

马铃薯中还原糖不同测定方法的比较

杨俊慧¹, 郑岚², 马耀宏¹, 张利群¹, 杨艳¹

(1. 山东省科学院生物研究所, 山东省生物传感器重点实验室, 山东 济南 250014; 2. 山东轻工业学院, 山东 济南 250353)

摘要 还原糖含量是马铃薯育种、高附加值深加工的重要指标, 马铃薯块茎中还原糖含量的高低, 不仅影响其营养价值, 而且还会影响食品风味、加工工艺和产品品质。本文采用6种不同的方法提取马铃薯块茎中的还原糖, 并且对还原糖测定仪法和3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法两种测定方法进行了比较分析。结果表明, 提取时加入乙醇, 还原糖提取准确性好, 同时延长了提取样品的保存时间。两种方法均能较好的测定马铃薯中还原糖的含量, 尤其是还原糖测定仪法使用方便、测定迅速、回收率可达99%以上, 是测定马铃薯中还原糖含量的更为简便、理想的方法。

关键词: 马铃薯; 还原糖; 还原糖测定仪; 3,5-二硝基水杨酸(DNS)

Comparison of Different Determination of Reducing Sugar in Potato

YANG Jun-hui¹, ZHENG Lan², MA Yao-hong¹, ZHANG Li-qun¹, YANG Yan¹

(1. Biology Institute of Shandong Academy of Science, Shandong Province Key Laboratory of Biosensors, Jinan 250014, Shandong, China; 2. Shandong Institute of Light Industry, Jinan 250353, Shandong, China)

Abstract: Reducing sugar content in potato is an important indicator of breeding, deep processing of high value-added. Reducing sugar content in potato tuber, not only affect their nutritional value, but also affect food flavor, processing technology and product quality. The reducing sugar in potato tuber was extracted by six different methods, and the reducing sugar analyzer and 3,5-dinitrosalicylic Acid(DNS) with spectrophotometry were used to analyze the content of reducing sugar. The results indicate that the accuracy of the fifth method which added ethanol when extracting reducing sugar was better than the other, and extending the preservation time of the extracted samples at the same time. Both analyzer and ordinary methods can determine reducing sugar in tuber. The reducing sugar analyzer, especially, can determine reducing sugar in tuber more convenient, rapidly and the recovery rate generally reached more than 99%. So it is a better method to determine the reducing sugar content in potato tuber.

Key words: potato; reducing sugar; reducing sugar analyzer; 3,5-dinitrosalicylic acid(DNS)

马铃薯是世界上唯一的粮菜兼用型作物, 中国已成为世界第一大马铃薯生产国^[1], 在各地均有栽培, 分布极广, 马铃薯加工业即将进入高速增长期。用于加工的马铃薯对其品质有较为具体的要求, 其中还原糖含量是影响加工品质的最主要因素^[2], 也是决定马铃薯商业价值的重要指标。

首先, 马铃薯块茎中过量的还原糖在油炸过程中与氮化合物的 α -氨基酸发生美拉德反应(Maillard

Reaction) 致使薯片、薯条由消费者喜爱的金黄色变为棕褐色。而由于氨基酸在薯片、薯条中的含量有限, 因此还原糖含量的高低成为影响薯片、薯条颜色的最重要的因素^[3-4]。

其次, 瑞典国家食品管理局(The Swedish National Food Administration SNFA) 在其官方网站上首先公布了瑞典斯德哥尔摩大学(Stockholm University)的科学家在研究谷物类食物烹调方法的影响时的发现, 经120℃以上高温长时间油炸和烘烤的食品, 特别是油炸薯片、薯条等含有淀粉的食品, 检测出有致癌可能性的丙烯酰胺(Acrylamide)^[5-9]。而降低马铃薯中的还原糖

基金项目: 山东省自然科学基金(Y2007D54)

作者简介: 杨俊慧(1969—), 女(汉), 副研究员, 本科, 研究方向: 生化分析。

含量是降低油炸薯片、薯条中丙烯酰胺含量的有效手段。

由此可见,快速、准确的测定马铃薯中还原糖的含量,对加工型马铃薯的选育工作,对保证我们的食品安全都具有重要意义。目前国内测定马铃薯中还原糖含量的方法较多,尤其是3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法应用较多^[10],本实验选用6种样品处理方式,分别利用还原糖测定仪、3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法进行检测,对检测结果进行了对比分析后,建立起还原糖测定仪法检测马铃薯中还原糖含量的新途径。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验试剂

样品材料:新收获的马铃薯块茎(市售),室温下储藏。

1.1.1.1 马铃薯样品处理所用试剂

乙酸锌溶液:219 g/L水溶液;亚铁氢化钾溶液:106 g/L水溶液;85%乙醇溶液:取85 mL乙醇定容至100 mL。

1.1.1.2 还原糖测定仪法所用试剂

斐林甲液:硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 35.0 g,1%次甲基兰 5 mL,以水共溶后定容至3 000 mL。

斐林乙液:氢氧化钠(NaOH)126.4 g,酒石酸甲钠($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{KNa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)117.0 g,亚铁氰化钾($[\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)9.4 g,以水共溶后定容至1 000 mL。

1%标准葡萄糖($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)溶液:准确称取10.00 g烘干葡萄糖,溶解并加入5 mL盐酸,定容至1 000 mL。

0.4%标准葡萄糖溶液:准确称取4.00 g烘干葡萄糖,溶解并加入5 mL盐酸,定容至1 000 mL。

1.1.1.3 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法所用试剂

0.1%标准葡萄糖溶液:准确称取0.100 g烘干葡萄糖,溶解后定容至100 mL。

3,5-二硝基水杨酸溶液:称取5.0 g 3,5-二硝基水杨酸溶于少量水中,加入10.0 g NaOH 、100 g 酒石酸钾钠,1.0 g 苯酚和0.25 g 无水亚硫酸钠,转入500 mL容量瓶,摇匀,定溶至500 mL,储存至棕色瓶中,室温保藏7 d后使用。

1.1.2 实验仪器

还原糖测定仪(SGD- 型):山东省科学院生物中心研制;高速离心机(20PR-52):日本日立公司;分光光度计(721型):上海天普分析仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 马铃薯样品处理方法

样品处理方法1:马铃薯样品洗干净、擦干、去皮,

称取100 g,加100 mL水,在组织捣碎机中捣碎,置烧杯中。以12 000 r/min离心10 min,上清液备用。

样品处理方法2:马铃薯样品洗干净、擦干、去皮,称取100 g,加100 mL水,在组织捣碎机中捣碎,置烧杯中,50℃水浴中提取20 min,其间摇动数次。以12 000 r/min离心10 min,上清液备用^[12]。

样品处理方法3:马铃薯样品洗干净、擦干、去皮,称取100 g,加100 mL水,在组织捣碎机中捣碎,置烧杯中,50℃水浴中提取20 min,其间摇动数次,然后加入乙酸锌、亚铁氢化钾各2 mL。以12 000 r/min离心10 min,上清液备用。

样品处理方法4:马铃薯样品洗干净、擦干、去皮,称取100 g,加70 mL水,在组织捣碎机中捣碎,置烧杯中,80℃水浴中提取20 min,其间搅动数次,然后加入乙酸锌2 mL、亚铁氢化钾2 mL、蒸馏水30 mL。以12 000 r/min离心10 min,上清液备用^[13]。

样品处理方法5:马铃薯样品洗干净、擦干、去皮,称取100 g,加85%乙醇100 mL,在组织捣碎机中捣碎,置烧杯中,80℃水浴中提取20 min,其间摇动数次。以12 000 r/min离心10 min,上清液备用^[12]。

样品处理方法6:马铃薯样品洗干净,放入功率为700 W 格兰仕微波炉转盘中以中火加热6 min,切片,放入55℃烘箱中至恒重,再用粉碎机粉碎成粉末。准确称取10 g 马铃薯粉,放在三角瓶中,然后加入80 mL 蒸馏水,混匀,于50℃恒温水浴中保温20 min,不断搅拌,使还原糖浸出,以12 000 r/min离心10 min,上清液备用。

1.2.2 还原糖含量的测定

1.2.2.1 还原糖测定仪法

还原糖测定仪是根据斐林试剂热滴定法测定还原糖的原理设计而成的^[11],其原理与国家标准一致。采用了欧姆加热方式控制反应温度,补色光终点判断系统准确判断滴定终点,同时恒定了搅拌力度、滴定速度、蒸发强度等测定条件,自动将生化反应信号转化为电信号,快速完成还原糖的测定。由于测定的各种条件由计算机控制,操作者只需用移液器将微量样品注入反应池即可全自动完成测定过程,并自动显示和打印结果。

1.2.2.2 3,5-二硝基水杨酸比色法

绘制标准曲线:放置7支试管,不加标准葡萄糖的作为对照,其余用移液管准确吸取0.05、0.1、0.3、0.5、0.7、0.8 mL 0.1%葡萄糖标准液分别置于试管中,全部用蒸馏水补充至1 mL,加3,5-二硝基水杨酸溶液1 mL,摇匀,置沸水中煮5 min,取出后迅速冷却,加蒸

馏水至 10 mL,用未加葡萄糖标准液的试管空白调零,分光光度计在 530 nm 波长处测定吸光度值。以吸光度值作纵坐标,葡萄糖标准系列中葡萄糖含量(mg)作横坐标,绘制标准曲线。

样品测定:将待测样品稀释至测定范围内(0~1 mg/mL),用移液管吸取样品液 1 mL,加 3,5-二硝基水杨酸溶液 1 mL,以下同标准曲线。

计算方法:

$$\text{还原糖(以葡萄糖计)\%} = \frac{C \times V}{m \times 1000} \times 100$$

式中 C 为还原糖或总糖提取液的浓度 (mg/mL); V 为还原糖或总糖提取液的总体积, mL; m 为样品重量, g; 1000 为 mg 换算成 g 的系数。

1.2.3 分析方法

1.2.3.1 精密度实验

用两种方法分别测定同一马铃薯样品 8 次重复,得出平均数,计算标准偏差值和变异系数,以考察方法的精密性。

1.2.3.2 回收率实验

采用标准加入法,在 30 mL 已知还原糖含量的样品液中加入 0.12 g 标准葡萄糖溶液 8 次重复。

回收率 = (加标准试样测定值 - 试样测定值) / 加标量 × 100 %

2 结果与讨论

2.1 3,5-二硝基水杨酸比色法标准曲线

6 种不同浓度的标准葡萄糖经 3,5-二硝基水杨酸比色法测得的吸光度值见表 1。

表 1 3,5-二硝基水杨酸比色法标准曲线的测定结果

序列	1	2	3	4	5	6
还原糖含量/mg	0.05	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
吸光度(530 nm)	0.043	0.121	0.481	0.85	1.19	1.42

将表 1 数据经 EXCEL2000 处理后得到回归方程为 $y=0.1831x-0.0666$, 相关系数平方为 0.999 的标准曲线,见图 1。

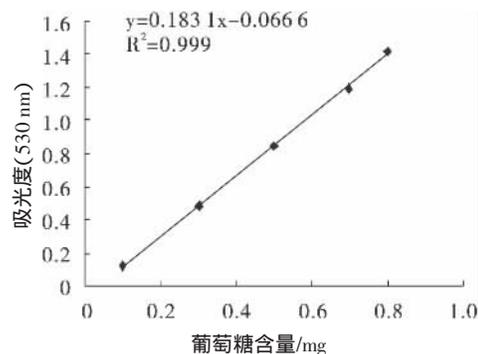


图 1 3,5-二硝基水杨酸比色法标准曲线

Fig.1 Standard curve of DNS

如图所示,还原糖含量与吸光度有很好的线性关系,所以 3,5-二硝基水杨酸比色法的实验结果是比较准确的。

2.2 样品处理方法的实验结果

样品处理方法对马铃薯还原糖提取液的颜色、澄清度、保存时间等方面的影响见表 2。

样品处理方法 1:将马铃薯块茎捣碎后直接测定是最为简单、快捷的方法。但是测定结果表明,此方法不能将马铃薯中的还原糖全部提取出来而导致了测定

表 2 6 种样品处理方法的综合对比表

Table 2 Comprehensive comparison of six methods of sample handling

名称	样品状态	加热温度/°C	是否沉淀蛋白质	是否加入乙醇	提取液颜色	提取液澄清度	提取液保存时间	还原糖提取是否充分	评价
处理 1	鲜样	--	否	否	浅红褐色	不澄清	短	不充分	较差
处理 2	鲜样	50	否	否	深红褐色	不澄清	短	充分	较好
处理 3	鲜样	50	是	否	深红褐色	澄清	较短	充分	较好
处理 4	鲜样	80	是	否	浅黄色	较澄清	较短	不充分	较差
处理 5	鲜样	80	是	是	浅黄色	澄清	长	充分	很好
处理 6	干粉	50	否	否	浅黄色	较澄清	较长	充分	好

结果偏低。

样品处理方法 2:此方法可以将马铃薯中的还原糖完全提取出来,但此方法由于水浴加热后加快了马铃薯捣碎液的氧化,从而导致了还原糖提取液的颜色较深。较深的提取液颜色容易对 DNS 比色法形成干扰,造成测定结果的不稳定。并且,此还原糖提取液存在保存时间短的问题。如此短的保存时间不但增加了测定者的工作强度,而且不利于实验的重复和马铃薯

块茎中还原糖的大批量测定。因此,虽然此方法可以较充分的提取出马铃薯块茎中的还原糖,但它不能成为最佳的提取方法。

样品处理方法 3:此方法在方法二的基础上加入了乙酸锌和亚铁氢化钾,乙酸锌和亚铁氢化钾可以起到沉淀样品中蛋白质的作用,从而使还原糖提取液变得清澈透明,但从实验结果上并不能看出加入乙酸锌和亚铁氢化钾后的明显差异。

样品处理方法 4:此方法提高了马铃薯捣碎液的加热温度。由于马铃薯淀粉的糊化温度为 56℃~67℃,所以 80℃水浴加热 20 min 后,马铃薯捣碎液已完全变为糊状。变为糊状的捣碎液不仅对接下来的离心造成了困难,更不利于还原糖的浸出。从实验的结果就可以看出,测得的还原糖含量偏低。

样品处理方法 5 据报道 85%的乙醇可以较好的抑制马铃薯淀粉的糊化,经过实验验证结果确实如此。加入乙醇后,不仅马铃薯捣碎液完全没有糊化,而且还原糖仍能完全浸出。并且,乙醇还有沉淀蛋白质,抑制提取液中细菌生长的作用。所以,通过此方法得到的还原糖提取液颜色为清澈的淡黄色,而且可以保存较长的时间。因此,这种方法正是我们寻求的提取马铃薯块茎中还原糖的最佳方法。

样品处理方法 6:此方法较以上 5 种方法有较大的不同,是将马铃薯块茎烘干粉碎后进行的测定。由于马铃薯全粉颗粒较细,还原糖较容易浸出,所以测定

结果比较准确。而且还原糖提取液颜色为较澄清的淡黄色,保存时间也较长。因此,这种方法也是马铃薯样品处理的良好方法。这种方法的缺点在于马铃薯的烘干、粉碎过程较为复杂,而且耗时很长,所以此方法并不适合于在线检测。但是,经此方法获得的马铃薯全粉样品,较鲜样更易保存,可以避免保存条件导致的马铃薯中还原糖含量的变化问题。而且提取马铃薯全粉中的还原糖比较方便、快捷。因此,此方法十分适合于马铃薯块茎的大批量筛选工作。

2.3 两种还原糖测定方法的综合对比

样品通过 6 种不同的处理方法得到的还原糖提取液,用还原糖测定仪法、3,5-二硝基水杨酸比色法分别测定其还原糖含量,每种处理分别用两种检测方法测定 8 次,取平均值。回收率实验同样重复 8 次,取平均值。实验结果的综合对比见表 3。

从实验结果来看,这两种方法的测定结果比较吻合,并无明显差异。其中,由于还原糖测定仪法的标准

表 3 3,5-二硝基水杨酸比色法、还原糖测定仪法的综合对比表
Table 3 Comprehensive comparison of DNS and reducing sugar analyzer

名称	DNS 比色法			还原糖测定仪法		
	平均测定值/(n=8)	变异系数	平均回收率/(n=8)	平均测定值/(n=8)	变异系数	平均回收率/(n=8)
处理 1	0.357	0.018 6	100.75	0.312	0.028 4	99.88
处理 2	0.470	0.029 7	104.38	0.433	0.033 1	99.53
处理 3	0.430	0.025 7	102.15	0.402	0.029 4	100.91
处理 4	0.399	0.019 2	103.86	0.353	0.056 3	98.25
处理 5	0.452	0.017 8	101.90	0.448	0.065 6	99.73
处理 6	0.457	0.014 8	99.19	0.431	0.010 1	100.03

偏差、变异系数比较高,所以它没有达到 DNS 比色法的精密度。但还原糖测定仪的准确度很好,DNS 比色法的回收率在 100%~104%之间,而还原糖测定仪的回收率可以更接近 100%,通常达到 99%以上。这是因为较仪器法来说,手工测定过程中仍然存在较多的影响因素,例如,在 DNS 比色法标准曲线的测定及绘制过程中产生的误差,DNS 试剂久置后产生的沉淀引起的误差,及待测液颜色的影响等。而还原糖测定仪的各步实验过程都由仪器自动完成,实验结果自动显示,从而避免了众多人为及环境影响因素。可以说还原糖测定仪的主要误差仅来自于操作者的加样误差,因此结果较为准确。

3 结论

本实验对马铃薯块茎采取 6 种不同的处理方法,通过 DNS 比色法、还原糖测定仪法的测定结果比较,发现两种方法都是测定马铃薯中还原糖的理想方法。还原糖测定仪法操作简单、快速、准确度很好,不受待

测液颜色的影响。因此,还原糖测定仪法对马铃薯的大规模选育工作和加工企业的在线检测提供了一种测定马铃薯中还原糖含量的新方法,更加适应快速、批量测定的要求。

参考文献:

- [1] 陈利,王洪明,杨耀文.马铃薯加工型品种的要求及其主要性状的测定[J].内蒙古农业科技,2002(增刊):86
- [2] 朱海霞,石瑛,张庆娜,等.3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定马铃薯还原糖含量的研究[J].中国马铃薯,2005,19(5):266-269
- [3] 王春英,陈伊里,石瑛.影响马铃薯油炸品质的研究进展[J].中国马铃薯,2003,17(4):232-235
- [4] 江杰,屈冬玉,金黎平,等.马铃薯炸片颜色的研究进展[J].马铃薯杂志,1999,13(3):175-180
- [5] Trude Wicklund, Olga Lothe, Svein Halvor Knutsen, et al. Acrylamide in potato crisp—the effect of raw material and processing[J].LWT, 2006,39:571-575
- [6] 程静.油炸食品中丙烯酰胺的安全性分析[J].食品与发酵工业,2006,32(7):71-74

超临界 CO₂ 对红树莓籽精油提取的研究及 GC-MS 分析

刘丽娜¹, 辛秀兰^{2*}, 武建新¹, 雒亚洲¹

(1. 包头轻工职业技术学院, 内蒙古 包头 014045; 2. 北京电子科技职业学院生物技术系, 北京 100029)

摘要 运用超临界 CO₂ 萃取技术提取红树莓籽精油, 采用正交试验研究萃取温度、萃取压力、萃取时间等因素对红树莓籽精油萃取率的影响, 以提取率为主要标准, 确定最佳工艺条件。结果表明, 萃取温度 45 °C, 萃取压力 30 MPa, 萃取时间 80 min 为最佳提取工艺。挥发油产品透明、橙黄。通过 GC-MS 分析, 鉴定出 40 种主要成分。

关键词 红树莓籽 精油 超临界 CO₂ 萃取 气相色谱-质谱

Extracting Red Raspberry Seed Oil with Supercritical Carbon Dioxide Fluid and Analysing by GC/MS

LIU Li-na¹, XIN Xiu-lan^{2*}, WU Jian-xin¹, LUO Ya-zhou¹

(1. Baotou Light Industry Vocational College, Baotou 014045, Inner Mongolia, China; 2. Beijing Electronic Science and Technology Vocational College, Beijing 100029, China)

Abstract Supercritical fluid CO₂ extraction was applied to extract red raspberry seed oil. Orthogonal designing was used to study the influence of extracting temperature, extracting pressure, and extracting time on the extracting ratio of red raspberry seed oil. The technological conditions were optimized by using extracting ratio as the main standard and the optimal extracting parameters were as follows: extracting temperature at 45 °C, pressure at 30 MPa and time at 80 min. The essential oil appears to be transparent in orange color and in which, 40 kinds of main components were identified by GC-MS analysis.

Key words red raspberry seed oil; essential oil; supercritical fluid CO₂ extraction; GC-MS

树莓是重要的小果型经济灌木, 被誉为新兴的第三代果树。树莓属于蔷薇科悬钩子属。树莓营养丰富

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201103037) 科研基地-生物技术在制药和农产品加工中的应用平台建设; 北京市属市管高等学校人才强教深化计划项目

作者简介: 刘丽娜(1982—), 女(汉), 讲师, 硕士, 研究方向: 农产品加工、乳品工艺。

* 通信作者: 辛秀兰, 教授。

而齐全, 如 V_{B2}、钙、锌、镁等, 尤其是 V_C 的含量是苹果的 5 倍, 氨基酸及铁、锌、磷等含量高于苹果和葡萄。糖含量与苹果、梨、柑橘三大水果相似^[1]。树莓籽约占树莓鲜果质量的 10%, 树莓籽中油含量占干质量的 15%~23%, 树莓籽油的主要成分为亚油酸、α-亚油酸、油酸和棕榈酸。树莓籽油是一种稀有的芳香油, 由于树莓籽油有显著的抗齿龈炎、皮疹、湿疹和其它皮肤损伤的功能所以树莓籽油在化妆品和药品中有很大的利用

- [7] 赵国志. 油脂食品中丙烯酰胺问题探讨[J]. 中国食物与营养, 2004(5): 17-19
- [8] 鄂应龙, 何国庆, 应铁进. 油炸食品中发现丙烯酰胺的研究近况[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(7): 71-74
- [9] 林流丹, 黄才欢, 欧仕益. 食品中丙烯酰胺形成机理的研究进展[J]. 现代食品科技, 2006, 22(1): 168-170
- [10] 梅文泉, 隋启君, 闫注, 等. 马铃薯块茎中还原糖测定的一种方法[J]. 云南农业科技, 2003(3): 23-24

- [11] 马耀宏, 史建国, 杨俊慧, 等. 果汁饮料中还原糖快速测定技术的研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(6): 104-106
- [12] 崔辉梅, 石国亮, 安君如. 马铃薯还原糖含量测定方法的比较研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(19): 4821-4823
- [13] 梅文泉, 隋启君, 闫注, 等. 马铃薯块茎中还原糖测定的一种方法[J]. 云南农业科技, 2003(3): 23-24

收稿日期: 2010-10-16