

## 飲料中咖啡因之檢驗方法

### Method of Test for Caffeine in Soft Drinks

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於飲料中咖啡因(caffeine)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC)分析之方法。
  - 2.1. 裝置：
    - 2.1.1. 高效液相層析儀：
      - 2.1.1.1. 檢出器：光二極體陣列檢出器(photodiode array detector)。
      - 2.1.1.2. 層析管：GL Sciences InertSustain C18，5  $\mu\text{m}$ ，內徑4.6 mm  $\times$  25 cm，或同級品。
    - 2.1.2. 離心機：轉速可達3500  $\times$ g以上。
    - 2.1.3. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
  - 2.2. 試藥：乙腈採用液相層析級；三氯醋酸採用試藥特級；去離子水(比電阻於25 $^{\circ}\text{C}$ 可達18  $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；咖啡因對照用標準品。
  - 2.3. 器具及材料：
    - 2.3.1. 容量瓶：10 mL、25 mL、50 mL及100 mL。
    - 2.3.2. 離心管：50 mL，PP材質。
    - 2.3.3. 試管：15 mL。
    - 2.3.4. 濾膜：孔徑0.45  $\mu\text{m}$ ，Nylon材質。
  - 2.4. 5%三氯醋酸溶液之調製：

稱取三氯醋酸5 g，以去離子水溶解使成100 mL。
  - 2.5. 標準溶液之配製：

取咖啡因對照用標準品約100 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100 mL，作為標準原液。臨用時取適量標準原液，以去離子水稀釋至1~50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供作標準溶液。
  - 2.6. 檢液之調製：
    - 2.6.1. 不含蛋白質飲料類：

含二氧化碳之檢體，應先以超音波振盪15分鐘去除二氧化碳。將檢體混勻後，精確量取5 mL，以去離子水定容至25 mL，經濾膜過濾，供作檢液。
    - 2.6.2. 含蛋白質飲料類：

含二氧化碳之檢體，應先以超音波振盪15分鐘去除二氧化碳。將檢體

混勻後，精確量取5 mL，加入5%三氯醋酸溶液5 mL，混合均勻後，以去離子水定容至25 mL，經3500 ×g離心5分鐘，取上清液，以濾膜過濾，供作檢液。

## 2.7. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各20 μL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及吸收圖譜比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中咖啡因之含量(mg/100 mL)<sup>(註)</sup>：

$$\text{檢體中咖啡因含量(mg/100 mL)} = \frac{C \times V}{M \times 10}$$

C：由標準曲線求得檢液中咖啡因之濃度(mg/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之體積(mL)

高效液相層析測定條件<sup>(註)</sup>：

光二極體陣列檢出器：定量波長280 nm。

層析管：GL Sciences InertSustain C18，5 μm，內徑4.6 mm × 25 cm。

移動相溶液：A液(去離子水)與B液(乙腈)以下列條件進行梯度分析

時間(min)	A (%)	B (%)
0 → 10	85 → 85	15 → 15
10 → 15	20 → 20	80 → 80
15 → 20	85 → 85	15 → 15

移動相流速：1 mL/min。

注入量：20 μL。

註：上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

附註：1. 本檢驗方法之定量極限為0.5 mg/100 mL。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

經濟部標準檢驗局。2009。食品中咖啡因含量檢驗法。中華民國國家標準。CNS總號9432，類號N6174。