

液相色谱 - 质谱联用法检测茶叶中咖啡因的研究进展

谢程昊, 刘法欣

南昌航空大学环境与化学工程学院, 江西 南昌

收稿日期: 2025年7月22日; 录用日期: 2025年8月12日; 发布日期: 2025年8月25日

摘 要

咖啡因是茶叶中的关键成分, 其含量测定对茶叶品质评估至关重要。液相色谱 - 质谱联用法(LC-MS)凭借高分离能力、高灵敏度和高专属性, 在茶叶咖啡因检测领域应用广泛。本文深入探讨了LC-MS法检测茶叶中咖啡因时流动相、色谱柱、检测波长的选择, 详细对比了其与其他检测方法的优缺点, 给出实际检测数据, 并对该方法的应用进行总结与展望, 旨在为茶叶咖啡因检测的深入研究和应用提供参考。

关键词

液相色谱 - 质谱联用法, 茶叶, 咖啡因, 检测方法

Research Progress on the Detection of Caffeine in Tea by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

Chenghao Xie, Faxin Liu

School of Environment and Chemical Engineering, Nanchang Hangkong University, Nanchang Jiangxi

Received: Jul. 22nd, 2025; accepted: Aug. 12th, 2025; published: Aug. 25th, 2025

Abstract

Caffeine is a key component in tea, and its content determination is crucial for the assessment of tea quality. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), with its high separation capability, high sensitivity, and high specificity, is widely used in the detection of caffeine in tea. This paper thoroughly explores the selection of mobile phase, chromatographic column, and detection wavelength when using LC-MS to detect caffeine in tea. It also provides a detailed comparison of the

advantages and disadvantages of this method compared with other detection methods, presents actual detection data, and summarizes and prospects the application of this method. The aim is to provide a reference for the in-depth research and application of caffeine detection in tea.

Keywords

Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, Tea, Caffeine, Detection Method

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

茶叶作为全球消费量巨大的饮品之一,其主要活性成分咖啡因(1,3,7-三甲基-2,6-二氧嘌呤)对于人体健康具有重要影响[1]。其中,茶内咖啡因的含量会直接影响饮用者的饮用感受,对于不同种类茶叶的咖啡因含量具有显著的差别。因此,精确检测茶叶中咖啡因的含量对于茶叶的质量评价、食品安全以及相关科学研究至关重要[2]。传统的咖啡因的检测方式一般采用高效液相色谱法、分光光度法[3],虽然在一定程度上能够实现咖啡因的检测,但各自存在局限性,如灵敏度低、选择性差、样品前处理复杂等。随着分析技术的飞速发展,液相色谱-质谱联用法(LC-MS)应运而生,它将液相色谱的高效分离能力与质谱的高灵敏度、高选择性检测能力相结合,能够有效克服传统方法的不足,为茶叶中咖啡因的精准检测提供了有力手段。目前使用高效液相色谱-质谱联用技术还是比较罕见[4]。

2. 咖啡因性质及常用检测方法

2.1. 咖啡因的性质

咖啡因是一种主要存在于茶叶、可可豆和咖啡果中的黄嘌呤生物碱,分子式: $C_8H_{10}N_4O_2$, 化学名: 三甲基黄嘌呤, 又名咖啡碱[5]。相对分子质量为 194.19。它是一种白色结晶性粉末, 无臭, 味苦。咖啡因可溶于水、乙醇、氯仿等多种溶剂, 在碱性溶液中性质稳定, 在酸性溶液中能够被质子化。咖啡因具有升华性, 在 178°C 时可升华。其分子结构中含有共轭体系, 这使得它在紫外光区有特征吸收, 最大吸收波长约为 272 nm。如图 1 所示, 为咖啡因的化学式。

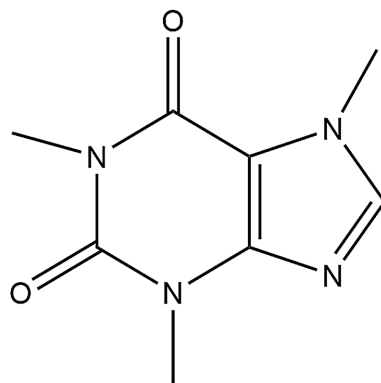


Figure 1. The chemical formula of caffeine

图 1. 咖啡因化学式

2.2. 常用检测方法

2.2.1. 高效液相色谱法(HPLC)

高效液相色谱法是目前茶叶中咖啡因检测常用的方法之一。它基于不同物质在固定相和流动相之间的分配系数差异进行分离,通过紫外检测器或其他检测器对分离后的咖啡因进行检测。HPLC 法具有分离效率高、分析速度快、灵敏度较高等优点[6],能够有效分离茶叶中的咖啡因与其他成分,如茶多酚、氨基酸等。该方法可以通过优化色谱条件,如选择合适的色谱柱、流动相组成和比例、流速等,实现对咖啡因的高效分离和准确测定。吴以龙[7]等采用了高效液相色谱法检测了 5 种不同提取方法的咖啡因,说明高效液相色谱法在检测咖啡因中的技术相对成熟。但对于复杂样品中痕量咖啡因的检测,其灵敏度和选择性有时仍不能满足要求,需要进一步改进或与其他技术联用。

2.2.2. 紫外分光光度法(UV-Vis)

紫外分光光度法是基于咖啡因在紫外光区的特征吸收特性来进行定量测定的方法。其原理是利用咖啡因分子中的共轭双键对特定波长的紫外光有吸收作用,在一定浓度范围内,吸光度与咖啡因的浓度呈线性关系,通过测定样品溶液的吸光度,与标准曲线对比,从而确定咖啡因的含量。该方法操作较为简单,成本相对较低,不需要复杂的仪器设备,在一些对检测精度要求不高的场合有一定应用。范培[8]等使用紫外分光光度法测定了功能性饮料中的咖啡因含量,证明在波长为 273 nm 时,样品温度为 30℃,处理时间为 15 min 时,吸光度最大。然而,由于茶叶成分复杂,其中存在许多其他具有紫外吸收的物质,这些物质会对咖啡因的检测产生干扰,导致检测结果的准确性和选择性较差,一般仅适用于咖啡因含量较高样品的初步测定。

2.2.3. 液相色谱-质谱联用检测法(HPLC-MS)

高效液相色谱-质谱联用技术的应用中,其核心在于高效的分离机制。高效液相色谱(HPLC)通过调整流动相的极性和流速,以选择不同的固定相,可以实现复杂样品中农药残留的快速分离[9]。MS/MS 通过两次质谱检测,不仅能够准确识别目标化合物的分子量,还能通过碎片离子的质荷比信息进一步确定化合物的结构。

3. 液相色谱-质谱联用法检测茶叶中咖啡因的关键因素

3.1. 流动相的选择

在茶叶中咖啡因的 LC-MS 检测中,常用的有机相通常是甲醇和乙腈[10],由于甲醇价格相对较低,且挥发性较好,故在实验中通常选择甲醇为有机相[11]。水相通常选用超纯水,并常加入添加剂如甲酸、乙酸、氨水、甲酸铵等。其中,甲酸和乙酸可调节流动相 pH 值,优化咖啡因与固定相的相互作用,改善峰形;甲酸铵等挥发性盐类可增强咖啡因的离子化效率,提高质谱检测灵敏度,降低检测限。

3.2. 色谱柱的选择

反相色谱柱是 LC-MS 分析中应用最为广泛的色谱柱类型,常见的填料有 C₁₈、C₈ 等[12]。C₁₈ 色谱柱具有较强的疏水性,其固定相表面的十八烷基硅烷键合相能够与咖啡因分子中的疏水部分相互作用,通过调节流动相的组成和比例,可以实现咖啡因与茶叶中其他成分的有效分离。司晓喜[13]等采用 C₁₈-色谱串联检测咖啡因,在优化色谱柱后,咖啡因保留较好且高效、灵敏、准确性好。

3.3. 检测波长的选择

咖啡因在紫外光区有特征吸收,最大吸收波长约为 272 nm。因此,在使用紫外检测器辅助检测时,通常选择 272 nm 作为检测波长,以获得较高的检测灵敏度[14]。在该波长下,咖啡因能够产生较强的紫

外吸收信号, 有助于在色谱分离过程中对其进行监测和定性。通过紫外检测器的信号, 可以初步判断咖啡因的出峰时间和峰形, 结合质谱的高选择性, 可以进一步确认咖啡因的存在并进行准确定量。同时, 选择合适的检测波长还可以减少其他杂质的干扰, 提高检测的准确性。

4. 液相色谱 - 质谱联用法与其他检测方法的优缺点对比

4.1. 灵敏度

液相色谱 - 质谱联用技术能够得到比其它检测技术(液相色谱技术、气相色谱技术、气相色谱 - 质谱联用技术等)更低的检出限, 灵敏度更高, 采用多反应离子检测(MRM)及选择离子(SIM)相结合的方式扫描检测, 目标物的灵敏度可提高至少一个数量级。LC-MS 法能够检测到茶叶中痕量的咖啡因。其检测限通常可达到 $\mu\text{g/L}$ 甚至 ng/L 级别, 远低于紫外分光光度法、滴定法等传统方法[15]。以气相色谱 - 质谱联用法(GC-MS)和 LC-MS 法对比为例, GC-MS 法对茶叶中咖啡因的检测限一般可达 $10 \mu\text{g/L}$, 而 LC-MS 法在优化条件下检测限可低至 $1 \mu\text{g/L}$ 以下。这使得 LC-MS 法能够满足对茶叶中咖啡因含量极低样品的检测需求, 如一些低咖啡因品种茶叶或经过深度脱咖啡因处理的茶叶产品。在实际检测中, 对于一些声称低咖啡因的茶叶饮料, LC-MS 法能够准确检测出其中极微量的咖啡因残留, 为产品质量控制提供可靠依据。

4.2. 选择性

液相色谱 - 质谱联用技术对多组分化合物的鉴别能力强, 可同时分离测定多种化合物, 若目标物在液相色谱柱中无法完全分离, 也可通过三重四级杆中特有的特征离子对峰对目标物进行鉴别区分, 并进行定性、定量分析, 检测结果准确、可靠、精密度高。

由于质谱具有独特的离子化和质量分析过程, LC-MS 法能够对咖啡因进行准确的定性和定量, 有效避免了其他成分的干扰。相比之下, 紫外分光光度法容易受到茶叶中其他具有紫外吸收成分的干扰, 选择性较差。即使通过分离手段, 也难以完全消除其他成分的干扰, 导致检测结果的准确性受到影响。HPLC 法虽然能够通过色谱分离减少干扰, 但对于复杂样品中结构相似的成分, 仍可能存在分离不完全的情况[16]。而 LC-MS 法可以通过选择离子监测(SIM)或多反应监测(MRM)模式, 针对咖啡因的特定离子进行检测, 大大提高了检测的选择性。在分析茶叶提取物时, LC-MS 法能够准确识别咖啡因的特征离子, 不受其他结构类似生物碱的干扰, 实现对咖啡因的准确定量。

4.3. 分析速度

GC 法分析速度相对较快, 但样品前处理需要衍生化, 这一步骤增加了分析时间和操作复杂性。HPLC 法分析时间适中, 一般在 10~30 分钟左右。LC-MS 法在优化条件下, 分析时间可以控制在 10 分钟以内, 同时能够实现对多种成分的同时分析。随着快速液相色谱(UFLC)与质谱联用技术的发展, 分析速度进一步提高, 能够满足高通量检测的需求。在茶叶质量检测的实际应用中, LC-MS 法能够在短时间内对大量茶叶样品中的咖啡因进行快速检测, 提高检测效率, 降低检测成本。

4.4. 仪器成本与维护

LC-MS 仪器价格昂贵, 维护成本高, 需要专业的操作人员和良好的实验室环境。一套普通的 LC-MS 仪器价格通常在几十万元到上百万元不等, 且需要定期进行维护和校准, 消耗品(如色谱柱、流动相、离子源部件等)费用也较高。相比之下, 紫外分光光度法和滴定法所需仪器简单, 成本较低。HPLC 仪器成本适中, 但与 LC-MS 相比, 其维护和运行成本相对较低。GC 仪器成本也较高, 且需要配备专门的气源和衍生化设

备。因此,从仪器成本和维护角度考虑,LC-MS法在一些对成本较为敏感的检测场景中可能受到一定限制。对于一些小型茶叶生产企业或检测机构,如果检测频率不高,可能难以承担LC-MS仪器的购置和维护成本。

4.5. 离子源优缺点比较

高陆迎[17]使用的离子源条件为ESI源;正离子模式;毛细管电压:0.5 kV;离子源温度:150℃。测得咖啡因在该离子源下定量限为 3×10^{-3} ng/mL,检测限为 1×10^{-3} ng/mL。

翟金晓[18]使用离子源为电喷雾离子源(ESI+)离子喷雾电压(IS)为5500 V;气帘气(CUR)为20 psi;离子源气1(GS1)为55 psi;离子源气2(GS2)为30 psi;离子源温度为450℃。测得检出限($S/N \geq 3$)为2~5 ng/mL。

ESI源;正离子模式的检出限较低,相同离子源下与离子喷雾电压等有关,同时,LC-MS法所使用的离子源多为ESI源,该离子源已是本综述中提到的最优离子源。

5. 检测数据

众多研究通过LC-MS法对不同种类茶叶中的咖啡因进行了检测,本文以林磊与翟金晓的实验为说明基础。如表1介绍常用色谱柱类型及组成。

通过此方法验证液相色谱-质谱联用结果如表2所示。

通过这两种方法的检测总结如表3所示。

Table 1. Types and composition of chromatographic columns

表 1. 色谱柱类型及组成

检测方法	色谱柱类型	流动相组成
翟金晓	Allure PFPP (100 mm × 2.1 mm, 5 μm)	A: 5 mmol/L 乙酸铵(含 0.05%甲酸, 5%甲醇溶液) B: 甲醇
林磊	C18 (德国默克)	A: 0.2%甲酸水溶液 B: 乙腈

Table 2. Data results

表 2. 数据结果

检测方法	线性相关系数(r)	检出限(ng/mL)
翟金晓	>0.997	2~5
林磊	0.9997	1.5

Table 3. Summary of detection

表 3. 检测总结

检测方法	精密度	回收率	检出限
翟金晓	<14.41%	>60.88%	2~5 ng/mL
林磊	1%~2%	92%~100%	1.5 mg/kg

6. 文章总结与建议

6.1. 总结

采用超高效液相色谱-串联质谱法测定不同茶叶中的咖啡因含量,通过优化液相色谱、质谱条件,

考察样品前处理方法、外标法定量。结果表明采用沸水浴提取茶叶中的咖啡因, 选用 0.2% 甲酸水 - 乙腈为流动相, 使用超高效液相色谱 - 串联质谱法测定茶叶中的咖啡因, 相较国标方法时间短, 前处理简单, 且精密度、方法检出限、定量限均优于国家标准 GB5009.139-2014, 可以用于茶叶中咖啡因的检测。

实验基于液液提取-LC-MS/MS 建立的市售饮料中咖啡因快速定性定量分析方法简单易行, 分析时间短, 灵敏度高, 能够满足日常实际检测要求。且将本法实际应用于奶茶、速溶咖啡、可乐等多种不同种类的市售饮料中检测, 验证了方法可行性, 适用于所有饮料样品的快速检测, 初步构建了饮料中咖啡因含量数据库, 可为生产和监管部门提供方法参考及基础数据, 为相关中毒案件的法医毒物分析提供理论依据。

6.2. 建议

尽管 LC-MS 法在茶叶咖啡因检测中已取得广泛应用, 但仍有一些方面值得进一步研究和改进。首先, 进一步优化分析条件, 探索新型的色谱柱和流动相体系, 以提高分离效率和检测灵敏度, 缩短分析时间, 降低成本。例如研究开发新型的固定相材料, 以提高色谱柱的选择性和柱效; 探索更加绿色, 环保的流动相添加剂, 减少对环境的影响。

其次, 加强对样品前处理技术的研究, 开发更加简单、快速、高效的前处理方法, 减少样品损失和杂质干扰, 提高分析结果的准确性和重复性。目前, 茶叶样品的前处理方法主要有超声提取、固相萃取等。未来可以探索新的提取技术, 如微波辅助提取、超临界流体萃取等、结合自动化前处理设备, 实现样品前处理的快速、高效和标准化。

此外, 随着多组学技术的发展, 可以将 LC-MS 与其他分析技术如核磁共振(NMR)、红外光谱(IR)等联用, 实现对茶叶成分的全面分析, 为茶叶品质评价和功能研究提供更丰富的信息。通过多技术联用, 可以从不同角度对茶叶中的化学成分进行分析, 深入了解茶叶的品质形成机制和生物活性。

最后, 建立统一的标准检测方法和质量控制体系, 对于规范茶叶中咖啡因检测, 保障茶叶产品质量具有重要意义。目前, 不同实验室采用的检测方法和标准存在一定差异, 导致检测结果缺乏可比性。因此, 需要相关部门和行业组织制定统一的标准检测方法和质量控制规范, 确保检测结果的准确性和可靠性, 促进茶叶产业的健康发展。

参考文献

- [1] 代升飞, 汤茶琴, 王泓力, 等. 茶叶中咖啡因提取技术研究进展[J]. 生物化工, 2024, 10(4): 250-253.
- [2] 程禹铭. 茶叶中咖啡因检测方法研究进展[J]. 食品安全导刊, 2025(10): 124-126.
- [3] 徐丹萍, 艾凌艳, 夏小凤. 高效液相色谱法测定普洱熟沱茶叶中咖啡因的含量[J]. 海峡药学, 2016, 28(8): 63-66.
- [4] 林磊. 超高效液相色谱-串联质谱法测定茶叶中的咖啡因[J]. 福建分析测试, 2024, 33(5): 44-46.
- [5] 王文权, 胥鑫萌, 张雨佳. 茶叶中咖啡因的提取工艺研究进展[J]. 四川化工, 2020, 23(6): 17-19+22.
- [6] 王奕霏, 王珊珊, 陈丰, 等. 高效液相色谱法测定茶叶中有效成分含量的方法综述[J]. 化工设计通讯, 2020, 46(6): 156+158.
- [7] 吴以龙, 王康, 武增才, 等. 高效液相色谱法测定与比较 5 种不同提取方法提取的茶叶咖啡因[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(3): 195-200.
- [8] 范培. 紫外分光光度法测定功能性饮料中的咖啡因含量[J]. 化工设计通讯, 2019, 45(12): 61-62.
- [9] 张素宁. 基于高效液相色谱-质谱联用技术的农产品农药残留检测方法[J]. 中国农机装备, 2025(4): 137-139.
- [10] 曲悠扬, 季磊. 高效液相法快速检测茶饮料中的咖啡因[J]. 饮料工业, 2021, 24(5): 20-22.
- [11] 宁炜. 高效液相色谱法测定茶饮料中的咖啡因含量[J]. 食品安全导刊, 2022(22): 35-37.
- [12] 黄懿娜. 高效液相色谱法测定黑茶中咖啡因含量分析[J]. 食品安全导刊, 2018(33): 70+72.

-
- [13] 司晓喜, 王丹, 许志刚, 等. C₁₈-亲水相互作用柱串联高效液相色谱法测定咖啡因[J]. 化学世界, 2023, 64(5): 348-352.
 - [14] 陈思敏, 吴映璇, 庄燕君, 等. 高效液相色谱-紫外检测法测定化妆品中咖啡因的含量[J]. 广东化工, 2024, 51(3): 136-139.
 - [15] 王晓燕, 曾莉, 肖郁惠, 等. 高效液相色谱法测定茶多酚中的咖啡因[J]. 现代预防医学, 2005, 32(8): 989.
 - [16] 侯冬岩, 回瑞华, 李铁纯, 等. 高效液相色谱法测定黑茶中咖啡因含量[J]. 食品科学, 2009, 30(20): 283-284.
 - [17] 高陆迎, 陈秀芬, 杨超杰, 石福娟, 麦合丽娅·米吉提, 魏雪娇, 刘春生, 杨瑶琨. 基于 UPLC-MS/MS 法研究银杏叶中咖啡因含量的影响因素[J]. 北京中医药, 2022, 41(9): 983-989.
 - [18] 翟金晓, 高中勇, 赛雅雯, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定饮料中的咖啡因、茶碱和可可碱[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(2): 144-147.