

# 马铃薯还原糖含量测定方法的比较研究

崔辉梅, 石国亮, 安君和 (1. 石河子大学农学院园艺系, 新疆石河子 832003; 2. 石河子大学农学院农学系, 新疆石河子 832003)

**摘要** 用3种不同的3,5-二硝基水杨酸比色法测定不同马铃薯品种块茎中还原糖含量, 结果表明: 方法二的准确性和精密性均好于其余2种方法, 且操作简便。

**关键词** 马铃薯; 还原糖; 比色法; 3,5-二硝基水杨酸

中图分类号 S532 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)19-4821-03

## Comparison Study on the Testing Method of the Content of Reduced Sugar in Potato

CUI Hui-mei et al (Department of Horticulture, Agriculture College, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003)

**Abstract** Three kinds of different methods of 3,5-dinitrosalicylic Acid (DNS) were used to analyze the content of reduced sugar of potato with spectrophotometry. The results showed that the accuracy and precision of the second method was better than the other two methods, and also, it was more convenient.

**Key words** Potato; Reduced sugar; Spectrophotometry; 3,5-dinitrosalicylic Acid (DNS)

当前马铃薯资源开发利用的重点是食品加工<sup>[1]</sup>, 食品加工要求马铃薯块茎还原糖含量要低, 其还原糖含量是决定马铃薯炸片炸条加工品质的重要因素。因为在油炸过程中还原糖与氮化合物的-氨基酸进行所谓的美拉德反应(Millard Reaction)<sup>[2,3]</sup>, 致使薯片薯条表面颜色加深为不受消费者欢迎的棕褐色<sup>[4]</sup>。在同一品种马铃薯块茎中, 还原糖含量会随着储藏温度、储藏时间长短的不同而发生变化<sup>[5,6]</sup>。此外, 还发现还原糖含量高的马铃薯易受病原菌的侵染引起环腐病<sup>[7]</sup>。因此对马铃薯块茎中还原糖的快速、准确测定在马铃薯生产、加工以及选育中都具有重要的意义。笔者采用3种不同的3,5-二硝基水杨酸比色定糖法对马铃薯还原糖含量进行测定比较, 以期选择出简便、准确的测定方法。

## 1 材料与方 法

**1.1 试验材料** 试验材料为紫花白、底西芮、甘薯2号和费乌瑞他。2005年4月20日种于石河子大学农学院实验站, 8月25日开始收获。收获后每个品种随机取10个块茎, 测定还原糖含量。

## 1.2 试验方 法

**1.2.1 测定方法。** 分别用3种不同的3,5-二硝基水杨酸比色法对4个马铃薯品种进行还原糖含量测定, 3次重复。

**1.2.1.1 方法1。** 准确称取切碎的马铃薯样品10g, 加5~10ml 85%的乙醇磨碎, 再加25ml 上述乙醇磨成匀浆。在55℃恒温水浴中浸提0.5h, 其间摇动数次, 将上清液过滤入100ml 容量瓶, 滤渣用25ml 85%的乙醇提取2次, 一并过滤入容量瓶, 用85%的乙醇定容至100ml 备用。吸取提取液1ml 置于试管中, 加入1ml 蒸馏水和1.5ml DNS(3,5-二硝基水杨酸)试剂, 空白以2ml 蒸馏水代替样品溶液。混合液在沸水中加热5min, 用自来水冷却后加入蒸馏水, 至25ml, 摇匀, 在分光光度计520nm 波长下比色并测定其光密度。标准曲线的绘制过程参照文献[8]。

**1.2.1.2 方法2。** 准确称取切碎的马铃薯样品10g, 捣碎, 加40ml 的水置于50℃恒温水浴中浸提20min, 使还原糖浸出, 离心, 用20ml 蒸馏水洗残渣, 再离心, 将2次离心的上清液

全部收集在100ml 的容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 混匀, 作为还原糖待测液。然后进行吸光度测定。吸取待测液2ml 置于试管中, 再加入3,5-二硝基水杨酸试剂1.5ml, 在沸水中加热5min, 用自来水冷却后加入蒸馏水至25ml, 摇匀, 在分光光度计540nm 波长下比色并测定其光密度。标准曲线的绘制过程参照文献[9]。

**1.2.1.3 方法3。** 称取切碎的马铃薯样品10g, 捣碎, 取捣碎液置50ml 容量瓶中, 加水至30ml 左右, 80℃水浴中提取0.5h, 其间摇动数次, 取出立即加入2ml 乙酸锌溶液和2ml 亚铁氰化钾溶液, 摇匀, 冷却, 离心定容, 滤液备用。用移液管吸取样液5ml, 用蒸馏水补充至10ml, 加3,5-二硝基水杨酸溶液2.5ml 摇匀, 置沸水中煮5min, 取出后以流水冷却, 2min 后比色, 用空白调零, 用分光光度计在540nm 波长处测定吸光度值。标准曲线的绘制过程见文献[10]。

3种方法的结果计算均在标准曲线中查出相应的还原糖含量, 按以下公式计算样品中还原糖的百分含量:

鲜样还原糖含量 =

$$\frac{\text{还原糖毫克数} \times (\text{提取液体积} / \text{显色时所用体积})}{\text{样品质量} \times 1000} \times 100\%$$

**1.2.2 回收率试验。** 采用标准加入法, 在已知还原糖含量的样品液中精密加入2mg 标准葡萄糖溶液, 6次重复。

$$\text{回收率} = \frac{\text{加标准试样测定值} - \text{试样测定值}}{\text{加标量}} \times 100\%$$

**1.2.3 精密度试验。** 采用3种方法分别对2个马铃薯品种样品重复测定20次, 得出标准偏差值和变异系数, 以考察方法的精密性。

**1.2.4 数据处理。** 试验数据通过EXCEL2000处理, 通过平均数、标准差、变异系数来分析样品回收率和精密度, 采用成对数据比较和q法进行3种方法的差异显著性分析。

## 2 结果与分析

**2.1 3种测定方法的标准曲线** 采用系列浓度标准溶液测定吸光度(表1), 获得还原糖的标准曲线(图1)。

方法1的回归方程  $y = 1.0657x - 0.0087$ , 式中  $y$  为吸光值,  $x$  为还原糖量, 相关系数  $R^2 = 0.9991$ ; 方法2的回归方程  $y = 0.5239x - 0.0031$ ,  $R^2 = 0.999$ ; 方法3的回归方程  $y = 2.2918x + 0.0218$ ,  $R^2 = 0.9991$ 。表明3种方法测定的标准曲线可用于数据的分析。

表1 3种3,5-二硝基水杨酸法测定的标准曲线值

方法1		方法2		方法3	
葡萄糖标准液 mg	吸光值	葡萄糖标准液 mg	吸光值	葡萄糖标准液 mg	吸光值
0	0	0	0	0	0
0.1	0.091	0.2	0.096	0.1	0.273
0.2	0.195	0.4	0.198	0.2	0.474
0.3	0.319	0.6	0.324	0.3	0.719
0.4	0.417	0.8	0.420	0.4	0.946
0.5	0.521	1.0	0.519	0.5	1.168
0.6	0.634	1.2	0.622	0.6	1.384

注:葡萄糖标准溶液1 ng/ml。

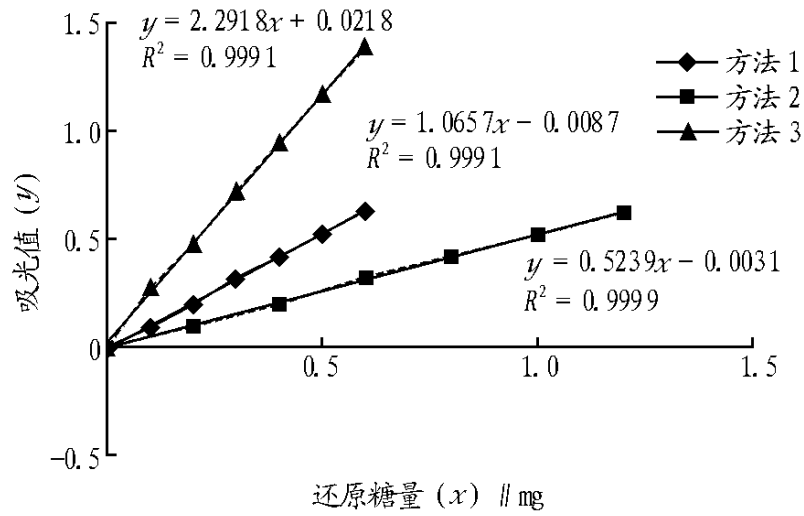


图1 3种3,5-二硝基水杨测定法的标准曲线

2.2 3种方法测定不同马铃薯品种还原糖的比较 3种方法测定4个马铃薯品种还原糖的含量见(表2),采用q法对

不同马铃薯还原糖的测定结果进行方差分析(表3,4)。分析结果表明,对于甘薯2号和底西芮2个品种来讲,当 $p = 2$ 时, $y_1 - y_2 < LSR_{0.05}$ , $y_2 - y_3 < LSR_{0.05}$ ,当 $p = 3$ 时, $y_1 - y_3 < LSR_{0.05}$ ,差异不显著。对于紫花白来讲,当 $p = 2$ 时, $y_2 - y_1 < LSR_{0.05}$ , $y_1 - y_3 < LSR_{0.05}$ ;当 $p = 3$ 时, $y_2 - y_3 < LSR_{0.05}$ ,差异不显著。对于费乌瑞他来讲,当 $p = 2$ 时, $y_2 - y_3 < LSR_{0.05}$ , $y_3 - y_1 < LSR_{0.05}$ ;当 $p = 3$ 时, $y_2 - y_1 < LSR_{0.05}$ ,差异不显著。说明采用3种方法测定4个马铃薯品种还原糖没有显著性差异。

表2 3种方法测定马铃薯品种还原糖含量 %

品种	方法	还原糖含量			平均值
		I	II	III	
甘肃2号	1	0.153	0.162	0.168	0.161
	2	0.141	0.155	0.166	0.154
	3	0.139	0.150	0.131	0.140
紫花白	1	0.255	0.246	0.240	0.247
	2	0.269	0.237	0.256	0.254
	3	0.233	0.225	0.235	0.231
底西芮	1	0.235	0.226	0.232	0.231
	2	0.249	0.223	0.221	0.231
	3	0.235	0.220	0.223	0.226
费乌瑞他	1	0.708	0.698	0.685	0.697
	2	0.733	0.707	0.723	0.721
	3	0.719	0.709	0.711	0.713

表3 不同马铃薯品种还原糖含量方差分析

品种	变异来源	DF	SS	MS	F	显著 F 值
甘肃2号	方法处理间	2	$6.68 \times 10^{-4}$	$3.43 \times 10^{-4}$	3.36	$F_{0.05}(2,6) = 5.14$
	方法处理内(误差)	6	$6.1 \times 10^{-4}$	$1.02 \times 10^{-4}$		$F_{0.01}(2,6) = 10.92$
	总	8	$1.3 \times 10^{-3}$			
紫花白	方法处理间	2	$8.34 \times 10^{-4}$	$4.17 \times 10^{-4}$	3.64	$F_{0.05}(2,6) = 5.14$
	方法处理内(误差)	6	$6.88 \times 10^{-4}$	$1.15 \times 10^{-4}$		$F_{0.01}(2,6) = 10.92$
	总	8	$1.52 \times 10^{-3}$			
底西芮	方法处理间	2	$6.5 \times 10^{-4}$	$3.25 \times 10^{-4}$	2.91	$F_{0.05}(2,6) = 5.14$
	方法处理内(误差)	6	$6.88 \times 10^{-4}$	$1.15 \times 10^{-4}$		$F_{0.01}(2,6) = 10.92$
	总	8	$1.32 \times 10^{-3}$			
费乌瑞他	方法处理间	2	$8.96 \times 10^{-4}$	$4.48 \times 10^{-4}$	4.04	$F_{0.05}(2,6) = 5.14$
	方法处理内(误差)	6	$6.66 \times 10^{-4}$	$1.11 \times 10^{-4}$		$F_{0.01}(2,6) = 10.92$
	总	8	$1.56 \times 10^{-3}$			

表4 不同马铃薯品种还原糖含量 LSR 值的计算 q 测验

品种	P	$q_{0.05}$	$q_{0.01}$	$LSR_{0.05}$	$LSR_{0.01}$	$y_1 - y_2$	$y_2 - y_1$	$y_2 - y_3$	$y_1 - y_3$	$y_3 - y_1$
甘肃2号	2	3.46	5.24	0.020	0.031	0.007		0.014		
	3	4.34	6.33	0.025	0.037				0.021	
紫花白	2	3.46	5.24	0.021	0.032		0.007		0.016	
	3	4.34	6.33	0.027	0.039			0.023		
底西芮	2	3.46	5.24	0.021	0.032	0.015	0.005			
	3	4.34	6.33	0.026	0.039				0.020	
费乌瑞他	2	3.46	5.24	0.020	0.031			0.008		0.016
	3	4.34	6.33	0.026	0.038		0.024			

2.3 3种测定方法的回收率比较 一种测定方法是否准确可靠,可以通过回收率来反映(葡萄糖溶液浓度1 ng/ml,标量为2 ml)。结果表明(表5):方法2测得的回收率为96.8%,准确性最高。

2.4 3种测定方法的精密度比较 采用3种方法分别对2个

马铃薯品种的样品重复测定20次,以考察每种实验方法的精密度(表6)。由所得的数据计算3种方法之间的标准偏差(S)和变异系数(CV)表明(表7),方法2的标准偏差和变异系数均小于其他2种方法,其精确性较高。

表5 3种方法回收率比较

重复数	方法1				方法2				方法3			
	吸光值		还原糖量 %		吸光值		还原糖量 %		吸光值		还原糖量 %	
	加标样前	加标样后	加标样前	加标样后	加标样前	加标样后	加标样前	加标样后	加标样前	加标样后	加标样前	加标样后
1	0.489	1.625	0.928	3.071	0.116	1.133	0.224	2.143	1.326	1.746	5.694	7.528
2	0.368	1.493	0.699	2.822	0.121	1.145	0.233	2.166	1.358	1.758	5.878	7.699
3	0.448	1.576	0.851	2.979	0.112	1.148	0.216	2.171	1.293	1.708	5.572	7.393
4	0.457	1.568	0.867	2.964	0.119	1.141	0.229	2.158	1.276	1.691	5.476	7.289
5	0.526	1.614	0.997	3.051	0.125	1.138	0.241	2.152	1.302	1.723	5.589	7.428
6	0.514	1.612	0.975	3.046	0.114	1.560	0.220	2.186	1.331	1.762	5.716	7.598
平均回收率 %	105.7				96.8				92.0			

注:方法1、2 加还原糖0.5 ml,方法3 加还原糖3 ml。

表6 3种方法测定的2个马铃薯品种还原糖含量

重复数	方法1				方法2				方法3			
	甘肃2号		底西芮		甘肃2号		底西芮		甘肃2号		底西芮	
	吸光值	还原糖 %	吸光值	还原糖 %	吸光值	还原糖 %	吸光值	还原糖 %	吸光值	还原糖 %	吸光值	还原糖 %
1	0.251	0.173	0.262	0.245	0.471	0.161	0.484	0.225	0.481	0.145	0.451	0.184
2	0.254	0.175	0.260	0.243	0.469	0.160	0.481	0.224	0.479	0.144	0.454	0.185
3	0.250	0.172	0.268	0.251	0.475	0.163	0.489	0.228	0.485	0.146	0.461	0.188
4	0.259	0.178	0.261	0.244	0.473	0.162	0.486	0.226	0.489	0.148	0.455	0.186
5	0.256	0.176	0.270	0.252	0.470	0.161	0.482	0.224	0.482	0.145	0.458	0.187
6	0.260	0.179	0.255	0.239	0.468	0.159	0.431	0.201	0.486	0.147	0.353	0.143
7	0.252	0.174	0.275	0.257	0.474	0.162	0.488	0.227	0.481	0.145	0.457	0.186
8	0.255	0.176	0.269	0.252	0.568	0.195	0.496	0.231	0.496	0.150	0.452	0.184
9	0.258	0.178	0.268	0.251	0.467	0.160	0.479	0.223	0.405	0.120	0.460	0.188
10	0.253	0.174	0.263	0.246	0.477	0.164	0.483	0.225	0.554	0.168	0.453	0.185
11	0.257	0.177	0.267	0.250	0.472	0.162	0.491	0.229	0.494	0.149	0.434	0.176
12	0.254	0.175	0.306	0.286	0.462	0.158	0.487	0.227	0.476	0.143	0.459	0.187
13	0.250	0.172	0.264	0.247	0.464	0.158	0.485	0.226	0.561	0.184	0.463	0.189
14	0.283	0.195	0.265	0.248	0.539	0.185	0.484	0.225	0.477	0.144	0.456	0.186
15	0.195	0.135	0.266	0.249	0.472	0.162	0.514	0.238	0.488	0.147	0.465	0.190
16	0.269	0.185	0.262	0.245	0.480	0.165	0.486	0.226	0.484	0.146	0.432	0.175
17	0.251	0.173	0.268	0.251	0.473	0.162	0.487	0.227	0.439	0.132	0.451	0.184
18	0.256	0.176	0.263	0.246	0.471	0.161	0.485	0.226	0.487	0.147	0.453	0.185
19	0.259	0.178	0.265	0.248	0.470	0.161	0.444	0.227	0.481	0.145	0.507	0.208
20	0.255	0.176	0.267	0.250	0.474	0.162	0.489	0.228	0.485	0.146	0.454	0.185

表7 3种测定方法精密度比较

测定方法	S		CV %	
	甘薯2号	底西芮	甘薯2号	底西芮
方法1	0.0107	0.0094	6.08	3.76
方法2	0.0092	0.0078	5.61	3.47
方法3	0.0121	0.0117	8.65	6.36

### 3 结论与讨论

采用3种不同的3,5-二硝基水杨酸比色法对马铃薯块茎鲜样中的还原糖含量进行测定,结果表明,3种方法测定不同马铃薯品种,其还原糖量之间无显著性差异。其中方法2精确度和准确性最高;方法1在实验中使用了乙醇,在浸提过程中还原糖有效地抑制了淀粉的糊化,使操作更加简便,且精确度和准确性较好;方法3中加入了乙酸锌和亚铁氰化钾试剂,据前人的试验结果是可以沉淀马铃薯块茎中的蛋白质,以制备得到纯清样品液<sup>[10]</sup>,但本实验中其结果不太明显。因此,在今后的实验过程中,可将方法2进行改进,即在马铃薯的研磨和还原糖的浸提过程中使用乙醇,使其操作更加简

便,同时在实验过程中加入乙酸锌溶液和亚铁氰化钾溶液,以制备得到纯清样品液,使得测定结果更加精确,操作过程更加简便。

#### 参考文献

- [1] 孔凡真. 马铃薯产品开发大有可为[J]. 中国食品,1998(9):43-44.
- [2] 王延平,赵谋明,彭志英,等. 美拉德反应产物抗氧化性能研究进展[J]. 食品与发酵工业,1998(1):70-73.
- [3] STEHCA HORVAT, MAJA ROŠC, JAROSLAV HORVAT. Synthesis of hexose-related imidazolidinones: Novel glycation products in the Millard reaction[J]. Springer Netherlands, 1999(16):391-398.
- [4] 谢开云,屈冬玉,金黎平,等. 我国炸片用马铃薯原料薯生产中存在的问题与对策[J]. 中国马铃薯,2001(6):355-357.
- [5] 司怀军,戴朝曦,田振东. 贮藏温度对马铃薯块茎还原糖含量的影响[J]. 西北农业学报,2001,10(1):22-24.
- [6] 段艳平,闫建英. 马铃薯生产机械化技术[J]. 山西农机,2005(1):10.
- [7] 李寿文,李玉芳. 对马铃薯薯块中还原糖测定方法的改进[J]. 甘肃农业科技,1996(9):16-17.
- [8] 蒋德安. 植物生理学实验指导书[M]. 成都:成都科技大学出版社,1999:63-64.
- [9] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [10] 梅文泉,隋启君,俱注,等. 马铃薯块茎中还原糖测定的一种方法[J]. 云南农业科技,2003(3):23-24.