ICS 67.140.10
X 04

中华人民共和国国家标准

GB/T 8312—2002
eqv ISO 10727:1995

茶　咖啡碱测定

Tea—Determination of caffeine content

2002-06-17 发布　　2002-12-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局　发布

前　言

本标准是对GB/T 8312—1987《茶　咖啡碱的测定》的修订。本标准“第一法　高效液相色谱法”等效采用ISO 10727:1995《高效液相色谱法测定茶和固态速溶茶中的咖啡碱含量》。

本标准与ISO 10727:1995的主要差异是:将等效采用的ISO 10727:1995方法作为本标准的第一法。

本标准与GB/T 8312—1987的主要差异是:增加了第一法高效液相色谱法,并将GB/T 8312—1987中“紫外分光光度法”作为本标准的第二法。

本标准第一法和第二法可获得相同的结果。

本标准自实施之日起,同时代替GB/T 8312—1987。

本标准由中华全国供销合作总社提出。

本标准由中华全国供销合作总社杭州茶叶研究院归口。

本标准起草单位:中华全国供销合作总社杭州茶叶研究院。

本标准主要起草人:周卫龙、孙安华、钟萝。

本标准由中华全国供销合作总社杭州茶叶研究院负责解释。

ISO 前言

ISO(国际标准化组织)是一个各国标准化组织机构(ISO 成员团体)的国际性联盟。通常制定国际标准的工作是由 ISO 技术委员会承担,每个成员团体如有兴趣,都有权成为该项目委员会的代表,与 ISO 有联系的官方或非官方的国际标准组织也参与工作。ISO 与国际电工委员会(IEC)在电工标准文件紧密合作。

技术委员会所采纳的国际标准草案提交各成员团体表决,国际标准的出版必须取得不少于成员团体 75%的赞成票。

国际标准 ISO 10727 是由 ISO/TC34 农产食品技术委员会制定。

国际标准 ISO 10727 的附录 A 和附录 B 仅供参考。

中华人民共和国国家标准

茶　咖啡碱测定

GB/T 8312—2002
eqv ISO 10727:1995

代替 GB/T 8312—1987

Tea—Determination of caffeine content

1　范围

本标准规定了用高效液相色谱法、紫外分光光度法对茶叶中咖啡碱测定的原理、仪器和用具、试剂和溶液、操作方法及结果计算方法。

本标准适用于茶叶中咖啡碱的测定。

2　引用标准

下列标准所包含的条文，通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时，所示版本均为有效。所有标准都会被修订，使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 8302—2002　茶　取样

GB/T 8303—2002　茶　磨碎试样的制备及其干物质含量测定

第一法　高效液相色谱法

3　原理

茶叶中咖啡碱经沸水和氧化镁混合提取后，经高效液相色谱仪、C_{18}分离柱、紫外检测器检测，与标准系列比较定量。

4　仪器和用具

实验室常规仪器及下列各项：

4.1　高效液相色谱仪。

4.2　紫外检测器：检测波长 280 nm。

4.3　分析柱：C_{18}(ODS 柱)。

4.4　分析天平：感量 0.000 1 g。

5　试剂和溶液

甲醇为色谱纯，水为重蒸馏水。

5.1　氧化镁：分析纯。

5.2　高效液相色谱流动相：取 600 mL 甲醇倒入 1 400 mL 重蒸馏水，混匀，脱气。

5.3　咖啡碱标准液：称取 125 mg 咖啡碱(纯度不低于 99%)加乙醇：水(1∶4)溶解，定容至 250 mL。使用时，待标准液至室温后，取 2 mL 加水至 100 mL 作为工作液。

6　操作方法

6.1　取样

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2002-06-17 批准　　2002-12-01 实施

按 GB/T 8302 的规定。

6.2 试样制备

按 GB/T 8303 的规定。

6.3 测定步骤

6.3.1 试液制备

称取 1.0 g(准确至 0.000 1 g)磨碎茶样(6.2),置于 500 mL 烧瓶中,加 4.5 g 氧化镁及 300 mL 沸水,于沸水浴中加热,浸提 20 min(每隔 5 min 摇动一次),浸提完毕后立即趁热减压过滤,滤液移入 500 mL容量瓶中,冷却后,用水定容至刻度,混匀。取一部分试液,通过 0.45 μm 滤膜过滤,待用。

6.3.2 色谱条件

6.3.2.1 检测波长:紫外检测器,波长 280 nm。

6.3.2.2 流动相:水∶甲醇的体积分数为 7∶3。

6.3.2.3 流速:0.5 mL/min～1.5 mL/min。

6.3.2.4 柱温:40 C。

6.3.2.5 进样量:10 μL～20 μL。

6.3.3 测定

准确吸取制备液(6.3.1)10 μL～20 μL,注入高效液相色谱仪,并用咖啡碱标准液(5.3)制作标准曲线,进行色谱测定。

7 结果计算

7.1 计算方法

比较试样和标准样的峰面积,按式(1)计算:

$$\text{咖啡碱}(\%) = \frac{C_1 \times \frac{L_1}{L_2}}{M_1 \times m_1 \times 1\,000} \times 100 \quad \cdots\cdots(1)$$

式中:C_1——测定液中咖啡碱含量,μg;

L_1——样品总体积,mL;

L_2——进样体积,μL;

M_1——试样的质量,g;

m_1——试样干物质含量,%。

如果符合重复性(7.2)的要求,取两次测定的算术平均值作为结果,结果保留小数点后一位。

7.2 重复性

同一样品的两次测定值之差,每 100 g 试样不得超过 0.2 g。

第二法 紫外分光光度法

8 原理

茶叶中的咖啡碱易溶于水,除去干扰物质后,用特定波长测定其含量。

9 仪器和用具

实验室常规仪器及下列各项:

9.1 紫外分光光度仪。

9.2 分析天平:感量 0.001 g。

10 试剂和溶液

所用试剂应为分析纯(AR),水为蒸馏水。

10.1 碱式乙酸铅溶液:称取 50 g 碱式乙酸铅,加水 100 mL,静置过夜,倾出上清液过滤。

10.2 盐酸:0.01 mol/L 溶液,取 0.9 mL 浓盐酸,用水稀释 1 L,摇匀。

10.3 硫酸:4.5 mol/L 溶液,取浓硫酸 250 mL,用水稀释至 1 L,摇匀。

10.4 咖啡碱标准液:称取 100 mg 咖啡碱(纯度不低于 99%)溶于 100 mL 水中,作为母液,准确吸取 5 mL加水至 100 mL 作为工作液(1 mL 含咖啡碱 0.05 mg)。

11 测定步骤

11.1 试液制备

称取 3 g(准确至 0.001 g)磨碎试样(6.2)于 500 mL 锥形瓶中,加沸蒸馏水 450 mL,立即移入沸水浴中,浸提 45 min(每隔 10 min 摇动一次)。浸提完毕后立即趁热减压过滤。滤液移入 500 mL 容量瓶中,残渣用少量热蒸馏水洗涤 2～3 次,并将滤液滤入上述容量瓶中,冷却后用蒸馏水稀释至刻度。

11.2 用移液管准确吸取试液(11.1)10 mL 移入 100 mL 容量瓶中,加入 4 mL 0.01 mol/L 盐酸(10.2)和 1 mL 碱式乙酸铅溶液(10.1),用水稀释至刻度,混匀,静置澄清过滤,准确吸取滤液 25 mL,注入 50 mL 容量瓶中,加入 0.1 mL 4.5 mol/L 硫酸溶液(10.3),加水稀释至刻度,混匀,静置澄清过滤。用 10 mm 比色杯,在波长 274 nm 处,以试剂空白溶液作参比,测定吸光度(A)。

11.3 咖啡碱标准曲线的制作

分别吸取 0、1、2、3、4、5、6 mL 咖啡碱工作液(10.4)于一组 25 mL 容量瓶中,各加入 1.0 mL 盐酸(10.2),用水稀释至刻度,混匀,用 10 mm 石英比色杯,在波长 274 nm 处,以试剂空白溶液作参比,测定吸光度(A)。将测得的吸光度与对应的咖啡碱浓度绘制标准曲线。

12 结果计算

茶叶中咖啡碱含量以干态质量分数表示,按式(2)计算:

$$\text{咖啡碱}(\%)=\frac{\frac{C_2\cdot L_3}{1\,000}\times\frac{100}{10}\times\frac{50}{25}}{M_2\times m_2}\times 100 \qquad \cdots\cdots(2)$$

式中:C_2——根据试样测得的吸光度(A),从咖啡碱标准曲线上查得的咖啡碱相应含量,mg/mL;

L_3——试液总量,mL;

M_2——试样用量,g;

m_2——试样干物质含量,%。

如果符合重复性(7.2),取两次测定的算术平均值作为结果,保留小数点后一位。

中华人民共和国
国家标准
茶 咖啡碱测定
GB/T 8312—2002
*
中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045
电话:68523946 68517548
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售
*
开本 880×1230 1/16 印张 1/2 字数 10千字
2002年10月第一版 2002年10月第一次印刷
印数 1—1 000
*
书号:155066·1-18810 定价 8.00元
网址 www.bzcbs.com
*
科目 619—513

版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533

GB/T 8312-2002