

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/T19182-2003《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：

- 删除原标准GB/T 5009.139-2003中第一法 紫外分光光度法；
- 增加样品分类；
- 修改样品处理条件；
- 修改检出限，增加定量限；
- 修改色谱条件。

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C₁₈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（CCl₃COOH）。

3.1.3 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

3.2 试剂配制

三氯乙酸溶液（10 g/L）：称取1g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（C₈H₁₀N₄O₂）：纯度≥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，有效期为六个月。

3.4.2 咖啡因标准中间液（200 μg/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，有效期为一个月。

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。该标准系列浓度分别为10.0 μg/mL、20.0 μg/mL、40.0 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/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℃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0.5g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0.5g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0.001g）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0.001g）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 5g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

色谱柱：C₁₈柱（粒径5μm，柱长150 mm×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℃。

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（咖啡因标准色谱图见附录A中图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公式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V}{m} \times \frac{1000}{1000} \quad \dots \dots \dots \quad (1)$$

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（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

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);

1000——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 %。

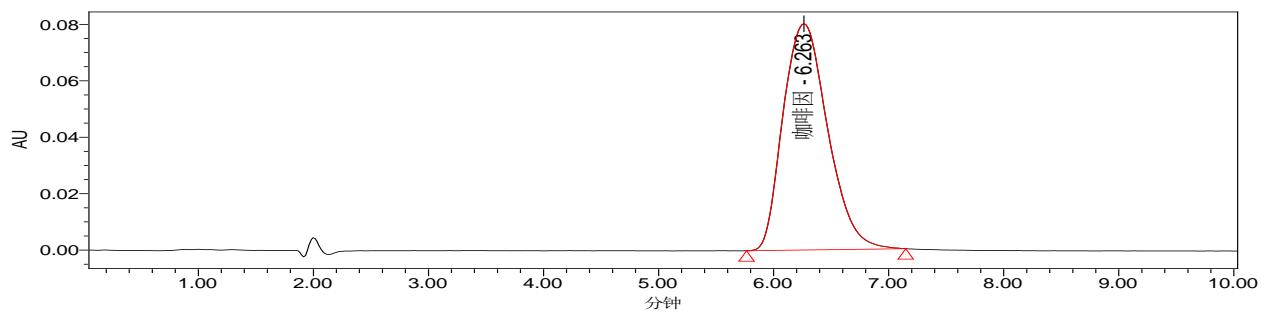
8 其他

本方法线性范围为220 ng/mL~439 µg/mL。检出限：以3倍基线噪音信号确定检出限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0.7mg/kg，定量限为2.0 mg/L；以咖啡、茶叶及其固体饮料制品取样量1g，确定检出限为18 mg/kg，定量限为54 mg/kg。

附录 A

咖啡因色谱图

图A.1为咖啡因标准溶液的色谱图。



图A.1 咖啡因标准色谱图