

文章编号:1673-1689(2008)04-0066-04

气相色谱法测定魔芋食品中葡甘聚糖及淀粉含量

廖燕芝, 杨代明, 张继红, 张建辉, 康绍英

(湖南省食品质量监督检测所, 湖南长沙 410002)

摘要:建立了魔芋食品及魔芋粉中葡甘聚糖和淀粉含量的测定方法。样品酸水解, 水解液中加入肌醇作为内标, 浓缩干燥后, 进行脎化反应与乙酰化反应。糖脎乙酰酯衍生物进行 GC 分析, 内标法定量。结果表明, KGM 单糖成分经衍生化能得到较好的色谱分析结果, 采用肌醇作为内标定量分析, 校正了分析过程系统误差, 能准确测定葡萄糖和甘露糖的含量, 以 KGM 分子中甘露糖和葡萄糖残基的摩尔比, 及甘露糖和葡萄糖含量分别计算出葡甘聚糖和淀粉的含量。葡甘聚糖的测定结果排除了淀粉等其他糖类的干扰, 结果准确可靠。

关键词: 魔芋食品; 葡甘聚糖; 淀粉; 气相色谱

中图分类号: O 657.71

文献标识码: A

Determination of Glucomanan in the Konjac Food by Gas Chromatography

LIAO Yan-zhi, YANG Dai-ming, ZHANG Ji-hong, ZHANG Jian-hui, KANG Shao-ying

(Institute of Food Quality Surveillance and Examination of Hunan Province, Changsha 410002, China)

Abstract: The method for quantitative determination of glucomanan and starch in the konjac food or konjac powder by GC was developed successfully. The sample was hydrolyzed with HCl. Inositol added as inter standand, the monosaccharides of glucomanan (mannose and glucose) were derivated with 1-methyimidazole as solvent and catalyst, hydroxylamine hydrochloride and acetic anhydride used as reagent for oximization and acetylation, respectively. The products of the derivation reaction were separated effectively by GC, detected by FID detector. The result shows that glucomanan and starch in the konjac food could be quantitatively determined.

Key words: Konjac food; glucomanan; starch; gas chromatography

魔芋是目前发现的优良的可溶性膳食纤维, 其对人体的保健作用是其他单一食品无可比拟的, 被人们誉为“魔力食品”、“神奇食品”、“健康食品”等。以魔芋精粉为主要原料或添加剂, 生产的各种仿生食品如魔芋素丸子、魔芋肉丸、魔芋鱼丸等魔芋食品是一种低热能、低蛋白质、低维生素、高膳食纤维的食品, 备受人们的推崇。魔芋的有效生物活性成

分是魔芋葡甘聚糖 (Konjac Glucomanan, 简称 KGM), 是由 D-葡萄糖 (D-Glucose) 和 D-甘露糖 (D-Mannose) 以 β -1,4 糖苷键连接起来的高分子杂多糖。其中白魔芋葡甘聚糖中葡萄糖和甘露糖残基的摩尔比为 1 : 1.69, 花魔芋葡甘聚糖中葡萄糖和甘露糖残基的摩尔比为 1 : 1.5~1.78^[1]。葡甘聚糖是魔芋食品的主要生物活性成分, 研究魔芋食品

收稿日期: 2007-07-17.

作者简介: 廖燕芝 (1978-), 女, 湖南衡阳人, 理学硕士, 工程师, 主要从事色质谱分析研究. Email: xtulyz@hotmail.com

中葡甘聚糖含量的测定方法对于控制、评价和监督魔芋食品的质量具有非常重要意义。

目前葡甘聚糖含量一般通过酸水解葡甘聚糖后,再以重量法^[2]、分光光度法^[3~5]、薄层层析法^[6]测甘露糖和葡萄糖的含量,经过换算后得到。也有采用多糖比色法测定。但这些方法都具有操作复杂、易损失、误差大、定量精度不高等弱点。HPLC分析测定糖^[7]时不需要衍生化,方法简单,但由于示差折光检测器灵敏度低而受限制,仪器昂贵分析费用高而不利于普及,并且,考虑到酸水解液需阴阳离子树脂进行处理,操作步骤没有简化。GC在分析糖类方面具有选择性强、分辨率高和灵敏度高,便于定性及定量分析等优点,在国内外已经得到了广泛的应用。

作者研究魔芋食品中葡甘聚糖和淀粉含量的气相色谱测定方法。将魔芋食品直接酸水解,其中葡甘聚糖水解为葡萄糖和甘露糖两种单糖。取适量水解液滤液,加入适量肌醇作为内标,浓缩干燥后,采用1-甲基咪唑为溶剂和催化剂,单糖与盐酸羟胺加热进行肟化反应,在生成的糖肟溶液中加入乙酸酐乙酰化,生成具有挥发性的糖腈乙酰酯衍生物。将衍生物进行GC分析,内标法定量,结果准确可靠。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

GC-2010:日本岛津公司产品,氮吹仪:北京同泰科技发展有限公司产品;真空干燥箱:北京永光明医疗仪器厂产品;1-甲基咪唑、盐酸羟胺、乙酸酐、无水硫酸钠:均为分析纯试剂;

盐酸羟胺溶液(1-甲基咪唑溶液为溶剂,60 g/L);单糖标准溶液:葡萄糖、甘露糖(标准物质)各0.1000 g,溶于水,定容至25 mL,葡萄糖和甘露糖浓度均为4.0 mg/mL;内标溶液:肌醇质量分数(生化试剂,≥99.5%)0.125 0 g,溶于水,定容至50 mL,质量浓度为2.50 mg/mL。

1.2 实验方法

1.2.1 单糖标准物质的衍生 取单糖标准溶液1.0 mL,加入肌醇内标溶液1.0 mL,混匀后,70 ℃水浴氮吹浓缩至近干,置70 ℃真空干燥箱中干燥至干。加入盐酸羟胺溶液1.0 mL,充分溶解后,密封,90 ℃水浴反应20 min,取出后冷却至室温,加入0.5 mL乙酸酐,混匀,室温反应10 min。加入5.0 mL三氯甲烷萃取产物,加入蒸馏水多次水洗,至水相无色为止,最后加适量无水Na₂SO₄吸去残余水分。

1.2.2 样品前处理

1) 样品的水解 魔芋食品均匀粉碎,取样20 g(准确至0.000 1 g),约100 mL体积分数85%乙醇溶液多次洗涤,残留物移入250 mL蒸馏瓶,加入蒸馏水40 mL及(1+1)盐酸20 mL,沸水浴回流2 h。停止回流后,迅速冷却,加NaOH(4 mol/L)溶液中和水解液至pH值为7,加入质量浓度20 g/dL乙酸铅5 mL。水解液转移到100 mL容量瓶,定容,过滤。

魔芋精粉过100目筛,称取0.5 g左右(准确至0.000 1 g)。约100 mL体积分数85%乙醇溶液多次洗涤,残留物移入250 mL蒸馏瓶,加入蒸馏水40 mL,热水浴使其充分吸水糊化,然后加入盐酸20 mL,最后水解液为2 mol/L HCl。沸水浴回流2 h。停止回流后,迅速冷却,NaOH溶液中和水解液至pH值为7。水解液转移到100 mL容量瓶,定容,过滤。

2) 水解产物衍生 取水解滤液1.0 mL,加入内标液1.0 mL,70 ℃水浴氮吹浓缩,真空干燥。以后步骤同1.2.1。

1.2.3 色谱分析 色谱柱:DB-1(25 m×0.25 mm×0.25 μm);色谱条件:气化室250 ℃,检测器(FID)250 ℃,柱温160 ℃(保持10 min),以20 ℃/min速率升温至200 ℃(保持5 min),以30 ℃/min速率升温至230 ℃(保持5 min)。高纯N₂作载气。柱流量1.20 mL/min,分流比1:39。

单糖标样衍生物与样品衍生物在上述色谱条件下进行分析。采用保留时间定性,内标法定量。气相色谱图如图1。

1.2.4 结果计算 水解液中葡萄糖(Glu)的质量分数包括来源于KGM(Glu_K)和来源于淀粉(Glu_S)两部分,甘露糖(Man)来源于KGM。按水解液中甘露糖的含量及葡甘聚糖中甘露糖和葡萄糖的残基摩尔比*n*(以白魔芋葡甘聚糖甘露糖和葡萄糖的残基摩尔比1.69处理,即*n*为0.592),可以计算出来源于KGM的葡萄糖的质量分数,两者之和乘以0.9即为KGM质量分数。剩余的Glu部分来源于淀粉(Glu_S=Glu-Glu_K),故淀粉质量分数=(Glu-
Man×*n*)×0.9。

$$\text{KGM}(\%) = (n + 1) \times \text{Man} \times 100 \times 0.9 \times 10^{-3} / \text{m} \times 10^2$$

$$\text{淀粉}(\%) = (\text{Glu} - \text{Man} \times n) \times 100 \times 0.9 \times 10^{-3} / \text{m} \times 10^2$$

式中,KGM:食品中葡甘聚糖质量分数(以干基计);淀粉质量分数(以干基计);Glu:色谱测定葡萄糖的值(mg);Man:色谱测定甘露糖的值(mg);

100;水解液定容体积(mL); n :KGM 分子中甘露糖和葡萄糖残基的摩尔比(按白魔芋葡甘聚糖比率 1 : 1.69 处理,即 n 为 0.592);0.9:KGM 残基相对分子质量与单糖的相对分子质量之比; m :称样量(g,以干基计)。魔芋精粉及魔芋食品葡甘聚糖和淀粉含量结果如表 1。

表 1 魔芋食品与魔芋精粉测定结果($n=0.592$)

Tab. 1 The detection results of glucomannan and starch in the konjac food and konjac powder($n=0.592$)

样品	m /g	GC 测定值/ mg	水分 质量分数/%	KGM 质量分数/% (以干基计)	淀粉质量分数/% (以干基计)
神仙豆腐	22.3786	Man 3.6895	93.44	36.01	7.33
		Glu 3.3790			
芋结	22.4168	Man 4.1772	94.88	52.15	13.95
		Glu 4.2524			
素鹅肠	16.7706	Man 2.5852	96.84	69.89	10.99
		Glu 2.1774			
素肚片	19.8092	Man 2.6956	96.30	52.70	25.60
		Glu 3.6801			
素腰花	17.77411	Man 3.0285	95.70	56.78	2.05
		Glu 1.9659			
九节虾	18.3555	Man 5.7168	93.58	69.51	2.26
		Glu 3.6805			
素黄螺	18.9251	Man 4.1282	93.9	51.24	1.25
		Glu 2.6046			
神仙豆腐	25.5000	Man 3.0351	94.84	33.05	3.27
		Glu 2.2754			
神仙豆腐	21.5196	Man 1.7257	89.79	11.25	44.46
		Glu 11.8766			
素鱿鱼丝	22.8893	Man 3.7992	94.16	40.72	24.86
		Glu 5.9407			
魔芋精粉	0.5014	Man 2.4110	11.5	77.85	4.50
		Glu 1.6491			

2 分析与讨论

2.1 样品水解条件的选择

样品不经过提取而直接酸水解,避免了提取过程中不可避免的损失而产生较大误差,同时简化了操作步骤。多糖常采用 HCl、H₂SO₄、三氟乙酸(TFA)、三氯乙酸等水解。实验表明:采用 TFA 水解效果不太理想,时间较长,且取样量太少(10 mg 左右干基样),取样误差较大。采用 HCl 水解效果较好,其中水解液中 HCl 浓度为 2 mol/L,沸水浴水解 2 h,水解完全。

2.2 单糖衍生化方法的选择

GC 测定单糖常用的衍生化有甲基硅烷化(TMS),甲基化和乙酰化。甲基硅烷化试剂挥发性强、对无水条件要求严格,产物极易水解,操作难于控制,且衍生物相对分子质量大,影响分离效果;甲基化分析特异性低,对于某些物质分离效果不理想。糖脲乙酰衍生化气相色谱法测定多糖的单糖组成,产物相对分子质量适中,对于一些常见的糖类物质均有较好的分离,具有衍生物制备简便、反应快速、试剂易得等优点,而且不易产生单糖的异构色谱峰。

但目前制备糖脲乙酯时多采用吡啶作溶剂,存

在着吡啶毒性大,危害环境和分析工作者健康等缺点。另外,样品在吡啶中难溶解使操作繁琐、反应时间长。采用 1-甲基咪唑为溶剂和催化剂,盐酸羟胺和乙酸酐为脲化和乙酰化试剂进行衍生,具有反应速度快、反应完全、产物单一、分离完全、结果准确等优点。结果见图 1。

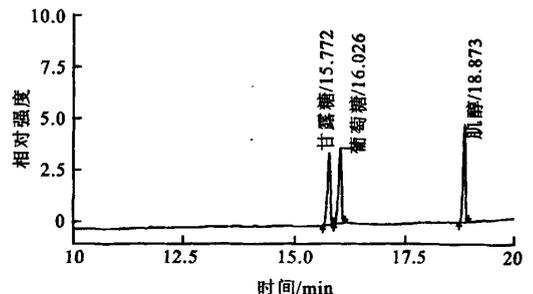


图 1 KGM 单糖糖脲衍生物 GC 图

Fig. 1 Gas chromatogram of monosaccharide derivatives

2.3 定量方法的选择

由于单糖 GC 分析需经过衍生,其衍生过程较复杂,影响因素较多,采用外标法定量误差较大。采用内标法可以校正实验过程产生的误差。有文献采用正二十烷作为内标物^[8]。但正二十烷并未参与衍生化反应,因此不能对衍生化反应过程

产生的误差进行校正。肌醇为六羟基环己烷,与葡萄糖、甘露糖理化性质相近,可以与葡萄糖、甘露糖同时进行脎化和乙酰化反应。采用肌醇为内标,样

液与标液加入同体积同等浓度的内标,然后同时进行浓缩干燥与衍生化反应,可以很好的校正整个实验过程中可能产生的误差,使定量结果准确可靠。

表2 重复性试验结果

Tab.2 Results of the repetition experiment of glucomannan and starch determination

样品	第1次		第2次		第3次		RSD	
	KGM质量	质量	KGM质量	质量	KGM质量	质量	KGM质量	质量
	分数/%	分数/%						
魔芋精粉	68.90	3.98	68.79	4.14	67.90	4.35	1.83	3.12
神仙豆腐	36.01	7.33	36.84	6.58	35.87	7.98	1.10	6.53
芋结	52.15	13.95	51.36	15.02	52.66	13.53	1.21	4.02

2.4 方法精密度讨论

按照上述试验方法分别对魔芋精粉和两个魔芋食品样品从取样水解开始各平行分析测定了4次,结果见表2。表中结果说明,采用本方法测定魔芋精粉及魔芋食品中的葡甘聚糖和淀粉质量分数,精密度良好,结果准确可靠。

纤维素等的干扰,但对于热不可逆魔芋食品、葡甘聚糖已无法提取,因此不适合热不可逆魔芋食品中葡甘聚糖含量的测定^[9]。GC法测定魔芋食品中的KGM质量分数,整个实验过程操作简便,实验条件简单,衍生化反应快速、产物单一,GC分析干扰物少,分离效果较好。采用肌醇作为内标定量,校正了衍生和分析过程误差,结果准确可靠,能准确测定魔芋精粉中KGM质量分数或魔芋食品中的KGM和淀粉的质量分数。本方法的建立对于评价魔芋食品的质量具有一定意义。

3 结 语

采取DNS比色法测定魔芋食品中葡甘聚糖的质量分数,该方法虽然可以排除可溶性糖及淀粉、

参考文献(References):

- [1] 刘佩英. 魔芋学[M]. 北京:中国农业科技出版社,2004:253.
- [2] 吴万兴,李涵. 魔芋精粉中甘露聚糖的测定方法[J]. 食品工业科技,1994(5):74-75.
WU Wan-xing, LI Han. Determination of glucomannan in the konjac powder[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 1994(5):74-75. (in Chinese)
- [3] 孙远明,刘佩瑛,张盛材. 魔芋葡甘聚糖的分光光度法测定[J]. 植物学通讯,1991,27(3):219-222.
SUN Yuan-ming, LIU Pei-ying, ZHANG Sheng-cai. Spectrophotometry for glucomannan from *amorphophallus spp*[J]. *Plant Physiology Communication*, 1991,27(3):219-222. (in Chinese)
- [4] 贾成禹,陈素文,莫卫平,等. 魔芋葡甘露聚糖定量分析[J]. 天然产物研究与开发,1989,1(1):42-46.
JIE Cheng-yu, CHEN Su-wen, MO Wei-ping, et al. A quantitative analysis of glucomannan from *amorphophallus konjac* [J]. *Natural Products Research and Development*, 1989,1(1):42-46. (in Chinese)
- [5] 陈军辉,谢明勇,聂少平. 西洋参多糖的定量测定[J]. 食品与生物技术学报,2005,24(5):72-76.
CHEN Jun-hui, XIE ming-yong, NIE Shao-ping. Determination of polysaccharides in *panax quinquefolium L*[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2005,24(5):72-76. (in Chinese)
- [6] 毕琼斯,陆刚,林辉祥. 薄层色谱测定魔芋粉的葡甘露聚糖和淀粉[J]. 色谱,1990,8(3):198,158.
BI Qiong-si, LU Li, LIN Hui-xiang. Determination of glucomannan and starch in konjac by TLC[J]. *Chromatography*, 1990,8(3):198,158. (in Chinese)
- [7] 李斌,廖永城,谢笔均. 高效液相色谱法测定魔芋精粉中魔芋葡甘聚糖含量[J]. 食品工业科技,2002,23(8):92-84.
LI Bin, LIAO Yong-cheng, XIE Bi-jun. Determination of konjac glucomannan and starch in konjac flour by HPLC[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2002,23(8):82-84. (in Chinese)
- [8] 陈晓颖,郭晓玲,林松. 气相色谱法测定大蜜丸中果糖和葡萄糖的含量[J]. 广东药学报,2000,16(2):94-96.
CHEN Xiao-ying, GUO Xiao-ling, LIN Song. GC Measurement of fructose and glucose content in da mi zao[J]. *Academic Journal of Guangdong College of Pharmacy*, 2000,16(2):94-96. (in Chinese)
- [9] 王照例,吴万兴,李科友. 魔芋精粉中甘露聚糖含量测定研究[J]. 食品科学,1998,19(3):56-58.
WANG Zhao-li, WU Wan-xing, LI Ke-you. Determination of konjac glucomannan in konjac flour[J]. *Food Science*, 1998, 19(3):56-58. (in Chinese)

(责任编辑:朱明)