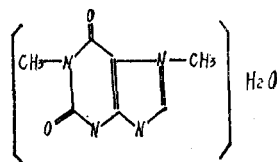


用紫外分光光度法测定可口可乐中咖啡因的研究

北京市卫生防疫站 刘福岭

摘 要

在不同的pH环境中,研究了提取咖啡因的条件、回收率、方法精密度。应用紫外分光光度法测定咖啡因:灵敏度高,选择性较好,咖啡因在0~20微克内符合比尔定律。该方法适用于可乐型饮料中咖啡因的分析。



咖啡因又称咖啡碱,属黄嘌呤衍生物。化学名称1、3、7-三甲基黄嘌呤,其结构式如下:本品为白色无臭味苦的发亮针丝状或粉末结晶。熔点为234~238°C于178°C升华。能溶于乙醇、丙酮、水(1:46)、氯仿(1:55)溶液中,微溶于石油醚。以往分析咖啡因常采用容量法,因操作复杂,不甚理想。应用紫外光度分析法,测定咖啡因还未见报导。本文研究了测定咖啡因的条件以及用紫外分光测定咖啡因的可能性。实践证明,所提出的方法简单快速,灵敏度高,选择性好。经与液相色谱-质谱法对比,其回收率是满意的,可用于可口可乐饮料和国产可乐型饮料中咖啡因的测定。

一、实验和结果

(一)仪器和主要试剂:

1.751型分光光度计

2.咖啡因标准溶液:将咖啡因

($C_8H_{10}O_2N_4 \cdot H_2O$)用三氯甲烷或甲醇配制成每毫升溶液含咖啡因1毫克。

3.其余所用试剂均为分析级。

(二)实验方法

1.提取:

(1)可乐型饮料:将可口可乐饮料200~400毫升,倒入500毫升烧杯中,用玻璃棒不断搅拌3~5分钟(赶掉 CO_2)之后,吸取100毫升,注入250毫升的分液漏斗中,加入饱和盐水1.0毫升,再加入1N氢氧化钠溶液2毫升,摇均匀。然后以50毫升三氯甲烷,分三次提取(20, 20, 10ml),每次振摇1分钟。将三氯甲烷层经无水硫酸钠小漏斗脱水(在漏斗的颈部放一小团脱脂棉,上面铺无水硫酸钠约10克),过滤于50毫升容量瓶中,再用少量三氯甲烷多次洗涤无水硫酸钠,将洗液合并于上述容量瓶中至刻度。混合均匀供测定使用。

(2)可乐型原料(浓缩汁):准确称取样品2~3克,用10~20毫升水稀释之后,移入250毫升的容量瓶中,加水至刻度,摇均匀。吸取50毫升倒入250毫升的分液漏斗中,以下按(1)项下操作。

(3)测量:准确吸取提取溶液2毫升,用氯仿稀释至50毫升。

以氯仿试剂为空白参比液,用1厘米石英比色皿于276毫微米波长处,在分光光度计上测量吸光度。

(4)标准检量线绘制:

准确吸取标准咖啡因100微克/ml,应用液0、0.05、0.10、0.30、0.50、0.70、0.90、1.10、1.50、2.00毫升,分别注入10毫升容量瓶(或纳氏比色管中),加氯仿至刻度,摇均匀之后,以下操作按(3)测量进行。根据测得的光密度绘制标准检量线,如图1。

(4)计算:

$$\text{咖啡因 mg/L (mg/kg)} = \frac{C}{W}$$

式中C——相当标准浓度, 微克。

W——相当样品重量克或毫升。

(三) 实验条件的选择

1. 吸收曲线: 从图2可见, 咖啡因最大吸收峰, 在276毫微米处。

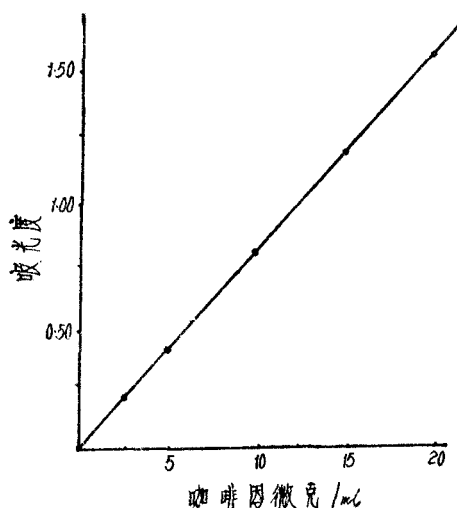


图1 咖啡因标准检量线

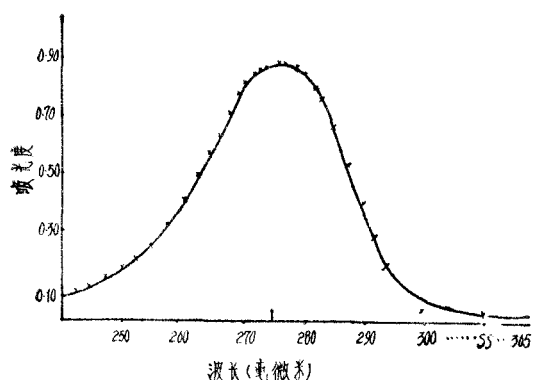


图2 吸收曲线

2. pH的影响: 吸取10微克标准咖啡因溶液于50毫升容量瓶或烧杯中, 加水至45毫升, 用0.1N HCl和0.1N NaOH溶液, 调节pH1-10。然后分别倒入250毫升的分液漏斗中, 以下操作按提取(1)进行。结果见图3。

图3说明, pH值在1~10范围内, 对萃取效果, 没有明显地差异, 其吸光度稳定。说明pH在1~10范围内, 对咖啡因没有影

响。但萃取咖啡因的最佳pH范围为6.0~10.0在pH6.0以下时, 当剧烈振摇时, 易乳化, 分层慢, 在pH6.0~10.0, 没有以上现象。

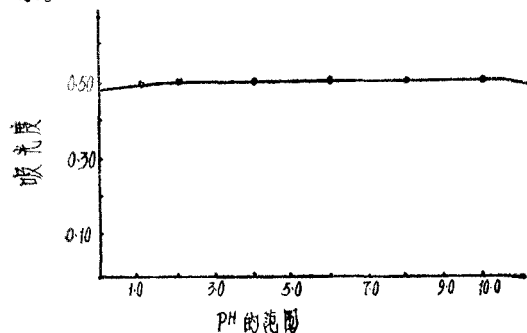


图3 pH值对提取效果的影响

3. 氯化钠对方法的影响:

取含有咖啡因10毫克的样品溶液, 倒入不同浓度的氯化钠溶液中进行测定, 得到图4曲线。

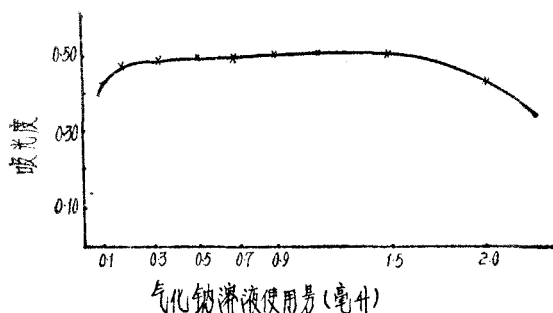


图4 氯化钠溶液浓度对提取效果影响

由曲线可知, 氯化钠的浓度对测定方法, 有明显的影响。再使用饱和盐水0~0.3毫升时, 提取时产生乳化现象, 测定结果偏低; 使用饱和盐水0.5~1.5毫升时, 其吸光度的变化, 趋于平稳, 回收率为98.5%, 故选定饱和盐水加入量为1.0毫升, 作为测定条件最宜浓度。加入饱和盐水1.5ml以上时, 产生大量沉淀物, 其测定结果偏低。

4. 萃取时间:

萃取摇荡时间的长短, 对吸光度值无明显地影响, 所以我们选定摇荡时间为1分钟。

5. 提取溶剂的使用量:

根据目前市售可乐型饮料中的咖啡因浓度, 取不含咖啡因的可口可乐(预先将咖啡因全部提出来。)100毫升, 加入标准咖啡因40毫克, 以不同体积的三氯甲烷分别萃取三次, 得到总回收率见表一。

三氯甲烷提取溶剂的使用量(毫升) 表 1

| 第一次使用 (ml) | 第二次使用 (ml) | 第三次使用 (ml) | 总使用量 (ml) | 回收率 (%) |
|---------------|---------------|---------------|--------------|------------|
| 4 | 3 | 2 | 9 | 68 |
| 5 | 4 | 3 | 12 | 77.5 |
| 6 | 5 | 4 | 15 | 89.8 |
| 8 | 6 | 4 | 18 | 96.92 |
| 8 | 7 | 5 | 20 | 99.70 |
| 12 | 8 | 5 | 25 | 99.85 |

表 1, 结果说明, 提取剂三氯甲烷使用量, 在18毫升以上均可提取完全, 为了适应各种可乐型饮料, 故将提取溶剂定为50ml。

6. 方法精密度:

为了检查本方法的精密度, 根据上述实验条件, 得到表 2。

从表 2 的结果, 说明方法的精密度比较高, 同时在原料和成品中做出的回收率是一致的, 其平均回收率 \bar{X} 98.61%, 标准偏差 $Sx \pm 2.70$, 变动系数 $CV \pm 2.94$ 。

二、结果与讨论

1. 在国内市场上销售的国产可乐型饮料如京津可乐、玉桂可乐、雪山可乐、咖啡可乐、麦精可乐等10几种产品, 这些产品在北京地区供应量不充足, 因此, 本方法各种条件的建立, 是在可口可乐饮料中进行的。随

回 收 率

| 样品含咖啡因 (毫克) | 加入标准咖啡因 (毫克) | 测得总咖啡因 (毫克) | 回 收 率 (%) |
|----------------|-----------------|----------------|--------------|
| 5.5 | 2.0 | 7.6 | 101.30 |
| 5.5 | 2.0 | 7.65 | 106.25 |
| 5.5 | 2.0 | 7.42 | 98.93 |
| 5.5 | 4.0 | 9.38 | 96.87 |
| 5.5 | 4.0 | 9.42 | 99.15 |
| 5.5 | 6.0 | 11.25 | 95.8 |
| 5.5 | 6.0 | 11.50 | 100 |
| 5.5 | 6.0 | 11.50 | 100 |
| 5.5 | 10.0 | 15.00 | 95 |
| 5.5 | 10.0 | 15.13 | 96.25 |
| 5.5 | 10.0 | 15.34 | 98.97 |
| 5.5 | 10.0 | 15.20 | 98.06 |
| 5.5 | 10.0 | 15.25 | 97.50 |
| 11.0 | 1.0 | 11.95 | 93.80 |
| 11.0 | 1.0 | 11.98 | 99.83 |
| 11.0 | 1.0 | 12.00 | 100 |

着旅游事业的兴起, 我国可乐型饮料, 在近二年以来, 正以较快的速度发展起来, 检测可乐型饮料中的咖啡因含量, 具有一定的意义。

2. 可口可乐原料(浓缩汁)分为1号与2号样品(由香港进口)。分析这类样品时, 由于其本身具有挥发性, 称量时应注意损失造成的误差, 要采取一次称重量, 一次加水定容的办法, 消除浓缩汁不断挥发造成的误差。

3. 在碱性条件下, 以氯仿提取溶液中的咖啡因, 可以消除糖精钠的干扰。

4. 本方法操作简单, 灵敏度高, 没有假阳性, 重现性好, 可以作为可乐型饮料中咖啡因的测定。

