

高效液相色谱法测定菠萝蜜果实中的葡萄糖、果糖和蔗糖

李映志¹, 刘胜辉^{2,*}, 朱祝英², 杨玉梅²

(1. 广东海洋大学农学院, 广东 湛江 524088; 2. 中国热带农业科学院南亚热带作物研究所, 广东 湛江 524091)

摘要: 研究菠萝蜜果实葡萄糖、果糖和蔗糖的提取方法并对不同果实部位的糖进行分离, 建立能同时测定菠萝蜜果实中3种糖的高效液相色谱方法。CHO-820钙型糖柱为分析柱, 柱温90℃, 流动相为超纯水, 流速0.5 mL/min, 进样体积10 μL, 用示差折光检测器检测。结果表明: 100%乙醇是蔗糖的适宜提取液, 若同时测定3种糖, 则最适提取液为80%乙醇溶液, 方法的相对标准偏差为1.51%~7.01%, 相关系数在0.999 0以上, 加标回收率为98.55%~102.33%; 菠萝蜜果肉(以鲜质量计算)中3种糖总含量高达14.01 g/100 g, 其中蔗糖含量最高, 种皮中糖总含量为10.19 g/100 g, 以葡萄糖和果糖为主, 果腱中含量最低, 仅3.54 g/100 g。不同果实部位果糖与葡萄糖含量相近。

关键词: 菠萝蜜; 高效液相色谱; 葡萄糖; 果糖; 蔗糖

Determination of Glucose, Fructose and Sucrose in Jackfruit by HPLC

LI Ying-zhi¹, LIU Sheng-hui^{2,*}, ZHU Zhu-ying², YANG Yu-mei²

(1. College of Agronomy, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang 524091, China)

Abstract: Sugars including glucose, fructose and sucrose in different fruit tissues of jackfruit were extracted by 3 different extraction methods and determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The HPLC conditions were set as follows: the chromatograph was equipped with a CHO-820(Ca) column (300 mm × 7.8 mm) and a refractive index detector; ultra-pure water was used as eluent with a flow rate of 0.5 mL/min; the column temperature was 90 °C. Results showed that 100% ethenol was the optimum extraction solvent for sucrose while 80% ethanol was the best solvent for simultaneous extraction of glucose, fructose and sucrose. The relative standard deviations were in the range from 1.51% to 7.01%, and the recoveries for spiked samples ranged from 98.55% to 102.33% and the correlation coefficients were higher than 0.999 0 for linearity, showing that the method is effective to isolate the three sugars from jackfruit. Results also showed that jackfruit pulp contained 14.01 g/100 g m_f sugars on a fresh weight basis with sucrose being the main component while the seed coat contained 10.19 g/100 g m_f , with fructose and glucose being the main components and Guojian (developed from unfertilized or partly fertilized female perianth tissues) contained only 3.54 g/100 g m_f . The fructose contents were similar to sucrose contents in the 3 different tissues.

Key words: jackfruit; high performance liquid chromatography (HPLC); glucose; fructose; sucrose

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 12-0084-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201412016

菠萝蜜 (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) 原产于印度高止山脉以西, 广泛栽培于东南亚低海拔雨林地区^[1-3], 为桑科木菠萝属多年生乔木^[4], 集鲜果食用、药用与林木于一身^[5-6]。其成熟果肉质甘甜, 营养丰富^[7], 在印度等地被称为“穷人的食物”^[8], 菠萝蜜可食部分包括果腱(不受精或受精不完全的雌花, 花被发育而成)和果肉(由

多个经受精发育膨大的花萼和心皮组成, 也称果苞), 果肉口感最甜, 是菠萝蜜的最主要可食部分^[4]。Jagadeesh等^[8]对印度西高止山脉24个硬肉型菠萝蜜株系的果肉测定结果表明: 总糖含量在18.1%~32.1%, 总还原糖含量在8.63%~14.4%。国内对于菠萝蜜的研究大部分限于菠萝蜜香气^[9-12]的研究, 而对其糖分组成分析的报道少见。

收稿日期: 2013-12-22

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31101506)

作者简介: 李映志 (1976—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为热带果树生物技术与育种。E-mail: liyingzhi2003@126.com

*通信作者: 刘胜辉 (1975—), 女, 副研究员, 硕士, 研究方向为热带果树栽培生理。E-mail: lizx2002@126.com

Chowdhury等^[13]用80%乙醇溶液为提取液,采用气相色谱法测定了菠萝蜜果实中的游离糖,主要由葡萄糖、果糖和蔗糖组成。而Ong等^[14]采用85%甲醇溶液提取, NH_2 柱作为分析柱,流动相为80%乙腈溶液,分析了除种皮外的菠萝蜜不同部位的糖含量。本实验以阳离子交换型CHO-820钙型糖分析柱,以超纯水为流动相,比较菠萝蜜果实葡萄糖、果糖、蔗糖的提取方法并且对不同部位的糖分进行分离分析,建立一种同时测定3种糖含量的高效液相色谱法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

菠萝蜜果实 广东省湛江霞山区农贸市场。

葡萄糖、果糖、蔗糖(均为分析纯) 上海晶纯生化科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

PE200高效液相色谱仪 美国PE公司; PE200示差折光检测器、AT-130柱温箱 天津奥特赛恩斯仪器有限公司; Universal32R高速台式冷冻离心机 德国Hitachi公司; Elix5超纯水仪 美国Millipore公司; CHO-820钙型糖柱 美国Transgenomic公司。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的配制

准确称取葡萄糖、果糖、蔗糖各20 g,转移至1 000 mL容量瓶中,用双蒸水定容至刻度,得到各自质量浓度均为20 mg/mL的混标溶液,然后将混标溶液逐级稀释至10、5、2.5、1.25、0.625 mg/mL。

1.3.2 色谱分析条件

色谱柱为CHO-820钙型糖柱,柱温90 °C,流动相为超纯水,流速0.5 mL/min,进样体积10 μL 。

1.3.3 样品提取

菠萝蜜果实中的可溶性糖主要包括蔗糖、葡萄糖和果糖。糖的提取方法有水提^[15]、醇提法^[16],因甲醇具有中等毒性,故本实验采用双蒸水、80%乙醇、100%乙醇3种提取液。准确称取经搅拌机搅碎混匀的菠萝蜜果肉1.00 g,用4 mL提取液研磨,10 000 r/min离心10 min,残渣加入2 mL提取液再提取,合并上清液,90 °C水浴蒸干,定容至10 mL,漩涡混合后用一次性注射器抽取提取液,经0.45 μm 滤膜过滤后上机分析。每个样品重复5次。

1.3.4 精密度与回收率

取待测的菠萝蜜果肉提取液,分装成10份,装于样品瓶中,在1 d内重复进样5次,测定峰面积,计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD),即为批内精密度;另外5份样品存放于4 °C冰箱,分别于第1、2、3、4、5天测定峰面积,计算RSD,即为批间精密度。回收率测定参照张秀梅等^[15]方法。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的制作

取各级标准溶液(20、10、5、1.25、0.625 mg/mL),进样10 μL ,所得的色谱图叠加如图1所示。以标样质量浓度Y为纵坐标,标样峰面积为横坐标,绘制标准溶液曲线,计算线性回归方程,结果见表1。蔗糖、葡萄糖和果糖峰面积与质量浓度的相关性均在0.999以上,线性范围在0.625~20 mg/mL。

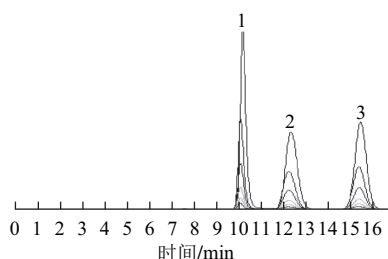


图1 标样色谱图

Fig.1 Chromatography of standards in 6 levels

表1 回归方程、相关系数和线性范围

Table 1 Regression equations with correlation coefficients and linearity ranges of three sugars

组分	线性回归方程	相关系数	线性范围/(mg/mL)
蔗糖	$y = 3 \times 10^{-6}x + 0.0761$	0.999 0	0.625~20
葡萄糖	$y = 4 \times 10^{-6}x + 0.0804$	0.999 9	0.625~20
果糖	$y = 3 \times 10^{-6}x + 0.1494$	0.999 6	0.625~20

2.2 提取条件优化

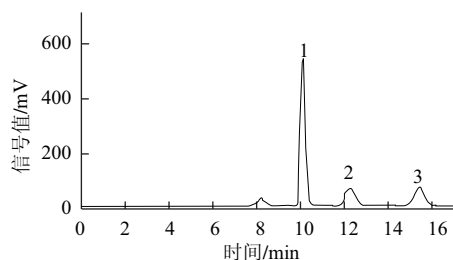


图2 菠萝蜜果肉的色谱图

Fig.2 Chromatography of jackfruit pulp

表2 不同提取液所提取的糖含量

Table 2 Sugars contents of jackfruit pulp extracted by different solvents

提取液	蔗糖	葡萄糖	果糖	总量
水	4.17 ± 0.70^{bB}	3.89 ± 0.39^{aAB}	4.00 ± 0.45^{aA}	12.06 ± 1.26^{aA}
80%乙醇	5.66 ± 0.49^{aAB}	4.17 ± 0.17^{aA}	4.17 ± 0.28^{aA}	14.01 ± 0.30^{aA}
100%乙醇	5.94 ± 0.84^{aA}	3.14 ± 0.57^{bB}	3.29 ± 0.48^{bA}	12.37 ± 1.86^{aA}

注: 同列小写字母表示 $P < 0.05$ 显著水平, 大写字母表示 $P < 0.01$ 极显著水平, 表5同。

经上述色谱条件分析由1.3.3节提取出来的菠萝蜜果肉样品, 经上机分析后所得结果见图2、表2。100%乙醇

提取液提取出来的蔗糖含量为5.94 g/100 g，显著高于水提取蔗糖含量4.17 g/100 g；葡萄糖和果糖含量显著低于80%乙醇提和水提，其中葡萄糖含量极显著低于80%乙醇提；80%乙醇提蔗糖含量显著高于水提取，葡萄糖和果糖含量与水提取无显著差别，3种糖的总量提取最高，达14.01 g/100 g。结果表明：单提取蔗糖，用100%乙醇效果最好，而葡萄糖和果糖提取，则以80%乙醇溶液效果最好。3种提取方法所提取的总糖含量在统计学上无差异，以80%乙醇含量最高，且各重复间重复间标准偏差小，结果更稳定可靠。

2.3 精密度实验

表3 方法的精密度
Table 3 Precision of the method

组别	进样项	峰面积		
		蔗糖	葡萄糖	果糖
批内精密度	1	2 617 565.55	1 749 513.95	1 892 046.14
	2	2 604 190.89	1 872 807.39	1 914 819.25
	3	2 715 934.64	1 849 527.76	1 975 626.12
	4	2 669 719.87	1 837 031.69	1 921 681.72
	5	2 668 205.41	1 830 350.24	1 901 596.75
	RSD/%	1.51	2.29	1.52
批间精密度	第1天	2 591 658.87	1 807 563.23	1 900 168.26
	第2天	2 489 898.84	1 930 132.65	2 032 550.45
	第3天	2 407 737.56	1 981 824.24	2 066 117.50
	第4天	2 301 693.79	2 086 813.79	2 100 139.74
	第5天	2 158 376.55	2 102 607.87	2 192 423.26
	RSD/%	7.01	6.11	5.17

菠萝蜜果肉提取液，同一样品在1 d内重复进样5次，测定峰面积，由表3可见，3种糖的批内精密度，分别为蔗糖1.51%，葡萄糖2.29%，果糖1.52%；连续5 d进样，批间精密度为蔗糖7.01%，葡萄糖6.11%，果糖5.17%，说明方法精密度良好。

2.4 回收率实验

表4 方法的回收率
Table 4 Results of recovery tests

组分	样品含量/mg	加标量/mg	测出量/mg	回收率/%	RSD/%
蔗糖	5.66	4	9.52	98.55	1.63
葡萄糖	4.17	4	8.36	102.33	2.51
果糖	4.17	4	8.20	100.37	2.01

由表4可见，3种糖的平均回收率分别为98.55%、102.33%、100.37%、RSD小于3%，说明该方法具有较高的准确度。

2.5 菠萝蜜样品分析

根据2.2节中优化的提取条件，以及色谱条件，将菠萝蜜果腱、果肉、种皮组织进行前处理后，进样10.0 μL进行液相色谱分析，测定出葡萄糖、果糖、蔗糖的色谱峰峰面积，代入工作曲线计算出其含量，结果见表3。菠萝蜜总可溶性糖含量果肉>种皮>果腱，三者之间存

在极显著差异，果肉中蔗糖含量最多，5.66 g/100 g约占总量的40.40%，葡萄糖和果糖含量接近，各约占30%。种皮中糖的主要成分是葡萄糖和果糖，分别占总量的40.63%和42.89%，含量与果肉无显著差异，蔗糖含量为1.68 g/100 g，占总量的16.49%，极显著低于果肉含量。无论是种皮、果腱还是果肉均含有几乎等量的葡萄糖与果糖。

表5 菠萝蜜果实不同组织中的糖分析
Table 5 The contents of sugars in different parts of jackfruit fruit

部位	g/100 g			
	蔗糖	葡萄糖	果糖	总量
种皮	1.68±0.57 ^{bb}	4.14±0.59 ^{aa}	4.37±0.59 ^{aa}	10.19±0.10 ^{bb}
果腱	0.49±0.09 ^{bb}	1.46±0.09 ^{bb}	1.59±0.28 ^{bb}	3.54±0.26 ^{cc}
果肉	5.66±0.49 ^{aa}	4.18±0.17 ^{aa}	4.17±0.28 ^{aa}	14.01±0.30 ^{aa}

3 讨论与结论

糖的高效液相色谱测定，主要使用两大类色谱柱，一类是使用化学键合相色谱柱，以硅胶为填料，即NH₂柱；另一类是用阳离子交换柱或凝胶柱。前者通常使用70%~75%的乙腈作为洗脱液，后者则以水，醋酸或稀酸作洗脱液^[17-20]。乙腈的职业性接触毒物危害程度为Ⅲ级（GBZ 230—2010《职业性接触毒物危害程度分级》），且价格昂贵，而CHO-820柱使用超纯水作为流动相，经济又环保。本实验中100%乙醇提取测得蔗糖含量最高，80%乙醇溶液提取含量次之，水提含量最低，可能是由于乙醇能够抑制菠萝蜜果肉中水解酶的活性，质量浓度越高，抑制效果越好；80%乙醇溶液提取的葡萄糖、果糖和蔗糖5次重复之间RSD最小，3种糖总含量最高，因此是同时测定3种糖的适宜提取液；精密度实验中，随着放置时间的延长，蔗糖的含量有降低趋势，葡萄糖和果糖则稍有增加，可能是样品中的蔗糖逐渐水解的缘故，因此提取的糖液不宜久放。

若只测定蔗糖含量，以100%乙醇提取效果最佳，若同时测定3种糖，80%乙醇溶液为适宜的提取溶液，进样体积10 μL，CHO-820钙型糖柱，柱温90℃，超纯水为洗脱液，流速0.5 mL/min，示差折光检测器，在16 min完成单个样品分析。菠萝蜜果肉中3种糖总量高达14.01 g/100 g，蔗糖含量最高，种皮中总量为10.19 g/100 g，以葡萄糖和果糖为主，果腱中含量最低，仅3.54 g/100 g。不同果实部位果糖与葡萄糖含量相近。

参考文献：

[1] ACEDO A L. Jackfruit biology, production, use, and philippine research[M]. Arlington: Forestry/Fuelwood Research and Development, 1992: 51.

- [2] SAMADDAR H N. Jackfruit[M]//BOSE T K, MITRA S K, SADHU M K. Fruits of India: tropical and subtropical. Calcutta: Naya Prokash, 1985: 487-497.
- [3] SOEPADMO E. *Artocarpus heterophyllus* Lam[M]//WESTPHAL E, ARORA R K. Plant Resources in South-East Asia, No.2: Edible Fruits and Nuts. Leiden: Backhuys Publishers, 1991: 90.
- [4] 农业部发展南亚热带作物办公室组. 中国热带南亚热带果树[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 241-245.
- [5] 焦凌梅. 菠萝蜜营养成分与开发利用价值[J]. 广西热带农业, 2010(1): 17-19.
- [6] 毛琪, 叶春海, 李映志, 等. 菠萝蜜研究进展[J]. 中国农学通报, 2007, 23(3): 339-343.
- [7] AHMED K, MALEK M, JAHAN K, et al. Nutritive value of food stuff[M]. Bangladesh: University of Dhaka/Institute of Nutrition and Food Science, 1986: 16-17.
- [8] JAGADEESH S L, REDD Y B S, SWAMY G S K, et al. Chemical composition of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) selections of Western Ghats of India[J]. Food Chemistry, 2007, 102(1): 361-365.
- [9] 纳智. 菠萝蜜中香气成分分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2004, 12(6): 538-540.
- [10] 郭飞燕, 纪明慧, 舒火明, 等. 海南菠萝蜜挥发油的提取及成分鉴定[J]. 食品科学, 2010, 31(2): 168-170.
- [11] 李洪波, 刘胜辉, 李映志, 等. 顶空固相微萃取和气相色谱-质谱法测定菠萝蜜果肉中的香气成分[J]. 热带作物学报, 2013, 34(4): 755-763.
- [12] 郑华, 张弘, 甘瑾, 等. 菠萝蜜果实挥发物的热脱附-气相色谱/质谱(TCT-GC/MS)联用分析[J]. 食品科学, 2010, 31(6): 141-144.
- [13] CHOWDHURY F A, RAMAN M A, MIAN M J. Distribution of free sugars and fatty acids in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*)[J]. Food Chemistry, 1997, 20(1): 25-28.
- [14] ONG B T, NAZIMAH S A H, OSMAN A, et al. Chemical and flavour changes in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) cultivar J3 during ripening[J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 40: 279-286.
- [15] 张秀梅, 杜丽清, 谢江辉. 高效液相色谱法测定菠萝果实中的糖分[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 450-452.
- [16] 赵仁邦, 刘孟军. 高效液相色谱法测定枣果实中的糖分[J]. 食品科学, 2004, 25(8): 138-141.
- [17] 高娃, 张欣, 孔祥辉. 高压液相色谱法分析常见单糖、双糖[J]. 生物技术, 2000, 8(2): 44-46.
- [18] 甘宾宾, 蒋世琼. 食品中糖类的高效液相色谱法测定[J]. 分析仪器, 2000(3): 38-41.
- [19] 吴莉, 周红. 应用氨基柱测定奶粉中的糖份[J]. 武汉化工学院院报, 2002, 24(2): 4-5.
- [20] 黄红霞. 应用高效液相色谱快速测定奶粉中的乳糖、蔗糖、葡萄糖[J]. 福建轻纺, 1999(6): 1-3.