

HPLC 法测定焙烤咖啡中咖啡因的含量

赵丹霞

(广东省产品质量监督检验中心食品检验室, 广东 顺德 528300)

摘要: 建立高效液相色谱法简便准确测定焙烤咖啡中咖啡因的含量。采用色谱分析柱 (Ultimate™ XB-C18, 5 μm , 4.6 \times 150 mm), 流动相: 甲醇-水 (含 2 mL/L 乙酸), 梯度洗脱, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速 1.0 mL/min; 检测波长 286 nm; 咖啡因质量浓度在 5~200 $\mu\text{g/L}$ 范围内与色谱峰面积呈良好线性关系 ($R^2=0.9997$), 平均回收率有 97.93%, 精密度测试结果的 RSD 为 0.14%。该方法操作简单、结果准确、重复性好。

关键词: 高效液相色谱法; 焙烤咖啡; 咖啡因

中图分类号: TS207.3; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)01-0089-02

Determination of Caffeine in Baked Coffee by HPLC

ZHAO Dan-xia

(Food Detection Laboratory, Guangdong Supervision Test Center for Product Quality, Shunde 528300, China)

Abstract: A simple, accurate and reproducible method for the determination of caffeine in baked coffee by HPLC was established. The samples were analyzed by gradient elution on a Ultimate™ XB-C18 column (5 μm , 4.6 \times 150 mm) using a UV detector at 286 nm. The mobile phase was a mixture of methanol and deionized water (containing 2ml/L of acetic acid) at a flow rate of 1.0mL/min and the column temperature was 30 $^{\circ}\text{C}$. Results showed that the standard curve of caffeine had good linearity in the concentration range of 5~200 $\mu\text{g/L}$ ($R^2=0.9997$). The average recovery rate and RSD were 97.93% and 0.14%, respectively.

Key words: HPLC; baked coffee; caffeine

焙炒咖啡是指以咖啡豆为原料, 经清理、调配、焙炒、冷却、磨粉等工艺制成的食品, 包括焙炒咖啡豆、咖啡粉。在我国咖啡已经成为一种重要的日常消费品, 咖啡因又称咖啡碱, 是咖啡中的一种重要成分, 也是衡量其质量的一项重要指标, 作为一种中枢兴奋剂, 能兴奋大脑皮层, 但易上瘾, 因而国家对其制定了相应的卫生标准^[1]。目前测定咖啡因的方法有薄层色谱法、紫外分光光度法、气相色谱法和高效液相色谱法。本文通过对标准的查阅以及参照现有的检测方法, 确定了一种用氧化镁作为前处理吸附剂, 用 HPLC 法对样品进行梯度洗脱检测, 具有方法简便、分离效果好、结果准确等优点。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

焙炒咖啡: 若为咖啡豆则研磨成粉状; 咖啡因标准品: 纯度 >99.5%, Dr.Enrenstorfer; 甲醇: 色谱纯 (德国默克); 其余试剂为分析纯。

高效液相色谱仪: Agilent 1100 配紫外检测器。色谱分析柱 (Ultimate™ XB-C18, 5 μm , 4.6 \times 150 mm);

收稿日期: 2007-10-17

离心机、水浴锅: 上海浦东物理光学仪器厂。

1.2 色谱条件

流动相 A: 去离子水, 含 2 mL/L 的乙酸; 流动相 B: 甲醇, 梯度洗脱 (min/A): 0/95%、5/95%、25/10%、30/10%、35/95%; 流速 1.0 mL/min; 检测波长 286 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量为 10 μL 。

1.3 样品的处理方法

将咖啡粉样品准确称取 1.00 g, 放入 250 mL 具塞三角瓶中, 加入氧化镁 4 g, 水 100 mL, 摇匀置于 90 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上继续搅拌 20 min。冷却后离心提取液 (4000 r/min, 15 min), 取上清液移入 100 mL 容量瓶, 定容。取样液过 0.45 μm 滤膜, 按 1.2 所述色谱条件进行分析, 以峰面积外标法定量。

2 结果与分析

样品、标准品、加标样品色谱图依次见图 1~3。

由图 1 中的色谱图可以看出, 色谱图中目标峰形尖锐、对称性好, 样品色谱图中咖啡因与杂质分离效果好。

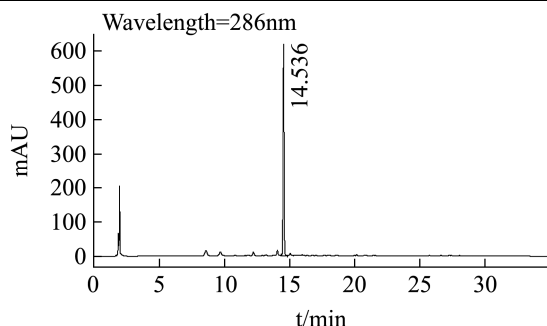


图1 咖啡因样品的色谱图

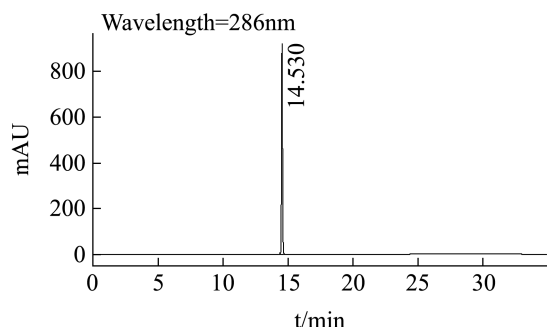


图2 标准品的色谱图

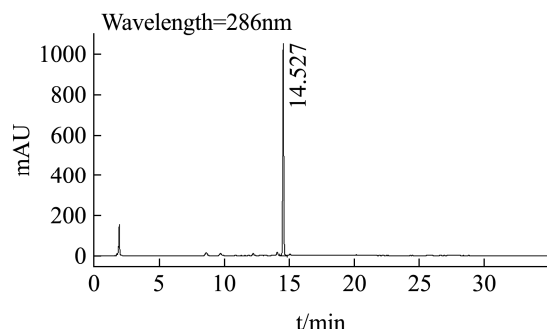


图3 加标样品的色谱图

2.1 标准曲线的绘制

将咖啡因标准品用甲醇溶解制成 1.0 mg/mL 的标准储备液，然后用流动相稀释成 200 μg/mL、100 μg/mL、50 μg/mL、10 μg/mL、5 μg/mL 的标准系列溶液。

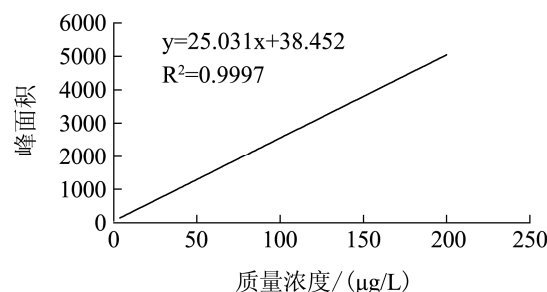


图4 标准曲线

2.2 回收率试验及样品测定

取 5 份平行样品，在样品中分别加入 100 μg/mL 的咖啡因标准品 1 mL 3 份，10 μg/mL 的咖啡因标准

品 1 mL 2 份，按 1.3 法处理样品作回收率，实验结果见表 1。

表1 回收率实验结果

加入量 (μg/mL)	测得量/(μg/mL)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
100	96.93	97.93		
100	97.72	97.72		
100	98.40	97.45	97.93	2.77
10	9.82	98.20		
10	9.79	97.90		

按 1.3 法处理样品做 5 次平行实验，咖啡因含量测定结果见表 2。

表2 样品测定结果

编号	含量/(μg/mL)	含量/%	平均值/%	RSD/%
1	132.56	1.314		
2	134.28	1.330		
3	135.30	1.349	1.328	1.36
4	134.97	1.318		
5	133.74	1.327		

2.3 精密度及稳定性实验

取 10 μg/mL 的咖啡因标准品，连续进样 5 次，每次 10 μL，计算峰面积的 RSD 为 0.14%。取咖啡因含量为 132.56 μg/mL 的样品提取液，分别于 0 h、2 h、4 h、6 h、8 h 进样，每次 10 μL，计算峰面积的 RSD 结果为 0.25%。

3 讨论

实验结果表明，咖啡因质量浓度在 5~200 μg/mL 范围内与色谱峰面积呈良好线形关系 ($R^2=0.9997$)，平均回收率有 97.93%，精密度测试结果的 RSD 为 0.14%，说明本研究所用方法准确可靠，可应用于焙烤咖啡中咖啡因的检测，而且采用的前处理方法简便、快捷。由于前处理过程中使用的氧化镁对样品中脂肪、蛋白质等极性物质有较强的吸附能力，进一步净化了提取液，而色谱条件中使用了梯度洗脱，降低了杂质峰对目标物的干扰，所以得到的样品色谱图也得到了很好的分离效果，背景干扰也较少。本方法为咖啡中咖啡因含量检测提供了一种新的简便而又准确的方法，为进一步完善咖啡因的质量检测标准提供了参考。

参考文献

[1] GB/T 5009.139-2003