

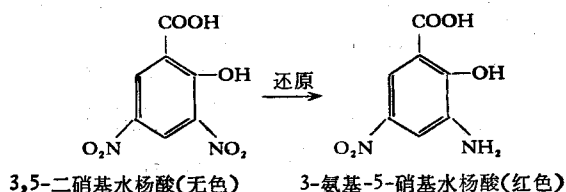
用 比 色 法 测 定 果 糖

蒋 立 科 唐 鑫 生

(徽州师范专科学校, 安徽屯溪市)

果糖是生物组织里一种重要的糖类, 是衡量水果、甘蔗、甜菜等甜度的重要指标。生产上测定果糖都是用测定还原糖的碘量法, 但常因测定体积过大或果糖含量低造成误差, 而且重复性不好。本文报道作者以比色法代替碘量法, 经过多年实际应用表明, 比色法操作快速、计算简便, 结果准确, 适合生产上大量样品的测定。

的单糖和双糖叫还原糖。还原糖能使 3, 5-二硝基水杨酸还原成棕色的 3-氨基-5-硝基水杨酸^[1]。后者用分光光度计测定。



但含有果糖的样品, 也伴随葡萄糖的存在, 因此, 测定果糖需在碱性条件下先将葡萄糖氧化。我们采用波钦诺克方法^[2]氧化葡萄糖。

一、方法原理

含有自由醛基 (-CHO-) 或酮基 (>C=O)

汁或血清中 XOD 含量测定。

本文承陈燧康教授审阅, 特此致谢。

(上接第67页)

型谷胱甘肽、DL-半胱氨酸和维生素 C, 发现三者均能使空白管的吸光度加深(见表 3)。在作最适 pH 研究时还发现 pH 越大, 非特异性还原反应越强, 这点与前人报告的一致^[10]。此外, Roger 认为某些酰胺类化合物亦可使 NBT 还原^[11]。

参 考 文 献

- [1] Spence, J. T., et al.: *Biochem.*, 21: 1656—61, 1982.
- [2] 武内忠男、小川和朗著, (朱逢春等译): 《新酶的组织化学》, p. 157—60, 1983.
- [3] 花田寿郎等: 临床检查·机器试薬 (日), VIII (3): 629—35, 1985.
- [4] Nishikawa, Y., et al.: *Clin. Chem.*, 31(1): 103—5, 1985.
- [5] 馆下孝光等: 临床检查·机器试薬 (日), VIII (2): 348—55, 1985.
- [6] 佐佐木 禎一等: 同上, VIII (4): 916—25, 1985.
- [7] Guibault, G. G. 著, (缪辉南、陈石根译): 《酶法分析手册》p. 157—60, 1983.
- [8] Nachlas, M. M., et al.: *J. Biol. Chem.*, 235(2): 499—503, 1960.
- [9] 吴果诚等: 《中华医学检验杂志》, 6(1): 202—5, 1983.
- [10] 杨振华: 《同工酶的测定》, p. 20, 1979.
- [11] Roger, N. J., et al.: *Clin. Chim. Acta*, 127: 87—95, 1983.

表 3 各种物质的干扰反应

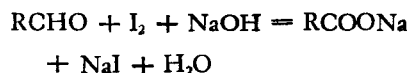
加入物(mg/管)	A		
	0	5	10
还原型谷胱甘肽	0.180	0.48	0.62
半 胱 氨 酸	0.175	0.69	0.88
维 生 素 c	0.180	0.82	0.99

十、重复性试验:

用同一份标本同时进行 20 次测定, 其结果为 $1322 \pm 57 (\bar{X} \pm 2SD)$ U/dl, 其批内 CV 为 2.0%。

我们认为, 本法简单、快速、还可适用于乳

[本文于 1986 年 1 月 7 日收到]



因此,使用这个方法可以测定果糖含量,并在已知还原糖含量的情况下,推算出葡萄糖的含量。

二、测定方法

1. **样品液的制备** 用移液管吸取 1ml (视样品含单糖量高低而定) 分析液放入 50ml 容量瓶中,加入 1 滴酚酞 (0.1%), 用 0.4N 的 NaOH 中和。在加入 NaOH 时,应逐滴加入,直至溶液颜色出现玫瑰色。然后加入 5ml 0.05N 的碘液、1ml NaOH 混匀,静置 10 分钟。这时葡萄糖被碘氧化。经过 10 分钟加入 1ml 0.4N 盐酸,并用新配置的 0.05N 亚硫酸钠滴定,使未反应的碘退色。亚硫酸钠可用滴定管加至溶液呈麦杆黄色为止。最后加入 4 滴 0.5% 淀粉液,并滴定到蓝色消失。其反应按下述方程式进行: $\text{I}_2 + \text{Na}_2\text{SO}_3 + \text{H}_2\text{O} = \text{Na}_2\text{SO}_4 + 2\text{HI}$

反应中形成的碘氢酸,必须立即用碱中和,以避免二糖水解。在黄色消退后用 0.4N Na_2OH 中和,以 1 滴酚酞作指示剂。溶液用蒸馏水稀释至 50ml,并仔细混匀,留待比色测定。

2. **标准曲线的制作** 在一组 10ml 容量瓶中 (1—11 号), 分别加入标准果糖 (mg/ml) 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2.0ml, 加水至 5ml, 再加 1% 3, 5-二硝基水杨酸 1.5 ml, 放在沸水浴上保温 5 分钟, 立即取出, 用流动冷水冷却, 用蒸馏水稀释至刻度。混匀后在 721 型分光光度计上 (在波长 520nm 处比色) 测定, 用空白管溶液调零点, 记录光密度值, 以果糖浓度为横座标, 光密度值为纵座标绘制标准曲线。

3. **样品中果糖含量的测定** 取样品液 1ml (视含果糖量高低而定) 放入 10ml 容量瓶中加

蒸馏水 4ml 和 1.5ml 3, 5-二硝基水杨酸溶液, 放入沸水浴中保温 5 分钟, 立即用流动冷水冷却, 加蒸馏水至刻度, 并混匀进行比色测定。然后在标准曲线上查出相应的还原糖含量, 按下述公式计算出样品内果糖的百分含量。

$$\text{果糖}\% = \frac{\text{果糖毫克数} \times \text{样品稀释倍数}}{\text{样品重(g)}} \times 100$$

三、结果与讨论

用比色法测定野生水果木通科 (*Lardizabalaceae*) 的八月炸 [*Akebia trifoliata* (Thunb.) Koidz] 和五叶瓜藤 [*Holboellia fargesii* Reaub] 成熟新鲜果实中果糖含量, 与用波钦诺克碘量法测定结果相比较, 两者基本相符合。

表 1 两种测定方法所获结果的比较

方法 样品	碘量法(%)	比色法(%)	误差
八月炸	3.123	3.060	-0.063
五叶瓜藤	1.053	1.081	+0.026

1. 制备样品液需用盐基性碱式盐去除蛋白。由于本测定是比色法, 因此用硫酸锌而不用硫酸铜。

2. 测定果糖时, 样品是用碘氧化葡萄糖, 而本测定又是用亚硫酸钠氧化多余碘。为了避免生成的碘氢酸水解二糖, 导致测定误差, 应尽快用碱中和, 以保证测试的准确性。

3. 葡萄糖氧化最完全是在碱的滴定度 1.6 倍时。因此, 在测定样品中果糖时, 需注意反应的酸碱度, 严格按照规定数量加入有关试剂。

参 考 文 献

- [1] Sumner, J. B.: *J. Biol. Chem.*, **47**, 391, 1921.
- [2] X. H., 波钦诺克著: 《植物生物化学分析方法》(中译本), 第 140—141 页, 科学出版社, 1976.

[本文于 1986 年 2 月 4 日收到]

(上接第 77 页)

参 考 文 献

- [1] Davis, R. W. et al.: *Advanced Bacterial Genetics* (1st ed.), Cold Spring Harbour Laboratory, New

York, 1971, 1980.

- [2] Maxam, A. M. et al.: *Methods Enzymol.*, **65**, 499, 1980.

[本文于 1986 年 4 月 21 日收到]