

高效液相色谱测定饮品中咖啡因

LC-129

摘要：本文建立了一种岛津液相色谱仪 LC-15C 测定饮品中咖啡因的方法。饮品直接过滤后进样，以 ODS 柱分离，紫外检测器检测。咖啡因在 0.02 mg/L ~ 50 mg/L 浓度范围内线性良好。对 0.2 mg/L、2 mg/L 和 20 mg/L 混合标准溶液连续 6 次进样，3 个浓度标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 0.65% ~ 2.06% 和 0.034% ~ 0.076%，仪器精密度良好。仪器的检出限在 0.022 mg/L。本文表明使用 LC-15C 可以在 15 min 内完成分析，适用于饮品中咖啡因含量测定。

关键词：饮品咖啡因高效液相色谱仪

咖啡因是从茶叶、咖啡果中提炼出来的一种生物碱，又称咖啡碱，属甲基黄嘌呤化合物。它是一种中枢神经兴奋剂，临床上用于治疗神经衰弱和昏迷复苏，但是大剂量或长期使用也会对人体造成危害。一些人体和动物实验认为咖啡因是一种较弱的致突变和致畸物，可引起

局部缺血性心脏病，心律不齐。

目前测定咖啡因方法很多，如薄层色谱法、紫外分光光度法和高效液相色谱法。本文采用高效液相色谱法直接测定饮料中咖啡因。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-15C。具体配置为：LC-15C 输液泵 ×2，SIL-10AF 自动进样器，CTO-15C 柱温箱，SPD-15C 紫外检测器，CBM-20Alite 控制器，LCsolution 15C 色谱工作站。

1.2 分析条件液相条件

色谱柱：Shim-pack VP - ODS4.6 mm I.D.×250 mm L., 5 μm
流动相：A- 水；B- 甲醇；
流速：1.0 mL/min
柱温：40℃
进样量：20 μL
检测波长：286 nm
洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 10%，梯度洗脱程序见表 1。

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Command	Value
10.00	B Conc.	90
11.00	B Conc.	10
15.00	Stop	

1.3 样品制备

标准溶液配制：

用甲醇逐级稀释咖啡因标准工作液，浓度为 0.2, 0.5, 2, 5, 20, 50 mg/L 的标准工作液。

样品前处理方法：

汽水、可乐型饮料用超声波清洗器在 40℃ 下超声 5 min 脱气。取脱气液 10 mL 通过 0.45 μm 水系滤膜过滤，弃去最初的 5 mL。

果汁类饮料离心，取上清通过 0.45 μm 水系滤膜过滤，弃去最初的 5 mL。

结果讨论

2.1 标准样品的色谱图

浓度为 2 mg/L 的咖啡因标准样品的色谱如图 1 所示。

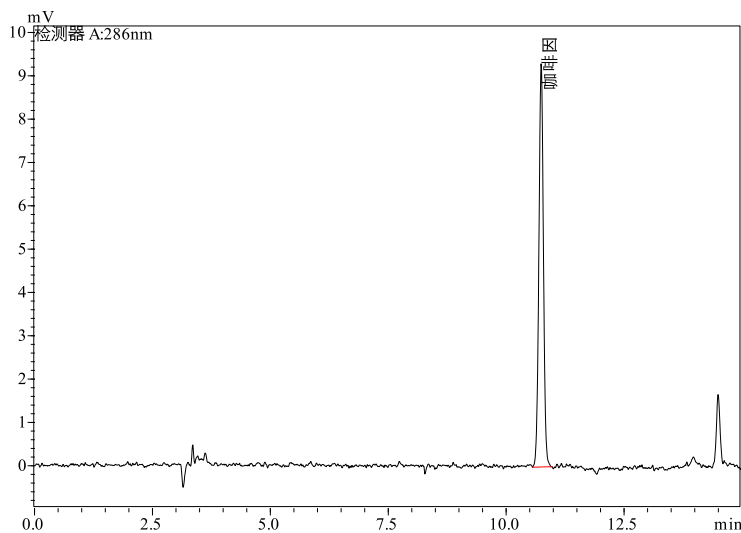


图1 2 mg/L 咖啡因标准样品色谱图

2.2 线性关系

将浓度为 0.2, 0.5, 2.5, 20, 50 mg/L 的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，如图 2 所示。咖啡因在一定浓度范围内校准曲线线性良好。线性方程、线性范围相关系数见表 2。

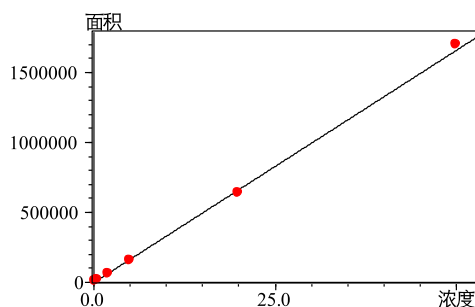


图2 咖啡因标准曲线

表2 咖啡因的校准曲线参数

No.	名称	英文名称	CAS 号	校准曲线	相关系数 r	线性范围 (mg/L)
1	咖啡因	Caffeine	58-08-2	$Y = 31805.64 X - 1212.743$	0.9996	0.2 -50

2.3 检出限和定量限

配制 7 份标准溶液，进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 MDL=3.14×S，定量限 LOQ=4×MDL。测定结果如表 4 所示：

表3 咖啡因的检出限和定量限

名称	浓度 (mg/L)	标准偏差(S)	检出限(mg/L)	定量限(mg/L)
咖啡因	0.2	0.0071	0.022	0.089

2.4 精密度实验

对咖啡因浓度为 0.2 mg/L、2 mg/L 和 20 mg/L 混合标准溶液连续 6 次进样，3 个浓度标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 0.65%~2.06% 和 0.034%~0.076% 之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (0.2 mg/L)		RSD% (2mg/L)		RSD% (20 mg/L)	
	Area	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.
咖啡因	2.06	0.076	0.65	0.038	1.40	0.034

2.5 实际样品分析及回收率实验

将所建立的分析方法用于实际样品分析，检测茶饮料样品。在此样品中添加浓度为 0.2 mg/L 的标准溶液，按 1.3 前处理方法对加标样品进行测试，图 3 为茶饮料样品的色谱图，加标色谱图如图 4 所示，加标回收率结果见表 5。

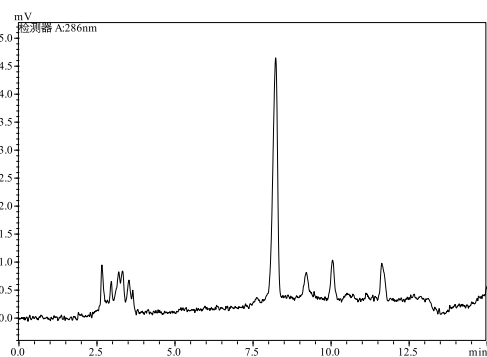


图 3 茶饮料样品色谱图

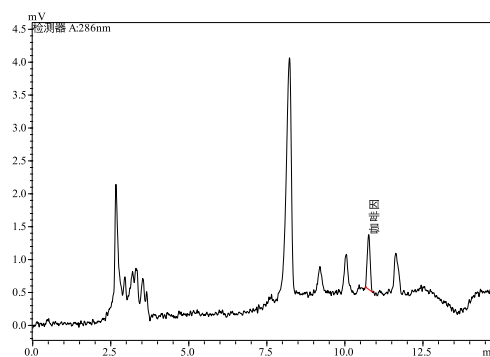


图 4 茶饮料样品加标色谱图

表 5 茶饮料样品检测与加标回收结果

编号	名称	检测浓度 (mg/L)	理论加标浓度 (mg/L)	实测加标浓度 (mg/L)	回收率 (%)
1	咖啡因	N.D.	0.20	0.21	105.0

注：N.D.未检出

结论

建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-15C 测定饮品中咖啡因的方法。该方法分析操作简单，重复性和精密度良好。线性良好，标准曲线的相关系数 0.9996。对低中高不同浓度的混合标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 0.65%~2.06% 和 0.034%~0.076% 之间，仪器精密度良好，检出限为 0.022 mg/L。考察茶饮料样品分析及加标实验，咖啡回收率为 105.0%，可以满足饮料中咖啡因的检测需求。