

方法开发报告： 2013-APP-RLC-035-液相色谱紫外检测器测定茶叶中的咖啡因（LC+UV）

检测项目	咖啡因
样品基体	茶叶
仪器型号	Ultimate 3000 系列： 泵：LPG-3400SD 自动进样器： WPS-3000SL 柱温箱： TCC-3000RS 检测器： VWD - 3100 色谱软件： Chromeleon Chromatography Data System
色谱柱类型尺寸、S/N 号及柱温	Acclaim 120 C18, 150 × 4.6mm , 3um , P/N:059133, S/N:002689; 35°C
检测器类型、工作参数及 S/N 号	UVD, 274nm
流动相组成及流速	乙腈-0.1%甲酸, 0-10min, 10:90, 10-20min, 乙腈从 10%-50%。 流速为 1.0 ml/min。
进样体积	10uL

1. 简介

茶叶系山茶科植物茶树 (*Camellia sinensis* O. Ktze) 的干燥嫩叶或叶芽, 是一种传统的药食同源的天然保健饮品。茶叶中含有咖啡碱、茶多酚、维生素类、矿物质、氨基酸和脂多糖等物质, 咖啡因是中枢神经系统的兴奋药, 对心血管系统具有正性作用, 还能促进胃酸分泌和治疗偏头痛等疾病。由于卫生部药品标准中药成方制剂第十八册中规定的茶叶提取物采用紫外吸收法测定咖啡因的含量, 缺乏专属性。根据咖啡因具有紫外吸收的特性, 采用高效液相法对茶叶提取物中咖啡因的含量进行测定, 并进行了方法学研究。

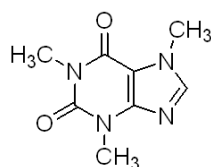


图1 咖啡因分子结构式

2. 标准品前处理

取咖啡因 25.0mg，置 25ml 量瓶中，加甲醇:水 (1:4) 使溶解，摇匀，即得。然后，再用水稀释至标准工作溶液，最终浓度为 5、10、125、250、500 ug/ml。

3. 样品前处理

称取2.0g 茶叶置于250mL 圆底烧瓶中，加入50mL 95%乙醇和水(体积比4:1)的混合溶剂，搅拌使溶剂完全浸润茶叶，放置浸泡10min，然后置于超声清洗仪中提取^[1]，提取后滤液过滤、离心，过0.45um滤膜，即得。

样品名称及编号：红茶-HC，龙井-LJ，茉莉花茶-MLH，普洱茶-PE，铁观音-TGY。以上茶叶均为市售品。

4. 分析结果与谱图

4.1 咖啡因标准溶液谱图及标准曲线分析结果

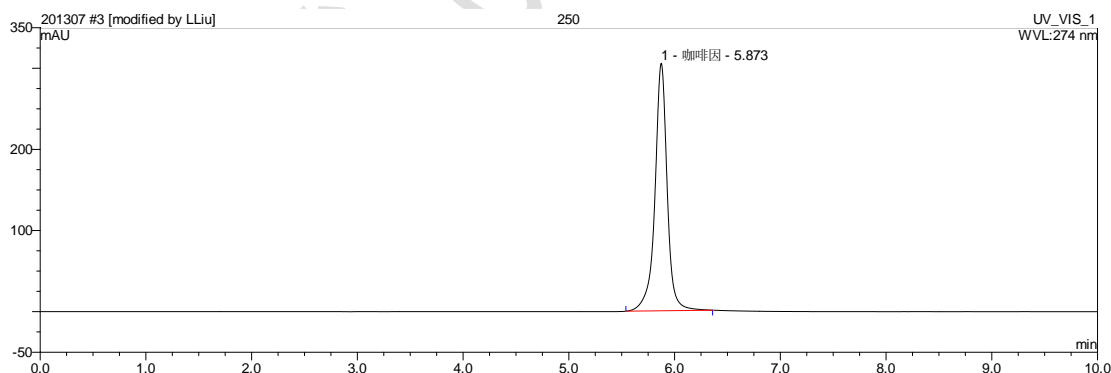


图 1 咖啡因标准溶液谱图

表 1 咖啡因标准溶液分析结果

No.	Peak Name	Cal.Type	#Points	Coeff.Det. %	Offset	Slope
1	咖啡因	Loff	5	99.9	-2.4342	0.3607

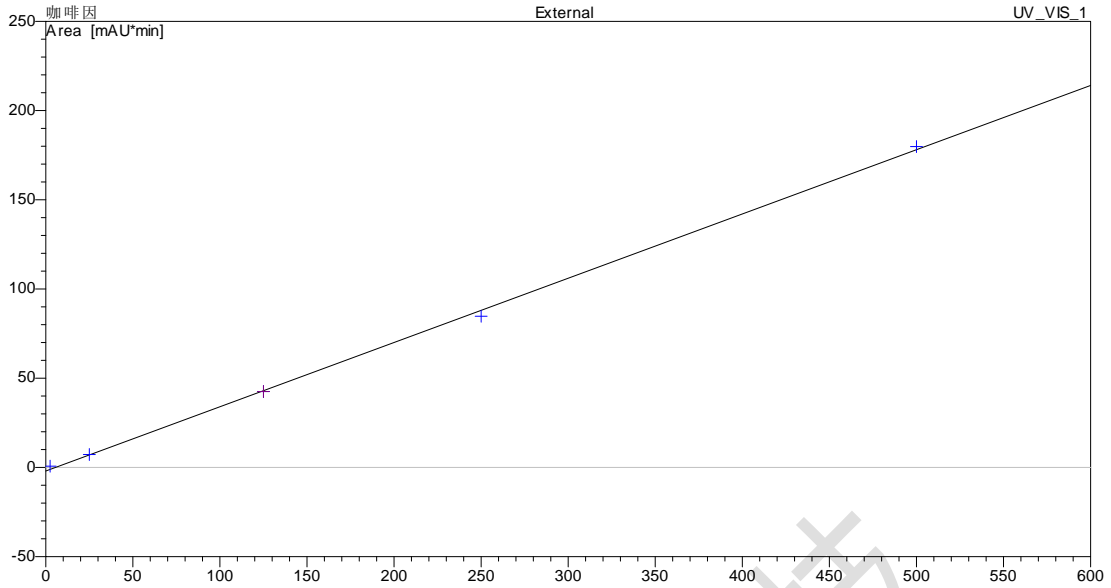


图 2 咖啡因标准曲线图

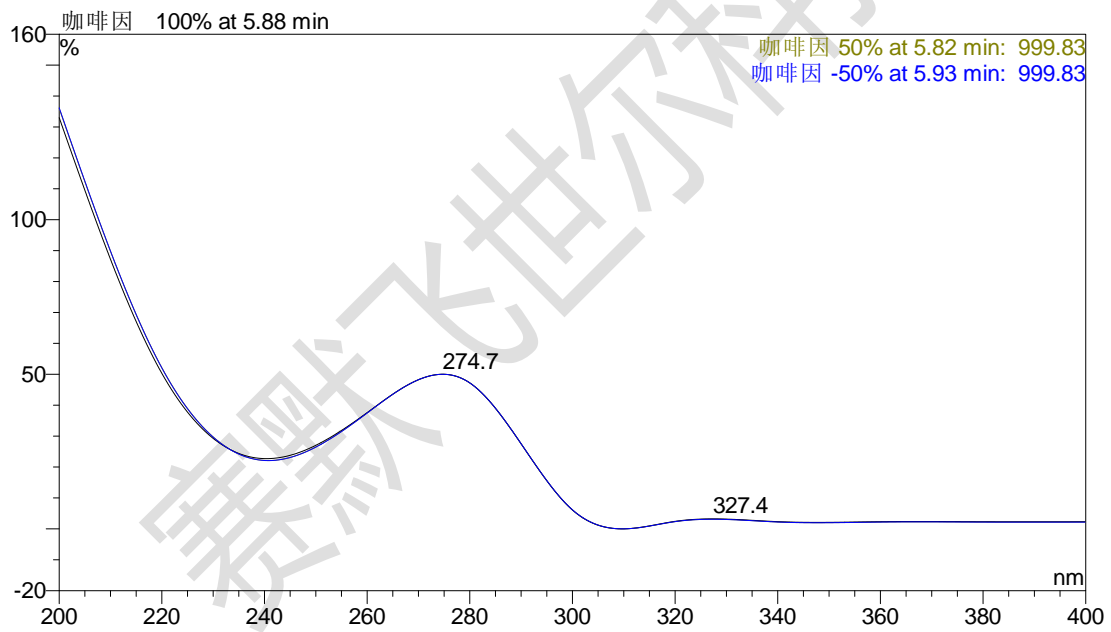


图 3 咖啡因标准溶液峰纯度图

从以上图表，可以看出咖啡因的线性回归系数较好，峰纯度较高。

4.2 咖啡因标准溶液重现性分析结果

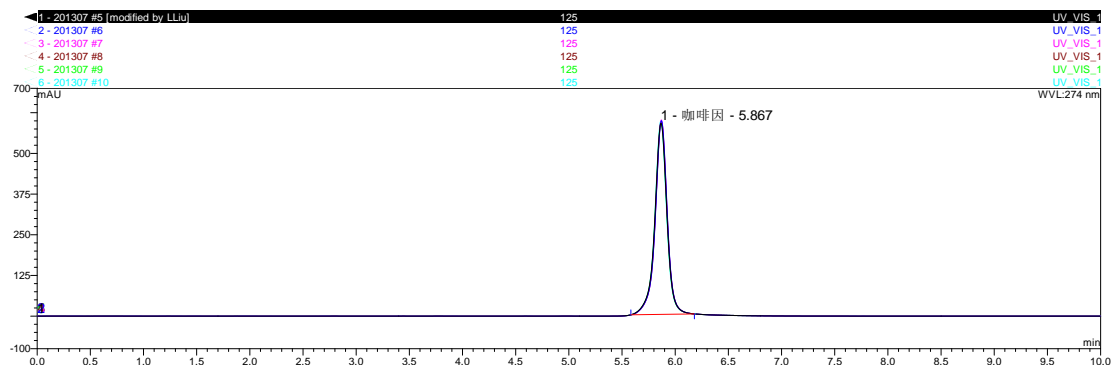


图 4 标准溶液重现性分析图（浓度为 125ug/ml, n=6）

表 2 标准溶液重现性分析结果（浓度为 125ug/ml, n=6）

Sample	Sample Name	Ret. Time min	Area mAU*min	Plates (EP)
5	125	5.867	79.2689	14130
6	125	5.87	84.5046	14476
7	125	5.87	84.3916	14603
8	125	5.87	84.4278	14351
9	125	5.867	84.0885	14376
10	125	5.863	83.9752	14527
Average:		5.868	83.4428	14411
Rel. Std. Dev:		0.05%	2.46%	1.15%

从以上图表可以看出，对浓度为 125ug/ml 的标准溶液连续进样 6 次，重现较好，峰面积值 RSD<2.5%，保留时间 RSD 值<0.05%。

4.3 样品加标分析结果

对龙井茶进行了加标回收率实验，分别高、中、低三个浓度值，5、50、125ug/ml，计算得回收率分别为 85.4、90.2、88.1%，回收率值满足实验要求。

4.4 样品分析结果

分别对 5 种不同的样品进行了分析，分析谱图及结果如下：

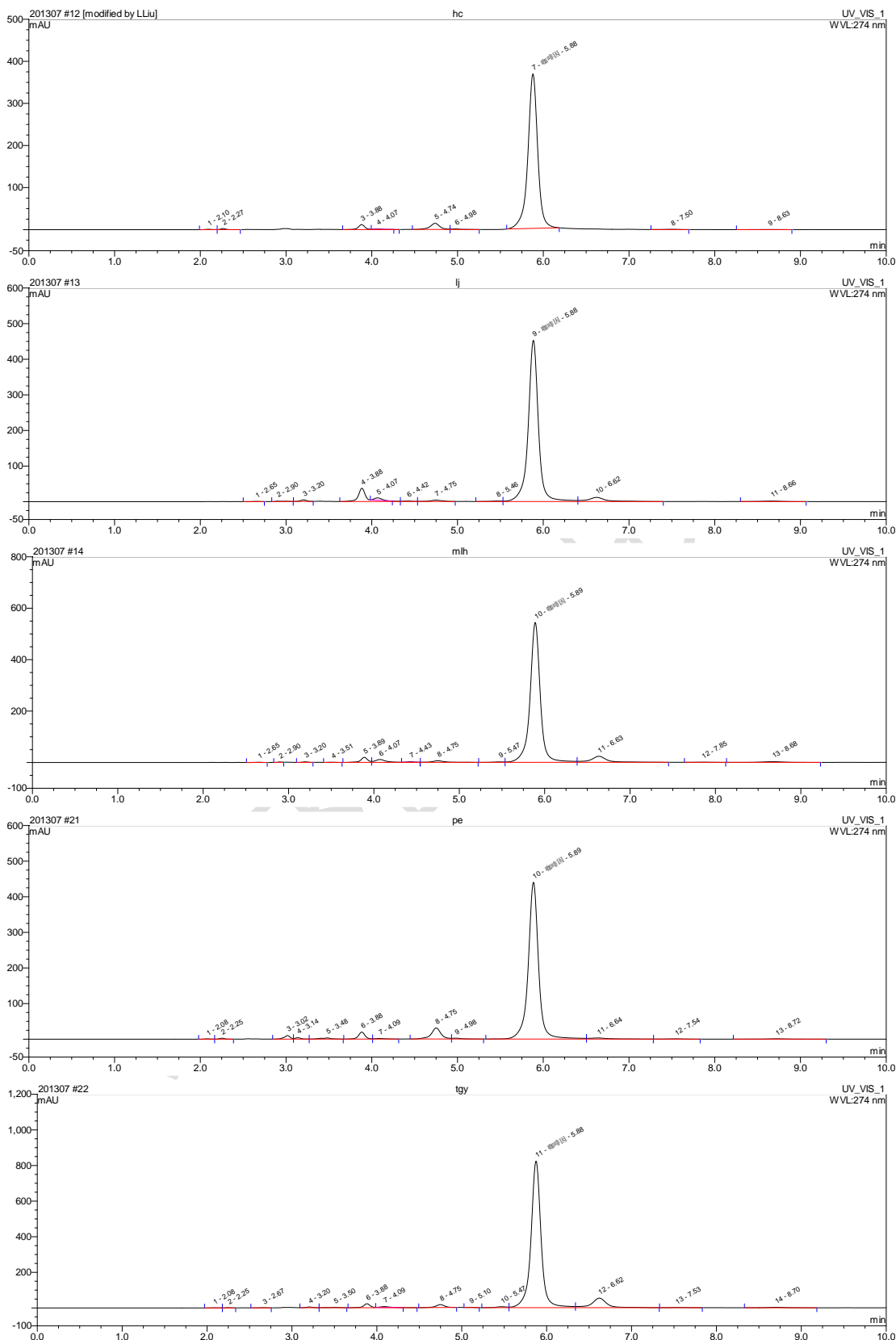


图 5 样品分析谱图

(自上至下, 红茶-HC, 龙井-LJ, 茉莉花茶-MLH, 普洱茶-PE, 铁观音-TGY)

表 3 样品分析结果

No.	Peakname	Ret. Time/min	Area/mAU*min	Amount/ug/mL
HC	咖啡因	5.88	48.7243	144.6182
lj	咖啡因	5.884	62.573	183.2548
mlh	咖啡因	5.89	75.7637	220.0557
PE	咖啡因	5.887	61.5189	180.3139
tgj	咖啡因	5.877	113.9632	326.6292

5. 结论

该方法可用于对茶叶中的咖啡因的测定。

赛默飞世尔科技