



中华人民共和国国家标准

GB 5009.139—2014

食品安全国家标准 饮料中咖啡因的测定

2014-12-01 发布

2015-05-01 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准代替 GB/T 5009.139—2003《饮料中咖啡因的测定》、GB/T 19182—2003《咖啡 咖啡因含量的测定 液相色谱法》。

本标准与 GB/T 5009.139—2003 相比,主要变化如下:

- 删除了原标准 GB/T 5009.139—2003 中第一法 紫外分光光度法;
- 增加了样品分类;
- 修改了样品处理条件;
- 修改了检出限,增加了定量限;
- 修改了色谱条件。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- GB/T 5009.139—2003;
- GB/T 19182—2003。

食品安全国家标准

饮料中咖啡因的测定

1 范围

本标准规定了可乐型饮料,咖啡、茶叶及其固体和液体饮料制品中咖啡因含量的测定方法——高效液相色谱法。

本标准适用于可乐型饮料,咖啡、茶叶及其固体和液体饮料制品中咖啡因含量的测定。

2 原理

可乐型饮料脱气后,用水提取、氧化镁净化;不含乳的咖啡及茶叶液体饮料制品用水提取、氧化镁净化;含乳的咖啡及茶叶液体饮料制品经三氯乙酸溶液沉降蛋白;咖啡、茶叶及其固体饮料制品用水提取、氧化镁净化;然后经 C_{18} 色谱柱分离,用紫外检测器检测,外标法定量。

3 试剂和材料

注:除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 氧化镁(MgO)。

3.1.2 三氯乙酸(CCl_3COOH)。

3.1.3 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

3.2 试剂配制

三氯乙酸溶液(10 g/L):称取 1 g 三氯乙酸(3.1.2)于 100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。

3.3 标准品

咖啡因标准品($C_8H_{10}N_4O_2$):纯度 $\geq 99\%$ 。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 咖啡因标准储备液(2.0 mg/mL):准确称取咖啡因标准品 20 mg(精确至 0.1 mg)于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解定容。放置于 4℃ 冰箱,有效期为 6 个月。

3.4.2 咖啡因标准中间液(200 $\mu g/mL$):准确吸取 5.0 mL 咖啡因标准储备液(3.4.1)于 50 mL 容量瓶中,用水定容。放置于 4℃ 冰箱,有效期为 1 个月。

3.4.3 咖啡因标准曲线工作液:分别吸取咖啡因标准中间液(3.4.2)0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL、10.0 mL 至 10 mL 容量瓶中,用水定容。该标准系列溶液浓度分别为 10.0 $\mu g/mL$ 、20.0 $\mu g/mL$ 、40.0 $\mu g/mL$ 、100 $\mu g/mL$ 、200 $\mu g/mL$ 。临用时配制。

4 仪器和设备

- 4.1 高效液相色谱仪,带紫外检测器或二极管阵列检测器。
- 4.2 天平:感量为 0.1 mg。
- 4.3 水浴锅。
- 4.4 超声波清洗器。
- 4.5 0.45 μm 微孔水相滤膜。

5 分析步骤

5.1 试样制备

5.1.1 可乐型饮料:

- a) 脱气:样品用超声清洗器在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下超声 5 min;
- b) 净化:称取 5 g(精确至 0.001 g)样品,加水定容至 5 mL(使样品溶液中咖啡因含量在标准曲线范围内),摇匀,加入 0.5 g 氧化镁,振摇,静置,取上清液经微孔滤膜过滤,备用。

5.1.2 不含乳的咖啡及茶叶液体制品:称取 5 g(精确至 0.001 g)样品,加水定容至 5 mL(使样品溶液中咖啡因含量在标准曲线范围内),摇匀,加入 0.5 g 氧化镁,振摇,静置,取上清液经微孔滤膜过滤,备用。

5.1.3 含乳的咖啡及茶叶液体制品:称取 1 g(精确至 0.001 g)样品,加入三氯乙酸溶液定容至 10 mL(使样品溶液中咖啡因含量在标准曲线范围内),摇匀,静置,沉降蛋白,取上清液经微孔滤膜过滤,备用。

5.1.4 咖啡、茶叶及其固体制品:称取 1 g(精确至 0.001 g)经粉碎低于 30 目的均匀样品于 250 mL 锥形瓶中,加入约 200 mL 水,沸水浴 30 min,不时振摇,取出流水冷却 1 min,加入 5 g 氧化镁,振摇,再放入沸水浴 20 min,取出锥形瓶,冷却至室温,转移至 250 mL 容量瓶中,加水定容至刻度(使样品溶液中咖啡因含量在标准曲线范围内),摇匀,静置,取上清液经微孔滤膜过滤,备用。

5.2 仪器参考条件

仪器参考条件如下:

色谱柱: C_{18} 柱(粒径 5 μm ,柱长 150 mm $\times$ 直径 3.9 mm)或同等性能的色谱柱;

流动相:甲醇+水=24+76;

流速:1.0 mL/min;

检测波长:272 nm;

柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;

进样量:10 μL 。

5.3 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入液相色谱仪中,测定相应的峰面积,以标准工作液的浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线(咖啡因标准溶液色谱图见附录 A 中的图 A.1)。

5.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中,以保留时间定性,同时记录峰面积,根据标准曲线得到待测液中咖啡因的浓度,平行测定次数不少于两次。

6 分析结果的表述

试样中咖啡因含量按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times V}{m} \times \frac{1\,000}{1\,000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 试样中咖啡因的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- c —— 试样溶液中咖啡因的质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
- V —— 被测试样总体积,单位为毫升(mL);
- m —— 称取试样的质量,单位为克(g);
- 1 000 —— 换算系数。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留三位有效数字。

7 精密度

可乐型饮料:在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%; 咖啡、茶叶及其固体液体饮料制品:在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

8 其他

本方法线性范围为 220 ng/mL~439 μg/mL。检出限:以 3 倍基线噪声信号确定检出限为 0.7 ng; 可乐、不含乳的咖啡及茶叶液体饮料制品检出限为 0.07 mg/kg,定量限为 0.2 mg/kg;以含乳咖啡及茶叶液体饮料制品取样量 1 g,确定检出限为 0.7 mg/kg,定量限为 2.0 mg/kg;以咖啡、茶叶及其固体饮料制品取样量 1 g,确定检出限为 18 mg/kg,定量限为 54 mg/kg。

附 录 A
咖啡因标准溶液色谱图

图 A.1 为咖啡因标准溶液色谱图。

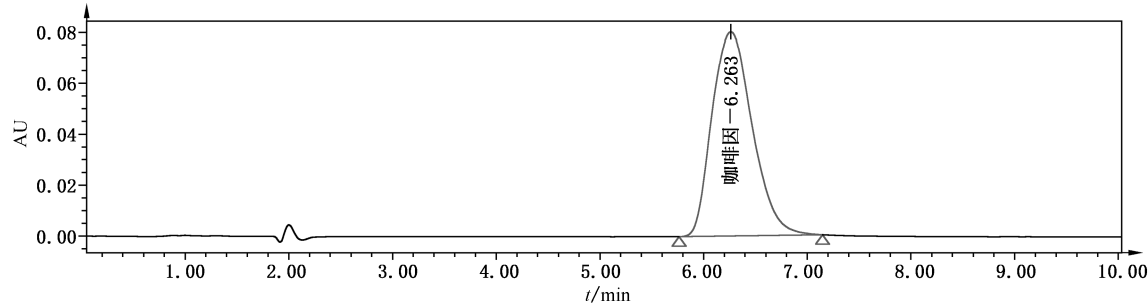


图 A.1 咖啡因标准溶液色谱图
