

分光光度法测定竹芋粉中总还原糖含量

刘宁彰, 黄广民*, 吴蕊

(海南大学食品学院, 海口 570228)

摘要: **目的** 建立竹芋粉中总还原糖含量的 3,5 - 二硝基水杨酸(DNS)比色测定方法。 **方法** 以葡萄糖为标准品, 以 3,5 - 二硝基水杨酸(DNS)为显色剂, 用分光光度法测定竹芋粉中总还原糖的含量。 **结果** 在最大吸收波长为 480 nm, 测得回收率为 98.3% ~ 101.2%, 相对标准偏差为 $\pm 1.7\%$, 竹芋粉中总还原糖含量为 77.83%, 竹芋粉中淀粉含量为 70.05 %。 **结论** 本方法适用于竹芋粉中总还原糖含量的测定。

关键词: 竹芋; 还原糖; 分光光度法

Determination of total content of reducing saccharide in dry powder of *Maranta arundinacea* L. by spectrophotometry

LIU Ning-Zhang, HUANG Guang-Min*, WU Rui

(College of Food Science, Hainan University, Haikou 570228, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of total content of reducing saccharide in *Maranta arundinacea* L.. **Methods** Using glucose as standard and DNS as color developing reagent, the content of total reducing saccharide in *Maranta arundinacea* L. was determined by spectrophotometry. **Results** The maximum absorption wavelength of the sample was 480 nm. The recoveries were 98.3%~101.2% with the relative standard deviation of 1.7%. The content of total saccharide and starch in *Maranta arundinacea* L. were 77.83% and 70.05 %, respectively. **Conclusion** This method is suitable for the detection of total reducing saccharide and starch in *Maranta arundinacea* L..

KEY WORDS: *Maranta arundinacea* L.; reducing saccharide; spectrophotometry

竹芋(*Maranta arundinacea* L.)属竹芋科(*Mrantaceae*)单子叶多年生草本植物, 别名细米薯, 全世界约有 31 个属, 500 余个品种, 它原产于南美洲热带地区, 主要生产国为西印度圣文森特岛^[1]; 分布于美洲、亚洲的热带地区, 东南亚各热带地区均有栽培, 在我国广东、广西、云南、海南等省广为栽培。竹芋匍匐的根状茎上生长着肉质块茎, 肉质块茎富含淀粉, 不含维生素, 蛋白质含量仅 0.2%。竹芋通常在休眠季节

前, 块茎淀粉含量最高时收获。扒根去皮, 加水磨碎, 干燥成粉, 再洗涤数次即得竹芋淀粉。竹芋淀粉非常适宜于制备燃料乙醇。利用竹芋制备乙醇, 既能促进地区经济的发展, 也是落实国家有关用非粮作物生产燃料乙醇能源政策的具体举措^[1-5]。用竹芋制备乙醇, 其淀粉和还原糖的含量是关键性指标, 因此, 有必要测定竹芋粉中总还原糖和淀粉含量。竹芋粉中总还原糖含量的测定, 尚未见文献报道, 为此, 本文开

基金项目: 海口市重点科技计划项目(0000017)

Fund: Supported by Haikou City Key Science and Technology Project(0000017)

*通讯作者: 黄广民, 教授/研究员, 硕士生导师, 主要研究方向为糖及碳水化合物化学和生物质能源。E-mail: hgmin886699@163.com

*Corresponding author: HUANG Guang-Min, Professor/Researcher, Graduate tutor, College of Food Science, Hainan University, No. 58, Renmin Road, Haikou 570228, China. E-mail: hgmin886699@163.com

展这方面的研究,以有利于推动竹芋粉的开发应用。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

竹芋粉:从海口市郊农庄中采收的新鲜竹芋,扒根去皮,切片,烘干,粉碎至80~100目,得含水量为8%~12%竹芋粉。备用。

1.1.2 试剂

分析纯试剂:盐酸、氢氧化钠、酒石酸钾钠、苯酚、亚硫酸氢钠、3,5-二硝基水杨酸、葡萄糖等。

1.2 仪器与设备

721-型分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);EL-204电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);粉碎机;不锈钢高压反应釜和一批玻璃仪器。

1.3 标准溶液的配制

1.3.1 葡萄糖标准溶液的配制

将葡萄糖置于105℃的烘箱中干燥至恒重,准确称取0.1000g于250mL烧杯,加少量蒸馏水溶解,转入100mL容量瓶中,加蒸馏水稀释定容,配成质量浓度为1mg/mL葡萄糖标准溶液^[6]。

1.3.2 3,5-二硝基水杨酸(DNS)溶液的配制

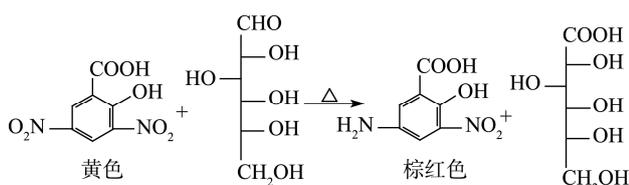
甲液:用刻度吸管吸取15.2mL10%氢氧化钠溶液于250mL烧杯中,加入6.9g重蒸馏的苯酚,加水稀释至69mL,再加入6.8g亚硫酸氢钠,搅拌溶解,摇匀。

乙液:称取30g固体氢氧化钠于1000mL烧杯中,加少量蒸馏水溶解,稀释至300mL。加入225g酒石酸钾钠,搅拌溶解。再加入880mL1%3,5-二硝基水杨酸(DNS)溶液,激烈振摇,使其混合均匀。

将甲液与乙液混合,激烈摇匀,贮于棕色瓶中,置于阴凉处放置一周,备用^[4]。

1.4 实验原理

3,5-二硝基水杨酸与葡萄糖在中性或偏碱性条件下共热被还原,生成棕色氨基化合物,其反应式如下:



在一定范围内,葡萄糖的质量浓度与溶液的吸

光度成正比,利用分光光度法可测定竹芋粉中总还原糖的含量^[6-9]。

1.5 样品处理

分别准确称取5.0000g竹芋粉于聚四氟乙烯塑料杯中,按一定料液比加入一定浓度的稀盐酸溶液,调成粉浆,盖上塑料盖,置于不锈钢反应釜中。当加热温度升至指定温度时开始计时,水解一定时间,水解液转移至250mL烧杯中,用氢氧化钠溶液调pH至5~6,转移至250mL容量瓶中,加蒸馏水稀释定容,摇匀,备用。

1.6 DNS比色测定方法

用刻度吸管分别准确吸取2.0mL上述清液于100mL容量瓶中,加蒸馏水稀释定容,摇匀。从中吸取1.0mL稀释液于50mL容量瓶,加入1.5mLDNS显色剂、2.0mL蒸馏水,在沸水浴中加热5min显色,迅速冷却,加蒸馏水稀释定容,摇匀。另取一50mL容量瓶,按同样的操作方法,加水稀释定容作空白液。选用1cm比色皿,选择适当的吸收波长,分别测定其吸光度,按下式计算水解液中总还原糖的含量^[10-12]。

$$\text{还原糖含量} = \frac{(A + 0.0411) \times 250 \times 100 \times 50}{WM \times 2 \times 1000} \times 100\%$$

式中:A为水解液的吸光度,W为竹芋粉的质量,M为工作曲线的斜率(27.158)。

2 结果与分析

2.1 最大吸收波长的选择

用刻度吸管准确吸取1.0mg/mL葡萄糖标准溶液1.0mL于50mL容量瓶中,按1.6节DNS比色测定方法,配成0.020mg/mL葡萄糖标准溶液,在不同吸收波长处分别测定其吸光度^[10-12],其结果见图1。

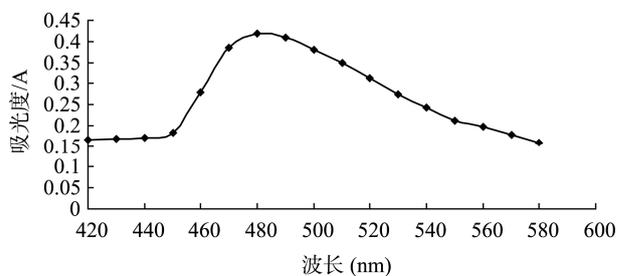


图1 波长与吸光度的关系

Fig. 1 Relationship between wavelength and absorbance

从图1可以看出,最大吸收波长为480 nm,故选择最佳测定波长为480 nm。

2.2 葡萄糖质量浓度对吸光度的影响

在0~1.0 mL范围内,按0.1 mL增序,用刻度吸管分别准确吸取1.0 mg/mL葡萄糖标准溶液于50 mL容量瓶,按1.6节步骤,配成葡萄糖质量浓度为0、0.002、0.004、0.006、0.008、0.010、0.012、0.014、0.016、0.018、0.020 mg/mL标准溶液。选择1 cm比色皿,在最大吸收波长480 nm处,测定其吸光度。以葡萄糖质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准工作曲线^[7-9],结果见图2。

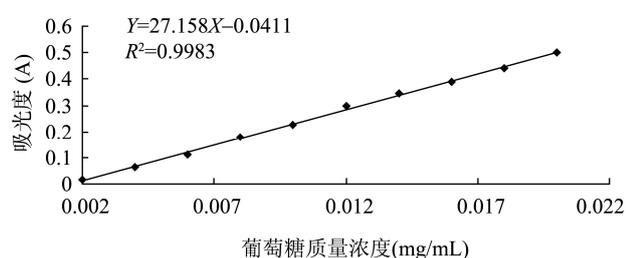


图2 葡萄糖含量测定标准曲线

Fig. 2 Standard curve for glucose determination

从图2可以看出,溶液的吸光度随着葡萄糖质量浓度的增大呈线性增大。作一元回归分析,得到吸光度对葡萄糖质量浓度的回归方程为:

$$Y=27.158X-0.0411 \quad (R^2=0.9983)$$

2.3 盐酸浓度对竹芋粉浆水解的影响

分别准确称取5.0000 g竹芋粉于聚四氟乙烯塑料杯中,按1:20的料液比加入0.1~1.5 mol/L的盐酸溶液,浓度增序为0.1 mol/L,调成淀粉浆。盖上塑料盖子,置于不锈钢高压水解反应釜中,加热升温,当温度达到110 °C时开始计时,水解时间1.0 h,按1.5节和1.6节方法操作,在最大吸收波长480 nm处测定其吸光度^[10-11]。结果见图3。

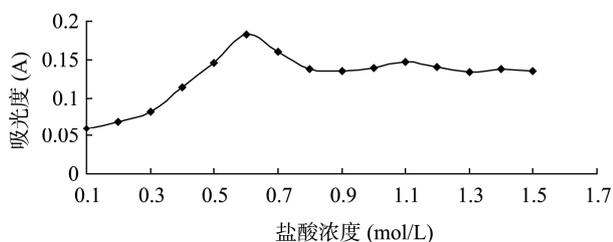


图3 盐酸浓度对竹芋粉浆水解的影响

Fig. 3 Effects of hydrochloric acid concentration on hydrolysis of *Maranta arundinacea* L. powder

从图3可以看出,盐酸浓度<0.6 mol/L时,竹芋粉水解液的吸光度随着盐酸浓度的增大呈线性迅速增大;盐酸浓度为0.6 mol/L时,水解液的吸光度达到最大值,表明竹芋粉中所有淀粉几乎已经全部水解为葡萄糖;盐酸浓度>0.6 mol/L时,其水解液的吸光度随着盐酸浓度的增大,下降至一定值后几乎保持不变。因此,竹芋粉水解最佳盐酸浓度为0.6 mol/L。

2.4 料液比对竹芋粉浆水解的影响^[11]

分别准确称取5.0000 g竹芋粉于聚四氟乙烯塑料杯中,按料液比1:5、1:10、1:15、1:20、1:25、1:30的比例加入0.6 mol/L盐酸溶液,调成淀粉浆。盖上塑料盖子,置于不锈钢高压水解反应釜中,加热升温,当温度达到110 °C时开始计时,水解时间1.0 h,按1.5节和1.6节方法,在最大吸收波长480 nm处测定其吸光度。结果见图4。

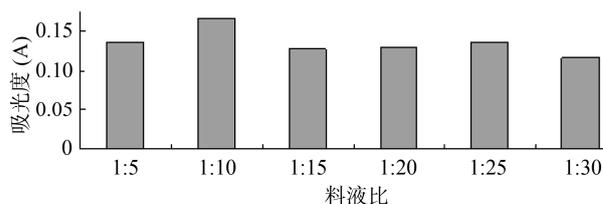


图4 料液比对竹芋粉浆水解的影响

Fig. 4 Effects of ratio of material-liquid on hydrolysis of *Maranta arundinacea* L. powder

从图4可以看出,料液比<1:10时,竹芋粉水解液的吸光度随着料液比的增大而增大;当料液比为1:10时,水解液的吸光度达到最大值;料液比>1:10时,水解液的吸光度随着料液比的增大缓慢下降,最后达到一定值稳定不变。因此最佳料液比为1:10。

2.5 水解温度对竹芋粉浆水解的影响

分别准确称取5.0000 g竹芋粉于聚四氟乙烯塑料杯中,按料液比1:10的比例加入0.6 mol/L盐酸溶液,调成粉浆。盖上塑料盖子,置于不锈钢高压水解反应釜中,加热升温,当温度达到100~130 °C时开始计时,水解温度增序为5 °C,水解时间1.0 h^[10, 11],按1.5节和1.6节方法,在最大吸收波长480 nm处测定其吸光度,结果见图5。

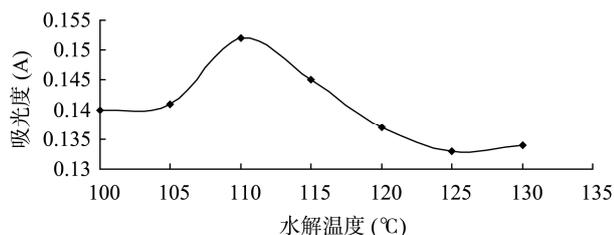


图5 水解温度对竹芋粉浆水解的影响

Fig. 5 Effects of hydrolytic temperature on hydrolysis of *Maranta arundinacea* L. powder

从图5可以看出, 水解温度 < 110 °C 时, 竹芋粉水解液的吸光度随着水解温度的增大迅速增大; 水解温度为 110 °C 时, 水解液的吸光度达到最大值; 水解温度 > 110 °C 时, 水解液的吸光度呈线性迅速下降, 且色泽逐渐加深。这表明竹芋粉水解时, 水解温度升高, 水解液中葡萄糖分解严重, 水解液中副产物增多, 颜色加深。因此竹芋粉水解的最佳温度应为 110 °C。

2.6 水解时间对竹芋粉浆水解的影响

分别准确称取 5.0000 g 竹芋粉于聚四氟乙烯塑料杯中, 按料液比 1:10 的比例加入 0.6 mol/L 盐酸溶液, 调成粉浆。盖上塑料盖子, 置于不锈钢高压水解反应釜中。加热升温, 当温度分别达到 110 °C 时开始计时, 水解时间分别为 0.5 ~ 3 h, 按 1.5 节和 1.6 节方法, 在最大吸收波长 480 nm 处测定其吸光度, 结果见图 6。

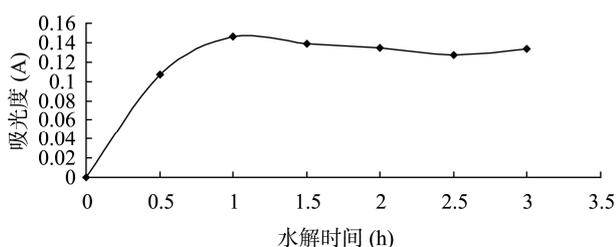


图6 水解时间对竹芋粉浆水解的影响

Fig. 6 Effects of hydrolytic time on hydrolysis of *Maranta arundinacea* L. powder

由图6可以看出, 水解时间 < 1.0 h 时, 竹芋粉水解液的吸光度随着水解时间的增加呈线性迅速增大; 水解时间为 1.0 h 时, 水解液的吸光度达到最大值; 当水解时间 > 1.0 h 时, 随着水解时间的延长, 水解液的吸光度稍微下降而稳定在某一定值不变。可认为水解时间 > 1.0 h 后, 竹芋粉几乎全部水解转化为葡萄糖, 继续延长水解时间, 水解液的吸光度变化不大。考虑到节能和水解周期, 竹芋粉最佳水解时间为 1.0 h。

2.7 竹芋粉水解的正交试验

竹芋粉酸水解的影响因素诸多, 如盐酸浓度、水解温度、水解时间、料液比、粉碎粒度等都是常见的影响因素^[13]。为进一步考察主要的影响因素, 本文选择 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验, 以盐酸浓度、料液比、水解温度、水解时间作为优先考察的参数, 其试验设计见表 1。

其操作方法如下:

分别准确称取 5.0000 g 竹芋粉于聚四氟乙烯塑料杯中, 按 $L_9(3^4)$ 正交表的料液比, 加入一定量的盐酸溶液, 调成淀粉浆。盖上塑料盖子, 置于不锈钢水解反应釜中, 加热升温, 当达到正交表中规定的温度时开始计时, 严格按正交表规定的时间进行水解。按 1.5 节和 1.6 节方法, 在最大吸收波长 480 nm 处测定其吸光度。其试验结果与直观分析见表 2。

由表 2 极差 R 分析可知: 影响竹芋粉水解的因素主次顺序: 料液比(B) > 水解温度(C) > 盐酸浓度(A) > 水解时间(D)。料液比是竹芋粉酸水解主要的影响因素, 其余依次是水解温度、盐酸浓度、水解时间。这表明同等条件下, 竹芋粉浆越稀, 其淀粉越易水解。其原因是粉浆越稀, 竹芋淀粉分子越容易被盐酸溶液中的氢离子催化水解, 反应速度越快; 水解温度越高, 分子热运动越快, 淀粉分子中的 α -糖苷键越易断裂, 越容易被水解。根据正交试验直观分析表可知,

表 1 正交试验水平因素表

Table 1 Factors and levels in $L_9(3^4)$ orthogonal test

水平	因子			
	盐酸浓度(mol/L) (A)	料液比 (B)	水解温度/°C (C)	水解时间/h (D)
1	0.2	1:5	105	0.5
2	0.6	1:15	115	1.5
3	1.0	1:25	125	2.5

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果与极差分析
Table 2 Analysis of variance and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

序号	盐酸浓度(mol/L)	料液比	水解温度(°C)	水解时间(h)	吸光度(A)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.025
2	1	2	2	2	0.094
3	1	3	3	3	0.156
4	2	1	2	3	0.136
5	2	2	3	1	0.141
6	2	3	1	2	0.149
7	3	1	3	2	0.101
8	3	2	1	3	0.105
9	3	3	2	1	0.190
$\overline{K_{1j}}$	0.092	0.087	0.093	0.119	
$\overline{K_{2j}}$	0.142	0.113	0.114	0.115	
$\overline{K_{3j}}$	0.132	0.165	0.133	0.132	
R_j	0.050	0.078	0.040	0.017	

最佳反应组合是 $A_3B_3C_2D_1$, 即盐酸浓度 1.0 mol/L、料液比 1:25、水解温度 115 °C、水解时间 0.5 h, 竹芋粉水解液的吸光度最高, 达到 0.190。

2.8 重现性实验

分别准确称取 5.0000 g 竹芋粉于聚四氟乙烯塑料杯中, 按料液比 1:25 加入 1.0 mol/L 盐酸溶液, 调成粉浆。盖上塑料盖子, 置于不锈钢水解反应釜中。加热升温, 当温度达到 115 °C 时开始计时, 水解时间为 0.5 h。按 1.5 节和 1.6 节方法, 在最大吸收波长 480 nm 处测定其吸光度^[10-11], 其结果见表 3。

表3 竹芋粉还原糖测定的重现性实验
Table 3 Results of repeatability experiment on determination of reducing saccharide in from *Maranta arundinacea* L. powder

吸光度平均值/A	0.128±0.00256
相对平均标准偏差	±2.0%

从表 3 可以看出, 相对平均标准偏差为±2.0%, 重现性好, 相对误差小。根据标准回归曲线和计算公式, 可计算出竹芋粉中总还原糖(葡萄糖)含量为

77.83%。将竹芋粉中总还原糖的含量乘以 0.9 可近似计算竹芋粉中淀粉含量^[14]为 70.05 %。

2.9 回收率实验

分别准确称取 5.0000 g 竹芋粉于聚四氟乙烯塑料杯中, 按料液比 1:25 加入 1.0 mol/L 盐酸溶液, 调成粉浆。盖上塑料盖子, 置于不锈钢水解反应釜。加热升温, 当温度达到 115 °C 时开始计时, 水解时间为 0.5 h。按 1.5 节和 1.6 节方法, 加入 1 mg/mL 标准葡萄糖溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL, 在最大吸收波长 480 nm 处测定其吸光度。其结果见表 4。

由表 4 可以看出, 以葡萄糖作标准品、3,5-二硝基水杨酸(DNS)作显色剂, 测定竹芋粉中总还原糖的含量, 回收率最高为 101.2%、最低为 98.3%, 相对标准偏差为±1.7%, 相对误差小, 回收率高, 效果好^[10-11,15]。

3 结论

本方法操作简便, 重现性好, 可对发酵法制

表 4 竹芋粉浆中总还原糖回收率
Table 4 Recoveries of reducing saccharide from *Maranta arundinacea* L. powder

项目	结果				
水解液中 D-葡萄糖的量(mg/mL)	0.00623				
水解液的吸光度/A	0.128				
加入标准 D-葡萄糖的量(mL)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
溶液的吸光度 A	0.182	0.237	0.291	0.348	0.395
实测得葡萄糖的含量(mg/mL)	0.00821	0.01024	0.01223	0.01433	0.01606
回收率(%)	101.0	100.2	100.0	101.2	98.3
相对标准偏差(%)	+1.0	+0.2	0	+1.2	-1.7

备乙醇的生产中原料及其发酵过程进行还原糖检测。本法实测得竹芋粉中总还原糖含量为 77.83%，竹芋粉中淀粉近似含量为 70.05 %。

参考文献

- [1] 宋新南, 宋爽. 纤维素生物燃料酒精技术的现状及发展方向[J]. 酿酒科技, 2007, 09: 86-87.
Song XN, Song S. Present status and development trend of bio-fuel alcohol production by cellulose [J]. Liquor-Making Sci Technol, 2007, 09: 86-87.
- [2] 徐惠娟, 王世锋, 龙敏南. 燃料酒精生产的研究进展[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(9): 37-42.
Xu HJ, Wang SF, Long MN. Research progress in the production of fuel ethanol [J]. J Xiamen Univ (Natural Sci), 2006, 45(9): 37-42.
- [3] 张扬建, 向威达, 周涛等. 我国燃料乙醇发展现状和趋势分析[J]. 中国能源, 2009, 01: 31-33.
Zhang YJ, Xiang WD, Zhou T, *et al.* Analysis on current status and tendency of fuel ethanol in China [J]. Energ China, 2009, 01: 31-33.
- [4] 孙智谋, 周旭, 刘丽萍. 粮食危机与生物质能的发展动态[J]. 酿酒科技, 2009, 175(1): 102-104.
Sun ZM, Zhou X, Liu LP. Food crisis and the development of bioenergy [J]. Liquor-Making Sci Technol, 2009, 175(1): 102-104.
- [5] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 云南植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1981.
Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of Yunnan [M]. Beijing: Science Press, 1981.
- [6] 张水华. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2010.
Zhang SH. Food Analysis [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2010.
- [7] 罗志刚, 曾满枝, 凌晨, 等. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定烟草中水溶性总糖[J]. 中国烟草科学, 2000, (2): 34-36.
Luo ZG, Zeng MZ, Ling C, *et al.* Colorimetric determination of water-soluble total sugar in tobacco with 3,5-dinitrosalicylic acid [J]. Chin Tob Sci, 2000, (2): 34-36.
- [8] 孙伟伟, 曹维强, 王静. DNS 法测定玉米秸秆中总糖[J]. 食品研究与开发, 2006, (06): 120-122.
Sun WW, Cao WQ, Wang J. Colorimetric determination of water-soluble total sugar in corn stalk with 3,5-dinitrosalicylic acid [J]. Food Res Dev, 2006, (06): 120-122.
- [9] 赵凯, 许鹏举, 谷广焯. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. 食品科学, 2008, (08): 534-536.
Zhao K, Xue PJ, Gu GY. Study on determination of reducing sugar content using 3,5-dinitrosalicylic acid method [J]. Food Sci, 2008, (08): 534-536.
- [10] 黄广民, 刘秋实. 香蕉根部球茎干粉中还原糖含量的测定[J]. 食品科学, 2008, 29(08): 485-488.
Huang GM, Liu QS. Determination of total reducing saccharide in banana root solid bulb powder [J]. Food Sci, 2008, 29(08): 485-488.
- [11] 李谊轩, 黄广民. 参薯干粉中总还原糖含量的测定[J]. 食品科技, 2011, (09): 322-326.
Li YX, Huang GM. Determination of total reducing saccharide in *Dioscorea alata* Linn [J]. Food Sci Technol, 2011, (09): 322-326.
- [12] 大连轻工业学院, 等. 食品分析 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
Dalian Institute of Light Industry, *et al.* Food Analysis [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1999.

- [13] 赵巍. 影响食品中还原糖测定的因素[J]. 辽宁化工, 2001, 30(10): 463-464.
Zhao W. Main factors to affect determination result of reducing sugar content in food [J]. Liaoning Chem Ind, 2001, 30(10): 463-464.
- [14] 杨志敏, 蒋立科. 生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
Yang ZM, Jiang LK. Biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press, 2009.
- [15] Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar[J]. Anal Chem, 1959, 31(3): 426-428.

(责任编辑: 佟丽)

作者简介



刘宁彰, 硕士, 主要研究方向为糖及碳水化合物化学和生物质能源。
E-mail: lnz886@163.com



黄广民, 教授/研究员, 硕士生导师, 主要研究方向为糖及碳水化合物化学和生物质能源。
E-mail: hgmin886699@163.com