

不同品种葡萄干中糖类成分分析

张文娟¹, 张启东¹, 柴国璧¹, 徐秀娟¹, 毛健¹, 芦昶彤², 孙志涛², 陈芝飞^{2*}

¹中国烟草总公司郑州烟草研究院 烟草行业烟草香料基础研究重点实验室, 郑州 450001;

²河南中烟工业有限责任公司技术中心, 郑州 450000

摘要:采用衍生化后 GC-MS 和 HPLC-ELSD 对新疆产 8 个品种葡萄干中糖类成分进行定性和定量分析。通过单因素实验考察提取温度、料液比、提取溶剂对糖类成分提取的影响。结果显示: 经比对标准品在相同衍生化和 GC-MS 条件下的保留时间, 8 种葡萄干中共检出 8 种糖(果糖、葡萄糖、甘露糖、蔗糖、肌糖、麦芽糖、半乳糖、D-山梨糖醇)。在乙醇浓度 50%, 料液质量比 1:8, 温度 80 °C 的提取条件下葡萄干中糖的提取率最高。建立了对葡萄干中含量较高的果糖、葡萄糖、蔗糖进行定量检测的 HPLC-ELSD 方法, 方法线性良好($R^2 > 0.9992$), 精密密度(RSD) < 2.0%, 回收率 92% ~ 109%。8 种葡萄干中除索索外, 总含糖量均大于 690 mg/g, 果糖和葡萄糖在各品种葡萄干的糖含量中均占主导地位。

关键词:葡萄干; 糖; 气相色谱-质谱联用; 高效液相色谱-蒸发光散射检测; 提取工艺

中图分类号: TS255.42; Q946.3; O657.7 文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.1.011

Extraction and Analysis of Saccharides in Different Varieties of Raisin

ZHANG Wen-juan¹, ZHANG Qi-dong¹, CHAI Guo-bi¹, XU Xiu-juan¹,

MAO Jian¹, LU Chang-tong², SUN Zhi-tao², CHEN Zhi-fei^{2*}

¹Key Laboratory of Tobacco Flavor Basic Research of CNTC, Zhengzhou Tobacco Research Institute of CNTC,

Zhengzhou 450001, China; ²Technology Center China Tobacco Henan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou 450000, China

Abstract: The saccharides in 8 different varieties of raisin were qualitatively analyzed with GC-MS, and quantitatively analyzed by HPLC-ELSD using Prevail Carbohydrate ES column under gradient elution with water and acetonitrile. The parameters of extraction temperature, solvent and solid/liquid ratio on the extraction of saccharides in raisin were investigated with single factor test. Results showed that optimized parameters for extraction were that the concentration of ethanol was 50% (V/V), the extraction temperature was 80 °C, and solid/liquid ratio was 1:8. Eight saccharides (fructose, glucose, mannose, sucrose, inositol, maltose, galactose, D-sorbitol) were detected by GC-MS. The contents of fructose, glucose and sucrose in different raisins were quantitatively analyzed by HPLC-ELSD. The calibration curves exhibited good linearity ($R^2 > 0.9992$), the recoveries ranged from 92% to 109%, and the relative standard deviation (RSD) was lower than 2%. The total content of saccharides in varieties of raisins, except for Black corinth, were greater than 690 mg/g. The major ingredient was fructose and glucose.

Key words: raisins; saccharide; GC-MS; HPLC-ELSD; extraction process

葡萄干是通过自然晾干或人工加热干燥的葡萄果实。葡萄干中含有丰富的糖类、有机酸、矿物质、维生素等, 其中糖类的含量最多, 占到了 65% 以上^[1,2]。葡萄干中糖分的含量和组成直接影响着果实的营养价值、风味口感、色泽等品质性状, 是衡量葡萄干品质的重要因素, 也是不同葡萄干品种风味各异的重要原因之一。目前, 对葡萄干中糖类成分的

研究较多^[3-6], 而对葡萄干的研究相对较少^[1,2]。葡萄干与葡萄不同, 在晾晒过程中可能会由于微生物发酵引起糖分组成和含量的变化。因此, 开展葡萄干中糖类成分的分析, 有助于了解晾晒过程中发生的变化, 为葡萄干的品质鉴定, 质量控制以及进一步开发利用葡萄干资源提供理论依据和技术参考。基于此目的, 本研究以新疆吐鲁番产的 8 种特色葡萄干为研究对象, 针对其中的糖类成分, 建立了 GC-MS 定性分析、Prevail Carbohydrate ES 糖柱-HPLC-ELSD 定量检测的分析方法, 对比了不同品种葡萄

干糖类成分含量和组成的差异,分析了其与感官品质的关系。

表 1 8 个葡萄干品种基本属性

Table 1 Properties of eight raisin varieties

编号 No.	葡萄干品种 Raisin varieties	英文名称 English name	颜色 Color	口感 Taste
1	无核白(绿珍珠)	Thomposn seedless	浅黄绿	酸中有甜
2	无核白鸡心(香妃)	Centennial seedless	黄绿	味清甜,口感细腻,有奇特的清香
3	和田红	Hotan red	红棕	味酸、微甜
4	索索	Black corinth	褐	先甜后酸,微涩
5	马奶子	Manaizi	红褐	醇厚的甜香,有核
6	木纳格	Munake	红棕	蜜甜,肉质疏松,有核
7	巨峰(黑美人)	Kyoho	黑紫	甜,微酸,酱香味,有核
8	无核紫(黑加仑)	Monukka	黑紫	甜,后味酸,酱香味,香味持久

1 材料与仪器

1.1 材料

8 种葡萄干均购自乌鲁木齐市北国春批发市场,并经新疆农业科学院园艺作物研究所张付春老师鉴定品种,其基本属性见表 1。置于 2~8 °C 冰箱中保存。

1.2 试剂

95% 乙醇(AR,天津市科密欧化学试剂有限公司);乙腈(色谱纯,Fisher Scientific);屈臣氏蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司);吡啶(纯度 > 99%,ACROS ORGANICS, Lot: A0335736);标准品:果糖(纯度 ≥ 99%,SIGMA-ALDRICH, Lot: SLBJ8832V),葡萄糖(纯度 > 98.0%,TOKYO TCI KASEI, Lot: VLMXA-SH),蔗糖(纯度 ≥ 99.5%,SIGMA-ALDRICH, Lot: SLBG7523V),半乳糖(纯度 > 99%,J&K, Lot: LP90K10),肌糖(纯度 > 98%,Alfa Aesar, Lot: 10146099),甘露糖(纯度 > 99%,ACROS ORGANICS, Lot: A0301521),麦芽糖(纯度 ≥ 99%,SIGMA-ALDRICH, Lot: SLBL5443V),D-山梨糖醇(纯度 > 98.6%,Dr. Ehrenstorfer GmbH, Lot: 21228);衍生化试剂:N-甲基-N-(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(MSTFA)(纯度 > 97%,J&K, Lot: LR90N87)、O-甲基羟胺盐酸盐(纯度 > 98%,J&K, Lot: LEBOM33)。

1.3 仪器

Agilent 7890A-5975C 气相色谱-质谱仪,7693 自动进样器;Thermo UltiMate 3000 超高效液相色谱仪;Alltech 2000ES 蒸发光散射检测器;Buchi 旋转

蒸发仪;JHBE-50 闪式提取器(河南省金鼎科技有限公司);TGL 高速冷冻离心机(长沙英泰仪器设备有限公司);ALPHA 1-2 LD plus 冻干机(德国 CHRIST 冻干机有限公司);涡旋仪(德国 IKA 公司);CP2245 电子分析天平(感量:0.0001 g,德国 Sartorius 公司)。

2 实验方法

2.1 GC-MS 对葡萄干提取物糖类成分的定性分析

2.1.1 葡萄干提取物的制备

称取 30 g 葡萄干于烧杯中,加入 200 mL 浓度 70% 的乙醇浸泡 1 h,待葡萄干充分吸水膨胀后利用闪式提取器处理 1 min,将料液转移至 500 mL 圆底烧瓶中,再用 10 mL 70% 乙醇涮洗烧杯并转移至圆底烧瓶中,水浴 80 °C 提取 2 h。提取结束后冷却至室温,过滤除去料渣,离心取上清液(6000 rpm, 20 min),减压浓缩至干,真空冷冻干燥得葡萄干提取物。

2.1.2 衍生化方法^[7]

称取 20 mg(精确至 0.1 mg)充分干燥的葡萄干提取物至烧杯中,用吡啶溶解并定容于 10 mL 容量瓶中。取 50 μL 上述溶液于 2 mL 气相色谱瓶中,加入 500 μL O-甲基羟胺盐酸盐的吡啶溶液(脎化试剂,20 mg/mL),涡旋 1 min 后在 37 °C 条件下反应 90 min;再加入 700 μL MSTFA 试剂,涡旋 30 s 后在 37 °C 条件下反应 30 min。衍生化后的试样用于 GC-MS 分析检测。

分别配制果糖(0.1 mg/mL)、葡萄糖(0.1 mg/mL)、甘露糖(0.04 mg/mL)、半乳糖(0.04 mg/

mL)、肌糖(0.04 mg/mL)、蔗糖(0.03 mg/mL)、麦芽糖(0.04 mg/mL)、D-山梨糖醇(0.04 mg/mL)的吡啶溶液,均采用相同方法进行衍生化反应,并经GC-MS检测,所得结果与葡萄干样品的谱图对照,以准确定性。

2.1.3 GC-MS 方法

色谱柱:Agilent DB-5ms(60 m×0.25 mm i. d., 0.25 μm)毛细管色谱柱;载气:He,99.999%;流速:1.0 mL/min;进样口温度:280 °C;进样量:1 μL;进样模式:分流进样,分流比10:1;程序升温:起始温度70 °C保持4 min,以5 °C/min的速率升至310 °C并保持10 min。离子源:电子轰击(EI),电子能量70 eV;离子源温度230 °C;传输线温度:280 °C;扫描模式:全扫描,质量扫描范围为40~1000 a. m. u.;溶剂延迟时间:11 min。

2.2 HPLC-ELSD 对葡萄干提取物糖类成分的定量分析

2.2.1 标准溶液、样品溶液的配制

标准储备液的配制:准确称取葡萄糖(49.9 mg)、果糖(50.0 mg)和蔗糖(12.5 mg)于小烧杯中,用蒸馏水溶解并定容于25 mL容量瓶中,作为混合标准储备液备用。

工作标准溶液:分别移取50、125、500 μL、1、2、2.5、3、4 mL和5 mL的标准储备液于10 mL容量瓶中,定容、混匀,得到九种浓度的工作标准溶液。

样品溶液:称取10 mg(精确至0.1 mg)冻干的葡萄干提取物至烧杯中,用少量蒸馏水溶解后转移到10 mL容量瓶中,定容。取适量溶液过0.22 μm滤膜,滤液供HPLC分析。

2.2.2 HPLC-ELSD 方法

色谱柱:Prevail Carbohydrate ES糖柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),配备同型号预柱(7.5 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈(A)和水(B);梯度洗脱:0~10 min,20%~25% B;10~11 min,25%~30% B;11~15 min,30%~35% B;15~20 min,35%~20% B;20~25 min,20% B;流速:0.8 mL/min;进样量:10 μL;柱温:30 °C;ELSD漂移管温度:80 °C;氮气流速:2.2 L/min。

2.2.3 葡萄干中糖类成分的提取工艺优化

按照2.1.1节葡萄干提取物的制备方法,在乙醇浓度70%、料液质量比1:7时,分别在不同水浴温度(50、60、70、80、90 °C)下各提取一次进行比较。

以70%乙醇为溶剂,水浴温度80 °C,选择不同

料液质量比(1:5、1:6、1:7、1:8和1:9)进行提取,比较提取物中糖含量。

在料液质量比1:8、水浴温度80 °C的条件下,比较乙醇浓度(0%、10%、30%、50%、70%、95%)对提取物中糖含量的影响。

3 结果与讨论

3.1 GC-MS 对葡萄干提取物糖类成分的定性分析结果

经对在相同分析条件下的保留时间,并参考NIST11标准质谱库检索结果,8种葡萄干中共检测出的单糖、二糖有8种,具体结果如表2所示。其中,果糖、葡萄糖、蔗糖、甘露糖为8种葡萄干共同含有的糖类,且果糖、葡萄糖的含量明显高于其它种类的糖。此外,和田红、木纳格、无核紫中还含有半乳糖,无核白鸡心中含有D-山梨糖醇,巨峰中含有麦芽糖,和田红中含有肌糖,和田红含有的糖的种类最多。无核白提取物衍生化后的GC-MS谱图见图1。

糖类物质的检测方法很多,目前使用较多的有气相色谱法(GC)^[8,9]、高效液相色谱-示差折光检测法(HPLC-RID)^[6,10,11]、高效液相色谱-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)^[12-14]等。其中,GC法灵敏度高,但是由于糖类化合物沸点较高,需衍生化为相应的低沸点衍生物再进行分析,操作较为繁琐,且部分糖衍生化后在谱图上呈现双峰,几种单糖的保留时间又非常接近,易造成定量不准;HPLC-RID是检测糖类物质较为经典的方法,但是其受温度、压力、流速影响较大,存在系统平衡时间长,基线不易稳定,灵敏度低,不适合梯度洗脱的缺点;ELSD作为新一代通用型质量检测器,受温度影响小,灵敏度高^[12],适用于梯度洗脱^[13,14]。故本实验首先采用高灵敏度的GC-MS法对葡萄干中的糖类物质进行定性分析,并在此基础上用HPLC-ELSD进行定量分析。

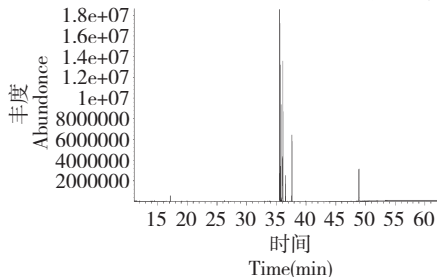


图1 无核白提取物衍生化后的GC-MS总离子流图

Fig.1 GC-MS chromatogram of Thomposn seedless extract with derivatization

表 2 8 种葡萄干中糖类成分定性分析结果

Table 2 Qualitative analysis of saccharide components in eight varieties of raisin

保留时间 Retention time (min)	衍生产物对应的糖 The corresponding sugar of derivative products	葡萄干品种编号(见表1) Serial number of raisin varieties (see table 1)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
35.42 35.61	果糖 Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+
35.72 36.07	甘露糖 Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+
35.83 36.31	半乳糖 Galactose	-	-	+	-	-	+	-	+
35.95 36.37	葡萄糖 Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
36.78	D-山梨糖醇 D-sorbitol	-	+	-	-	-	-	-	-
39.82	肌糖 Inositol	-	-	+	-	-	-	-	-
48.81	蔗糖 Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+
50.22	麦芽糖 Maltose	-	-	-	-	-	-	+	-

注：“+”表示检出；“-”表示未检出。

Note: “+” indicated detected, “-” indicated not detected.

3.2 糖类成分 HPLC-ELSD 定量分析方法的建立

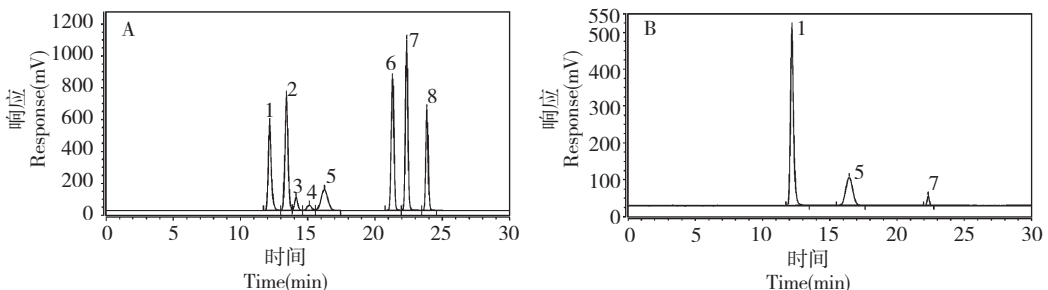
目前利用 HPLC-ELSD 分析糖类物质常用的色谱柱有氨基柱^[6,10,12]、离子交换柱^[11]和 Carbohydrate 柱^[13,14]等。氨基柱应用广泛,但是其键合相易降解,导致耐用性差,易出现保留能力降低,基线漂移,峰形差等问题;离子交换色谱柱必须采用水为流动相,且不能进行梯度洗脱,一般来说要求提高温度和降低流速才能进行分离测定;而 Carbohydrate 柱化学性质稳定、基线平稳,在室温及梯度洗脱条件下可获得较好的分离度和峰形。故本实验选择 Prevail Carbohydrate ES 糖柱。

3.2.1 流动相条件的优化

根据色谱柱和检测器的要求,选择乙腈和水作为流动相,采用如下梯度洗脱可保证 8 种分析物在 30 min 内出峰,且具有良好分离度和峰型(图 2A)。

流动相:乙腈(A)和水(B);梯度洗脱:0~10 min, 20%~24% B;10~11 min, 24%~18% B;11~12 min, 18% B;12~20 min, 18%~35% B;20~24 min, 35% B;24~25 min, 35%~20% B;25~30 min, 20% B。

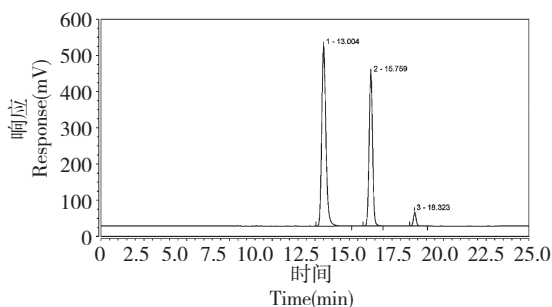
采用上述色谱条件对葡萄干样品进行检测,发现 8 种葡萄干中最多只检测到 3 种糖,其中,无核白和无核白鸡心中能够检测到果糖、葡萄糖和蔗糖(图 2B),其余 6 种葡萄干中只检测到果糖和葡萄糖。这是由于 HPLC-ELSD 的灵敏度比 GC-MS 差,检出限也高很多,导致低含量的糖未检出。因此,实验只针对果糖、葡萄糖和蔗糖建立了定量检测方法(仪器条件见 2.2.2 节),该方法在 20 min 内实现了 3 种糖的良好分离,且峰型尖锐,响应值更高,更加有利于准确定量(图 3)。



(1) 果糖, (2) D-山梨糖醇, (3) 甘露糖, (4) 半乳糖, (5) 葡萄糖, (6) 肌糖, (7) 蔗糖, (8) 麦芽糖
(1) Fructose, (2) D-sorbitol, (3) Mannose, (4) Galactose, (5) Glucose, (6) Inositol, (7) Sucrose, (8) Maltose

图 2 8 种糖混标(A)及无核白葡萄干提取物(B)的 HPLC-ELSD 色谱图

Fig. 2 HPLC-ELSD chromatogram of mixed saccharide standards (A) and Thomson seedless sample (B)



(1) 果糖, (2) 葡萄糖, (3) 蔗糖

(1) Fructose, (2) Glucose, (3) Sucrose

图3 无核白葡萄干提取物的在优化色谱条件下的HPLC-ELSD 色谱图

Fig. 3 HPLC-ELSD chromatogram of saccharides in Thompson seedless sample with optimized chromatographic condition

3.2.2 双对数工作曲线和检出限

对2.3.1项下不同浓度的标准溶液进行HPLC-ELSD分析,以分析物峰面积 y 的对数对相应浓度 $(x, \mu\text{g/mL})$ 的对数进行回归分析,得到各分析物的标准曲线及线性相关系数 R^2 。对最低浓度的标准溶液连续测试6次,计算其标准偏差(SD),分别以3SD和10SD为方法的检出限(LOD)和定量限(LOQ),结果见表3。由表3可知,各分析物的回归方程线性良好,适合定量分析。各分析物均有较低的检出限和定量限,表明方法的灵敏度较高。

3.2.3 精密度和回收率

以无核白为例,采用相同方法平行制备6份提取物,按上述色谱条件测定各分析物的峰面积,按照外标法定量计算各待分析成分的浓度,并根据提取

表3 3种糖的标准曲线、检出限和定量限

Table 3 Calibration curve, LOD and LOQ of three kinds of saccharide

分析物 Analyte	线性回归方程 Linear regression equation	线性范围 Linear range (mg/mL)	R^2	检出限 LOD ($\mu\text{g/mL}$)	定量限 LOQ ($\mu\text{g/mL}$)
果糖 Fructose	$\ln y = 1.69 \ln x + 6.37$	0.010 ~ 1.000	0.9992	1.29	4.29
葡萄糖 Glucose	$\ln y = 1.65 \ln x + 6.33$	0.025 ~ 0.798	0.9995	1.66	5.54
蔗糖 Sucrose	$\ln y = 1.61 \ln x + 6.65$	0.006 ~ 0.250	0.9992	1.26	4.2

率计算其在葡萄干中的含量。结果(表4)的相对标准偏差(RSD)均小于2.0%,表明该方法精密度高。

表4 定量方法的重复性($n = 6$)

Table 4 The repeatability of HPLC-ELSD method ($n = 6$)

分析物 Analyte	无核白中分析物的含量 Contents of analytes in Thompson seedless sample (mg/g)	SD (mg/g)	RSD (%)
果糖 Fructose	319.87	5.40	1.30
葡萄糖 Glucose	238.85	6.09	1.96
蔗糖 Sucrose	39.69	0.98	1.91

在已知糖含量的葡萄干样品中,分别在3个不同水平进行加标试验,按照相同方法每个加标水平平行制备6份提取物,并在相同的色谱条件下测定各分析物的峰面积,按照外标法定量并计算回收率,结果见表5。结果显示各种糖的回收率比较理想,表明该方法准确可靠。

3.3 葡萄干中3种糖的提取工艺优化

分别以提取温度、料液质量比和乙醇浓度为影响因素,以果糖、葡萄糖、蔗糖的总提取量为指标,采用单因素实验考察相关因素对葡萄干中3种糖提取量的影响,结果如图4所示。

提取温度对葡萄干中3种糖提取量的影响如图4(a)所示。在50~80℃之间时,随着提取温度的升高,3种糖的提取量均呈增长趋势,这可能是温度的升高有助于葡萄干溶胀,糖分子的热运动和扩散溶出加剧;当提取温度进一步升高时,一方面溶剂挥发过快,浸出过程不稳定,另一方面温度过高会引起糖和氨基酸发生美拉德反应,导致葡萄干中糖的提取量下降。因此,最佳提取温度为80℃。

料液质量比对葡萄干中3种糖提取量的影响不显著,如图4(b)所示。3种糖的提取量随着料液比的增加呈现缓缓增大趋势。这是因为随着料液比的

表5 无核白中3种糖的加标回收率($n = 6$)Table 5 Recoveries and RSD of three kinds of saccharides in Thomposn seedless ($n = 6$)

分析物 Analyte	原含量 Contents of analytes (mg/g)	加标量 Added amount (mg/g)	测定平均值 Detected amount (mg/g)	平均回收率 Mean recovery (%)	RSD (%)
果糖 Fructose	319.87	159.35	168.79	106	2.97
		303.63	312.37	102	3.24
		689.95	747.51	108	0.51
葡萄糖 Glucose	238.85	112.16	115.22	102	4.28
		251.79	236.49	94	4.19
		535.07	493.80	92	1.77
蔗糖 Sucrose	39.69	22.43	22.86	102	0.46
		37.57	40.65	108	0.28
		60.17	66.09	109	0.52

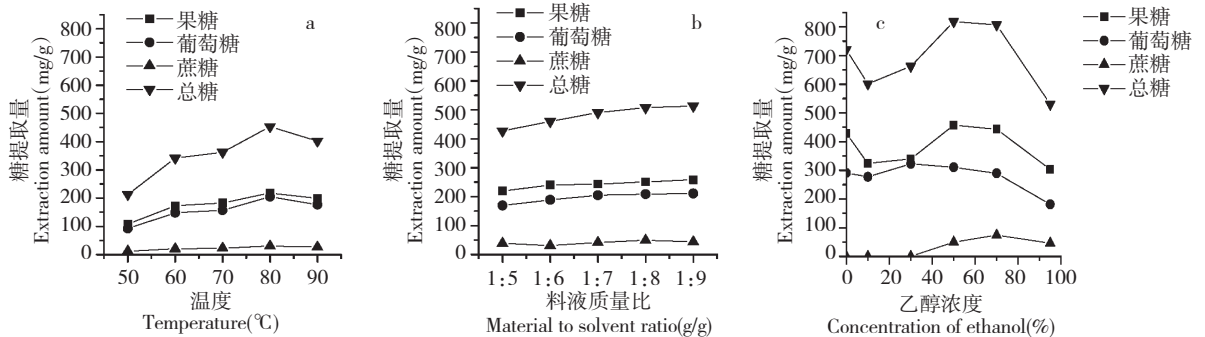


图4 提取温度(a)、料液质量比(b)和乙醇浓度(c)对葡萄干中3种糖提取量的影响

Fig. 4 Effect of temperature (a), solid/liquid ratio (b) and ethanol concentration (c) on the extraction amount of saccharides from raisins

增加,溶液粘度降低,扩散阻力减小,有利于糖的溶出。当料液质量比大于1:8时,渗透压及溶液粘度的改变对糖类物质的溶出已没有明显影响。因此,提取时适宜的料液质量比为1:8。

乙醇浓度对葡萄干中3种糖提取量的影响很显著,如图4(c)所示。3种糖的提取量随乙醇浓度的变化趋势不尽相同,这可能是由于3种糖的溶解性差异造成的,同时蔗糖的水解对测定结果也有影响。果糖极易溶于水、易溶于乙醇;葡萄糖易溶于水、微溶于乙醇;而蔗糖极易溶于水、易溶于乙醇和水的混合物、难溶于无水乙醇。蔗糖在乙醇浓度 $\leq 30\%$ 时未检出,乙醇浓度进一步增大时,其提取量呈现先增大后减小的趋势。这是由于葡萄干中含有一定量的有机酸,主要是酒石酸和少量苹果酸、柠檬酸^[15],这些有机酸在水中的溶解度均大于在乙醇中的,而蔗糖在酸性条件下加热会水解生成一分子果糖和一分子

子葡萄糖。因此,在水或低浓度乙醇作溶剂时,葡萄干中含有的有机酸大部分溶出,在加热的条件下催化了蔗糖的水解;当乙醇浓度逐步增大时,一方面有机酸溶解性降低,另一方面体系中水的含量减少,使得蔗糖的水解反应不易发生,同时蔗糖在此体系中溶解性也较好。当乙醇浓度达到95%时,蔗糖在其中的溶解性明显下降,因而蔗糖的提取量在70%乙醇作溶剂时最高。果糖的提取量是随乙醇浓度增大呈现先减小后增大再减小的变化,葡萄糖的变化趋势与果糖类似,只是变化幅度较小。这可能是由于水或低浓度乙醇作溶剂时,葡萄干中多糖、果胶等成分溶出较多,浸提液粘度较大,导致扩散阻力较大,不利于糖的溶出;随着乙醇浓度增大,浸提液粘度减小,溶液传质速率加快,两种糖的提取量逐渐增大;同时受溶解度的影响,当乙醇浓度 $\geq 50\%$ 之后,二者的提取量又逐渐减小。此外,水作溶剂时蔗糖水解

生成少量果糖和葡萄糖,而且果糖和葡萄糖都更易溶于水,因此水作溶剂时二者的提取量较高。综合考虑3种糖的测定结果,50%乙醇应为较适宜的提取溶剂,此条件下3种糖的提取总量最高。

综上,优化的提取条件为乙醇浓度50%,温度80℃,料液质量比1:8。

3.4 8种葡萄干中糖类成分的定量分析结果

采用优化的提取条件分别制备了8种葡萄干的提取物,并对其中3种糖的含量进行定量检测。结果显示(表6):在8种葡萄干中,无核紫的果糖含量最高,为480.76 mg/g;无核白的蔗糖含量最高,为54.63 mg/g;木纳格的葡萄糖含量最高,为341.30 mg/g,同时其果糖含量也是几种葡萄干中较高的,累加起来木纳格的总糖含量最高,达到818.96 mg/g,这与木纳格蜜甜的口感特征相符。糖分含量最低的是索索,比木纳格低310.41 mg/g,其甜度也明显低于其它几个品种。

果糖是所有天然糖中甜度最高的糖,甜度约是

葡萄糖的2倍,是蔗糖的1.8倍。Shiraishi^[16]将葡萄糖与果糖加蔗糖的比率定义为 α 比率,作为评价葡萄果实糖分组成的指标。在总糖含量相差不大时, α 值越小的品种口感越甜。参照该定义分析几种葡萄干的糖分组成,和田红与巨峰的总糖含量相当,其 α 值分别为0.706和0.633,这与巨峰的口感更甜是一致的;无核白与无核白鸡心的总糖含量也很接近,其 α 值分别为0.669和0.589,无核白鸡心的口感也的确较甜。

此外,与葡萄鲜果相比,大多数成熟葡萄果实中的葡萄糖和果糖含量约为1:1,果糖含量略高于葡萄糖^[5,16],也有部分高葡萄糖的品种,其葡萄糖与果糖的比例可达1.55:1^[17],蔗糖含量很低,约0~40 mg/mL^[5]。而葡萄干中葡萄糖的含量要明显低于果糖,同时蔗糖的含量也更低,除无核白和无核白鸡心外,其它6个品种的蔗糖含量均低于定量限。这可能与葡萄干晾晒过程中内部发生的微生物发酵有关。

表6 8种葡萄干中糖的含量

Table 6 Contents of saccharides in eight varieties of raisin

葡萄干品种 Raisin varieties	果糖 Fructose (mg/g)	葡萄糖 Glucose (mg/g)	蔗糖 Sucrose (mg/g)	总含量 Total contents (mg/g)
无核白 Thomposn seedless	409.11	310.03	54.63	773.77
无核白鸡心 Centennial seedless	449.39	287.46	39.00	775.85
和田红 Hotan red	458.02	323.40	-	781.42
索索 Black corinth	302.32	206.32	-	508.55
马奶子 Manaizi	433.19	258.79	-	691.98
木纳格 Munake	477.66	341.30	-	818.96
巨峰 Kyoho	478.26	302.82	-	781.08
无核紫 Monukka	480.76	320.58	-	801.34

注:“-”表示未检出。

Note:“-” indicated not detected.

4 结论

通过GC-MS在8种葡萄干中共检出8种糖(果糖、葡萄糖、甘露糖、蔗糖、肌糖、麦芽糖、半乳糖、D-山梨糖醇),其中果糖、葡萄糖、甘露糖、蔗糖为共有成分。建立了Prevail Carbohydrate ES糖柱-HPLC-ELSD对葡萄干中的果糖、葡萄糖、蔗糖定量分析的方法;通过单因素实验,确定了葡萄干中糖类成分的最佳提取工艺条件:乙醇浓度50%,提取温度80℃,料液比1:8。在优化的条件下,8种葡萄干中除索索外,总含糖量均大于690 mg/g,果糖和葡萄糖

在各品种葡萄干的糖含量中均占主导地位,其中果糖含量均高于葡萄糖。3种糖总含量从高到低的品种顺序是:木纳格、无核紫、和田红、巨峰、无核白鸡心、无核白、马奶子、索索。

参考文献

- Jia-lie-xi MNP (加列西·马那甫), Zhu QQ (朱倩倩), Jing WW (景伟文). Simultaneous determination of simple sugars in raisins by visible spectroscopy with multivariate calibration method. *J Anal Sci* (分析科学学报), 2014, 1: 71-74.
- Yuan H (袁辉), Yuan H (远辉), Wang JL (王建玲).

- Determination of 4 kinds of carbohydrate content in different varieties of raisin in Xinjiang by HPLC-ELSD. *Food Ind* (食品工业), 2014, 35:240-242.
- 3 Leng XP (冷翔鹏), Mu Q (慕茜), Fang JG (房经贵), *et al.* Advances of studies on sugar composition and related metabolisms in grape berries. *J Jiangsu Forestry Sci Tech* (江苏林业科技), 2011, 38:40-43.
 - 4 Zhang Q (张强), Chen QS (陈秋生), Liu YT (刘烨潼), *et al.* Research progress on saccharide composition and quality characters of grape fruit. *Hubei Agric Sci* (湖北农业科学), 2012, 51:4978-4981.
 - 5 Liu HF (刘怀锋). Study on sugars and acids composition, inheritance and sucrose metabolism related enzymes activities in grape berries. Beijing: China Agricultural University (中国农业大学), PhD. 2005.
 - 6 Lin JL (林江丽), Zhu YJ (朱亚娟), Wang JX (王金霞), *et al.* Determination of grape saccharide components in storage time by high performance liquid chromatography. *J Xinjiang Univ, Nat Sci* (新疆大学学报, 自科版), 2014, 31:258-260.
 - 7 Fiehn O, Kopka J, Trethewey RN, *et al.* Identification of uncommon plant metabolites based on calculation of elemental compositions using gas chromatography and quadrupole mass spectrometry. *Anal Chem*, 2000, 72:3573-3580.
 - 8 Ruiz-Matute AI, Hernández-Hernández O, Rodríguez-Sánchez S, *et al.* Derivatization of carbohydrates for GC and GC-MS analyses. *J Chromatogr B*, 2011, 879:1226-1240.
 - 9 Medeiros PM, Simoneit BRT. Analysis of sugars in environmental samples by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 2007, 1141:271-278.
 - 10 Ge BK (葛宝坤), Chen XY (陈旭艳), Li SJ (李淑静). Determination of glycerol in 18 fresh orange by high performance liquid chromatography (HPLC). *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2015, 36:114-117.
 - 11 Huang F (黄菲), Huang YF (黄翼飞). Determination of major soluble sugars in tobacco and tobacco products by high performance liquid chromatography. *Chin Tob Sci* (中国烟草科学), 2012, 33:47-51.
 - 12 Zhang Y (张英), Shi XP (石雪萍), Zhang WM (张卫明). Comparison of HPLC-ELSD and HPLC-RID methods in detecting the sugar of honey. *Chin Wild Plant Res* (中国野生植物资源), 2009, 28:43-47.
 - 13 Wang H (王慧), Cai LL (蔡莉莉), Tang PP (唐培培), *et al.* Determination of carbohydrates in jujube extract and optimization of extraction technology. *Tob Sci Tech* (烟草科技), 2014, 5:49-54.
 - 14 Li H (林慧), Yan CR (颜春荣), Xu CX (徐春祥), *et al.* Simultaneous determination by HPLC-ELSD of ten kinds of sugars and sugar alcohols in foods. *Food Sci* (食品科学), 2013, 34:286-291.
 - 15 Yuan H (袁辉), Yuan H (远辉), Wang JL (王建玲). Determination of organic acids content in different varieties of raisin in Xinjiang by HPLC. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2013, 41:817-818.
 - 16 Shiraishi M. Three descriptors for sugars to evaluate grape germplasm. *Euphytica*, 1993, 71:99-106.
 - 17 Theodossios PS, Asterios SA. Changes in the glucose:fructose ratio during the growth period of the razaki grape. *J Sci Food Agric*, 1984, 35:527-530.

(上接第 10 页)

- 10 Xia M (夏曼), Liu SW (刘少伟), Zhou ZH (周忠会), *et al.* Studies on amicoumacin group antibiotics produced by *Bacillus* strain XZ7. *Chin J Anti* (中国抗生素杂志), 2014, 39:801-807.
- 11 Azumi M, Ogawa K, Fujita T, *et al.* Bacilosarcin A and B, novel bioactive isocoumarins with unusual heterocyclic cores from the marine-derived bacterium *Bacillus subtilis*. *Tetrahedron*, 2008, 64:6420-6425.
- 12 Boya CA, Herrera L, Guzman HM, *et al.* Antiplasmodial activity of bacilosarcin A isolated from the octocoral-associated bacterium *Bacillus* sp. collected in Panama. *J Pharm Bioallied Sci*, 2012, 4:66-69.
- 13 Li YX, Xu Y, Liu LL, *et al.* Five new amicoumacins isolated from a marine-derived bacterium *Bacillus subtilis*. *Mar Drugs*, 2012, 10:319-328.
- 14 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard-Tenth Edition M7-A10. Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2015.
- 15 Huang YJ (黄银久), Song BA (宋宝安), Jin LH (金林红), *et al.* Correlation between experimental results of MTT colorimetric assay and SRB assay in anti-tumor drug screening *in vitro*. *J Biol* (生物学杂志), 2009, 4:13-16.