DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251029009
引用格式: 郭紫娟, 程晓芳. 超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法测定景德镇地区茶叶中咖啡因含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(2): 88–95.
GUO ZJ, CHENG XF. Determination of caffeine content in Jingdezhen tea by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(2): 88–95. (in Chinese with English abstract).

超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法测定景德镇地区茶叶中咖啡因含量

郭紫娟*, 程晓芳

(景德镇市市场监督管理综合检验检测中心, 景德镇 333000)

摘 要: 目的 建立超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法测定茶叶中咖啡因含量的分析方法。**方法** 色谱柱为 BEH C_{18} (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm), 流动相为 0.1%甲酸水溶液:乙腈(80:20, *V*:*V*), 流速为 0.3 mL/min, 进样量为 5 μL, 柱温 25 ℃, 外标法定量; 采用正离子模式, 定量离子对为 *m*/*z* 195.0/137.9, 定性离子对为 *m*/*z* 195.0/109.9 和 *m*/*z* 195.0/82.9, 毛细管电压 1.00 kV, 锥孔电压 50 V, 脱溶剂气(N_2)温度 500 ℃, 脱溶剂气(N_2)流速 1000 L/Hr, 锥孔反吹气流速 50 L/hr, 碰撞气为高纯氩气。**结果** 本方法中咖啡因的检出限为 0.25 ng/mL, 在 1~2000 ng/mL 质量浓度范围内具有良好的线性关系, 相关系数(*r*)为 0.9994; 样品平均加标回收率达 101.6%~106.6%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在 1.47%~3.12%之间(*n*=3), 精密度、重复性和稳定性结果良好。**结论** 该方法快速、灵敏、分离度高, 适用于茶叶中咖啡因的定量分析。

关键词: 茶叶; 超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法; 咖啡因

Determination of caffeine content in Jingdezhen tea by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

GUO Zi-Juan*, CHENG Xiao-Fang

(*Jingdezhen Comprehensive Inspection and Testing Center for Market Regulation*, *Jingdezhen* 333000, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determining caffeine content in tea by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. **Methods** The samples were separated on a BEH C_{18} column (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm) via isocratic elution with a mobile phase consisting of 0.1% formic acid in water and acetonitrile (80:20, *V*:*V*). The flow rate was set at 0.3 mL/min, with an injection volume of 5 μL and a column temperature maintained at 25 ℃. Quantification was performed using the external standard method. Mass spectrometric analysis was conducted in the positive mode with the quantitative ion pair being *m*/*z* 195.0/137.9, and the qualitative ion pairs being *m*/*z* 195.0/109.9 and *m*/*z* 195.0/82.9. The capillary voltage was set at 1.00 kV, the cone voltage was set at 50 V, the desolvation gas (N_2) temperature was set at 500 ℃, the desolvation gas (N_2) flow rate was set at 1000 L/Hr, the cone gas flow rate at was set 50 L/hr, and the collision gas was high-purity argon. **Results** The

收稿日期: 2025-10-29
第一作者/*通信作者: 郭紫娟(1989—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品化妆品质量安全检验检测。E-mail: 1809067197@qq.com

results demonstrated a limit of detection was 0.25 ng/mL for caffeine. The method exhibited excellent linearity with in the mass concentration range of 1–2000 ng/mL, with a correlation coefficient (r) of 0.9994. The spike average recovery rates ranged from 101.6% to 106.6%, with relative standard deviation (RSD) between 1.47% and 3.12% (n=3). The precision, repeatability and stability results were all satisfactory. **Conclusion** This method is rapid, sensitive, offers high resolution and is well-suited for the quantitative analysis of caffeine in tea.

KEY WORDS: tea; ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry; caffeine

0　引　言

景德镇自古就是我国江南茶区的重要组成部分, 主产绿茶、红茶、白茶。浮梁茶(绿茶)是江西省重点建设品牌“四绿一红”之一[1]。茶叶中含有多种生物碱, 咖啡因是最主要的一种, 占茶叶生物碱 95%以上。茶叶中的咖啡因可以抵御环境中害虫和微生物, 也是主要的呈苦味物质[2–6]。咖啡因含量直接影响茶叶的口感和滋味, 同时咖啡因也有多种促进健康的生物活性, 可兴奋中枢神经系统, 提高注意力和警觉、减少抑郁; 可抑制肺部炎症, 提高肺部抵御刺激的能力, 用于治疗支气管炎; 可引起心血管收缩也可使其扩张; 同时促进新陈代谢、消除疲劳、增加心脏和胃肠道功能的作用[2–6]。但咖啡因的过量摄入会产生高血压、神经系统损伤、流产等较大的负面影响。因此, 咖啡因含量是茶叶品质的重要指标, 建立其精确定量方法有重要的现实意义[7–11]。

目前, 咖啡因检测方法一般采用分光光度法[12–13]、高效液相色谱法[14–17]、红外光谱法[18]以及气相色谱法[19], 使用超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法(ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, UPLC-QqQ-MS/MS)检测茶叶中咖啡因的研究有少量报道, 但存在所用的液相色谱条件需要梯度洗脱, 方法不够简便快速, 且对实际样品的检测未与国家标准方法测定值进行比较, 准确性不够等现象[20]。本研究旨在建立 UPLC-QqQ-MS/MS 测定茶叶中咖啡因的分析方法, 为检测茶叶中咖啡因含量提供高效、可靠的补充方法, 并对景德镇地区所产茶叶中咖啡因含量进行测定, 以期为进一步开发景德镇地区茶叶资源, 以及茶叶及其制剂在保健食品、功能饮料中的安全性研究提供数据参考。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

8 批茶叶分别是浮梁绿茶、得雨活茶、崖玉、一品严台、浮瑶仙芝、浮梁红茶、沁云芽、乐平白茶, 产地分别是景德镇市、浮梁县及乐平市, 均从市场购买。

咖啡因标准品[GBW(E)100174, 质量浓度为 0.500 mg/mL](北京海岸鸿蒙标准物质技术有限责任公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 上海捷世凯生物科技有限公司); 甲酸(色谱纯, 默克股份两合公司); 氧化镁(分析纯, 天津市福晨化学试剂厂)。

1.2　仪器与设备

UPLC-QqQ-MS/MS 系统包含 Xevo TQD 三重四极杆质谱仪、Waters Acquity H CLASS UPLC (Masslynx V4.1 数据处理软件及电喷雾离子源)、Waters e2695 型高效液相色谱仪[(high performance liquid chromatography, HPLC), 配有 Waters 2998 二极管阵列检测器]、BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司); COSMOSIL 5C_{18}-MS-II色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)[沃特世科技(上海)有限公司]; MS204S 型电子天平(精度 0.1 mg, 瑞士 Mettler Toledo 公司); Milli-Q 超纯水装置(美国 Millipore 公司); YLE-2000 电热恒温水浴锅(黄石市恒丰医疗器械有限公司); KQ-250DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); SS-1022 高速多功能粉碎机(武义海纳电器有限公司)。

1.3　方　法

1.3.1　待测溶液的制备

称取 300 g 茶叶样品, 经高速多功能粉碎机粉碎混匀后, 过 30 目实验筛制成均匀样品。

前处理方法 1: 参照 GB 5009.139—2014《食品安全国家标准 饮料中咖啡因的测定》方法。称取样品 1 g(精确至 0.001 g), 加入约 200 mL 水, 置于沸水浴中提取 30 min 后加入 5 g 氧化镁, 再放入沸水浴中提取 20 min, 取出冷却至室温后用超纯水定容至 250 mL, 上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后作为样品液。

前处理方法 2: 不使用氧化镁净化, 其余步骤同前处理方法 1。

前处理方法 3: 称取 1 g(精确至 0.001 g)样品于 250 mL 锥形瓶中, 加入约 200 mL 水, 60 ℃超声 5 min(功率 250 W, 频率 40 kHz), 加入 5 g 氧化镁后再放入沸水浴提取 20 min, 取出冷却至室温后用超纯水定容至 250 mL, 上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后作为样品液。

据相关文献报道, 所有茶样品的平均咖啡因含量为 35.5 mg/g[2,7], 含量较高, 为保护 UPLC-QqQ-MS/MS 色谱柱, 按上述 3 种前处理方法制备的待测溶液还需用超纯水

稀释 1000 倍再进 UPLC-QqQ-MS/MS 仪进行检测。

1.3.2 标准曲线的绘制

(1) HPLC 标准曲线

分别精密吸取质量浓度为 0.500 mg/mL 咖啡因标准溶液 20、40、80、200 和 400 μL 至 1 mL 容量瓶中，用超纯水定容，该标准系列质量浓度分别为 10、20、40、100 和 200 μg/mL，用于 HPLC 标准曲线的绘制，临用时现配。

(2) UPLC-QqQ-MS/MS 标准曲线

分别精密吸取质量浓度为 10 μg/mL 的咖啡因标准溶液用超纯水定容配制成 7 个对照浓度，分别为 1、10、50、100、200、1000、2000 ng/mL 标准溶液，用于 UPLC-QqQ-MS/MS 标准曲线的绘制，临用时现配。

1.3.3 仪器条件

HPLC 色谱条件**:** COSMOSIL 5C_{18}-MS-II色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)，流动相为甲醇-超纯水(24:76, *V*:*V*)，等度洗脱，流速为 1.0 mL/min，进样量 10 μL，柱温 25 ℃，分离时间 20 min，检测波长 272.8 nm。

UPLC-QqQ-MS/MS 色谱条件: BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)，流动相为 0.1%甲酸溶液:乙腈=80:20 (*V*:*V*)，等度洗脱，流速 0.3 mL/min，进样量 5 μL，柱温 25 ℃，分离时间 6 min。

质谱条件：电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI)，正离子模式，毛细管电压 1.00 kV，锥孔电压 50 V，脱溶剂气(N_2)温度 500 ℃，脱溶剂气(N_2)流速 1000 L/Hr，锥孔反吹气流速 50 L/hr，碰撞气为高纯氩气，扫描范围(*m*/*z*)为 50~300；咖啡因的质谱多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)参数见表 1。

表 1 咖啡因质谱 MRM 检测条件

Table 1 Conditions for MRM detection of caffeine mass spectrometry

化合物	母离子(*m*/*z*)	子离子(*m*/*z*)	碰撞能量/eV
咖啡因	195.0	137.9(定量)	18
		109.9(定性)	20
		82.9(定性)	33

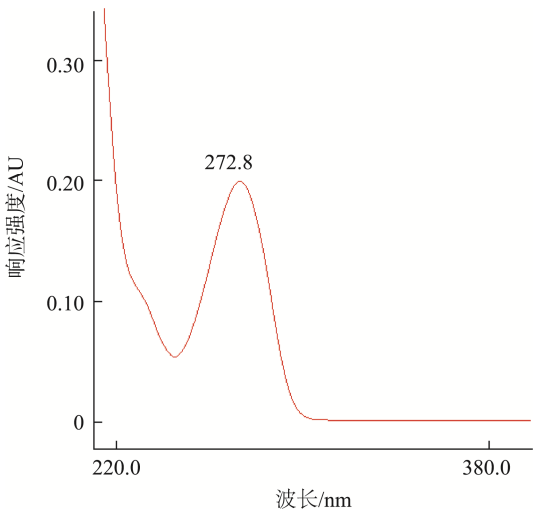
1.4 数据处理

各组实验均设置 3 个平行样，结果用平均值±相对标准偏差表示；使用 Graphpad prism 10 数据分析处理软件，用 *t* 配对双尾检验进行统计分析，$P<0.05$ 表示有显著差异。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的建立

用二极管阵列检测器对 10 μg/mL 咖啡因标准溶液在 200.0~400.0 nm 波长范围内进行扫描，咖啡因最大吸收波长为 272.8 nm，在此处信号有最高响应值，因此确定采用 272.8 nm 作为液相色谱仪最佳检测波长，见图 1。取 1.3.2 用于 HPLC 标准曲线绘制用的系列质量浓度溶液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，进样量为 10 μL，注入 HPLC 仪，得到系列浓度对应的峰面积和保留时间。以咖啡因质量浓度(X_1, μg/mL)为横坐标，对应色谱峰面积(Y_1)为纵坐标，得到标准曲线方程为: Y_1=30317X_1+191.22, r_1^2=0.9998。



注：扫描范围 200.0~400.0 nm。

图 1 咖啡因标准溶液的扫描光谱图

Fig.1 Scan spectrum of caffeine standard solution

取 1.3.2 用于 UPLC-QqQ-MS/MS 标准曲线绘制用的系列质量浓度溶液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，进样量为 5 μL，注入 UPLC-QqQ-MS/MS 仪器，得到系列浓度对应的峰面积和保留时间。以系列质量浓度(X_2, ng/mL)为横坐标，离子对 *m*/*z* 195.0/137.9 的峰面积(Y_2)为纵坐标，绘制标准曲线，其线性方程为 Y_2=560.117X_2–28.0262，相关系数(r^2)为 0.9994，表明咖啡因在 1~2000 ng/mL 范围内线性关系良好，结果见表 2。本研究所建立的标准曲线的相关系数较秦园等[21]建立的标准曲线的相关系数(0.9969)拟合度更优，线性范围(2~1000 μg/L)更宽更全面。

表 2 UPLC-QqQ-MS/MS 测定的咖啡因化合物的标准曲线、线性范围、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Standard curve, linear range, correlation coefficient, limit of detection and limit of quantitation of caffeiene detected by UPLC-QqQ-MS/MS

化合物	标准曲线	线性范围/(ng/mL)	相关系数(r^2)	检出限/(ng/mL)	定量限/(ng/mL)
咖啡因	Y_2=560.117X_2–28.0262	1~2000	0.9994	0.25	1

2.2　前处理条件优化

本研究选取浮梁绿茶作为实验样本, 考察 3 种不同前处理方法下制备的待测溶液经 HPLC 和 UPLC-QqQ-MS/MS 仪器测定的咖啡因含量, 并对测定结果进行比较, 结果见表 3。经配对 *t* 检验统计分析后可知: 3 种不同前处理方法在同一检测方法下测定的浮梁绿茶中咖啡因含量无显著差异; 而在同一前处理方法下, UPLC-QqQ-MS/MS 和 HPLC 所得咖啡因含量也无显著差异。实验过程中发现: 方法 2 在 HPLC 检测色谱图中会出现较多杂峰, 导致的原因是未添加氧化镁、样品未净化, 但不影响目标峰的定量检测; UPLC-QqQ-MS/MS 是以特征性子离子进行定量, 检测灵敏度高, 前处理中加入氧化镁对检测结果作用不大, 也不影响目标峰的定量检测。采用超声波辅助法(即方法 3)测定的咖啡因含量稍高, 且两种检测方法的变化趋势一致, 可能是因为超声处理是通过物理振动破坏茶叶细胞壁, 能加速细胞内物质释放, 让咖啡因更快、更多地溶解到水中。考虑前处理方法的简便性, 本研究用 UPLC-QqQ-MS/MS 测定 8 种茶叶中咖啡因含量时采用沸水浴浸泡(前处理方法 2); 考虑建立新方法的准确与可靠性, 用 HPLC 测定含量时仍采用国家标准法(即前处理方法 1)以进行配对 *t* 检验。3 种前处理方法下的 HPLC 色谱图见图 2。

表 3　不同前处理方法下 HPLC 和 UPLC-QqQ-MS/MS 测定浮梁绿茶中咖啡因含量比较(*n*=3, g/kg)

Table 3　Comparison of caffeine content in Fuliang green tea determined by HPLC and UPLC-QqQ-MS/MS under different pretreatment methods (*n*=3, g/kg)

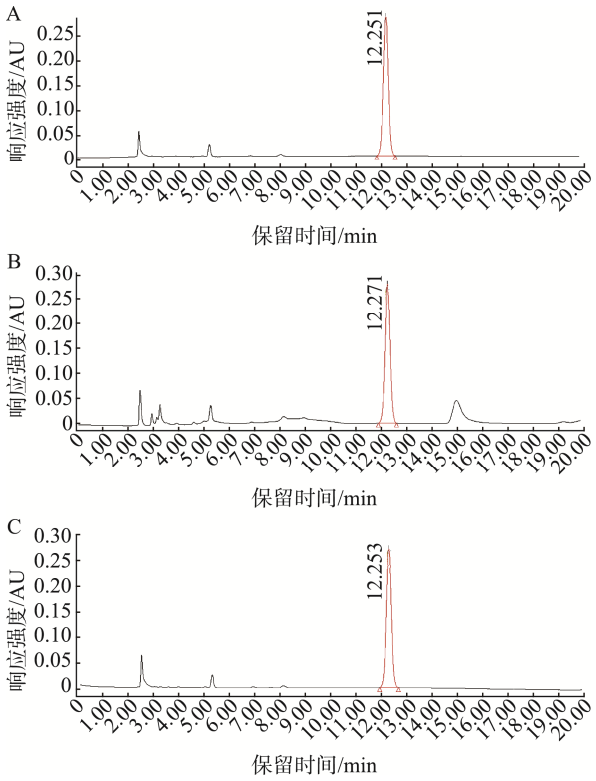
前处理方法	HPLC	UPLC-QqQ-MS/MS
方法 1	31.97±0.60[a]	32.18±0.98[a]
方法 2	32.21±0.70[a]	32.79±0.69[a]
方法 3	32.69±0.59[a]	33.57±0.60[a]

注: 相同小写字母表示差异不显著(*P*>0.05)。

2.3　色谱条件优化

为使咖啡因在最短的时间内获得最好的分离, 实验考察了流动相甲醇-超纯水在体积比为 24:76 (*V*:*V*)分别应用于 HPLC 和 UPLC-QqQ-MS/MS 仪器, 其他色谱条件见 1.3.3 中仪器条件。图 3 表明在 HPLC 条件下, 流动相甲醇-超纯水(24:76, *V*:*V*)可以很好地分离出咖啡因, 基线稳定, 峰形对称, 无拖尾且重现性好, 出峰时间为 12.261 min。因此确定以 24%甲醇水溶液为 HPLC 色谱仪最佳流动相条件。

将流动相甲醇-超纯水(24:76, *V*:*V*)应用于 UPLC-QqQ-MS/MS 仪器, 发现目标峰分离时间缩短至 1.84 min, 但出现峰分裂、基线噪声高、基线不稳定影响响应值等情况, 说明流动相甲醇-超纯水(24:76, *V*:*V*)不适用于 UPLC-QqQ-MS/MS 测定咖啡因(图 4A)。为使咖啡因在 UPLC-QqQ-MS/MS 仪器上有最短且最好的分离效果, 本研究参考关于 LC-MS 检测咖啡因的相关文献[21–25], 筛选出流动相为 0.1%甲酸溶液-乙腈(80:20, *V*:*V*)进行等度洗脱。如图 4B 所示, 咖啡因在 0.87 min 处出峰, 响应值高、峰形好且不受基底干扰。与国家标准 HPLC 相比, 出峰时间更短。因此, 将 0.1%甲酸溶液:乙腈=80:20 (*V*:*V*)流动相作为 UPLC-QqQ-MS/MS 后续实验条件。



注: A. 前处理方法 1; B. 前处理方法 2; C. 前处理方法 3。

图 2　不同前处理方法所得样品的 HPLC 色谱图

Fig.2　HPLC chromatograms of samples obtained using different pretreatment methods

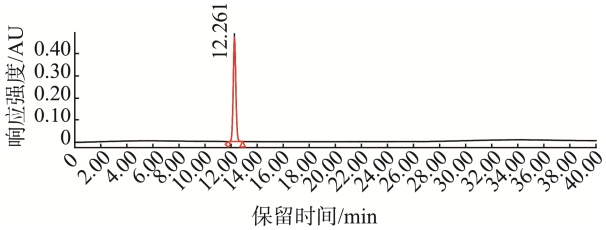
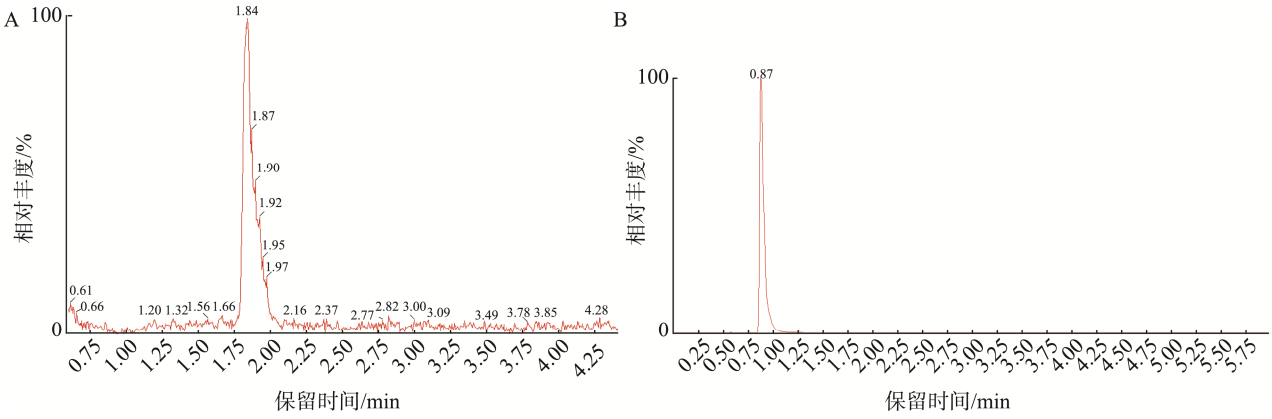


图 3　HPLC 色谱仪检测咖啡因标准溶液的色谱图

Fig.3　Chromatogram of caffeine standard solution detected by HPLC chromatograph



注: A. 流动相甲醇-超纯水(24:76, *V*:*V*); B. 流动相为 0.1%甲酸溶液-乙腈(80:20, *V*:*V*)。

图 4 UPLC-QqQ-MS/MS 检测咖啡因标准溶液的 MRM 色谱图

Fig.4 MRM chromatograms of caffeine standard solution detected by UPLC-QqQ-MS/MS

2.4 质谱条件优化

在液相色谱-质谱仪检测中, 质谱条件优化的核心影响指标有“离子化效率、分离度和灵敏度”。ESI 的喷雾电压、鞘气/辅助气流量直接影响离子生成效率: 电压过高易导致离子碎裂, 过低则离子化不完全。一级质谱的分辨率决定母离子筛选精度, 分辨率越高, 干扰离子排除效果越好, 但扫描速度需与液相洗脱速度匹配(避免峰形失真)。二级质谱的碰撞能量是关键, 过低则碎片离子强度不足, 过高易产生无特征碎片, 需按目标物结构优化。在 MRM 模式下, 监测离子对的特异性直接影响抗干扰能力, 需优先选择丰度高、稳定性好的特征碎片离子。同时, 优化离子源温度、喷雾角度可减少基质(如样品中的盐分、蛋白质)对离子化的抑制[26]。根据咖啡因的分子结构, 本研究选择在正离子全扫描模式下(*m*/*z* 50~300), 将质量浓度为 10 μg/mL 的咖啡因标准溶液以 100 μL/min 的速度注入质谱系统, 对化合物咖啡因进行母离子和子离子扫描, 同时考察脱溶剂气(N_2)温度和流速、毛细管电压、锥孔电压对离子信号强度的影响, 建立 MRM 的最佳参数用于咖啡因的定性和定量。优化后的质谱测定参数见表 1。

2.5 方法学评价

2.5.1 检出限和定量限

以信噪比等于 3 (*S*/*N*=3)为检出限, 以 *S*/*N*=10 为定量限, 结果见表 2。实验结果显示: UPLC-QqQ-MS/MS 测定咖啡因的检出限为 0.25 ng/mL, 定量限为 1 ng/mL, 优于国家标准 HPLC 检出限(72 ng/mL)和定量限(216 ng/mL), 并且优于林磊[20]采用超高效液相色谱-串联质谱法测定茶叶中的咖啡因的检出限(6 ng/mL)和定量限(20 ng/mL)及秦园等[21]采用超高效液相色谱-串联质谱法检测茶叶及茶饮料中咖啡因含量中的检出限(2.0 μg/L)。

2.5.2 精密度和稳定性实验

分别精密吸取标准溶液 50、100、200 ng/mL 各 5 μL 按上述 1.3.3 所述 UPLC-QqQ-MS/MS 色谱、质谱条件操作注入 UPLC-QqQ-MS/MS 仪器, 分别重复测定 6 次, 峰面积相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)值分别为 1.62%、1.02%、0.79%, 均小于 2%。表明该 UPLC-QqQ-MS/MS 仪器精密度良好。再分别于 0、2、4、8、12、24 h 注入 UPLC-QqQ-MS/MS 仪器, 测得各咖啡因标准溶液峰面积的 RSD 值分别为 1.91%、2.54%、1.13%, 均小于 3%, 表明标准溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.3 重复性和加标回收率实验

平行称取 6 份绿茶、红茶和白茶各 1 g, 按 1.3.1 前处理方法 2 和 1.3.3 所述 UPLC-QqQ-MS/MS 色谱、质谱条件操作注入 UPLC-QqQ-MS/MS 仪器, 记录峰面积, 计算咖啡因含量的 RSD 值分别为 2.57%、1.61%和 1.21%, 均小于 3%, 测定结果表明本方法重复性良好。往已知咖啡因含量的浮梁绿茶提取液中加入质量浓度分别为 50、200、1000 ng/mL 的咖啡因标准溶液, 进行 UPLC-QqQ-MS/MS 检测, 计算回收率和精密度, 结果见表 4。从表 4 可知, 不同浓度标准溶液添加水平下, 茶叶样品中咖啡因的平均回收率为 101.6%~106.6%, RSDs 为 1.47%~3.12%, 小于国家标准中精密度不超过 10%的要求; 与秦园等[21]建立的超高效液相色谱-串联质谱法中的加标回收率 90.2%~103.9%和 RSDs 1.00%~3.00%较为接近。实验结果表明该方法具有良好的准确度和精密度, 能满足茶叶中咖啡因含量的测定要求。

2.6 实际样品检测

以本研究建立的 UPLC-QqQ-MS/MS 对景德镇地区市场上的绿茶、红茶和白茶共 8 种茶叶进行测定, 每个样品平行测定 3 次, 并将结果与国家标准法比较。如图 5 所示, 用沸水浴(即前处理方法 2)在 HPLC 色谱条件下测定茶叶样品中咖啡因含量时, 色谱图中有很多峰, 需要比对保留时间来确定待分析物。而当样品中有杂质和待分析物的保留

表 4　UPLC-QqQ-MS/MS 测定茶叶中咖啡因的加标回收率和 RSDs 结果(n=3)

Table 4　Spiked recovery and RSDs results for the determination of caffeine in tea by UPLC-QqQ-MS/MS (n=3)

样品本底值/(ng/mL)	标准溶液质量浓度/(ng/mL)	检测质量浓度/(ng/mL)	回收率/%	平均回收率/%	RSDs/%
75.8	50	63.9	104.0	101.6	3.12
		63.6	102.8		
		62.4	98.0		
	200	145.2	107.3	106.6	1.47
		145.6	107.7		
		142.7	104.8		
	1000	583.8	109.2	106.4	2.58
		556.4	103.7		
		569.9	106.4		

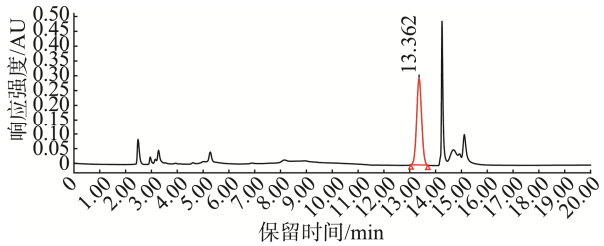
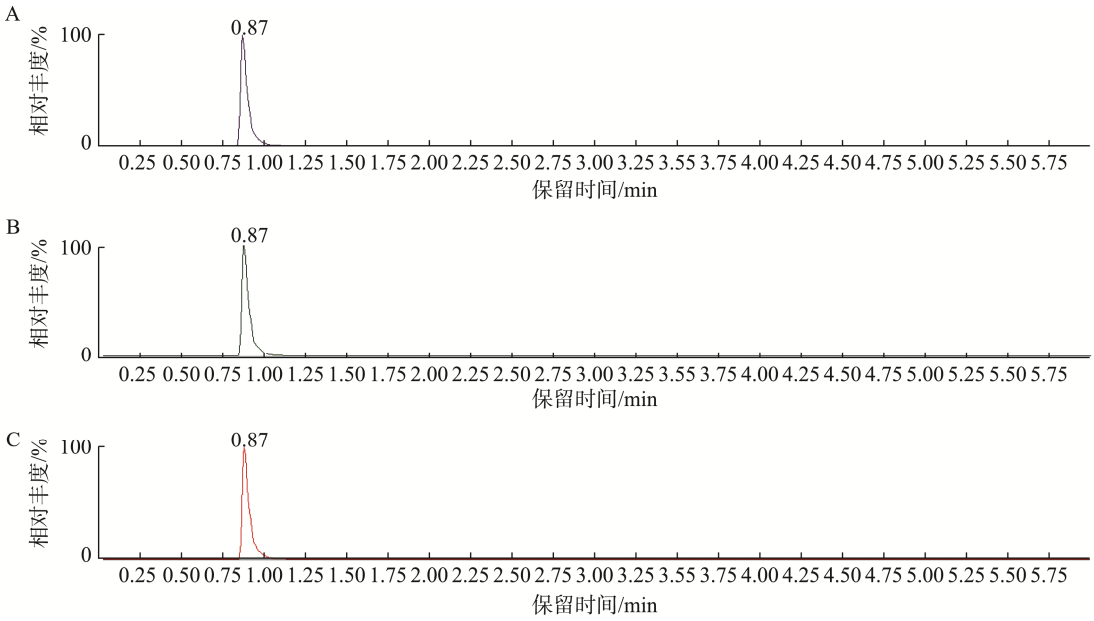


图 5　茶叶样品在 272.8 nm 下的 HPLC 色谱图

Fig.5　HPLC chromatogram of the tea sample at 272.8 nm

时间相同时, 或当 HPLC 使用不同型号色谱柱导致保留时间提前或推后时, 两者不易区分, 因此有可能出现假阳性或者定量结果偏高, 在前处理中往往需要使用氧化镁来净化除杂。而 UPLC-QqQ-MS/MS 是在液相分离基础上, 增加了质谱检测器的“双重筛选”, 一级质谱筛选出咖啡因的分子离子峰, 二级质谱筛选到特征性子离子峰进行定量, 这种特异性可精准识别目标化合物, 几乎不受杂质干扰, 前处理中加入氧化镁对检测结果的影响不大, UPLC-QqQ-MS/MS 具有可靠的准确性, 已广泛应用于复杂基质如食品和药物的痕量检测中。如图 6 所示, 色谱图中仅有选定的咖啡因离子对色谱峰, 所有杂质均被排除。3 个离子对中, m/z 195.01/137.9 的响应信号最强, 因此可用于咖啡因定量; 而另外两个离子可以用于对咖啡因色谱峰的双重确认, 避免假阳性。

从表 5 可知, UPLC-QqQ-MS/MS 测定绿茶中咖啡因含量在 31.17~38.43 mg/g, RSDs 在 1.72%~5.43%; 红茶中咖啡因含量在 29.77~34.70 mg/g, RSDs 在 3.10%~7.20%; 乐平白茶中咖啡因含量在 32.26 mg/g 左右, RSDs 为 1.94%。相同产地的绿茶和红茶的咖啡因含量不同可能与采摘时的鲜嫩度、生产季节、加工工艺等有关[2]。两种检测方法所得咖啡因含量经配对 t 检验统计分析后可知, 结果无显著性差异, 表明以本研究建立的 UPLC-QqQ-MS/MS 准确性可靠。



注: A. m/z 195.01/137.9; B. m/z 195.01/109.9; C. m/z 195.01/82.9。

图 6　茶叶样品的 UPLC-QqQ-MS/MS 色谱图

Fig.6　UPLC-QqQ-MS/MS chromatogram of the tea sample

表 5 两种方法测定茶叶中咖啡因含量(n=3)

Table 5 Determination of caffeine content in tea by 2 kinds of different methods (n=3)

种类	样品	UPLC-QqQ-MS/MS		HPLC(国家标准法)	
		咖啡因含量/(mg/g)	RSDs/%	咖啡因含量/(mg/g)	RSDs/%
绿茶	浮梁绿茶	32.79±0.69	2.06	31.97±0.60	1.86
	得雨活茶	35.83±1.05	2.43	36.40±0.23	0.64
	崖玉	32.92±0.70	1.72	33.15±0.01	0.27
	一品严台	31.17±2.10	5.14	30.92±0.49	1.58
	浮瑶仙芝	38.43±2.55	5.43	38.83±0.31	0.80
红茶	浮梁红茶	34.70±3.09	7.20	35.22±0.55	1.57
	沁云芽	29.77±1.20	3.10	30.12±0.37	1.22
白茶	乐平白茶	32.26±0.80	1.94	32.50±0.71	2.19

3 结 论

本研究通过优化液相色谱、质谱条件, 考察样品前处理方法, 建立了 UPLC-QqQ-MS/MS 检测茶叶中咖啡因含量的分析方法。结果显示: 采用沸水浴提取茶叶中的咖啡因, 选用 0.1%甲酸溶液:乙腈(80:20, V:V)为流动相进行等度洗脱, 检出时间为 0.87 min; 检出限为 0.25 ng/mL, 线性质量浓度范围为 1~2000 ng/mL, 相关系数(r)为 0.9994, 样品加标平均回收率达 101.6%~106.6%; RSDs 在 1.47%~3.12%之间(n=3); 精密度、稳定性、重复性和回收率均符合食品检测相关要求。本研究同时考察了 HPLC 色谱仪的最大吸收波长, 参照 GB 5009.139—2014 方法对茶叶中咖啡因含量进行了检测。与国家标准液相色谱法相比, UPLC-QqQ-MS/MS 检测的咖啡因含量结果在统计学上无显著差异, 但该方法具有更加快速、灵敏、分离度更高的优势, 节省分析时间, 流动相消耗少, 环境污染更小[26–30], 可为茶叶中快速检测咖啡因含量提供高效、可靠的新方法。

据报道, 咖啡因是茶叶中重要的功能活性物质, 其在鲜叶中的含量为 2%~5%, 所有茶样品的平均咖啡因含量为 35.5 mg/g。通过 UPLC-QqQ-MS/MS 检测景德镇地区 8 种茶叶的咖啡因含量后可知, 景德镇地区所产茶叶中咖啡因含量或接近或超过平均咖啡因含量。该研究可为人们选购茶叶提供参考, 并为进一步开发景德镇地区的茶叶资源, 助力茶叶产业转型升级, 为茶叶及其制剂在保健食品、功能饮料中的安全性研究提供数据参考。

参考文献

[1] 刘涛, 廖珊珊. 标准化助力江西茶叶品牌整合实施[C].南昌: 江西省标准化研究院; 江西省质量技术监督局, 2016.
LIU T, LIAO SS. Standardization facilitating the tegration of Jiangxi tea brands [C]. Nanchang: Jiangxi Institute of Standardization; Jiangxi Provincial Bureau of Quality and Technical Supervision, 2016.

[2] 冯玮, 赵亚飞, 吴泽平, 等. 茶叶咖啡碱的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(3): 94–105.
FENG W, ZHAO YF, WU ZP, *et al*. Reseacrch progress on tea caffeine [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(3): 94–105.

[3] WATANABE D, YOSHIDA T, NANRI H, *et al*. Association of caffeine, green tea, and coffee consumption with mortality and disability among older adults [J]. The British Journal of Nutrition, 2025. DOI: 10.1017/S0007114525105278

[4] SILVA DMBA, SILVA DCCM, MONTEIRO SDIL, *et al.* Phenolic compounds profile and caffeine in espresso machine extracted teas and capsule coffees: Evaluation of bioactive potential and bioaccessibility [J]. Food Research International, 2025, 221(P2): 117383.

[5] QIU B, YU J, CHEN D, *et al*. Sustainable valorization of tea waste by enhanced caffeine extraction via microbial-driven solid-state fermentation [J]. Environmental Technology & Innovation, 2025, 40: 104365.

[6] AYAKDAŞ G, AĞAGÜNDÜZ D. Determination of *L*-theanine and caffeine contents in tea infusions with different fermentation degrees and brewing conditions using the chromatographic method [J]. Foods, 2025, 14(13): 2313.

[7] 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.
CHENG YM. Research progress on caffeine detection methods in tea [J]. China Food Safety Magazine, 2025(10): 124–126.

[8] DIVY A, SHUBHANG I, CHANDRA P. Caffeine detection in green tea and coffee samples using nanoelectronic device based on bimetallic FeNi-metal organic framework [J]. Food Chemistry, 2025, 486144615. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2025.144615

[9] KIM D, KIM S, CHOI G, *et al.* The polyphenol/caffeine ratio determines the arousal-inducing properties of the green tea ethanol extract [J]. Food & Function, 2025. DOI: 10.1039/D5FO00661A

[10] TURAK F, GUZEL R, DINC E, *et al.* Simultaneous determination of ascorbic acid and caffeine in commercial soft drinks using revered-phase ultra performance liquid chromatography [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2017, 25(2): 285–292.

[11] LI YHG, TANG MC, WU MS, *et al*. Causal association of genetically determined caffeine intake from tea or coffee with bone health: A two-sample Mendelian randomization study [J]. Postgraduate Medical Journal, 2024. DOI: 10.1093/POSTMJ/QGAE051

[12] 李钰茹, 梁加越. 不同茶饮咖啡因和维生素 C 含量比较[J]. 中国食物与营养, 2022, 28(11): 38–41.

LI YR, LIANG JY. Comparison of caffeine and vitamin C contents in different teas [J]. Food and Nutrition in China, 2022, 28(11): 38–41.

[13] 高海荣, 陈秀丽, 杨玉珍, 等. 超声萃取-紫外分光法快速测定茶叶中咖啡因[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(8): 73–76.
GAO HR, CHEN XL, YANG YZ, *et al.* The rapid detection of caffeine in tea by ultrasonic extraction and UV spectrophotometry [J]. Food Research and Development, 2015, 36(8): 73–76.

[14] 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.
WU YL, WANG K, WU ZC, *et al.* Determination and comparison of tea caffeine extracted by five different extraction methods by high performance liquid chromatography [J]. Food Research and Development, 2023, 44(3): 195–200.

[15] SHADY A, REEM I, LILIAN A, *et al*. Quantification of caffeine and chlorogenic acid in green and roasted coffee samples using HPLC-DAD and evaluation of the effect of degree of roasting on their levels [J]. Molecules, 2021, 26(24): 7502–7502.

[16] 武开业. 反相高效液相色谱法测定可乐中咖啡因的含量[J]. 中国测试, 2012, 38(S1): 67–69.
WU KY. Determination of caffeine in cola by reversed-phase HPLC [J]. China Measurement & Test, 2012, 38(S1): 67–69.

[17] 曾诚, 赵文惠. 反相高效液相色谱和超高效液相色谱法测定饮料中咖啡因含量的比较研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(6): 2337–2341.
ZENG C, ZHAO WH. Comparison of reversed high performance liquid chromatography and ultra-high performance liquid chromatography on quantitative determination of caffeine in beverages [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(6): 2337–2341.

[18] 陈婷婷, 赵轩, 李胜楠. 超声波乙醇法提取茶叶中咖啡因的实验研究[J]. 广州化工, 2023, 51(11): 105–107.
CHEN TT, ZHAO X, LI SN. Study on ultrasonic assisted with ethanol to extract caffeine from tea [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2023, 51(11): 105–107.

[19] 许庆琴, 杜黎明, 王静萍, 等. 气相色谱法直接测定茶叶中的咖啡因和茶碱[J]. 分析科学学报, 2002(6): 520–521.
XU QQ, DU LM, WANG JP, *et al*. Direct determination of caffeine and theophyllin in tea by gas chromatography [J]. Journal of Analytical Science, 2002(6): 520–521.

[20] 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.
LIN L. Determination of caffeine in tea by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Fujian Analysis & Testing, 2024, 33(5): 44–46.

[21] 秦园, 王惠芳, 吴建兵, 等. 超高效液相串联质谱检测茶叶及茶饮料中咖啡因含量[J]. 食品工业科技, 2019, 40(10): 286–289, 301.
QIN Y, WANG HF, WU JB, *et al*. Examination of caffeine in tea and tea drinks by ultra liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(10): 286–289, 301.

[22] 陈彩云, 魏鲜娥, 蔡伟江, 等. 液相色谱-串联质谱法测定巴西绿蜂胶制品中咖啡因的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(9): 2212–2216.
CHEN CY, WEI XE, CAI WJ, *et al*. Determination of caffeine content in Brazilian green bee propolis products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(9): 2212–2216.

[23] 陈秀芬, 杨超杰, 程亮科, 等. 超高效液相色谱串联三重四极杆质谱法测定市售银杏叶药材中咖啡因含量的研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(7): 1790–1794.
CHEN XF, YANG CJ, CHENG LK, *et al.* Determination of caffeine content in *Ginkgo folium* by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2021, 46(7): 1790–1794.

[24] 梁静, 冯家力, 曾栋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定功能饮料中的肌醇、牛磺酸和咖啡因[J]. 实用预防医学, 2023, 30(11): 1317–1319.
LIANG J, FENG JL, ZENG D, *et al*. Determination of inositol, taurine and caffeine in functional drinks by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Practical Preventive Medicine, 2023, 30(11): 1317–1319.

[25] 黄成龙, 满瀚泽, 宋禧林, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定指纹中的咖啡因及常见镇静药物[J]. 分析测试学报, 2025, 44(2): 285–293.
HUANG CL, MAN HZ, SONG XL, *et al*. Determination of caffeine and common sedative drugs in fingerprints by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2025, 44(2): 285–293.

[26] ATTWA WM, ALI MA, ALRABIAH H, *et al*. Developing and validating a sensitive and fast UPLC-MS/MS method for estimating the *in vitro* metabolic stability of crenolanib in HLMs: Identification of structural alarms related to the *in silico* toxicity and metabolic lability [J]. Analytical Methods: Advancing Methods and Applications, 2025. DOI: 10.1039/D5AY01691F

[27] WANG L, KE S, WANG L, *et al.* Altered caffeine metabolism is associated with recurrent hypoglycemia in type 2 diabetes mellitus: A UPLC-MS-based untargeted metabolomics study [J]. Frontiers in Endocrinology, 2022, 13: 843556.

[28] JIANG S, ZHONG Y, QIAO H, *et al.* UPLC-MS/MS method for the simultaneous quantification of caffeine and illicit psychoactive drugs in hair using a single-step high-speed grinding extraction-insights into a cut-off value for caffeine abuse [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2022, 209: 114489.

[29] SPINOSO-CASTILLO LJ, ESCAMILLA-PRADO E, AGUILAR-RINCÓN HV, *et al.* Quantitative comparison of three main metabolites in leaves of coffea accessions by UPLC-MS/MS [J]. European Food Research and Technology, 2020(prepublish): 1–10.

[30] HAN X, CHANG R, YING K, *et al*. Determination of GL-V9, a derivative of wogonin, in rat plasma by UPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study after oral and pulmonary administration [J]. Biomedical Chromatography: BMC, 2019, 33(8): e4556.

(责任编辑: 蔡世佳　安香玉)