棉纤维含糖量的紫外分光光度测定法研究*

徐　傅　丁　渌　周新文　尚亚南　由宝昌
（塔里木农垦大学）

【摘要】 本文研究了紫外分光光度法测定棉纤维可溶性总糖的最佳实验条件，测得条件摩尔吸光系数 $\varepsilon^{282}=1.23\times10^4 l/(mol\cdot cm)$，总糖回收率为 99.4%，相对标准偏差为 3 %。本文对大量棉样进行了测定，结果满意，方法简便、快速、准确。

棉纤维含糖量测定方法已报道的有目视比色法和可见光分光光度法[1],[2],[3],[4]。本文对紫外分光光度法测定棉纤维可溶性总糖进行了较系统的研究，确定了最佳实验条件，运用数理统计方法得出统一的回归方程，利用计算机处理数据，便于对大量棉样进行重复测定。通过对 195 个棉种，2100 个棉样进行测定表明，该方法操作快速、简便，是一种灵敏度高，线性范围宽，重复性好的分光光度法。

棉纤维可溶性总糖主要含有葡萄糖、果糖和蔗糖，它们是产生粘性的主要成分。蔗糖分子在酸作用下水解成一个分子的 α-D-葡萄糖和一个分子的 β-D-果糖。葡萄糖和果糖都可以在酸性或碱性溶液中进行烯醇化反应，生成烯二醇化合物，而葡萄糖和果糖经浓硫酸脱水作用生成羟甲基糠醛的反应速率决定于烯醇化速率[5]。我们的工作表明，在最佳实验条件下，葡萄糖和果糖的工作曲线和回归方程均无显著差异，可以将两个回归方程合并成一个方程。

一、实　　验

1. 仪器和试剂

751G 分光光度计（上海分析仪器厂）；浓硫酸 A.R.（98%，$d=1.841$）；沉淀剂：0.3N $Ba(OH)_2$，0.3N $ZnSO_4$；糖标准溶液：称取葡萄糖（或果糖、蔗糖）（0.1000±0.0001）g，稀释至 100.0ml 作贮备液。取 10.0ml 贮备液稀释至 50.0ml，作为糖标准溶液。

2. 实验方法

分别取糖标准溶液0、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.45、0.50 ml，放入 10ml 容量瓶中，加蒸馏水补足至 0.50ml，摇匀。用切去尖端的移液管从靠近液面上部处，将 3ml 浓硫酸直接加到液面上，自然冷却后，放入沸水浴中加热 5min。取出后冷却至室温，再分别用蒸馏水定容至 10ml，摇匀后流水冷却。在 282nm 处用 1cm 比色杯，以空白溶液为参比测量吸光度。

二、结果与讨论

1. 紫外分光光度测定

按实验方法中的操作步骤，在不同波长下测量葡萄糖、果糖和蔗糖的吸光度。实验表明，三种糖在波长 282nm 处均有一个最大吸收峰。图 1 绘出了葡萄糖、果糖和空白溶液的吸收曲线。

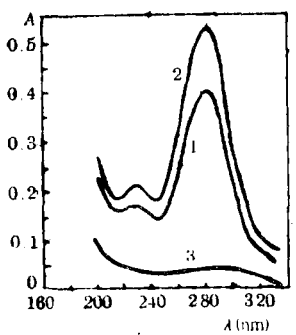

图 1　葡萄糖、果糖、空白溶液的吸收曲线

1—葡萄糖（6μg/ml）；2—果糖（8μg/ml）；3—空白溶液。

2. 温度、时间和酸度的选择

本方法选择加入浓硫酸 3ml，沸水浴加热 5min，实验表明在此条件下，葡萄糖、果糖和蔗糖的吸光度均为最大，浓度相同时，其吸光度值也较接近。

*国家自然科学基金资助项目子课题。

表 1 三种糖的吸光度值

C(μg/ml)	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00	6.00	7.00	8.00	9.00	10.0
葡萄糖	0.078	0.134	0.200	0.274	0.334	0.393	0.460	0.528	0.588	0.651
果糖	0.079	0.137	0.205	0.278	0.336	0.405	0.467	0.532	0.596	0.670
蔗糖	0.081	0.144	0.211	0.286	0.343	0.415	0.480	0.564	0.609	0.680

表 2 三种糖回归方程的主要参数

参数	$a(\times10^{-2})$	$S(a)(\times10^{-2})$	$b(\times10^{-2})$	$S(b)(\times10^{-2})$	相关系数 (r)	回归精度 (S) $(\times10^{-3})$
葡萄糖	1.09	0.26	6.419	0.042	0.9998	3.855
果糖	1.04	0.26	6.547	0.042	0.9998	3.801
蔗糖	1.25	0.46	6.706	0.073	0.9995	6.664

3. 回归方程

按实验方法中的操作步骤，测定浓度为 C(μg/ml)的糖标准溶液的吸光度 A，结果见表1。应用一元线性分归分析法，计算出葡萄糖、果糖和蔗糖的回归方程 $A=a+bC$，其主要参数见表2，表中 $S(a)$、$S(b)$ 分别表示 a、b 的标准偏差。

用 F 检验法检验回归精度 S，用 t 检验法检验截距 a 和回归系数 b，在显著性水平 $\alpha=0.05$ 下，均无显著差异。将葡萄糖和果糖的回归方程合并为一个方程[6]，即

$$A=0.01068+0.06483C,$$
$$S=3.828\times10^{-3} \quad (1)$$

将不同浓度的葡萄糖、果糖和蔗糖标准液按不同比例混合，测定总糖含量，其平均相对偏差为1.8%。

4. 摩尔吸光系数

在实验条件下，浓度为1～10μg/ml的糖标准液的平均摩尔吸光系数为 1.23×10^4/(mol·cm)。

5. 干扰因素试验

将2μg/ml的葡萄糖标准液与1.25～5倍的酪蛋白溶液混合，分别测定标准溶液和混合溶液的吸光度，则混合溶液吸光度平均增大5.4%。如用色氨酸试验，当葡萄糖与色氨酸的浓度比为10:1～5:1时，混合溶液的吸光度平均增大18.4%。可见，消除蛋白质的干扰是紫外法测糖必须要解决的问题。

用0.3N的 $Ba(OH)_2$ 和0.3N的 $ZnSO_4$ 作蛋白质沉淀剂重复上述实验，混合溶液的吸光度平均增大2%。上述沉淀剂还能吸附色素，对色黄的棉花效果更好。

用0.02%的葡萄糖标准溶液经沉淀剂处理后测定其浓度，其平均值为0.0197%，可见沉淀剂对糖浓度影响甚微。

6. 回收率试验

回收率试验结果见表3，平均回收率为99.4%。

表 3 回收率试验结果

棉样	棉样含糖量(μg)	加入标准量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)
军海1号	19.1	30.0	30.2	100.6
新海3号	27.9	30.0	29.0	96.7
新海10号	15.7	30.0	28.8	96.0
新陆早2号	52.0	30.0	31.3	104.3

7. 误差分析

由平行测定 m 次的吸光度平均值 A_k 预报对应的浓度 C_k 的标准偏差[6]

$$S(C_k)=S/b\sqrt{(1/m)+(1/n)+(C_k-\overline{C})^2/L_c} \quad (2)$$

式中：$n=10$，$m=3$，$\overline{C}=5.5$，$L_c=\sum_1^n(C_i-\overline{C})^2=82.5$，将式(1)有关数值代入，则：

$$S(C_k)<0.049\mu g/ml$$

取 $C_k=5\mu g/ml$，则相对标准偏差为1%。考虑到干扰因素的影响，测定结果的相对偏差约为3%。

三、样品分析

1．棉样液制备

按照GB 6097-85规定抽取棉样，将(1.000±0.001)g棉花放入50ml容量瓶中，加蒸馏水40ml，浸泡2h并振摇数次。然后加$Ba(OH)_2$溶液3ml，摇匀。约15min后加入$ZnSO_4$溶液5ml，使其充分混合，再加蒸馏水定容至50ml，经过滤后取其滤液待测。

2．棉样含糖量测定

取0.5ml样液按实验方法操作步骤重复测定三次吸光度，由方程式(1)计算棉样液含糖浓度，再由稀释倍数计算出棉纤维的含糖量。表4给出了新疆棉花的含糖量。

表4 新疆棉花含糖量

品种	军海1号	新海3号	新海3号*	新海10号	新陆早2号
含糖量(%)	0.38	0.44	0.54	0.32	0.96

*为库尔勒地区棉花，其余为阿克苏地区棉花

由误差公式知，欲提高含糖量测定的准确度，要使样品吸光度A_k尽量接近$\bar{A}=0.268$，这可通过调整棉样液的稀释倍数来实现。

我们编制的STC软汉字系统数据处理程序，能迅速、准确、可靠的对文中数据进行处理和打印。

参考资料

[1]《纤维标准与检验》，1990，No.8，p.2。

[2] 中国纤维检验局：《国外棉花试验方法汇编》，p.360，1986年。

[3]《纤维标准与检验》，1987，No.4，p.10。

[4]《纤维标准与检验》，1990，No.11，p.7。

[5]《大学化学》，1990，Vol.5，No.6，p.11。

[6] 郑用熙：《分析化学中的数理统计方法》，p.236，p.258，科学出版社，1986年。