

# 不同方法提取无核白葡萄干中脂肪酸的研究

周小梅, 李园月, 吴广枫\*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘要:** **目的** 确立葡萄干中脂肪酸提取的有效方法。**方法** 采用气相色谱质谱联用技术的方法, 对无核白葡萄干中的脂肪酸进行了研究。采用4种提取方法, 对自然晒干工艺制成的无核白葡萄干(可溶性固形物含量84.69%)进行脂肪酸种类和含量的研究。**结果** 当采用不同提取方法时, 检测到的葡萄干中的脂肪酸种类无差异, 仅存在含量上的差别。无核白葡萄干中共鉴定出16种脂肪酸, 其中饱和脂肪酸11种, 不饱和脂肪酸5种。当采用液液萃取-甲醇辅助提取方法提取葡萄干中脂肪酸时, 不饱和脂肪酸总含量、饱和脂肪酸总含量以及脂肪酸总含量均优于其他方法提取出的脂肪酸含量。**结论** 液液萃取-甲醇辅助提取方法是提取葡萄干中脂肪酸的有效方法, 这为葡萄干中风味物质研究打下基础。

**关键词:** 气相色谱-质谱联用法; 葡萄干; 脂肪酸; 液液萃取-甲醇辅助提取

## Fatty acid extraction of Thompson seedless raisin by different methods

ZHOU Xiao-Mei, LI Yuan-Yue, WU Guang-Feng\*

(College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**ABSTRACT: Objective** To develop an effective method for the extraction of fatty acid in raisin. **Methods** Thompson seedless raisin was analyzed in this study, and its fatty acid composition and content were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Four extraction methods were adopted to extract the fatty acid in Thompson seedless-Sun dried raisins (TS-SD, soluble solids content is 84.69%). **Results** No category difference of fatty acid was detected between different methods. 16 kinds of fatty acids were determined in TS-SD, including 11 kinds of saturated fatty acids and 5 kinds of unsaturated fatty acids. When liquid-liquid extraction-methanol (LLE-M) was used as extraction method, the total content of saturated fatty acid (SFA), unsaturated fatty acid (UFA) and the fatty acid (FA) was found to be higher. **Conclusion** LLE-M method is an effective way to extract fatty acid in raisins, and this will contribute to the research of flavor in raisin.

**KEY WORDS:** gas chromatography-mass spectrometry; raisin; fatty acid; liquid-liquid extraction-methanol

## 1 引言

葡萄干是借助于自然晾晒或人工加热使葡萄果

实脱水而形成的制品, 具有易于运输和保存等特点, 其风味独特, 含热量高, 营养价值完善, 可作为点心直接食用或放在糕点中加工食用<sup>[1]</sup>。葡萄干中的风味

基金项目: 国家农业产业技术体系专项基金项目(CARS-30)

**Fund:** Supported by the Special Fund Project of National Agricultural Industry Technical System (CARS-30)

\*通讯作者: 吴广枫, 副教授, 主要研究方向为食品安全、食品化学。E-mail: wumaple@vip.sina.com

\*Corresponding author: WU Guang-Feng, Associate Professor, College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, No. 17 Tsinghua East Road, Haidian District, Beijing 100083, China. E-mail: wumaple@vip.sina.com

物质是评价葡萄干品质的重要指标,得到越来越多生产者的重视<sup>[2]</sup>。脂肪酸是葡萄干风味物质产生的重要中间物质<sup>[3]</sup>,对葡萄干风味研究有重要作用。目前对葡萄干中脂肪酸种类已有一些研究<sup>[4]</sup>,但脂肪酸具体含量还未曾涉及。本文采用气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)方法对葡萄干中脂肪酸进行定性及定量分析,并对超声提取脂肪酸的方法进行改进,以确定提取葡萄干中脂肪酸的有效方法,同时为其他含糖量高、粘度大的样品中的脂肪酸提取提供借鉴。

## 2 材料与方 法

### 2.1 材料与仪器

样品:新疆吐鲁番地区鄯善县葡萄瓜果开发研究中心实验田采摘 200 kg 无核白鲜葡萄,自然晒干得无核白晒干葡萄干 TS-SD,可溶性固形物含量 84.69%。

试剂:脂肪酸甲酯标准品:标样月桂酸甲酯(lauric acid methyl ester, C12: 0)、肉豆蔻酸甲酯(myristic acid methyl ester, C14: 0)、十五烷酸甲酯(pentadecanoic acid methyl ester, C15: 0)、棕榈酸甲酯(palmitic acid methyl ester, C16: 0)、棕榈油酸甲酯(palmitoleic acid methyl ester, C16: 1)、十七酸甲酯(heptadecanoic acid methyl ester, C17: 0)、硬脂酸甲酯(stearic acid methyl ester, C18: 0)、油酸甲酯(oleic acid methyl ester, C18: 1)、亚油酸甲酯(linoleic acid methyl ester, C18: 2)、亚麻酸甲酯(linolenic acid methyl ester, C18: 3)、十九酸甲酯(methylnonadecanoate, C19:0)、花生酸甲酯(arachidic acid methyl ester, C20:0)、二十一碳酸甲酯(heneicosanoic acid methyl ester, C21:0)、山俞酸甲酯(behenic acid methyl ester, C22: 0)、二十二碳烯酸甲酯(docosenoic acid methyl ester, C22:1)、二十三酸甲酯(tricosanoic acid methyl ester, C23:0)、二十四酸甲酯(lignoceric acid methyl ester, C24: 0),纯度均高于 98.0%(美国 Sigma-Aldrich 公司,瑞士 Fluka 公司);甲醇(色谱级,美国 Tedia 公司);浓硫酸(分析纯)、氯化钠(分析纯)、蒸馏水、石英砂、液氮、氮气购自北京化学试剂公司。

仪器:固相萃取柱 Cleanert PEP-SPE (150 mg/6 mL) (天津博纳艾杰尔科技有限公司);电子天平(上海精天电子仪器厂);FD-1A-50 型冷冻干燥机(北京市博医康实验仪器有限公司);KG 2200B 型超声波清

洗器(宁波科生仪器厂);RE-52AA 型旋转蒸发器(德国 HEIDOLPH 公司);UGC 24C 型氮吹仪(北京优晟联合科技有限公司);SHZ-88A 型摇床(太仓市豪成实验仪器制造有限公司);Agilent 7890/5975C Inert MSD 气质联用仪,带 7683 自动进样器(美国 Agilent 公司)。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 样品前处理

将葡萄干样品与石英砂按照 1:1(*m:m*)的比例混合,经液氮充分冷冻,打碎成粉,于冷冻干燥机中冷冻干燥 24 h,作为超声提取的样品。

将葡萄干样品与石英砂按照 1:1(*m:m*)的比例混合,经液氮充分冷冻,打碎成粉,作为超声提取-乙醇辅助提取,液液萃取-甲醇辅助提取,液液萃取-水辅助提取的样品。

#### 2.2.2 提取方法

(1) 超声提取(ultrasonic treatment, UT):取 2 g(按照葡萄干干基率折算之后的有效重量)葡萄干冻干粉,置于 50 mL 离心管中,加入 30 mL 正己烷,拧紧盖子,以防止溶剂挥发,置于超声波清洗仪中超声提取 30 min,将提取液收集于 150 mL 圆底烧瓶中,以上操作重复 3 次,提取液合并。

(2) 超声提取-乙醇辅助提取(ultrasonic treatment-ethanol, UT-E):取 2 g 石英砂与葡萄干混合粉,置于 50 mL 离心管中,加入乙醇/正己烷(1:1 *V:V*)溶液 30 mL,拧紧盖子,以防止溶剂挥发,置于超声波清洗仪中超声提取 30 min,将提取液收集于 150 mL 圆底烧瓶中,以上操作重复 3 次,提取液合并。

(3) 液液萃取-甲醇辅助提取(liquid-liquid extraction-methanol, LLE-M):取 2 g 石英砂与葡萄干混合粉,置于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 甲醇和 20 mL 正己烷,拧紧盖子使其形成密封环境,置于摇床中(水平放置)振荡萃取 30 min,收集上清提取液于 150 mL 圆底烧瓶中,以上操作重复 3 次,提取液合并。

(4) 液液萃取-水辅助提取(liquid-liquid extraction-water, LLE-W):取 2 g 石英砂与葡萄干混合粉,置于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 水和 20 mL 正己烷,拧紧盖子使其形成密封环境,置于摇床中(水平放置)振荡萃取 30 min,收集上清提取液于 150 mL 圆底烧瓶中,以上操作重复 3 次,提取液合并。

#### 2.2.3 甲酯化方法

提取液旋转蒸干,加入 5 mL 1% 硫酸-甲醇溶液

进行溶解, 65 °C 条件下水浴 2 h。

#### 2.2.4 GC-MS 条件

葡萄干脂肪酸检测 GC-MS 条件参照文献<sup>[5]</sup>, 稍作修改。

#### 2.2.5 定性与定量分析

定性: 从全离子扫描色谱图 (total ion chromatogram, TIC) 中提取每一种脂肪酸的特征离子和出峰时间, 与 NIST11 标准谱库进行对比, 依靠可信度强弱进行定性结果分类并记录。

定量: 采用外标法。根据葡萄干中脂肪酸的典型浓度范围配制香气标准品模拟溶液, 并进行梯度稀释, 配成不同浓度的脂肪酸标准溶液。以全离子扫描色谱图中提取每一种脂肪酸的特征离子的峰面积, 与内标(十九酸甲酯)峰面积的面积比作为定量依据, 计算脂肪酸的具体含量<sup>[6]</sup>。

#### 2.2.6 统计学分析

采用 SPSS20.0 软件中的 *t*-检验进行 UT、UT-E、LLE-M、LLE-W 四种提取方法下的脂肪酸成分显著性差异分析( $P < 0.05$ )。

### 3 结果与分析

#### 3.1 葡萄干中的脂肪酸 GC-MS 定性分析结果

葡萄干中脂肪酸甲酯总离子流色谱图如图 1 所示, 结合 NIST05 谱库对各脂肪酸甲酯的质谱信息进行定性分析, 无核白晒干葡萄干中共鉴定出 16 种脂肪酸, 其中饱和脂肪酸 11 种, 分别是月桂酸、十四烷酸、十五烷酸、棕榈酸、十七烷酸、十八烷酸、二十烷酸、二十一烷酸、二十二烷酸、二十三烷酸和二十四烷酸; 不饱和脂肪酸 5 种, 分别是十六烯酸、油酸、亚油酸、亚麻酸和二十二烯酸。

#### 3.2 脂肪酸检测结果

不同种类脂肪酸的具体含量见表 1。由表 1 可知, 葡萄干中主要为饱和脂肪酸, 其含量占总脂肪酸含量的 83.42%, 其中棕榈酸含量占饱和脂肪酸含量的 85.89%。亚油酸、油酸为葡萄干中主要的不饱和脂肪酸, 其含量分别占不饱和脂肪酸含量的 78.13%、19.31%。

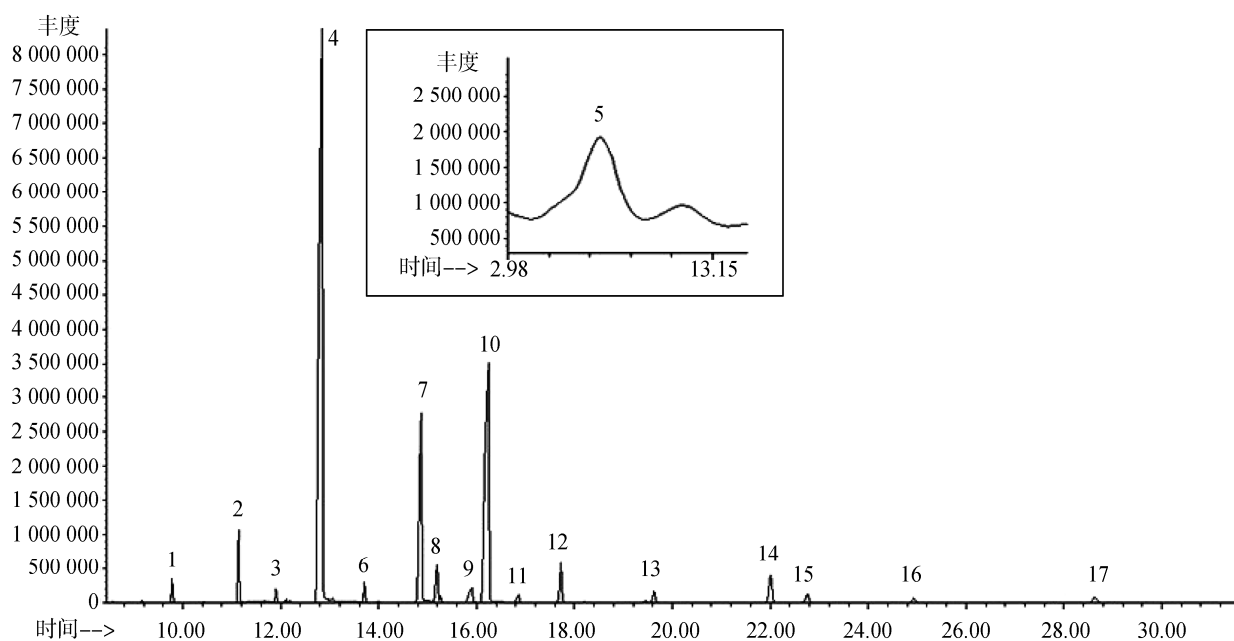


图 1 脂肪酸甲酯总离子流色谱图

Fig. 1 Total ions chromatogram of FAME

注: 1 月桂酸甲酯(C12:0); 2 肉豆蔻酸甲酯(C14:0); 3 十五烷酸甲酯(C15:0); 4 棕榈酸甲酯(C16:0); 5 棕榈油酸甲酯(C16:1); 6 十七烷酸甲酯(C17:0); 7 硬脂酸甲酯(C18:0); 8 油酸甲酯(C18:1); 9 亚油酸甲酯(C18:2); 10 十九烷酸甲酯(C19:0); 11 亚麻酸甲酯(C18:3); 12 花生酸甲酯(C20:0); 13 二十一烷酸甲酯(C21:0); 14 山俞酸甲酯(C22:0); 15 二十二碳烯酸甲酯(C22:1); 16 二十三烷酸甲酯(C23:0); 17 二十四烷酸甲酯(C24:0)。

表 1 LLE-M 方法提取 TS-SD 中脂肪酸的检测结果  
Table 1 Result of fatty acid in TS-SD by the method of LLE-M

	分子式	特征离子	保留时间/min	含量(mg/kg)
十二烷酸	C12:0	74	9.83	4.93±0.18
十四烷酸	C14:0	74	11.06	15.81±0.70
十五烷酸	C15:0	74	11.77	3.79±0.62
十六烷酸	C16:0	74	12.58	1,522.31±6.96
十七烷酸	C17:0	74	13.44	4.44±0.35
十八烷酸	C18:0	74	14.46	90.27±4.32
二十烷酸	C20:0	74	17.07	12.15±0.57
二十一烷酸	C21:0	74	17.46	4.52±0.19
二十二烷酸	C22:0	74	20.87	33.57±2.55
二十三烷酸	C23:0	74	23.46	67.32±3.72
二十四烷酸	C24:0	74	26.72	13.24±0.56
SFA				1,772.37±9.29
十六烯酸	C16:1	55,74	12.80	3.48±0.59
油酸	C18:1	55	14.77	68.02±7.94
亚油酸	C18:2	67	15.41	275.26±10.64
亚麻酸	C18:3	79	16.28	0.77±0.11
二十二烯酸	C22:1	74	21.35	4.77±2.45
UFA				352.31±16.60
FA				2,124.68±25.89

注: 表中 SFA 代表饱和脂肪酸, UFA 代表不饱和脂肪酸, FA 代表总脂肪酸。

### 3.3 不同提取方法对脂肪酸含量的影响

本实验采取了 2 种提取方法, 即超声提取和液液萃取; 采用了 4 种提取溶剂, 分别为正己烷、正己烷-甲醇混合提取液<sup>[7]</sup>、正己烷/乙醇(1:1, V:V)<sup>[8]</sup>和正己烷/水混合提取液<sup>[2]</sup>。正己烷是工业提取油脂的常用溶剂<sup>[9-11]</sup>, 超声提取曾多次被证实为有效提取脂肪酸的方法<sup>[12-15]</sup>。

以正己烷为提取溶剂, 超声提取的提取方法曾被设想为葡萄干中脂肪酸提取的理想方法。实验过程显示, 高含糖量极易引起葡萄干在破碎打粉、冷冻干燥过程中吸水结块, 导致有机溶剂与样品接触不充分, 影响提取效果。

本实验选取了甲醇、乙醇和水作为辅助提取剂, 期望达到抵消高含糖量对葡萄干中脂肪酸提取的干扰作用, 提高提取效果。3 种辅助提取剂与正己烷溶解状态分别为部分互溶、互溶和不互溶, 故实验过程中分别采取液液萃取、超声提取和液液萃取的提取方法。

如图 2 所示, 对于 TS-SD 样品, 采用 LLE-M 方法时提取出的不饱和脂肪酸总含量、饱和脂肪酸总含量和脂肪酸总含量均显著高于其他 3 种方法提取得到的脂肪酸含量。

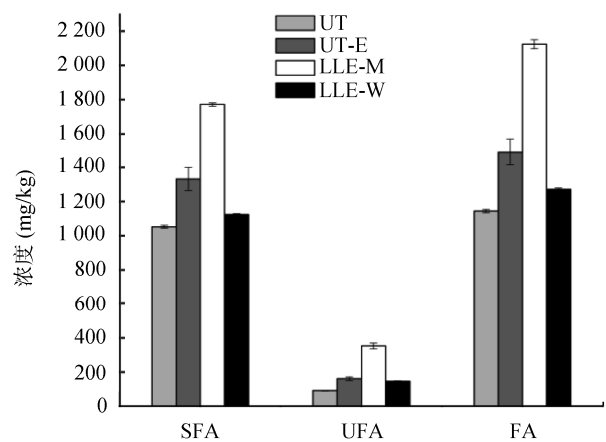


图 2 不同提取方法对脂肪酸含量的影响

Fig. 2 Content of FA in TS-SD determined by different methods

UT-E 方法中, 葡萄干样品呈结块状态, 有机溶剂与样品接触不充分, 影响提取效果。

LLE-W 方法中, 葡萄干在水/正己烷混合溶液中呈现分散状态。当水为辅助提取剂时, 样品有两种可能状态, 一为被水包裹, 二为在水、正己烷交界面, 与提取剂接触促进提取。脂肪酸不能溶解于水中, 故只有当样品在混合溶液中呈状态二时, 提取方能进行。若水包裹在葡萄干样品周围, 对提取产生阻碍作用, 影响提取效果。

LLE-M 方法中, 葡萄干在甲醇/正己烷混合溶液中呈现分散状态。当甲醇为提取剂时, 甲醇对糖有一定的溶解度, 且甲醇溶液与正己烷溶液分层, 糖留在甲醇层。甲醇能够溶解脂肪酸, 但其溶解效果比正己烷差, 二者产生竞争, 脂肪酸留在正己烷层。该方法从根本上消除了高含糖量对葡萄干中脂肪酸提取的干扰作用, 是提取葡萄干中脂肪酸的有效方法。

#### 4 结 论

无核白晒干葡萄干中共鉴定出 16 种脂肪酸, 其中饱和脂肪酸 11 种, 分别是月桂酸、十四烷酸、十五烷酸、棕榈酸、十七烷酸、十八烷酸、二十烷酸、二十一烷酸、二十二烷酸、二十三烷酸和二十四烷酸; 不饱和脂肪酸 5 种, 分别是十六烯酸、油酸、亚油酸、亚麻酸和二十二烯酸。

无核白晒干葡萄干中主要为饱和脂肪酸, 其含量占总脂肪酸含量的 83.42%, 其中棕榈酸含量占饱和脂肪酸含量的 85.89%。亚油酸、油酸为葡萄干中主要的不饱和脂肪酸, 其含量分别占饱和脂肪酸含量的 78.13%、19.31%。

LLE-M 方法从根本上消除了高含糖量对葡萄干中脂肪酸提取的干扰作用, 是提取葡萄干中脂肪酸的有效方法, 同时为其他高含糖量样品中脂肪酸的提取提供借鉴。

#### 参考文献

- [1] 晁无疾, 管仲新, 路苹, 等. 我国葡萄干质量分析[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2006, (6): 49-52.  
Chao WJ, Guan ZX, Lu P, *et al.* Quality analysis of raisins in China [J]. Sino-Overseas Grapevine Wine, 2006, (6): 49-52.
- [2] Guiné RPF, Martín-Belloso O, Mínguez-Mosquera MI, *et al.* Handbook of fruit and vegetable flavors [M]. New York: John Wiley and Sons, 2010.
- [3] Ho CT, Chen Q. Lipids in food flavors: an overview [C]. ACS symposium series (USA). 1994.
- [4] Akin A. Determination of fatty acid compositions of some raisin cultivars in Turkey [J]. Asian J Chem, 2011, 23(4): 1819-1821.
- [5] 张明霞, 吴玉文, 段长青. 葡萄与葡萄酒香气物质研究进展[J]. 中国农业科学, 2008, 41(7): 2098-2104.  
Zhang MX, Wu YW, Duan CQ. Progress in study of aromatic compounds in grape and wine [J]. Agric Sci China, 2008, 41(7): 2098-2104.
- [6] Lee JY, Yoo C, Jun SY, *et al.* Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae [J]. Biores Technol, 2010, 101(1): S75-S77.
- [7] Villa-Rodríguez JA, Molina-Corral FJ, Ayala-Zavala JF, *et al.* Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado [J]. Food Res Int, 2011, 44(5): 1231-1237.
- [8] Lu QY, Zhang Y, Wang Y, *et al.* California Hass avocado: profiling of carotenoids, tocopherol, fatty acid, and fat content during maturation and from different growing areas [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(21): 10408-10413.
- [9] 周如金, 顾立军. 不同方法提取核桃仁油研究[J]. 粮油加工与食品机械, 2003, (3): 37-39.  
Zhou RJ, Gu LJ. Study of walnut oil extraction by different methods [J]. Food Proc Mach, 2003, (3): 37-39.
- [10] 李丹华, 朱圣陶. 气相色谱法测定常见植物油中脂肪酸[J]. 粮食与油脂, 2006, 8: 46-48.  
Li DH, Zhu ST. Determination of fatty acids in vegetable oils by gas chromatography [J]. Cereals Oils, 2006, 8: 46-48.
- [11] Marzouki H, Medini H, Khaldi A, *et al.* Fatty acid composition, essential oil and antibacterial activity of berries of *Laurus nobilis* L. [J]. J Ess Oil Bearing Plants, 2009, 12(4): 422-434.
- [12] 牟朝丽, 陈锦屏, 李强, 等. 小白杏杏仁油脂的超声波提取与脂肪酸组成分析[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2006, 37(3): 334-338.  
Mou ZL, Chen JP, Li Q, *et al.* Ultrasonic extraction and analysis of fatty acid composition in the little white apricot almond [J]. J Shandong Agric Univ (Nat Sci Edit), 2006, 37(3): 334-338.
- [13] 彭全材, 宋金明, 李军, 等. 超声萃取-气相色谱法测定扇贝中 30 种脂肪酸[J]. 食品科学, 2012, 33(12): 163-168.  
Peng QC, Song JM, Li J, *et al.* Determination of 30 fatty acid in scallop by ultrasonic extraction gas chromatography [J]. Food Sci, 2012, 33(12): 163-168.
- [14] 唐萍, 鲜欣言, 胡怀容, 等. 超声波辅助提取黄秋葵籽油及其

脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂, 2014, 39(8): 14-17.

Tang P, Xian XY, Hu HR, *et al.* Ultrasonic-assisted extraction of okra seed oil and its fatty acid composition [J]. China Oil Fats, 2014, 39(8): 14-17.

- [15] 孟凡冰, 李云成, 钟耕. 灵芝孢子油的提取及脂肪酸检测[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 42-45.

Meng BF, Li YC, Zhong G. Extraction and determination of fatty acid in ganoderma spore [J]. Food Sci, 2013, 34(2): 42-45.

(责任编辑: 杨翠娜)

## 作者简介



周小梅, 硕士, 主要研究方向食品工程。  
E-mail: zxm\_nnu@163.com



吴广枫, 副教授, 主要研究方向食品化学、食品安全。  
E-mail: Wumaple@vip.sina.com