

料是较多的,如— $\frac{\text{PETP}}{\text{PVDC}}$ —/粘合剂/PP,尼龙(OPA)/粘合剂/PP,尼龙(OPA)/粘合剂/PE,铝箔/粘合剂/纸/PE等等。密封机的选择,要注意封口条件,一般都是热封型,加热温度为204.5°C左右。还要选择合适的封口强度,一般不能低于1.8公斤/厘米<sup>2</sup>。包装机可选择的类型很多,国产真空和充气包装机类型有VPA400/1型台式真空充气包装机,此机易于操作,工作人员不需严格训练。机器备有充气装置,机身紧凑,占地极小,轻便易带,适合于一切型料复合薄膜或塑料铝箔的复合薄膜的封口包装。该机由电子器械自动控制,电热封口包装的温度与时间都能调节,以适应各种不同的包装材料。另一种是ZBJ84—A型自动真空包装机。此机能在真空状态下包

装果脯,确保果脯包装后在无氧状态下不致氧化和腐烂。此机生产能力为40~50袋/分。国外也有许多包装机可供选择,比如AL—100—N型自动制袋充填机,KBF—10型立式自动包装机等。

复合材料小包装在凉果果脯行业的推广应用前景:

凉果生产还处于非常落后的状态,生产机械化是这一行业存在已久的愿望,包装率先实现机械化,将为凉果生产机械化的实现产生深远的影响。复合材料小包装技术,为凉果包装机械化的实现提供了可能。随着复合技术的提高,复合材料的成本将下降,品种将增加,性能将更加良好,生产量也会更为扩大,复合材料的应用也将更为广泛,因此,复合材料应用于凉果包装是势在必行。

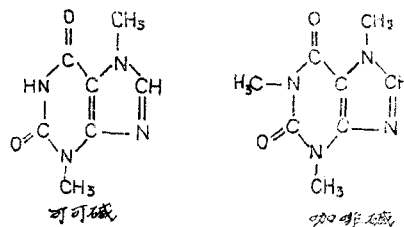
## 气相色谱法测定可可类食品 中生物碱

上海进出口商品检验局 陈家华

### 摘 要

目前可可食品中可可碱测定方法多采用重量法,用测定生物碱总量来近似计量可可碱含量,方法麻烦费时。本文则报导氮磷检测器气相色谱方法。操作简便、快速,而且能分别定量可可碱和咖啡碱。本法已应用于进出口可可粉、可可液块和巧克力制品的生物碱含量测定,结果令人满意。

可可碱(Theobromine)和咖啡碱(Caffeine)是可可类食品中含有的嘌呤类生物碱。其中可可碱是主要生物碱。它在化学结构上比咖啡碱少一个甲基。可可碱的药理作用和咖啡碱相象,有扩张血管、促进血液流通和较强的利尿功效。因此食用可可类食品有利于治疗各种水肿病。同时由于可可碱也是可可类食品的一个重要品质指标,所以测定可可制品的生物碱含量受到食品分析工作者的关注。



可可食品中生物碱测定方法有重量法(AOAC法)<sup>[1]</sup>,薄层色谱法<sup>[2]</sup>,和高效液相色谱方法<sup>[3,4]</sup>,本文则介绍未见有过报导的

氮磷检验器气相色谱测定方法。此法将可可粉、可可液块(巧克力原料)和巧克力中生物碱乙醇抽提液不经萃取、净化直接注入色谱仪进行分析,方法极为简便。可可碱和咖啡碱的平均回收率分别为100.9%和98.35%,样品测定平均相对偏差分别为3.86%和5.96%。

## 实验方法

### 一、试剂和仪器

#### 1. 试剂

- (1) 无水乙醇;分析纯;80%乙醇溶液。
- (2) 可可碱;SIGMA试剂进口分装。
- (3) 咖啡碱:生化试剂,在100°C烘箱中烘3小时,贮存干燥器中备用。
- (4) 巴比妥内标溶液,300 $\mu$ g/ml:称取15mg巴比妥,用无水乙醇溶解后移入50ml容量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度。于5°C贮存备用。

#### (5) 可可碱和咖啡碱标准溶液

a. 贮备溶液(I),可可碱400 $\mu$ g/ml,咖啡碱100 $\mu$ g/ml:准确称取40mg可可碱、10mg咖啡碱置于索氏脂肪抽提瓶中,加入0.3g氧化镁、40ml80%乙醇溶液,接上冷凝管,沸水浴回流15min后滤去氧化镁,用无水乙醇洗抽提瓶,定量转入100ml容量瓶,冷却至室温,用无水乙醇稀释至刻度。于5°C贮存。

b. 工作溶液(II),可可碱40 $\mu$ g/ml,咖啡碱10 $\mu$ g/ml。准确移取1ml贮备溶液(I)置于10ml棕色容量瓶中,加入5ml巴比妥内标溶液,用无水乙醇稀释至刻度。

#### 2. 仪器

(1) 气相色谱仪:岛津GC-9A,备有氮磷检测器(FTD)。

(2) 玻璃色谱柱:1M $\times$ 3mm(内径),装填1.5%Hi-EFF-8B固定液涂于Gas, Chrom Q(80~100目)。

### 二、实验步骤:

1. 生物碱的提取:称取0.2g可可粉或0.4g可可液块或1g巧克力置于索氏脂肪抽提瓶中,

加入0.3g氧化镁,40ml80%乙醇溶液,装上冷凝管,沸水浴回流5min,乘热定量转入100ml容量瓶中,冷却至室温,用无水乙醇定容至刻度,混匀后过滤。

#### 2. 生物碱测定:

##### (1) 色谱操作条件:

流速:氮气,70ml/min;空气,150ml/min;氢气,3~4ml/min。

进样口温度:260°C。

检测器铷珠基流电压13~14V。

##### (2) 测定:

移取1ml提取滤液置带塞试管中,90°C水浴,用氮气吹干,加入0.5ml内标溶液、0.5ml无水乙醇,混匀作为色谱测定溶液。样品溶液和标准溶液各注入5 $\mu$ l进行色谱分析。根据测得的峰高或峰面积按内标法计标样品中可可碱和咖啡碱含量。

$$\text{可可碱(或咖啡碱)含量(\%)} = \frac{P_w \times I_s \times C_s \times 100}{P_s \times I_w \times C_w}$$

式中:ps—工作溶液的可可碱(或咖啡碱)峰高,mm,或面积mm<sup>2</sup>。

Is—工作溶液的内标峰高mm,或面积mm<sup>2</sup>。

Cs—工作溶液的可可碱(或咖啡碱)浓度 $\mu$ g/ml。

Pw—样品溶液的可可碱(或咖啡碱)峰高mm,或面积mm<sup>2</sup>。

Iw—样品溶液的内标峰高mm,或面积mm<sup>2</sup>。

Cw—样品溶液的浓度 $\mu$ g/ml。

## 结果和讨论

1. 标准溶液的制备和样品处理可可中的生物碱有可可碱和咖啡碱,在分子结构上可可碱比咖啡碱少一个甲基,这使二者在溶剂中的溶解度有极大的差异,据Wesley R, Kreiser等人<sup>[4]</sup>报导可可碱在100ml石油醚、乙醚、苯、甲苯、二甲苯、环己烷、环己醇中溶解量分别小于0.15、0.18、0.35、0.23、0.18、0.14和2.3mg;而咖啡碱则分别为3.33、17.8、35.8、35.6、35.3、46和29.1mg。可可碱难溶于乙醇,而咖啡碱溶于乙醇。我们试验结果和文献报导相符。为此我们研究了氧化镁、乙醇回流

材方法, 这样可可碱能溶于碱性乙醇中, 同时也有利于可可碱和咖啡碱从样品的磷酸酯键上游离下来。

标准溶液的定量制备和样品回流提取均由色谱检测进行跟踪。样品用40ml80%乙醇回流15min后过滤, 用三个20ml无水乙醇洗残渣, 另用20ml无水乙醇抽提残渣, 色谱跟踪测定可可碱和咖啡碱来检出。为进一步试验适宜的抽提时间, 我们以0.2g可可粉、0.4g可可液块的1g巧克力改变水浴回流时间, 在规定条件下进行生物碱游离试验。结果表明15min适宜。

2. 分离柱的选择: 由于可可碱和咖啡碱结构相似, 柱上分离较难, 我们试验了SE-30、OV-17、OV-101、DEGS及Hi-EFF-8B, 分别涂于Gas Chrom Q上, 试验表明 本文采用的Hi-EFF-8B即聚环己烷二甲醇丁二酸酯 (Cyclohexane dimethanol Succinate) 有较好的分离度, 可可碱和咖啡碱相对保留时间分别为3.1和1.7, 见图1。样品中可可碱和咖啡碱测定色谱表明无杂质峰干扰, 这是由于氮磷检测器有极高的选择性响应, 碳氢化合物干扰极小<sup>[5]</sup>。

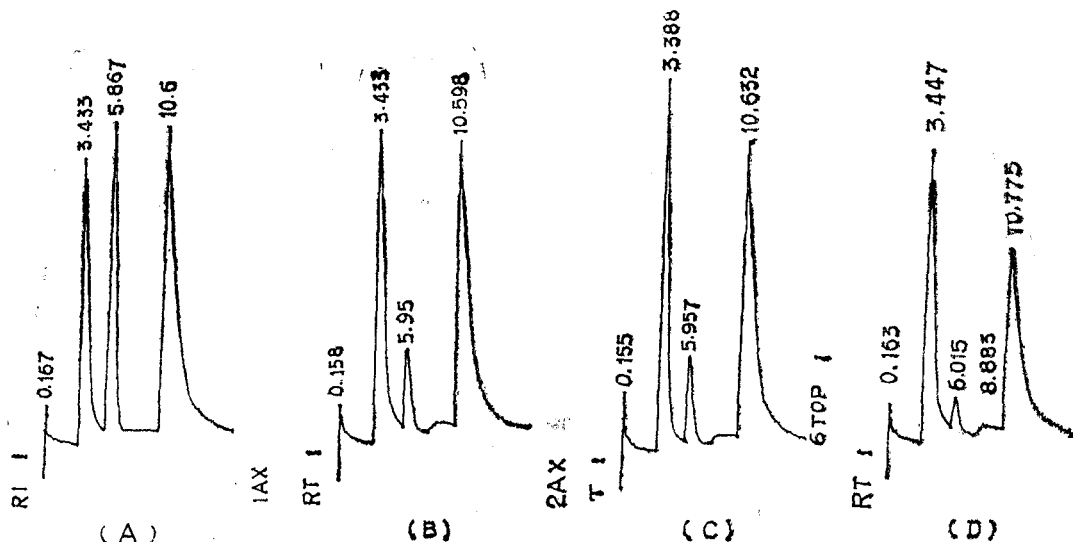


图1. 可可碱和咖啡碱色谱

(A)标准品 (B)可可粉 (C)可可液块 (D)牛奶巧克力

### 3. 可可碱和咖啡碱标准溶液线性相关值

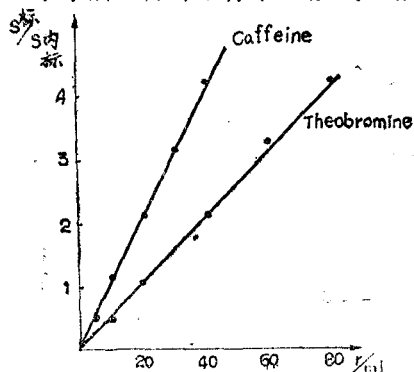


图2. 可可碱和咖啡碱标准曲线

的测定: 在规定条件下采用内标法绘制标准曲

线见图2。可可碱和咖啡碱的线性相关值分别为0.9993和0.9972。我们采用的标准工作溶液在线性范围之内。

5. 回收率试验: 在样品中添加标准生物碱进行回收试验, 考察生物碱在样品处理中的稳定性。测定结果见表1。可可碱的回收率为98.8~102%, 咖啡碱的回收率为98.0~98.6%, 结果是令人满意的。

5. 样品测定: 用本文拟定的条件测定了部分出口可可粉和可可液块和市购巧克力的生物碱含量, 对样品分析精密性也进行了试验, 结果见表2。可可制品的可可碱和咖啡碱测定

表1.

生物碱回收试验结果

生物碱 品种	可可碱				咖啡碱			
	样品中量 (mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	样品中量 (mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)
可可粉	4.709	5.000 10.000	9.649 14.909	98.8 102	0.344	1.000 2.000	1.324 2.316	98.0 98.6
可可液块	4.682	5.000	9.790	102	0.640	1.000	1.624	98.4
牛奶巧克力	2.109	2.0000	4.127	100.9	0.198	0.500	0.690	98.4

注: 结果系双试验平均值

的平均相对偏差分别为1.76~6.19%和3.72~7.89%, 重复性是令人满意的。

6. 重现性试验; 为考察本文拟定方法的重现性, 宁波进出口商品检验局对本方法进行

了验证试验, 并对可可粉、可可液块和巧克力试样的生物碱含量进行了测定。测定结果见表3, 结果表明两实验室之间无显著性差异, 方法是可靠的。

表2. 样品中生物碱测定结果

生物碱 品种	可可碱				咖啡碱					
	测得量(%)		$\bar{X}(\%)$	$\sigma_{n-1}$	CV(%)	测得量(%)		$\bar{X}(\%)$	$\sigma_{n-1}$	CV(%)
可可粉 (I)	2.32 2.30 2.34	2.40 2.30 2.29	2.33	0.041	1.76	0.17 0.18 0.17	0.17 0.17 0.16	0.17	$6.3 \times 10^{-3}$	3.72
可可粉 (II)	1.97 2.00 1.99	1.97  2.11	2.01	0.058	2.89	0.17 0.18 0.16	0.16 0.17	0.17	$8.4 \times 10^{-3}$	4.92
可可液块	1.17 1.18 1.23	1.15 1.16 1.12	1.17	0.037	3.16	0.15 0.17 0.17	0.16 0.15 0.15	0.16	$9.8 \times 10^{-3}$	6.14
牛奶巧克力	0.22 0.20	0.23 0.20	0.21	0.013	6.19	0.019 0.017	0.018 0.021	0.019	$1.5 \times 10^{-3}$	7.89
巧克力布丁	0.082	0.069	0.066	$3.5 \times 10^{-3}$	5.30	0.0052	0.0060	0.0056	$4 \times 10^{-4}$	7.14

表3 方法重现性测定结果

生物碱 品种	可可碱		咖啡碱	
	上海局	宁波局	上海局	宁波局
可可粉	2.33%	2.30%	0.17%	0.18%
可可液块	1.17%	1.15%	0.16%	0.17%
牛奶巧克力	0.21%	0.19%	0.019%	0.019%

注: 结果系双试验平均值

## 参 考 文 献

[1] Sidney Williams, Official Method of Analysis of the AOAC, 14 Edition, Association of official Analytical Chemists, INC, Arlington, Virginia, USA. P247, 1984.

[2] Sjoberg A.M, Rajama T.J. Chromatogr., 295(1), 291-294, 1984.

[3] Terada H, Sakabay, J. Chromatogr, 291, 453-459, 1984.

[4] Wesley R, Kreiser and Robert A, Martin, J. Assoc, OFF ANAL. Chem, 61(6) 1424-1427 (1978).

[5] A. Braithwaite and F.J. Smith, Chromatographic Methods, Fourth Edition, London, New York, P170, 1985.