

文章编号: 1002 4026(2008) 02 0018 03

# 还原糖测定方法的比较

李雪梅<sup>1</sup>, 杨俊慧<sup>1</sup>, 张利群<sup>1</sup>, 孟庆军<sup>1</sup>, 史建国<sup>1,2\*</sup>

(1. 山东省科学院生物研究所, 山东 济南 250014;

2. 山东省生物传感器重点实验室, 山东 济南 250014)

**摘要:** 采用手工费林滴定和还原糖测定仪两种方法测定了不同样品中还原糖含量。对测定结果的对比分析表明: 手工费林试剂法易受很多因素的干扰, 不同测定人员之间的误差较大; 还原糖测定仪的误差范围小、重现性好、准确度较高。

**关键词:** 还原糖; 费林试剂; 还原糖测定仪

中图分类号: Q53; TP212.3 文献标识码: A

## Comparisons of Determination Approaches of Reducing Sugar

LI Xue-mei<sup>1</sup>, YANG Jun-hui<sup>1</sup>, ZHANG Li-qun<sup>1</sup>, MENG Qing-jun<sup>1</sup>, SHI Jian-guo<sup>1,2</sup>

(1. *Institute of Biology, Shandong Academy of Sciences, Jinan 250014, China;*

2. *Provincial Key Laboratory for Biosensors of Shandong Province, Jinan 250014, China*)

**Abstract:** The content of reducing sugar in saccharification processes was determined with reducing sugar analyzer and the conventional approach of Fehling reagent. The results indicate the approach of reducing sugar analyzer is superior to that of Fehling reagent.

**Key words:** reducing sugar; Fehling reagent; reducing sugar analyzer

还原糖测定方法研究和应用已有百年的历史。很多经典的还原糖测定方法如 Lane-Eynong、高锰酸钾滴定等方法至今仍在生产、科研实验室广泛使用<sup>[1]</sup>。在食品及发酵工业中, 费林试剂滴定法常用来测定糖的含量。其特点是简单、方便、设备投入少, 如严格按操作要求, 可以进行准确的测定。但由于反应温度、摇动力度和次数、滴定速度等因素对测定都有影响, 导致不同测定者之间的测定结果出现偏差<sup>[2]</sup>。还原糖测定仪是根据费林试剂法原理而建立的一种还原糖测定方法<sup>[3]</sup>, 它由自动控制系统控制反应温度、搅拌力度和滴定速度。本研究对手工费林试剂滴定和还原糖测定仪测定结果进行了比较, 对产生测定误差的原因进行了探讨, 为进一步提高费林试剂滴定方法的准确度提供了新的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 测试材料

收稿日期: 2007 12 12

基金项目: 山东省科技厅资助项目(200387)

作者简介: 李雪梅(1977-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向为生物传感及生化分析。

\* 通讯作者, E-mail: shijg@keylab.net

### 1.1.1 试剂

费林甲液: 硫酸铜 35.0 g, 1% 次甲基兰 5 mL, 定容至 1000 mL。

费林乙液: 氢氧化钠 126.4 g, 酒石酸甲钠 117.0 g, 亚铁氰化钾 9.4 g, 定容到 1000 mL。

0.203%、0.416%、0.590%、0.822% 标准葡萄糖样品: 分别称取

烘干葡萄糖 2.03 g、4.16 g、5.90 g、8.22 g, 定容到 1000 mL。

### 1.1.2 还原糖测定仪

全自动还原糖测定仪 SGD-III 型, 山东省科学院中日友好生物技术研究中心提供。

## 1.2 方法

### 1.2.1 费林滴定

1.2.1.1 空白试验: 取费林甲乙液各 5 mL 于 250 mL 三角瓶中, 加水 10 mL, 并预先加入 20 mL 0.1% 标准葡萄糖溶液, 混合后于电炉上加热, 使溶液在 2 min 内沸腾, 用 0.1% 标准葡萄糖溶液以每分钟 20 滴的速度滴定至兰色刚好消失, 记录滴定体积。

1.2.1.2 样品滴定: 取费林试液各 5 mL, 加入样品及适量 0.1% 标准葡萄糖溶液, 使其接近终点, 以下操作如空白。滴定时应用 0.1% 标准葡萄糖溶液, 以不超过 1 mL 为宜, 否则应另取样重做。根据滴定液的体积计算还原糖含量。

### 1.2.2 还原糖测定仪操作步骤<sup>[3]</sup>

(1) 开机: 按“开/关”键, 自动启动程序, 仪器自动清洗, 开机完成。

(2) 定标: 按定标键, 费林甲、乙液自动进入反应池。仪器自动进入定标程序, 试剂泵启动后, 用微量注射器将 1.0% 标准葡萄糖溶液 100 $\mu$ L 注入反应池, 完成后仪器自动定标。

(3) 测定: 按分析键, 试剂泵启动后, 用微量注射器将待测葡萄糖样品注入反应池, 自动完成还原糖测定并打印。

## 2 结果与分析

分别在 6 个不同的测定地点(包括生产厂化验室和专业分析部门)用费林试剂滴定法测定不同浓度的标准葡萄糖样品, 结果见表 1。

采用还原糖测定仪分别于 2 月 2 日(测定 1)、2 月 6 日(测定 2)、2 月 8 日(测定 3)、3 月 13 日(测定 4)、3 月 21 日(测定 5)和 3 月 20 日(测定 6)6 次对不同浓度的标准葡萄糖样品进行测定, 测定结果见表 2。

表 1 不同地点对标准葡萄糖样品的测定结果

| 标准葡萄糖(%)      | 0.203 | 0.416 | 0.590 | 0.822 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|
| 测定 1          | 0.44  | 0.61  | 0.93  | 1.11  |
| 测定 2          | 0.22  | 0.44  | 0.62  | 0.87  |
| 测定 3          | 0.40  | 0.54  | 0.65  | 1.00  |
| 测定 4          | 0.16  | 0.36  | 0.56  | 0.76  |
| 测定 5          | 0.19  | 0.46  | 0.64  | 0.84  |
| 测定 6          | 0.18  | 0.44  | 0.58  | 0.90  |
| 平均值 $\bar{x}$ | 0.27  | 0.48  | 0.66  | 0.91  |
| 标准差 $S$       | 0.12  | 0.09  | 0.14  | 0.12  |
| RSD(%)        | 44.4  | 18.8  | 21.2  | 13.2  |

表 2 不同时间对标准葡萄糖样品的测定结果

| 标准葡萄糖(%)      | 0.203 | 0.416 | 0.590 | 0.822 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|
| 测定 1          | 0.241 | 0.466 | 0.613 | 0.844 |
| 测定 2          | 0.216 | 0.417 | 0.588 | 0.813 |
| 测定 3          | 0.197 | 0.422 | 0.596 | 0.841 |
| 测定 4          | 0.203 | 0.411 | 0.597 | 0.817 |
| 测定 5          | 0.203 | 0.402 | 0.571 | 0.796 |
| 测定 6          | 0.193 | 0.406 | 0.585 | 0.796 |
| 平均值 $\bar{x}$ | 0.209 | 0.421 | 0.592 | 0.818 |
| 标准差 $S$       | 0.018 | 0.023 | 0.014 | 0.021 |
| RSD(%)        | 8.61  | 5.46  | 2.36  | 2.57  |

从测试结果能看出: 同一测定地点对不同含量的还原糖测定结果具有可比性; 不同地点对同一还原糖样品测定结果差别较大。总体上还原糖测定仪测定的精密度和准确度明显高于费林试剂滴定法。

## 3 讨论

Fehling 氏试剂由 Fehling 于 1848 年设计, 即硫酸铜碱性酒石酸甲钠溶液, 是最早用于还原糖测定的试

剂。其原理是根据还原糖将  $\text{Cu}^{2+}$  还原成  $\text{Cu}_2\text{O}$  的量来确定还原糖含量。糖和还原的铜量比列关系不是常数,而是依反应时铜过量的多少而不同,一般在 1:5~1:7 之间,属于非化学计量反应<sup>[4]</sup>。因此,费林试剂测定还原糖需要首先进行标定,根据标定数据表查得相应的还原糖含量。

费林试剂滴定时要求保持微沸状态,目的是为了去除溶解氧对指示剂颜色变化产生的干扰。在滴定时通入氮气隔绝空气,就可以避免次甲基蓝被空气中的氧氧化为蓝色,保证了滴定结果的稳定性和重现性<sup>[5]</sup>。臧瑾康等<sup>[6]</sup>采用自身指示剂既斐林试剂中酒石酸钾钠络合物的深蓝色的消失至  $\text{K}_2\text{FeCu}(\text{CN})_6$  为终点,取代国标中直接滴定法次甲基蓝指示剂,减少了终点误差,简化了操作,节约了试剂。

滴定速度快慢和样品溶液消耗量多少都会影响测定结果。在严格控制每两秒一滴的滴定速度下,用 0.1% 葡萄糖标准溶液滴定 10.00 mL 碱性酒石酸铜溶液(甲、乙液各 5.00 mL)约消耗 10.00 mL。当用样品溶液滴定时也应该消耗 10.00 mL 左右,才能使二者保持条件相同,测定结果才准确<sup>[7]</sup>。

还原糖测定仪是根据费林试剂法测定还原糖的原理建立的一种还原糖自动测定系统,能自动控制反应温度、搅拌力度、滴定速度等测定条件,并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,消除了人为操作的各种误差。同手工费林试剂滴定法相比,可以更准确地测定各种样品中还原糖含量。

## 参考文献:

- [1] PERES KG, OLIVERIRA CT, PERES MA, et al. Sugar Content in Liquid oral Medicines for Children[J]. Rev Saude Publica, 2005, 39 (3): 486- 489.
- [2] 史建国,杨俊慧,马耀宏等. 费林氏法测定还原糖误差分析[J]. 发酵科技通讯, 2002, 4: 1- 2.
- [3] 史建国,杨明慧,邱维忠等. 还原糖测定仪的研制[J]. 山东科学, 1999, 12(4): 55- 59.
- [4] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1994: 7- 8.
- [5] 叶海辉,何秀芬,王秀兰. 费林试剂滴定法测定还原糖方法的改进[J]. 热带农业科学, 2001, 3: 5- 6.
- [6] 臧瑾康,李伯才,张朝霞. 食品中还原糖测定的国家标准法的改进[J]. 成都大学学报(自然科学版), 1997, 16(3): 25- 28.
- [7] 李存富,刘爱月,胡玉叶. 样品溶液消耗量对还原糖测定结果的影响[J]. 食品工业科技, 1997, 6: 80.

(上接第 17 页)

## 参考文献:

- [1] 国家药典委员会编,中国药典(二部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 348.
- [2] CLARK LC, LYONS C. The Hydrogen Peroxide Sensing Platinum Anodes as Ananalytical Enzyme Electrode[J]. Ann NY Acad Sci, 1962, 102(2): 29.
- [3] SILVER IA. Enzyme electrode[M]// Kessler M. Ion and Enzyme electrodes in Biology and Medicine. Munich: Urban & Schwarzenberg, 1976: 189- 3320.
- [4] 冯德荣,尚雪琴,张东雁,等. 固定化乳酸酶膜圈的研究[J]. 山东科学, 1990, 3(3): 1- 6.
- [5] 冯伟权,翁发章. 血乳酸与运动训练应用手册[M]. 北京: 人民体育出版社, 1990: 160- 171.
- [6] 张灿丽,曹北斗. SBA-40 型双功能分析仪的应用[J]. 发酵科技通讯, 1994, 23(2): 36.
- [7] 孙士青,王宁,何伟,等. 酶电极法测定葡萄糖注射液中葡萄糖含量的研究[J]. 中国药学杂志, 1994, 29(9): 546.
- [8] 国家药典委员,中国药典(二部注释)[S]. 北京: 化学工业出版社, 1990: 358.
- [9] 朱忠实. 实用医学检验[M]. 北京: 人民军医出版社, 1992: 329.
- [10] Amato I. Looking glass chemistry[J]. Science, 1992, 256(12): 964.
- [11] 曹本昌. 从乳酸饮料谈乳酸[J]. 全国食品添加剂通讯. 1993, 10(3): 25.
- [12] 曹本昌,徐建林. L-乳酸研究综述[J]. 食品与发酵工业, 1993, 17(3): 56.