实验室样品，加硫酸溶液至5 mL，振摇使溶解，溶液颜色不得较同体积比色液更深。

附录 B
(规范性附录)
咖啡因红外光谱



注：引自《药品红外光谱集》第一卷（一九九五）

图 B.1 咖啡因红外光谱

附录 C

(资料性附录)

系统适用性试验高效液相色谱图和各组分峰的相对保留时间

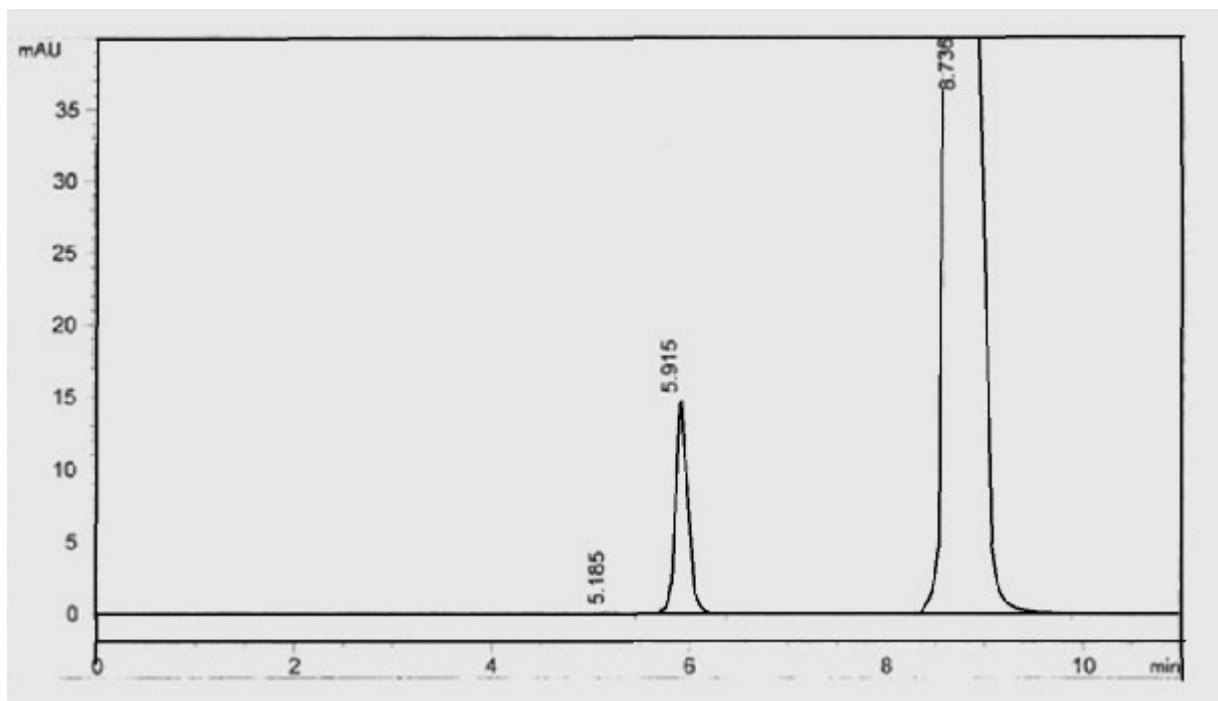


图 C.1 系统适用性试验高效液相色谱图

表 C.1 各组分峰的相对保留时间

组分名称	峰保留时间 min	相对保留时间
未知峰	5.185	—
茶碱	5.915	0.68
咖啡因	8.736	1.00