

南酸枣及其枣糕有机酸组成与分析

Analysis on composition of organic acids in *Choerospondias axillaris* and its pastilles

李 俚¹ 戴涛涛¹ 程 超¹ 陈 军¹

LI Ti¹ DAI Tao-tao¹ CHENG Chao¹ CHEN Jun¹

王召君¹ 刘继延² 刘成梅¹ 刘伟¹

WANG Zhao-jun¹ LIU Ji-yan² LIU Cheng-mei¹ LIU Wei¹

(1. 南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047; 2. 江西齐云山食品有限公司, 江西 赣州 341000)

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330047, China;

2. Jiangxi Qiyunshan Food Co. LTD, Ganzhou, Jiangxi 341000, China)

摘要: 研究分析南酸枣及其枣糕有机酸成分和含量, 探讨枣糕制作工艺对有机酸含量的影响, 为进一步开发南酸枣产品提供理论依据。采用液质联用技术(LC—MS)分析南酸枣有机酸, 并用反相高效液相色谱(HPLC)建立测定有机酸色谱方法, 对其进行定性定量分析。结果表明: 南酸枣果实中主要有 7 种有机酸, 以柠檬酸和苹果酸为主; 南酸枣果肉和果皮中有机酸总量分别为 148.306, 129.996 mg/g · DW, 二者各有机酸组成及相对含量相似; 枣糕制作过程中漂烫处理使有机酸损失较大, 而后续制作工艺对这 7 种有机酸无显著性影响。

关键词: 南酸枣; 枣糕; 有机酸; 加工工艺; 液质联用; 反相高效液相色谱

Abstract: This paper aims at analyzing the composition and content of organic acids in *Choerospondias axillaris* and its pastilles, and discussing the effect of pastilles processing on content of organic acids, to provide a reliable basis for further development of *Choerospondias axillaris* product. LC—MS was adopted to analyze the organic acids in *Choerospondias axillaris*, and established a reversed-phase HPLC technique for the quantitative and qualitative analysis of organic acids. The results showed that all samples presented a similar profile mainly composed of 7 organic acids, where citric acid and malic acid were the major ones. The content of organic acids in *Choerospondias axillaris* pulp and peel were 148.306 and 129.996 mg/g · DW, re-

spectively. The loss of total content of organic acids caused by blanching process was significant, but subsequent processing has little effect on organic acids.

Keywords: *Choerospondias axillaris*; *Choerospondias axillaris* pastilles; organic acids; processing; LC—MS; reversed-phase HPLC

南酸枣(*Choerospondias axillaris*), 又名五眼果、山枣、醋酸果、广枣等, 是漆树科(*Anacardiaceae*)南酸枣属(*Choerospondias Burt et Hill*)多年生落叶乔木, 主要分布于中国南方、日本、印度东北部, 印度中南半岛也有生长^[1]。其果实富含有机酸、多酚、黄酮、蛋白质、膳食纤维、维生素、微量元素等营养成分, 具有清除自由基、抗心律失常、保护心肌缺血、抗血小板聚集、增强免疫等作用^[2], 其中丰富的有机酸能较好地改善肠胃功能, 促进机体内消化吸收等^[3], 被日益广泛地应用于食品、医药等领域。

南酸枣鲜果味酸, 不宜直接食用, 通常用于制作酸枣糕或饮料。其中南酸枣糕酸甜可口, 风味独特, 营养丰富, 还具有有良好的保健功效, 深得人们的喜爱。研究^[4]发现, 果品中有机酸的种类及含量是影响制品品质的主要因素。南酸枣枣肉中有机酸的含量和相对比例可能是南酸枣糕酸味独特的原因之一。然而在南酸枣糕的制作过程中, 漂烫及烘干等工艺可能会导致有机酸含量降低。本试验拟采用液质联用技术(LC—MS)分析南酸枣有机酸, 并建立反相高效液相色谱(HPLC)测定南酸枣有机酸的方法, 能更准确地对其进行定性定量分析; 同时探讨南酸枣糕制作过程中有机酸的流失情况, 旨在为开发南酸枣新产品、优化加工工艺以及改善南酸枣糕口感提供理论依据。

基金项目: 国家自然科学基金(编号:31260386); 江西省支撑计划(编号:20121BBF60039)

作者简介: 李俚(1971—), 女, 南昌大学教授。

E-mail: liti@ncu.edu.cn

通讯作者: 陈军

收稿日期: 2015-03-19

1 材料与amp;方法

1.1 材料与amp;仪器

1.1.1 材料与amp;试剂

南酸枣鲜果:黄绿色、外表光滑、无霉变的南酸枣鲜果,江西省齐云山食品有限公司;

草酸、酒石酸、柠檬酸、苹果酸、琥珀酸、乳酸:含量 $\geq 99.9\%$,阿拉丁试剂有限公司;

醋酸、磷酸二氢钾、磷酸标准品:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

蔗糖:分析纯,南昌科龙食品有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

电热恒温鼓风干燥箱:DGX-8243B型,上海合恒仪器设备有限公司;

离心机:TDL-5-A型,上海安亭科学仪器厂;

植物粉碎机:DFY-500型,大德药剂有限公司;

高速组织捣碎机:DS-1型,上海精科实业有限公司;

冷冻干燥机:FD-1型,北京德天佑科技发展有限公司;

高效液相色谱仪:Agilent 1260型,美国安捷伦公司;

固相萃取小柱:Sep-pak C₁₈型,美国 Waters 公司;

三重串联四级杆液质联用仪:Agilent 6430型,美国安捷伦公司。

1.2 试验方法

1.2.1 南酸枣糕的制备工艺

蔗糖+水(3:1质量比)→熬糖(至糖浆挂浆)

↓

南酸枣鲜果→漂烫(100℃,8min)→脱皮、去核→调配(枣肉:糖浆质量比5:6)→搅拌→倒盘→烘干(60℃,24h)→南酸枣糕

1.2.2 有机酸的提取 南酸枣有机酸制备方法参考 Pilar Flores^[5]和 Rodrigo Scherer^[6]的方法。将冷冻的新鲜南酸枣分离成枣肉和枣皮,在-80℃真空条件下冷冻干燥,粉碎,过60目筛。精确称取样品3.000g,加入80mL蒸馏水后,用转速为12000r/min组织捣碎机匀浆4min,10000r/min离心15min,取上清液,用蒸馏水定容至100mL容量瓶。待测液经过 Sep-pak C₁₈固相萃取小柱后,用0.22μm滤膜过滤,将滤液置于2mL的进样瓶中待色谱测定。

精确称取南酸枣糕50g,加入300mL蒸馏水后,用转速为12000r/min组织破碎机匀浆4min,10000r/min离心15min,取上清液,用旋转蒸发仪浓缩上清液,浓缩液定容至100mL容量瓶。待测液经过 Sep-pak C₁₈固相萃取小柱纯化后,用0.22μm滤膜过滤,将滤液置于2mL的进样瓶中待色谱测定。

1.2.3 LC-MS分析条件 通过预试验优化得到最佳分析条件:色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈(4.6mm×250mm,5μm);流动相为 A(100%甲醇):B(0.1%甲酸溶液)=5:95;流速为0.4mL/min;ESI源为负离子模式;操作参数:毛细管电压2kV,喷雾器压力0.45MPa,干燥气体流速11L/min,干燥气体温度350℃。

1.2.4 HPLC分析条件 通过预试验得到有机酸 HPLC 检测的色谱条件。采用 Agilent 1260 紫外检测器在波长214nm进行检测,色谱柱:Hypersil C₁₈4.6mm I.D.×250mm,5μm。流动相为 A(甲醇):B(0.05mol/L pH 2.7

磷酸二氢钾-磷酸缓冲液)=5:95(体积分数),流速0.5mL/min,柱温30℃,进样量10μL,检测时间15min。

1.2.5 有机酸标准品溶液的制备及标准曲线的绘制 分别准确称取草酸50mg、酒石酸50mg、乳酸50mg、醋酸50mg、柠檬酸50mg、苹果酸50mg、琥珀酸25mg于25mL棕色容量瓶中,用pH 2.7的KH₂PO₄-H₃PO₄缓冲液定容,得到标准品溶液,用于绘制有机酸含量标准曲线。

1.3 数据处理

采用 Excel 2010 进行线性回归方程计算,Spss 18.0 分析试验数据。

2 结果与分析

2.1 LC-MS法分析南酸枣有机酸

南酸枣(枣皮和枣肉)有机酸经过 Sep-pak C₁₈固相萃取小柱纯化后,上液相质谱联用仪,所得负离子模式下质谱图见图1。

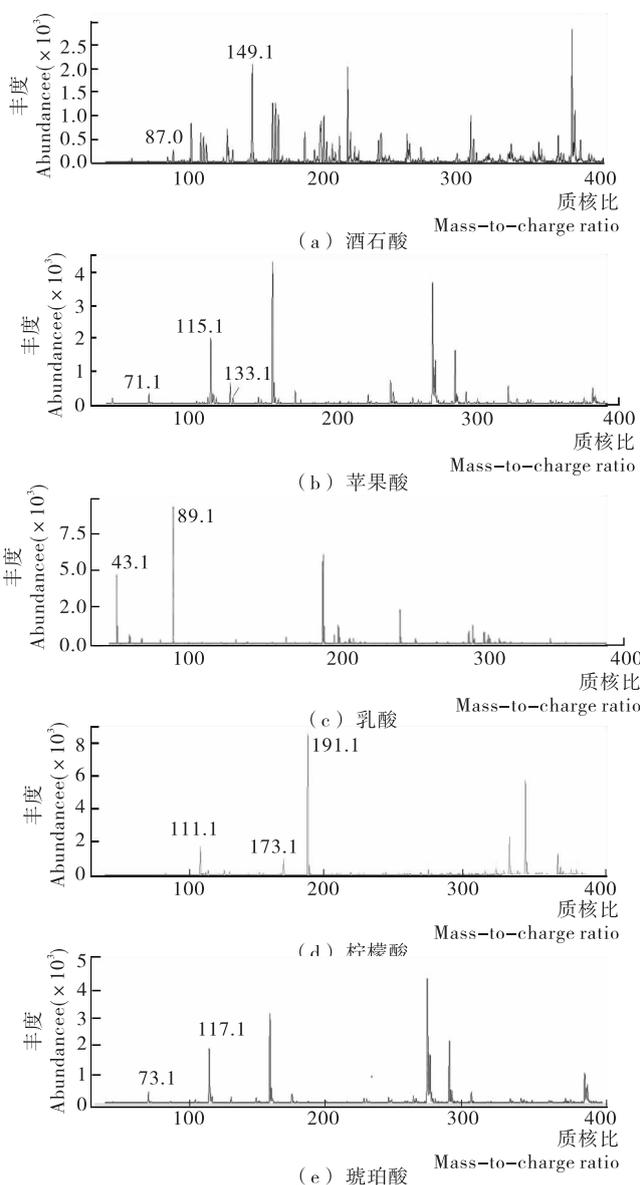


图1 负离子模式下的质谱图

Figure 1 Mass spectrum obtained in ESI negative mode

由图 1 可知,在负离子模式下,去质子的分子离子 $[M-H]^-$ 分别在 m/z 149, 133, 89, 191, 117 处有很好的响应值。其他碎片则可作为确认离子,例如,图 1(d)中 m/z 111 出现了柠檬酸中重要的碎片 $[M-2H_2O-CO_2]^-$ 。故可以推测出存在以下化合物,见表 1。

表 1 有机酸质谱裂解规律

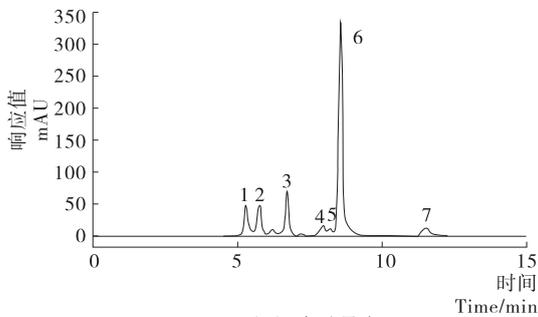
Table 1 The mass spectrometric cleavage of organic acid

序号	MS(m/z)	MS ² (m/z)	有机酸
1	149 $[M-H]^-$	87 $[M-H_2O-CO_2]^-$	酒石酸
2	133 $[M-H]^-$	115 $[M-H_2O]^-$	苹果酸
3	89 $[M-H]^-$	45 $[M-CO_2]^-$	乳酸
4	191 $[M-H]^-$	111 $[M-2H_2O-CO_2]^-$	柠檬酸
5	117 $[M-H]^-$	73 $[M-CO_2]^-$	琥珀酸

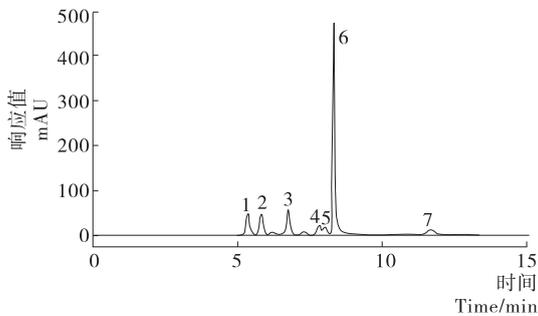
2.2 南酸枣有机酸的定性定量分析结果

采用水提法提取南酸枣果肉和果皮的有机酸,通过 HPLC 检测,得南酸枣果肉和果皮有机酸色谱图(见图 2),与图 3 有机酸混标色谱图对比出峰时间,可以确定含有酒石酸、苹果酸、乳酸、柠檬酸、琥珀酸、草酸、醋酸。

表 2 中列出了南酸枣果肉和果皮中有机酸的含量。结果表明,南酸枣果肉中有机酸总量为 148.306 mg/g·DW,主要为柠檬酸,占总酸的 62.0%,含量高达 91.952 mg/g·DW;其次为苹果酸,含量为 21.923 mg/g·DW。南酸枣果皮中有机酸总量为 129.996 mg/g·DW,主要是柠檬酸和苹果酸,分别为 75.963, 17.990 mg/g·DW。其中乳酸、醋酸和琥



(a) 南酸枣果肉



(b) 南酸枣果皮

1. 草酸 2. 酒石酸 3. 苹果酸 4. 乳酸 5. 醋酸 6. 柠檬酸
7. 琥珀酸

图 2 南酸枣果肉和果皮有机酸色谱图

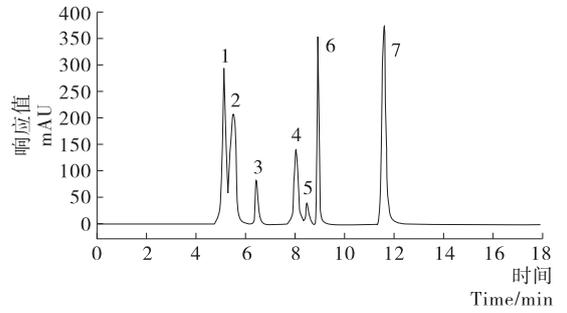
Figure 2 HPLC chromatogram of organic acids from *Choerospondias axillaris* pulp and peel in 214 nm

图 3 南酸枣有机酸混标液相色谱图

Figure 3 HPLC chromatogram of mixed standard from *Choerospondias axillaris* in 214 nm

珀酸,果皮中的含量比枣肉中含量高。果肉和果皮中各有机酸组成相同且相对含量相似,都鉴定出草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、醋酸、柠檬酸和琥珀酸。

孙延芳等^[7]通过高效液相色谱法分析酸枣中的有机酸,干果中有有机酸主要有草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸和琥珀酸。刘晓庚等^[3]采用甲醇提取有机酸,并用相对保留值对南酸枣有机酸进行定性分析,色谱分析显示南酸枣中含有 21 种有机酸,鉴定出 19 种;其中 10 碳以上的有机酸含量较低,而低分子量的有机酸,如柠檬酸、苹果酸、酒石酸等含量较高。该研究与本试验结果上的差异可能是由于南酸枣的成熟度及其产地、有机酸的提取方法和检测方法等^[8]不同造成的。

2.3 加工过程对南酸枣肉及其枣糕有机酸的影响

漂烫处理是加工糖制、干制、冷冻和罐藏等果蔬制品十分关键的加工方式之一。其目的是破坏和抑制果蔬中能催化产生不良反应的氧化酶活性,防止加工过程中色泽劣变,减少细菌污染,使产品贮藏期较长。但是漂烫温度与时间会对南酸枣细胞结构造成一定程度的损坏,导致水溶性营养成分流失,其中部分有机酸因易溶于水而损失^[9]。

由表 2 和 3 可知,漂烫后的枣肉总酸损失了 14.8%,且

表 2 南酸枣枣肉和枣皮主要有机酸组成和含量

Table 2 Composition and concentration of main organic acids in *Choerospondias axillaris* pulp and peel

有机酸	果肉		果皮	
	绝对含量/ (mg·g ⁻¹ ·DW)	相对含 量/%	绝对含量/ (mg·g ⁻¹ ·DW)	相对含 量/%
草酸	1.966±0.021	1.3	1.822±0.028	1.4
酒石酸	8.577±0.077	5.8	6.779±0.072	5.2
苹果酸	21.923±1.128	14.8	17.990±0.802	13.8
乳酸	9.708±0.441	6.6	11.537±0.324	8.9
醋酸	6.544±0.072	4.4	7.050±0.075	5.4
柠檬酸	91.952±2.810	62.0	75.963±2.020	58.5
琥珀酸	7.636±0.156	5.1	8.855±0.212	6.8
总酸	148.306±4.705	100.0	129.996±3.533	100.0

表3 经漂烫后的枣肉和南酸枣糕有机酸组成和含量

Table 3 Composition and content of organic acids in blanched *Choerospondias axillaris* pulp and *Choerospondias axillaris* pastilles mg/g · DW

有机酸组成	漂烫后的枣肉	南酸枣糕
草酸	1.810±0.014	0.256±0.001
酒石酸	7.874±0.047	1.121±0.008
苹果酸	18.847±0.871	2.692±0.032
乳酸	7.179±0.256	0.925±0.010
醋酸	5.063±0.113	0.680±0.005
柠檬酸	78.472±2.054	11.210±0.469
琥珀酸	7.134±0.082	1.019±0.015
总酸	126.379±3.437	17.903±0.540

各个有机酸都有相应损失。这可能是由于成熟的南酸枣经过8 min沸水漂烫处理后,绝大部分的枣果都会发生裂果现象,其细胞结构也遭到破坏,细胞内外水分渗透和热水渗入,各种水溶性营养成分部分损失^[10],其中有有机酸易溶于水,因此造成有机酸损失。

由表3可知,与枣肉相比,南酸枣糕的总酸含量约为枣糕中枣肉原料总酸的14.2%,而南酸枣糕中枣肉占总量的14.4%。因此,在60℃下干燥24 h后得到的南酸枣糕,有机酸含量几乎没有损失。表明漂烫后的枣糕制作工艺对南酸枣糕有机酸含量无显著性影响。

3 结论

本试验通过液质和液相色谱分析,确定南酸枣中主要含有柠檬酸、苹果酸、酒石酸等7种有机酸,并建立了测定南酸枣有机酸反相高效液相色谱方法。结果表明:南酸枣枣肉和枣皮中有机酸总量分别为148.306,129.996 mg/g · DW,其中各有机酸组成及相对含量相似。在本试验中,漂烫处理使有机酸损失较大,枣肉总酸损失14.8%;南酸枣糕后续制作

工艺对这7种有机酸无显著性影响。通过研究南酸枣糕制作过程中有机酸流失的情况,可知在其制作过程中,如果能够较好地控制漂烫条件,可以有效降低南酸枣中有机酸的损失,将更加有利于改善南酸枣糕的口感,并为开发南酸枣新产品、优化加工工艺提供理论依据。

参考文献

- 1 江苏新医学院编. 中药大辞典[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977.
- 2 吴双双, 梁瑞红, 刘伟, 等. 卡拉胶对南酸枣糕质构性质的影响[J]. 食品与机械, 2012, 28(6): 8~11.
- 3 刘晓庚, 陈优生. 南酸枣果实的成分分析[J]. 中国野生植物资源, 2000, 19(3): 35~40.
- 4 Romero E G, Muñoz G S, Alvarez P J M, et al. Determination of organic acids in grape musts, wines and vinegars by high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 1993, 655(1): 111~117.
- 5 Pilar Flores, Pilar Hellin, José Fenoll. Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2012, 132(2): 1 049~1 054.
- 6 Rodrigo S, Ana C P R, Cristiano A B, et al. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices[J]. Food Chemistry, 2012, 135(1): 150~154.
- 7 孙延芳, 梁宗锁, 杨开宝, 等. 高效液相色谱法分析酸枣中的有机酸和维生素C[J]. 黑龙江农业科学, 2011(8): 80~82.
- 8 丁仁君, 夏延斌. 葡萄酒中的有机酸及检测方法研究进展[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 243~247.
- 9 陈蔚辉, 邱苑. 漂烫对提味蔬菜营养成分的影响[J]. 食品科技, 2014, 39(1): 88~90.
- 10 刘威, 张云川, 赵美华, 等. 不同漂烫温度对西兰花品质指标的影响[J]. 农产品加工(学刊), 2007(1): 86~88.

信息窗

啤酒和咸味酱中的一种维生素可以预防皮肤癌

近日《新英格兰医学杂志》刊登一项澳大利亚研究发现,咸味酱(vegemite)和啤酒中含有的维生素B₃可降低皮肤癌患病率达32%。

据报道,本次研究选取了380多名皮肤癌高风险患者,患者一天服用两次高剂量维生素B₃。

研究发现,患者非黑色素皮肤癌(系因长期日光曝晒损伤皮肤而引起的癌前期损害)的发病率出现下降。

根据试验,患者每天大约需要消耗1 kg咸味酱,才可获得500 mg的维生素B₃,至于需要喝多少升啤酒才可摄取此数量的维生素B₃,目前计算尚未完成。

研究显示,服用维生素可以降低15%日光性角化病癌变机率。

研究人员达米安博士(Dr Diona Damian)称,这是第一个明确的证据,使用维生素与合理的防晒措施结合,可以降低皮肤癌患病率。维生素可帮助被太阳损坏的细胞恢复活力,增强皮肤细胞DNA的修复,保皮肤免疫系统免受紫外线辐射。

澳大利亚是世界皮肤癌的高发国家,每年约有50万澳大利亚人接受非黑色素瘤癌症治疗,500多人因此病丧生。澳大利亚每年在治疗此病上开支超过5亿澳元。达米安博士因此称,让公众了解维生素B₃可降低皮肤癌发病率是重要的。

(来源:www.cifst.org.cn)