

咖啡因 (Caffeine) 含量试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义:

咖啡因是一种黄嘌呤生物碱化合物,是一种中枢神经兴奋剂,能够暂时的驱走睡意并恢复精力,临床上用于治疗神经衰弱和昏迷复苏。咖啡因广泛存在于咖啡、茶、软饮料及能量饮料中。

测定原理:

咖啡因易溶于水,去除干扰物质后,在 274nm 下测定吸光值计算其含量。

需自备的仪器和用品:

紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

试剂组成和配制:

试剂一:液体 2.5mL×1 瓶,4°C保存;

试剂二:液体 1mL×1 瓶,4°C保存;

试剂三:液体 2mL×1 瓶,4°C保存。

咖啡因提取:

样本烘干粉碎,取 0.01g 样本,加入 1.5mL 蒸馏水,沸水浴加热 45min,期间每隔 10min 震荡一次。取出冷却后 8000g 25°C 离心 10min,取上清待测。

测定步骤:

1、分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 274nm,蒸馏水调零。

2、样本测定

按下表在 EP 管中加入如下试剂

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
样本上清	100	
蒸馏水		100
试剂一	40	40
试剂二	10	10
蒸馏水	850	850
充分混匀, 8000g 25°C 离心 10min, 取上清		

另取 2mL EP 管,加入 750μL 上一步上清,再加入 30μL 试剂三和 720μL 蒸馏水。充分混匀,8000g 25°C 离心 10min,取上清 1mL 加入 1mL 石英比色皿,274nm 下测定吸光值,分别记为 A 测定与 A 空白管,空白管只需测一管。 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$

咖啡因含量:

标准曲线为 $y = 47.36x + 0.1162$, $R^2 = 0.9992$; 其中 x 为标准品浓度 mg/mL, y 为吸光值 ΔA

$$\begin{aligned} \text{咖啡因 (mg/g 干重)} &= (\Delta A - 0.1162) \div 47.36 \times V_{\text{样}} \div W \\ &= 0.633 \times (\Delta A - 0.1162) \div W \end{aligned}$$

V 样: 样本总体积, 30mL; W: 样本质量, 0.01g。