

天然咖啡因与人工合成咖啡因的鉴别

黄艳¹, 陈浩², 莫建光¹

(1. 广西分析测试研究中心, 广西南宁 530022; 2. 广西出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 广西南宁 530022)

摘要 [目的]通过研究咖啡因自身结构差异性,得到一种新的鉴别天然与人工合成咖啡因的方法。[方法]通过茶叶提取天然高纯度咖啡因,利用连续流同位素质谱法检测被测咖啡因样品元素同位素比值,根据其差值来进行判定,鉴别出天然咖啡因与合成咖啡因。[结果]研究表明,利用连续流同位素质谱法,将实验室提取制备的天然牛磺酸与市场购买的人工合成牛磺酸进行元素同位素比值测定,发现天然咖啡因的 $\delta^{13}\text{C}$ 同位素比值为 -25 , $\delta^{15}\text{N}$ 同位素比值为 -1.5 ;而人工合成咖啡因的 $\delta^{13}\text{C}$ 同位素比值为 -36 , $\delta^{15}\text{N}$ 同位素比值为 -10 ,其同位素比值存在明显的差异,根据同位素比值的差异性可以对天然与人工合成的咖啡因进行鉴别判定。[结论]天然咖啡因和合成咖啡因的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 同位素比值存在明显的差异,可通过其差异性比值鉴别出天然与人工合成咖啡因。

关键词 咖啡因;鉴别;同位素比值

中图分类号 S509.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)07-316-02

Identification of Natural and Synthetic Caffeine

HUANG Yan¹, CHEN Hao², MO Jian-guang¹ (1. Guangxi Analysis and Test Research Center, Nanning, Guangxi 530022; 2. Inspection and Quarantine Technology Center, Guangxi Entry Exit Inspection and Quarantine Bureau, Nanning, Guangxi 530022)

Abstract [Objective] Through study on caffeine itself structure difference, a new method for identifying natural and synthetic caffeine was obtained. [Method] The natural high purity caffeine was extracted from tea, continuous flow isotope mass spectrometry was used to detect the ratio of isotope, according to the difference to identify natural and synthetic caffeine. [Result] The ratio of isotope was determined on natural taurine and artificial synthesis taurine. It was found that the ratio of isotope $\delta^{13}\text{C}$ is -25 , $\delta^{15}\text{N}$ is -1.5 in natural caffeine; $\delta^{13}\text{C}$ is -36 , $\delta^{15}\text{N}$ is -10 in synthetic caffeine. According to the significant difference of the ratio of isotope, natural and synthetic caffeine can be distinguished. [Conclusion] The ratio of isotope ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) in natural and synthetic caffeine has significant differences, which can be used as the way for identification.

Key words Caffeine; Identification; Isotope ratio

咖啡因是一种植物生物碱,1895~1899年由易·费斯歇及其学生首先完成咖啡因的人工合成过程。由于人工合成咖啡因的成本较天然咖啡因低,且生产能力大,所以,人工合成咖啡因仍是咖啡因的主要来源^[1]。目前,咖啡因的人工合成方法有几种^[2-4]:氰乙酸乙酯尿素法、氰乙酸尿素缩合法、1,3-二甲基-4-亚氨基腺嘌呤溴化法、以尿酸为起始原料的半合成法、二甲胺与氰乙酸路线合成法、甲醛合成法等。天然的咖啡因于1820年由林格最初从咖啡豆中提取得到,其后在茶叶、冬青茶中亦有发现。天然咖啡因能够逐渐而缓慢地刺激神经,刺激维持的有效期长,而且刺激比较温和,对人体没有危害,不具成瘾性。但因其成本较贵,它的市场价格往往是人工合成咖啡因的3~4倍,因此很多黑心的商家宁愿选择人工咖啡因也不愿考虑天然咖啡因。目前只有加拿大卫生部于2010年3月19日宣布,决定取消禁止在非可乐软饮料中添加低浓度合成咖啡因的规定,允许在非可乐软饮料中添加低浓度的合成咖啡因,但不得添加合成咖啡因的规定对其他食品依然有效。

当前中国药典、日本药典等对咖啡因的质量标准仅限于性状、含量、溶液的澄清度、有关物质、干燥失重、炽灼残渣、重金属等指标的规定,并没有现行的天然咖啡因和合成咖啡因的鉴别标准方法。笔者通过茶叶提取天然高纯度咖啡因,利用连续流同位素质谱法检测被测咖啡因样品的4种元素同位素比值,根据其差值来进行判定,鉴别出天然咖啡因

与合成咖啡因。

1 材料与方法

1.1 材料 茶叶,市面可购买的杂茶;人工合成咖啡因标准品, sigma , $\geq 99\%$; 参考气体 (He 、 $\text{N}_2 \geq 99.999\%$, $\text{CO}_2 \geq 99.995\%$, $\text{CO} \geq 99.9\%$, $\text{SO}_2 \geq 99.9\%$); 内标物质 (IAEA-C3, St-An, St-Li, Ag2S); 标准物质 (PDB, Air- N_2 , CDT)。

主要仪器: Thermo-Nicolet 4700 红外光谱仪, Waters 2695 高效液相色谱, EuroVector EA-3028-HT/GV Instruments Isoprime 联用仪。

1.2 方法

1.2.1 天然咖啡因的提取。称取茶叶末放入索氏提取器中,用95%乙醇连续提取4h后蒸发除去大部分乙醇,残留液倒入蒸发皿中,拌入生石灰粉蒸干乙醇;取一锥形漏斗,颈口处用少量棉花堵住,在一张略大于漏斗底口的滤纸上扎一些小孔后盖在蒸发皿上,再用漏斗盖住,小心加热,慢慢升华,收集晶体。

1.2.2 天然咖啡因的含量测定。按照 GB/T14758 中液相色谱法测定咖啡因的含量。

1.2.3 咖啡因的红外光谱鉴定。将升华收集到的晶体用溴化钾压片,红外光谱扫描,光谱图与《药品红外光谱集》第一卷(一九九五)图 B.1 咖啡因红外光谱比较。

1.2.4 同位素质谱仪分析条件。

1.2.4.1 EA 参数。氧化炉: $1\,000 \sim 1\,060\text{ }^\circ\text{C}$, 还原炉: $630 \sim 680\text{ }^\circ\text{C}$, 柱温: $35 \sim 95\text{ }^\circ\text{C}$, 载气(氦气)压力: 100 kPa 。

1.2.4.2 质谱参数。质谱分析室真空(连续流模式): $1.5 \times 10^{-4} \sim 2.0 \times 10^{-4}\text{ Pa}$ 。

作者简介 黄艳(1982-),女,广西南宁人,工程师,硕士,从事食品科学与天然产物分析研究。

收稿日期 2015-01-16

1.2.4.3 元素分析。加速电压:2 500 ~4 600 V;萃取电压:65% ~75% AV;H 板电压:8 ~35 V;Z 板电压:20 ~50 V;阱电流:200 μ A;电子能量:70 ~100 eV;推板电压: -8 V ;磁体电流:3 500 ~4 500 mA。

1.2.5 天然咖啡因与合成咖啡因同位素比值的测定。将咖啡因样品于锡杯中并包裹紧密,通过自动采样器将样品送到 EA-3028-HT 元素分析仪,通过气相色谱柱分离后进入 IsoPrime 连续流同位素分析仪测定天然咖啡因和合成咖啡因的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 同位素比值。

2 结果与分析

2.1 天然咖啡因的含量测定(表 1) 利用茶叶实验室提取了 4 个批次的高纯度咖啡因,纯度分别为 96.27%、95.11%、98.95%、99.00%,并通过红外光谱验证鉴定为咖啡因(图 1)。

表 1 天然与合成咖啡因同位素比值

样品	天然咖啡因 纯度//%	天然咖啡因 同位素比值//‰		合成咖啡因 同位素比值//‰	
		$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
1#	96.27	-25.679	1.562	-36.281	-9.823
2#	95.11	-25.370	1.570	-36.395	-9.769
3#	98.95	-25.709	1.506	-36.558	-9.949
4#	99.00	-25.735	1.550	-36.597	-10.100
RSD//%	-	0.17	0.03	0.15	0.15

2.2 咖啡因的红外光谱鉴定(图 1、2) 通过图 1、2 可知,实验室提取的咖啡因,与购买的人工合成咖啡因的红外光谱图与《药品红外光谱集》第一卷(一九九五)图 B.1 咖啡因红外光谱一致,表明了通过红外无法鉴别天然与合成咖啡因。

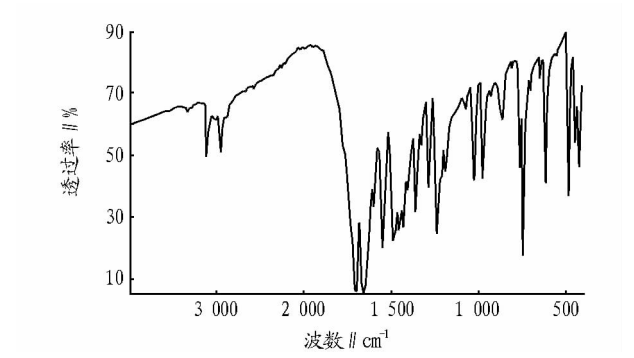


图 1 茶叶中提取的天然咖啡因红外光谱

2.3 天然咖啡因与合成咖啡因同位素比值的测定(表 1) 研究通过茶叶提取了 4 个批次的高纯度咖啡因(纯度 >95%),利用连续流同位素质谱法测定得到天然咖啡因的 $\delta^{13}\text{C}$ 同位素比值在 -25.0 左右, $\delta^{15}\text{N}$ 同位素比值为 -1.5 左右;而人工合成咖啡因的 $\delta^{13}\text{C}$ 同位素比值为 -36.0 左右, $\delta^{15}\text{N}$ 同位素比值为 -10.0 左右。研究表明,天然与人工合成的咖啡因 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 比值存在明显差异性。

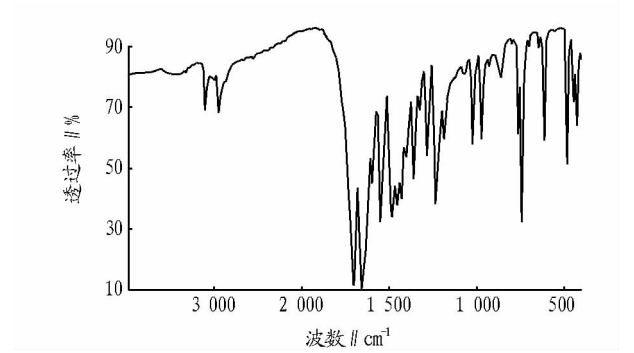


图 2 合成咖啡因红外光谱

3 结论

咖啡因的提取品与合成品为同一化合物,化学式为: $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$ 。其熔点、紫外光吸收图谱、红外光吸收图谱、高效液相色谱、薄层色谱一致,不能通过主要物质成分直接鉴别区分二者。咖啡因合成品与提取品因来源、制法不同,所含“有关物质”有所不同,因此,张伟等^[5]、尤厚成等^[6]采用直接荧光检查法、提取“有关物质”HPLC 法、薄层色谱法和荧光分光光度法鉴别区分两种制品^[4]。《中国药典》、《英国药典》及《日本药局方》咖啡因的“有关物质”检查均采用薄层色谱法。薄层色谱条件《中国药典》与《英国药典》完全相同;《日本药局方》所用展开剂及点样量不同。分别用两种方法检查咖啡因的有关物质,结果不显杂质斑点(<0.1%)。

但随着咖啡因的提取与合成,精制工艺的不断改良,通过采用咖啡因“有关物质”来鉴别咖啡因的合成品与提取品越发出现问题,如若采用增大点样量来提高有关物质的浓度,随着点样量的增大,主斑点咖啡因拖尾加重,无法判断。而通过咖啡因合成品与提取品的粉末 X-射线衍射图谱有显著差异来鉴别区分两者的原理为两者的精制方法不同、晶型不同所致,若将合成品改为提取品的精制方法(升华精制),升华可使合成品转品,则可得与提取品相同的图谱,从而无法鉴别咖啡因的提取品与合成品^[6]。

笔者针对咖啡因物质化学结构的各元素同位素比值的差异,利用连续流同位素质谱法检测被测咖啡因样品的元素的同位素比值,根据其差值来进行判定,依赖于本身结构鉴别出天然咖啡因与合成咖啡因,取得明显的效果,今后人们将对不同来源的天然咖啡因以及参杂合成品的咖啡因进行进一步的研究。

参考文献

[1] 刘胜高,王军,沈红. 天然咖啡因精制工艺研究[J]. 齐鲁药事,2006,25(12):749-751.
[2] 韩佳宾,陈静,王静康. 咖啡因制备方法研究进展[J]. 化工时刊,2003,17(3):13-16.
[3] 盛建伟. 咖啡因合成工艺的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2006.
[4] 杜德平. 咖啡因合成工艺改进[D]. 济南:山东大学,2005.
[5] 张伟,唐明珠,邱安莹. 咖啡因提取品与合成品的鉴别[J]. 中国药房,2002,13(12):751-752.
[6] 尤厚成,罗军玉. 咖啡因提取品与合成品的快速鉴别[J]. 药品检测,2002,11(3):60-61.