

紫外分光光度法测定饮料制品中的咖啡因含量

UV-038

摘要：采用紫外可见分光光度法测定饮料制品中咖啡因的含量。结果表明，在 0~20 mg/L 范围内线性良好，相关系数为 0.99911，检出限 LOD 为 0.13 mg/L，低于国标 GB/T5009.139-2003《饮料中咖啡因的测定》中规定的检出限 3 mg/L。加标回收率 97%。该法重复性好，灵敏度高，其准确度、精密度均能满足工业生产的分析要求。

关键词：饮料 咖啡因 紫外分光光度法

咖啡因是一种生物碱，为弱碱性化合物，无色针状晶体，无臭、味苦。在通常的饮料如咖啡、茶和可乐饮料，以及头痛药、止痛药中都发现有咖啡因的存在。适量食用咖啡因有驱除疲劳、兴奋神经等作用，临床上用于神经衰弱、伤风、偏头痛等疾病的治疗，但长期大量摄取咖啡因有损人体的健康，如咖啡因自身的毒性，可

引发心脏病，对人体骨骼状况及钙平衡产生不利影响等。饮料已成为我们日常生活中不可缺少的摄取水分和营养的产品，咖啡因的含量是饮料的一个重要品质指标，因此测定饮料中咖啡因的含量值得关注。本文参考 GB/T 5009.139-2003 采用紫外分光光度法测试了饮料中的咖啡因含量。

实验部分

1.1 实验原理

咖啡因的三氯甲烷溶液在 276.5 nm 波长下有最大吸收，其吸收值的大小与咖啡因浓度成正比，标准曲线法计算结果。

1.2 仪器

岛津 UV-2450 紫外-可见分光光度计

1.3 试剂

- (1) 无水硫酸钠；
- (2) 三氯甲烷；
- (3) 15 g/L 高锰酸钾溶液：称取 1.5 g 高锰酸钾，用水溶解并稀释至 100 mL。
- (4) 亚硫酸钠和硫氰酸钾混合溶液：称取 10 g 无水亚硫酸钠 (Na_2SO_3)，用水溶解并稀释至 100 mL。另取 10 g 硫氰酸钾，用水溶解并稀释至 100 mL，然后两者均匀混合。
- (5) 15% 磷酸溶液：吸取 15 mL 磷酸置于 100 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，混匀。
- (6) 200 g/L 氢氧化钠溶液：称取 20 g 氢氧化钠，用水溶解，冷却后稀释至 100 mL。
- (7) 200 g/L 醋酸锌溶液：称取 20 g 醋酸锌 [$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$] 中，加入 3 mL 冰乙酸，加水溶解并稀释到 100 mL。

(8) 100 g/L 亚铁氰化钾溶液：称取 10 g 亚铁氰化钾 [$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$] 用水溶解并稀释到 100 mL。

(9) 咖啡因标准品：含量 98.0% 以上。

(10) 咖啡因标准储备液：根据咖啡因标准品的含量用三氯甲烷配制成 0.5 mg/mL 咖啡因的溶液，置于冰箱中保存。

1.4 标准曲线的绘制

从 0.5 mg/mL 的咖啡因标准储备液中，用三氯甲烷配制成浓度分别为 0、5、10、15、20 mg/L 的标准系列，以 0 mg/L 作参比，调节零点，用 1 cm 比色皿于最大吸收波长 (276.5 nm) 处测量吸光度，作吸光度-浓度的标准曲线并求出直线回归方程。

1.5 样品及其前处理

样品：1 # 可乐，2 # 咖啡饮品。

(1) 分别取 1 # 样品 5 mL，2 # 样品 10 mL，分别加入 5 mL 高锰酸钾，静置 5 分钟。

(2) 分别加入 10 mL 混合液(硫氰化钾和亚硫酸钠)，摇匀。

(3) 加 50 mL 三氯甲烷摇动 100 次，静置分层，接收提取液。再加 40 mL 三氯甲烷提取。合并用三氯甲烷溶液定容至 100 mL。取 20 mL，加 5 g 无水硫酸钠，摇匀，准备上机。

结果与讨论

2.1 标准曲线

仪器稳定后, 对不同浓度的标准溶液进行光谱扫描, 如图 1 所示, 并记录最大吸收波长 276.5 nm。依次测定咖啡因标准溶液, 制定工作标准曲线, 见图 2。

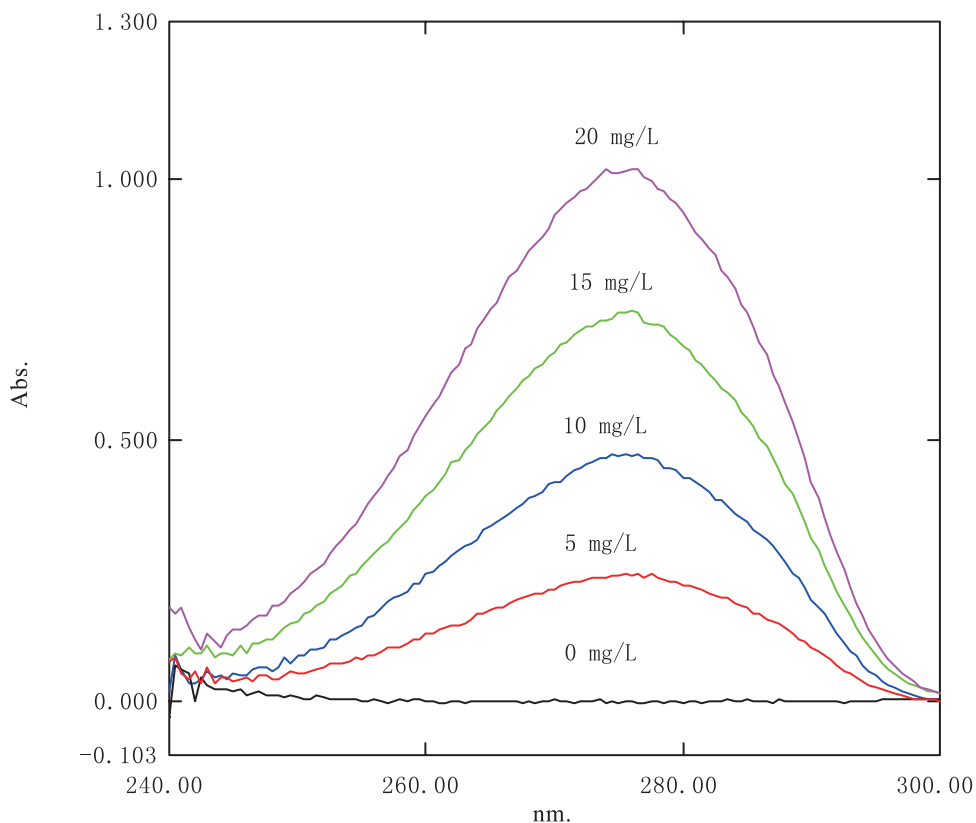


图 1 不同浓度光谱图

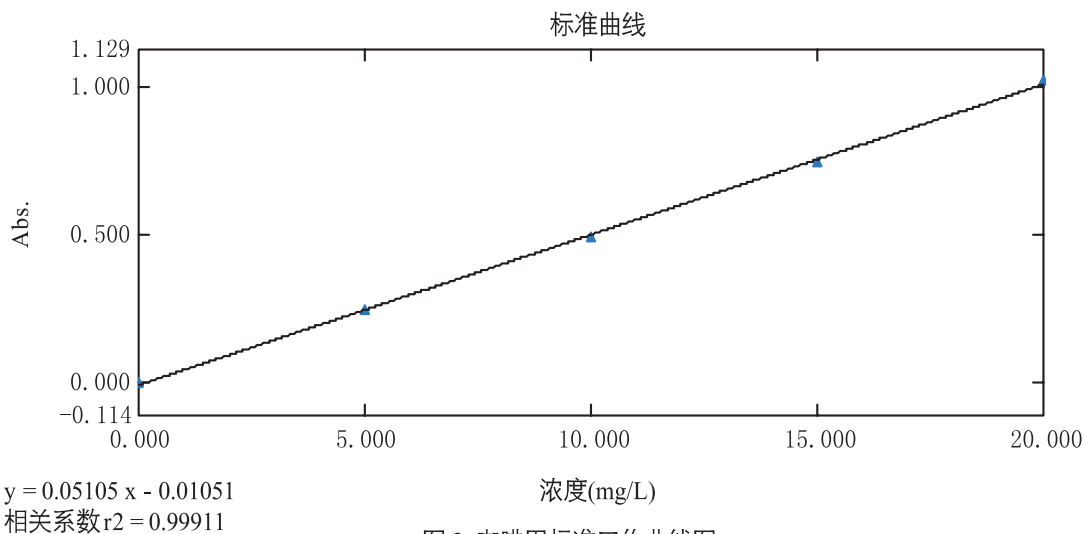


图 2 咖啡因标准工作曲线图

在 0~20 mg/mL 之间咖啡因的浓度与吸光度的线性良好, 计算其回归方程为 $y = 0.05105x - 0.01051$, $R^2 = 0.99911$ 。

2.2 检出限的测定

对样品空白标准溶液 10 次测定，以 3 倍 SD 值除以标准曲线斜率算得检测限为 0.13 mg/L。

(国标 GB/T5009.139-2003 规定此法检出限为 3 mg/L)

2.3 饮料样品中咖啡因含量的测定

按实验方法对样品进行分析，其结果见表 1。

2.4 方法的加标回收率和精密度

分别取样品 5 mL，再分别加入 5 mg/mL 标准使用液 1 mL，同样品处理方式进行，于波长 276.5 nm 处测吸光度，结果见表 2。

表 1 样品分析结果

样品名称	可乐	咖啡饮品
测试浓度(mg/L)	4.63	9.30
实际含量(mg/L)	92.60	93.00

表 2 加标回收率及重复性验证

样品名称	本底值 (mg/L)	加标量 (mg/L)	测定值 (mg/L)	回收率 (%)
可乐	4.63	5.00	9.48	97.00
咖啡饮品	4.65	5.00	9.53	97.60

结论

本文参考 GB/T5009.139-2003《饮料中咖啡因的测定》，采用紫外-可见分光光度法测定可乐样品和咖啡饮品中咖啡因的含量，测试结果均低于国家规定的 150 mg/L 的限量要求，说明市售的该品牌的咖啡因含量正常。该方法检出限为 0.13mg/L，低于国标 GB/T5009.139-2003 规定此法检出限 3mg/L。该方法具有快速检出限低、灵敏度高、回收率好等优点，其准确度、精密度均能满足可乐型饮料制品的生产分析要求。