

# 氮磷检测器气相色谱法测定茶叶、咖啡和 可乐饮料中的咖啡碱

陈家华

(上海进出口商品检验局)

咖啡碱(Caffeine)是茶叶、咖啡和可乐饮料的重要成分。它是一种生理活性物质,具有多种药理作用,因此测定茶叶、咖啡和可乐饮料中的咖啡碱含量,对评定品质优劣以及低咖啡碱饮料的审定都有十分重要的意义。

测定咖啡碱一般采用Bailey & Power—Chesnut容量法(AOAC法)<sup>(1)</sup>,也有用紫外比色法<sup>(1)</sup>,前者操作手续繁琐,分析时间冗长,后者要用大量的乙醚、氯仿试剂,而且要经二根柱层析净化,所以同样费时。同时由于经典方法灵敏度较低,所以都不适用于低咖啡碱茶叶和饮料的分析。

本文介绍用氮磷检测器气相色谱法测定咖啡碱。国内未见这方面的报道,我们将其应用于茶叶、咖啡和可乐饮料中咖啡碱含量测定,具有方法简便、快速和灵敏度高的特点。咖啡碱的平均回收率为97.3%。

## 实 验 部 分

### (一) 试剂和仪器

试剂:无水乙醇、氯仿、硫酸溶液(3mol/L)、氢氧化钠溶液(0.1mol/L)、氢氧化铵溶液(100ml氨水加入200ml蒸馏水)、巴比妥(以上均为A·R),咖啡碱(生化试剂)在100℃烘箱中烘3小时,贮存于干燥器中备用。

内标:巴比妥乙醇溶液,300μg/ml。5℃贮存备用。

标准:咖啡碱乙醇溶液,贮备溶液1mg/ml,中间工作溶液200μg/ml,工作溶液

20μg/ml(含150μg巴比妥内标)。5℃贮存备用。

仪器:气相色谱仪:岛津GC-9A,备有FTD。玻璃填充柱:2m×3mm内径,装填Gas Chrom Q(80—100目)涂以4%SE-30+6%OV-210混合固定液。

### (二) 实验步骤

#### 1. 咖啡碱提取

(1) 茶叶、咖啡:称取磨碎的均匀茶样0.5g或咖啡1g于100ml烧杯中,加入40ml氢氧化铵溶液,在100℃水浴上小心加热5min,冷至室温后移入100ml容量瓶中,用3mol/L硫酸调pH 3—4.5,用蒸馏水稀释至刻度,混匀后过滤,取10ml滤液于125ml分液漏斗中,加入10ml氯仿,振摇1min,静止分层后将氯仿放入另一分液漏斗中,再重复提取2次,在合并的提取液中加入0.1mol/L氢氧化钠5ml,振摇1min,分层后氯仿相经无水硫酸钠小柱脱水放入50ml容量瓶中,碱液用10ml氯仿萃取1min,静止分层后氯仿相经脱水并入50ml容量瓶中,用氯仿稀释至刻度。

(2) 将可乐饮料在超声波机上脱气,移取10ml饮料于125ml分液漏斗中,以下操作步骤同茶叶、咖啡试样。

#### 2. 咖啡碱色谱测定

(1) 色谱条件:流速:载气N<sub>2</sub>,60ml/min;空气,100ml/min;氢气,3—4ml/min。

柱温220℃,进样器温度250℃,检测器温度250℃。

检测器铂珠基流电压12.5—14V。

(2) 测定：移取1ml 提取溶液，用氮气吹干，加入 0.5ml 内标溶液，用无水乙醇稀释至1ml, 作为色谱测定溶液。样品溶液和工作标准溶液各注入 5 $\mu$ l 进行色谱分析。根据测得的峰高或峰面积按内标法计算样品中咖啡碱含量。

### 结果和讨论

1. 咖啡碱和内标巴比妥色谱：在规定条件下，巴比妥的保留时间为2.8min, 咖啡碱的保留时间为7.2min, 10min可完成一次色谱

分析, 见图1。茶叶、咖啡和可乐饮料中的咖啡碱测定色谱表明无杂质峰干扰。这是由于氮磷检测器对含氮化合物有较大响应, 而对碳氢化合物灵敏度低。Braithwaite & Smith<sup>(3)</sup>曾报道氮磷检测器 (FTD) 比氢火焰离子化检测器 (FID) 对含氮化合物响应提高50倍。在采用新的铂珠时我们测得咖啡碱的 FTD/FID 响应比与文献报道相接近, 因此色谱分析试样时大大降低了碳氢化合物干扰, 使最小检知量可达 $10^{-11}$ g 咖啡碱。所以本法适用于脱咖啡碱咖啡和低咖啡碱绿茶的分析。也适用于咖啡掺杂和假咖啡的鉴别。

2. 咖啡碱标准溶液的线性相关值的测

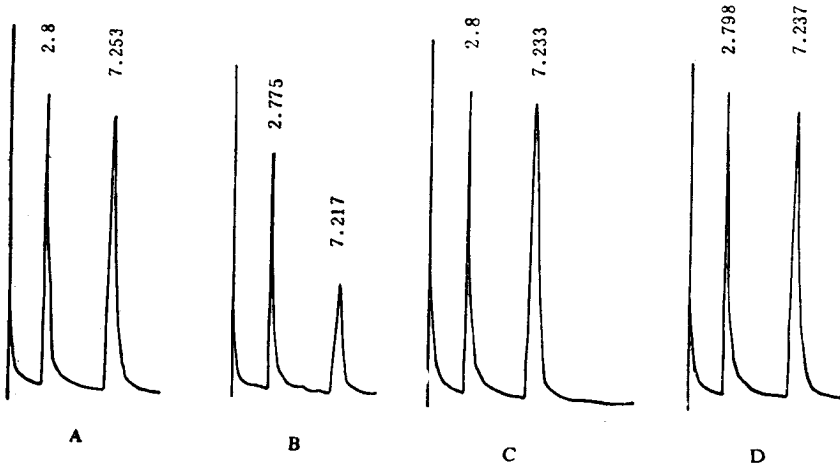


图 1 工作标准溶液(A), 可乐饮料 (B), 红茶(C) 和熟咖啡(D) 谱图。

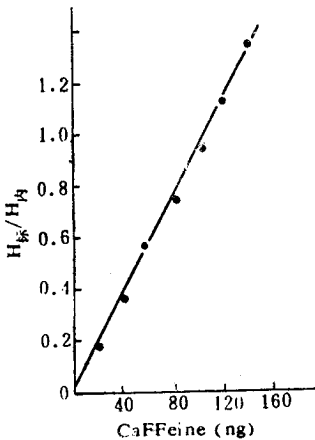


图 2 咖啡碱/内标线性曲线图

定：采用内标法绘制咖啡碱线性曲线，见图 2。咖啡碱量对咖啡碱峰高/内标峰高的线

性相关值  $\gamma$  为 0.9992。我们采用的工作标准溶液在线性范围之内。低咖啡碱含量的茶叶及饮料可采用更低浓度的工作标准溶液。

3. 氢氧化铵浸渍加热时间试验：咖啡碱在碱性条件下能从磷酸酯键上完全游离下来，为试验适宜的加热时间，我们以 0.5g 茶样和 1g 咖啡为试验，改变水浴加热时间，在规定条件下进行咖啡碱游离试验，实验表明加热 5min 较为适宜。

4. 咖啡碱在内标溶液中的稳定性：为考察咖啡碱在巴比妥内标溶液中的稳定性，我们在三天贮存期内测定它们的相对峰高比，测定结果见表 1。结果表明没有明显差异，说明咖啡碱在巴比妥溶液中较为稳定。

表 1 咖啡碱在内标溶液中稳定性测定结果

测定日期	测定次数	平均峰高比
1986.5.11	3	0.948
1986.5.12	5	0.937
1986.5.13	4	0.958

5. 精密度试验: 我们对本文拟定的方法分析精密度进行了试验, 实验表明测定重复性是令人满意的。茶叶中咖啡碱测定标准偏差0.098, 平均相对误差2.60%; 咖啡中咖啡碱测定标准偏差0.024, 平均相对误差1.82%; 可乐饮料中咖啡碱测定标准偏差 $3.69 \times 10^{-4}$ , 平均相对误差4.01%。

6. 准确度试验: 为观察本方法操作中咖啡碱的萃取效率, 采用添加咖啡碱于样品中进行回收试验。回收率在 92.2—103%, 结果见表 2。为对本文拟定方法可靠性作进一步考察, 将其与AOAC法对照试验, 结果也是令人满意的, 见表 3。采用“Student—test”显著性测验 $t = 2.01 < t(11, 0.05)$ , 这表明本方法和 AOAC 法无显著差异。

表 2 咖啡碱回收试验

品 种	样品中含 量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收量 (mg)	回收率 (%)
红 茶 (祁红)	19.150	5.000	24.300	5.150	103.0
		10.000	28.685	9.535	95.4
绿 茶 (珠茶)	12.100	10.000	22.235	10.135	101.4
		20.000	31.630	19.530	97.7
咖 啡	13.700	5.000	18.695	4.995	99.9
		10.000	22.920	9.222	92.2
可乐饮料	0.894	0.500	1.369	0.475	95.0
		1.000	1.834	0.940	94.0

7. 重现性试验: 为了考察本文拟定方法的重现性, 安徽商品检验局对本方法进行验证试验, 并对部分试样咖啡碱含量进行了测定, 测定结果见表 4。表明二实验室测定结果无显著差异, 方法是可靠的。

致谢: 安徽进出口商品检验局崔镜同志为本法进行验证, 特此致谢。

表 3 样品中咖啡碱含量测定结果

品 种		AOAC法测得量 (%)	系本法测得量 (%)
茶	祁 红	3.73	3.83
	川 红	3.78	3.67
	越 红	2.52	2.53
	红碎茶(I)	3.10	3.04
	红碎茶(II)	2.80	2.74
	红 茶 末	2.86	2.80
	珍 眉	2.98	2.91
叶	珠 茶	2.52	2.42
	贡 熙	2.12	2.15
咖 啡 I	1.36	1.31	
咖 啡 II	1.25	1.23	
云 南 咖 啡	1.29	1.27	
掺 杂 咖 啡	—	0.39	
可 乐 饮 料	—	100ppm	

表 4 方法重现性测试结果

品 种		上海局测得量	安徽局测得量
绿 茶	2.30%	2.33%	
红 茶	3.66%	3.69%	
咖 啡	1.23%	1.17%	
可 乐 饮 料	100ppm	104ppm	

## 参 考 文 献

- (1) Sidney Williams, "Official Methods of Analysis of the AOAC.", 14 Edition, Association of Official Analytical Chemists, INC., Arlington, Virginia, USA, P.272, 1984.
- (2) A. Braithwaite and F. J. Smith, "Chromatographic Methods", Fourth Edition, London, New York, P.170, 1985.

(收稿日期: 1986年10月7日)

Determination of Caffeine in Tea, Coffee and Cola Drink by Gas Chromatography with Nitrogen-Phosphorus Detector *Chen Jiahua, Shanghai Import and Export Commodity Inspection Bureau*

A procedure was described for analysis of caffeine in tea, coffee and cola drink. The sample was immersed with ammonium hydroxide. The free caffeine was extracted with  $\text{CHCl}_3$  and then determined by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detector.

It was a simple, rapid and sensitive method. The detection limit of caffeine was  $10^{-11}$  g. The relative standard deviations for the determinations of tea, coffee and cola drink were 2.60%, 1.82% and 4.01%, respectively. The average recovery of caffeine was 97.3%.

This method has been successfully applied to the determination of caffeine in tea, coffee, cola drink and false coffee in our laboratory. The results was satisfactory in comparing with those from "AOAC" method.