

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2014.11.012

有机物对蒽酮-硫酸法测定葡萄糖含量的影响*

杨 翠** 彭党聪 张新艳 常 青 王红叶 赵 爽

(西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安, 710055)

摘 要 本文主要对污水生物处理中常见小分子有机物如乙醇、乙醛、甲酸、丙酮、乙酸异戊酯进行研究, 甄别出干扰物, 对不同浓度干扰物的影响及干扰物存在对不同浓度葡萄糖测定的影响进行定量分析. 结果表明, 乙醇对葡萄糖测定无影响, 甲酸、丙酮和乙酸异戊酯使测定结果存在负偏差, 乙醛使测定结果存在正偏差, 且偏差值随着有机物浓度和葡萄糖浓度的增加而增大. 建立了蒽酮-硫酸法葡萄糖含量测定的校正方程, 研究结果可为相关领域采用该法测定葡萄糖含量提供参考.

关键词 葡萄糖, 定量分析, 影响因素, 结果校正法.

Interference of organics on the determination of glucose by anthrone-sulfuric acid method

YANG Cui** PENG Dangcong ZHANG Xinyan CHANG Qing WANG Hongye ZHAO Shuang

(School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an, 710055, China)

Abstract: Anthrone-sulfuric acid method is widely used to measure the glucose content. However, serious interferences of organics always exist in the determination of glucose content in activated sludge, EPS and SMP samples when using the anthrone-sulfuric acid method. This study investigated the effects of small organics (such as ethanol, acetaldehyde, formic acid, acetone, isoamylacetate etc.) on the glucose determination using anthrone-sulfuric acid method in biological wastewater treatment systems. The quantitative analysis was also carried out on the impacts of different concentration of interfering chemicals on glucose determination. Results showed that the glucose determination was not affected by ethanol. There were negative deviations when formic acid, acetone and isoamyl acetate were present, while positive deviation occurred when acetaldehyde was present. Furthermore, the deviation values increased with organics and glucose contents. Calibration equations for the determination of glucose content using anthrone-sulfuric acid method were established. The results can provide a reference for the determination of the glucose content in related fields.

Keywords: glucose, quantitative analysis, impact factors, result correction method.

目前测定葡萄糖的方法有蒽酮-硫酸法、气相色谱法和苯酚-硫酸法^[1-3]. 由于蒽酮-硫酸法的重现性较好, 稳定性较高等优点^[3], 成为目前最广泛的测定方法. 蒽酮-硫酸法的测定原理^[4]是葡萄糖在浓硫酸作用下水解生成糠醛或甲基糠醛^[5-6], 而生成的糠醛或甲基糠醛与蒽酮脱水缩合, 形成糠醛的衍生物^[6], 反应后溶液呈绿色, 在波长 620 nm 处有最大吸收峰, 吸光度与单糖浓度呈线性关系, 因而可用比色法测定葡萄糖的含量.

在活性污泥法处理废水过程中, 污泥中微生物代谢或细胞自溶过程都会产生胞外聚合物 (EPS) 和溶解性微生物产物 (SMP^[7]). 其组分包括葡萄糖^[8-9]、蛋白质^[10]、核酸、脂类、腐殖酸、糠醛酸^[11-12] 和芳香族化合物^[13] 等. 采用蒽酮-硫酸法测定污泥、EPS 和 SMP 的组分葡萄糖的过程中, 其样品的显色颜色与葡萄糖的正常显色颜色有很大的差别; 并且在比色的过程中, 数值也不稳定, 以此推测出污泥、EPS 和

2014 年 1 月 15 日收稿.

* 陕西省科技统筹创新工程项目 (Grant 2011KTZB-03-03-03) 资助.

** 通讯联系人, Tel: 18709182064; E-mail: yangcui.207@163.com

SMP 中有某些物质对葡萄糖含量的测定有一定的干扰.由于在污水生物处理过程中,常见的生物代谢产物有醇、醛、有机酸、酮和酯类等.所以实验主要以小分子有机化合物如乙醇、乙醛、甲酸、丙酮、乙酸异戊酯等为主要研究对象,来研究其对葡萄糖含量测定的影响.

有关蒽酮-硫酸法测定葡萄糖含量的研究有较多文献报道,但主要集中于显色剂用量、显色剂浓度、反应时间^[14-16]等对葡萄糖含量测定的影响.也有少量报道涉及其他有机物的存在对测定结果的影响,但对于乙醇、甲酸、乙醛、丙酮、乙酸异戊酯等小分子有机化合物对于蒽酮-硫酸法测定葡萄糖的影响尚未见报道.

本文从乙醇、甲酸、乙醛、丙酮、乙酸异戊酯等这几种有机物中甄别出干扰物,对干扰物不同浓度下的影响结果进行比较分析,同时考察干扰物存在对不同浓度葡萄糖测定的影响,得到蒽酮-硫酸法葡萄糖含量测定的校正方程.

1 实验材料与方法

1.1 蒽酮-硫酸法测定葡萄糖含量^[17]

精确量取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1 mL 葡萄糖标准溶液($100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)于 10 mL 的比色管中,加水稀释至 1 mL,在冰水浴中,分别加入 4 mL 的 0.2% 蒽酮-硫酸试剂(0.2 g 蒽酮溶于 100 mL 浓硫酸),摇匀,100 ℃ 水浴 10 min,冰水浴中冷却后,在 620 nm 比色测定吸光度值(A),以葡萄糖浓度(C)为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $A=0.0084C-0.0048$, $R^2=0.9954$.

1.2 干扰因素比较分析

分别取 0.1 mL 乙醇、甲酸、40%乙醛、丙酮、乙酸异戊酯(对应浓度分别为 80、122、80、80、80 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)于 10 mL 的 2—6 号比色管中,再加入 0.5 mL 葡萄糖标准溶液($50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),加 0.4 mL 纯水至 1 mL;同时取 0.5 mL 的葡萄糖标准溶液($50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)于 10 mL 的 1 号比色管中,加 0.5 mL 纯水至 1 mL 作对比试验.在冰水浴中,分别加入 4 mL 2%(W/W)蒽酮-硫酸试剂,摇匀,100 ℃ 沸水浴 10 min,冰水浴中冷却.

2 结果与讨论

2.1 干扰因素比较分析

观察各个管的颜色(如图 1 所示),2 号管中加入显色剂后与 1 号管中葡萄糖的正常显色颜色一样,呈绿色,表明乙醇对葡萄糖含量测定没有影响;而含有其他几种有机物的葡萄糖溶液(3—6 号管),加入显色剂后与 1 号管中颜色有一定的差异,说明甲酸、乙醛、丙酮、乙酸异戊酯溶液对葡萄糖测定有一定的影响.

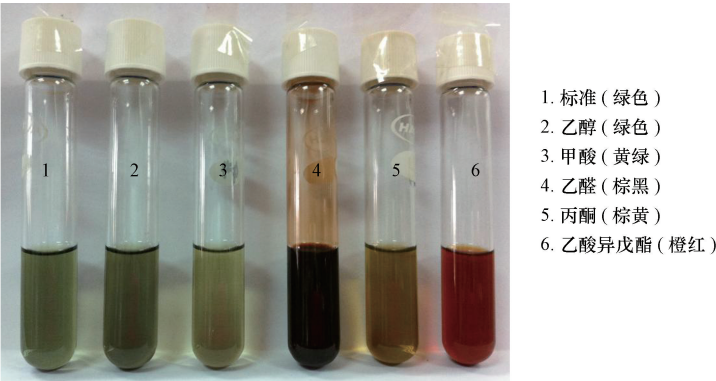


图 1 不同干扰物对蒽酮-硫酸法的显色影响

Fig.1 The interference of different distractors in anthrone-sulfuric acid method

2.2 不同有机物浓度对葡萄糖含量测定的影响

分别取不同浓度的甲酸、乙醛、丙酮、乙酸异戊酯溶液于 10 mL 的比色管中,加纯水定容至 1 mL,摇匀,用蒽酮-硫酸法定量分析在不加葡萄糖的情况下的测定值,即为本底值;同上,溶液加入浓度

($50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的葡萄糖标准溶液中,充分混匀后,定量分析不同浓度有机物对葡萄糖含量测定的影响.

图 2 为不同有机物浓度对葡萄糖含量测定的影响.在不加葡萄糖的情况下,甲酸、丙酮和乙酸异戊酯存在时葡萄糖的测定值及本底值在 $-2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,而乙醛存在时葡萄糖的测定值随着乙醛浓度的增加呈上升趋势.

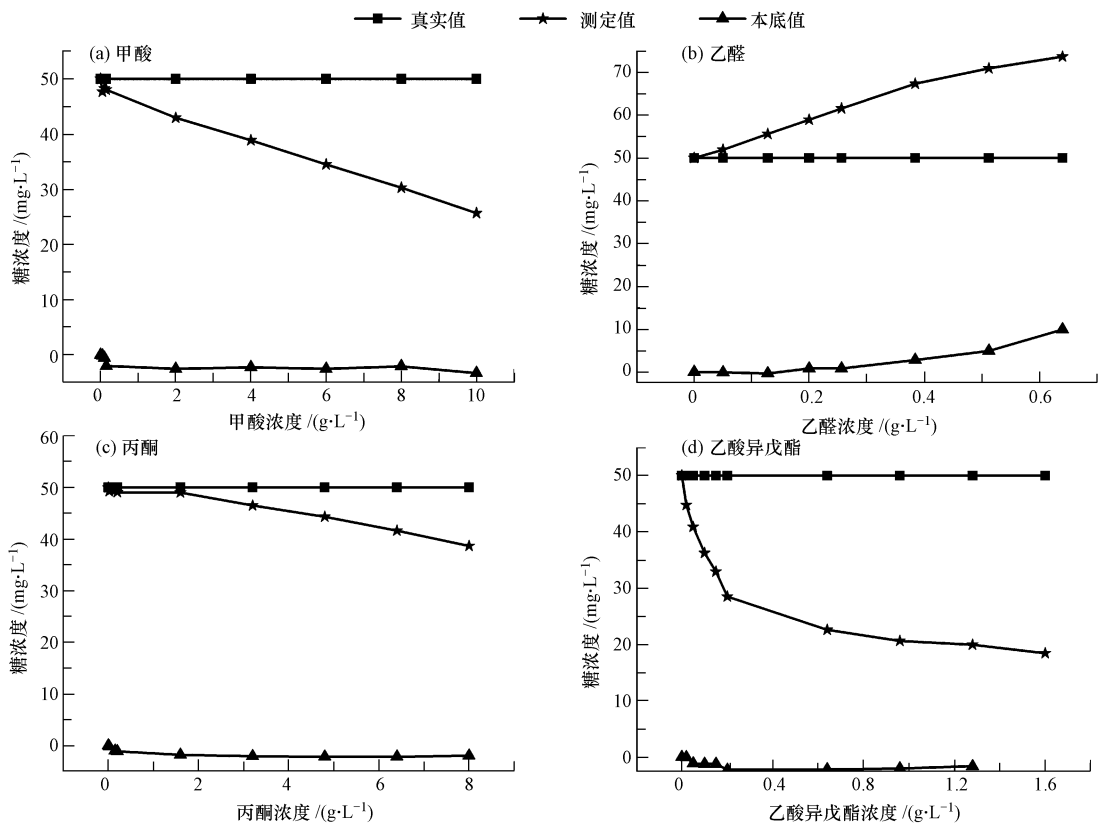


图 2 不同有机物浓度对葡萄糖测定的影响

Fig.2 The interference of various organics on the determination of glucose

在有机物浓度对葡萄糖($50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的测定影响实验中,甲酸、丙酮和乙酸异戊酯的存在,使葡萄糖含量的测定值存在负偏差,乙醛的存在使葡萄糖含量的测定值存在正偏差,且偏差值与有机物浓度成正比.偏差值与有机物浓度的变化关系如表 1 所示.

由表 1 中数据可知,有机物浓度对葡萄糖含量的测定过程中,乙酸异戊酯浓度对葡萄糖含量测定的影响最大,其次是乙醛,甲酸和丙酮相对较小.

表 1 偏差值与有机物浓度的变化关系

Table 1 The relationship of deviation value and the organic matter concentration

干扰物	偏差方程 *	R^2	备注
甲酸	$y = -0.002x - 1.5534$	$R^2 = 0.994$	
乙醛	$y = 0.03895x + 0.682$	$R^2 = 0.986$	
丙酮	$y = -0.002x + 1.790$	$R^2 = 0.991$	$x > 1.6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$
乙酸异戊酯	$y = -0.100x - 2.471$	$R^2 = 0.961$	$x < 200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
乙酸异戊酯	$y = -0.007x - 21.638$	$R^2 = 0.891$	$x > 200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

* : x 表示有机物浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), y 表示偏差值($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

2.3 有机物对不同浓度葡萄糖测定的影响

分别将等量(0.1 mL)的甲酸、乙醛(0.8%)、丙酮、乙酸异戊酯(2%)溶液加入呈梯度增长(0、20、40、60、80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的葡萄糖溶液中(对应的甲酸、乙醛、丙酮、乙酸异戊酯浓度分别为 10、0.64、8、1.6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),充分混匀后,定量分析有机物对不同浓度葡萄糖含量测定的影响.

图 3 为在有机物的存在下对不同葡萄糖含量测定的影响.甲酸、丙酮和乙酸异戊酯的存在,使葡萄糖含量的测定值存在负偏差,乙醛的存在使葡萄糖含量的测定值存在正偏差.且随着葡萄糖浓度的增大,偏差值越来越大,偏差值呈线性增加.偏差值与葡萄糖浓度的变化关系如表 2 所示.

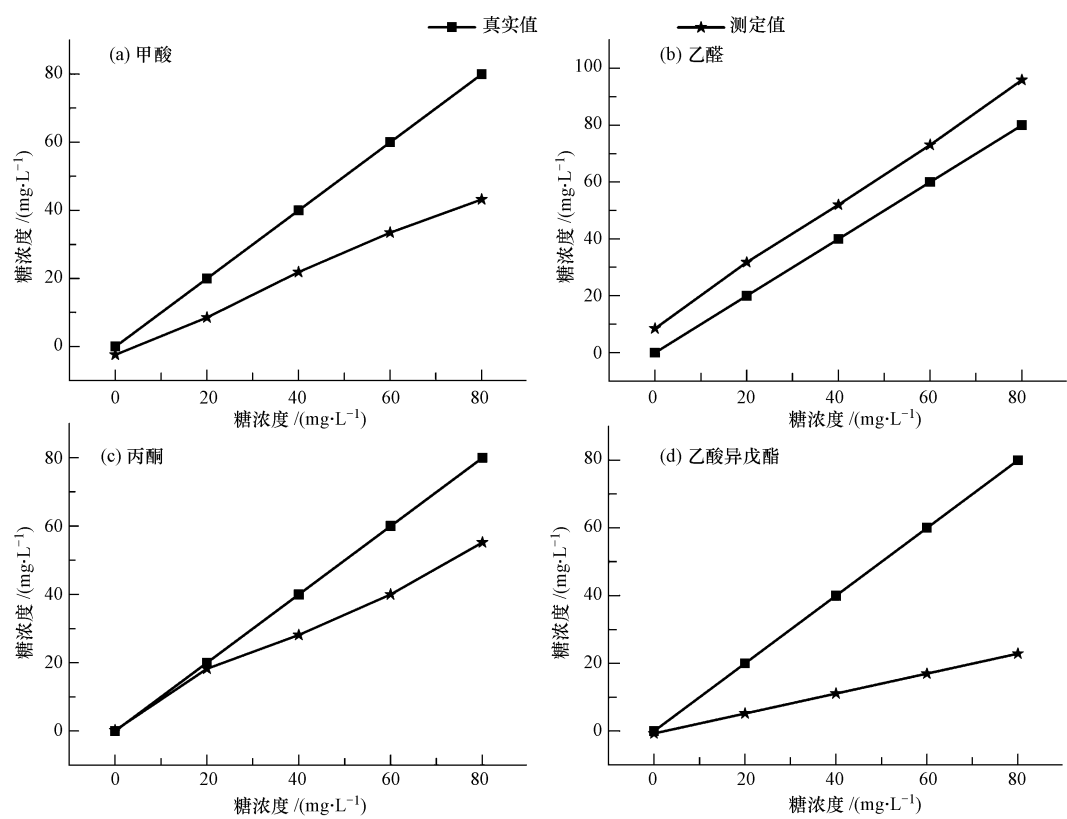


图 3 有机物对不同葡萄糖浓度测定的影响

Fig.3 The interference of organics on the glucose determination with different polysaccharide concentrations

由表 2 数据可知,在有机物的存在下,葡萄糖浓度对其测定值也有一定的影响.乙酸异戊酯存在时,葡萄糖浓度对其含量测定的影响最大,其次是甲酸和丙酮,乙醛相对较小.

表 2 偏差值与葡萄糖浓度的变化关系

Table 2 The relationship of deviation value and the glucose concentration

干扰物	偏差方程 *	R^2	备注
甲酸	$y = -0.419x - 2.282$	$R^2 = 0.995$	
乙醛	$y = 0.080x + 9.060$	$R^2 = 0.915$	
丙酮	$y = -0.386x + 4.703$	$R^2 = 0.976$	$x > 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$
乙酸异戊酯	$y = -0.704x - 0.735$	$R^2 = 1$	

* : x 表示葡萄糖浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), y 表示偏差值($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

2.4 测定结果校正

在微生物代谢过程中,基质、中间产物和最终产物通常共存于同一体系中,在这个共存体系中,有机物是无法彻底去除的.鉴于此特征,消除有机物的这种影响有两种校正方法:标准曲线校正法和测定结果校正法.依据上述实验结果,本文采用测定结果校正法对实验结果进行校正.

为了得到葡萄糖浓度的真实值,采用回归分析的方法,对同一有机物的不同浓度以及不同葡萄糖浓度进行拟合,得出葡萄糖的真实值.

回归方程为: $\gamma = a\alpha + b\beta + c$

其中, α 为有机物浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), β 为葡萄糖测定浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), γ 为真实值($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

依据实验数据,分别对甲酸、乙醛、丙酮和乙酸异戊酯进行上述的回归分析,将数据代入回归方程

中,分别得出 a 、 b 和 c 的值.从而得出不同有机物浓度下实测值和真值之间的方程如表 3 所示.

由表 3 可知,乙酸异戊酯浓度的权重因子较大为 -0.168 ,其次是乙醛和丙酮,分别为 0.074 和 0.043 ,甲酸相对较小为 0.003 ,表明乙酸异戊酯浓度对葡萄糖含量测定的影响较其他 3 种有机物浓度显著.相对于有机物浓度,甲酸和乙醛存在时葡萄糖浓度的权重因子系数都比较小,分别为 1.053 和 -1.581 ,而丙酮和乙酸异戊酯存在时葡萄糖浓度的权重因子系数较大,分别为 29.645 和 -21.308 ,表明丙酮和乙酸异戊酯存在时葡萄糖浓度对葡萄糖含量测定的影响比其它两种有机物存在时较大.

表 3 不同有机物浓度下实测值和真值之间的变化关系

干扰物	回归方程*	备注
甲酸	$\gamma = 0.003\alpha + 1.053\beta - 21.635$	
乙醛	$\gamma = 0.074\alpha - 1.581\beta + 128.490$	
丙酮	$\gamma = 0.043\alpha + 29.645\beta - 1472.830$	$\alpha > 1600 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}, \beta > 20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
乙酸异戊酯	$\gamma = 0.008\alpha + 0.071\beta + 46.666$	$\alpha < 200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
	$\gamma = -0.168\alpha - 21.308\beta + 690.871$	$\alpha > 200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

* : α 表示有机物浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), β 表示葡萄糖浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), γ 为真实值($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

采用回归分析法得出校正方程,对测定结果进行校正.通过热水解预处理的污泥,经厌氧消化后污泥中葡萄糖的测定运用此校正方程,污泥中葡萄糖的测定浓度为 $4582 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,甲酸浓度为 $590 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,利用校正方程,得到葡萄糖的真实浓度为 $4805 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,测定值偏低与真实值 $223 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

3 结论

(1) 水样中乙醇对葡萄糖测定无影响,甲酸、乙醛、丙酮和乙酸异戊酯等有机物的浓度的增大,其对葡萄糖含量测定的影响也越大.乙酸异戊酯浓度对葡萄糖含量测定的影响最大,其次是乙醛,甲酸和丙酮浓度对葡萄糖含量测定的影响相对较小.

(2) 有机物对葡萄糖测定的影响还与葡萄糖的浓度有关.在有机物存在的情况下,随着葡萄糖浓度的增加,其测定的偏差值也增加.乙酸异戊酯的存在影响最大,其次是甲酸和丙酮,乙醛的影响相对较小.

(3) 葡萄糖的真实值与溶液中有有机物的浓度和葡萄糖的测定浓度都有关系.采用回归分析法,得出了校正方程.

参 考 文 献

[1] Chen H X,Zhang M,Xie B J.Components and antioxidant activity of polysaccharide conjugate from green tea[J].Food Chemistry,2005 (90):17-21

[2] 郭晓蕾,朱思潮,翟旭峰,等.硫酸蒽酮法与硫酸苯酚法测定灵芝多糖含量比较[J].中华中医药学刊,2010,9(1):210-212

[3] 张杰,李春艳,李劲平,等.蒽酮硫酸法与苯酚硫酸法测定竹节参多糖含量的比较研究[J].中南药学,2012,10(6):421-424

[4] 易剑平,毕雅静,宋秀荣,等.蒽酮-硫酸法测定枸杞多糖质量分数的研究[J].北京工业大学学报,2005,31(6):641-646

[5] 张翠,柴欣生,罗小林,等.紫外光谱法快速测定生物质提取液中的糠醛和羟甲基糠醛[J].光谱学与光谱分析,2010,30(1):247-250

[6] 代书玲,张鲁嘉.糠醛及其衍生物微生物降解(转化)研究进展[J].氨基酸和生物资源,2007,29(4):41-45

[7] 张海丰,孙宝盛,赵新华,等.溶解性微生物产物对浸没式膜生物反应器运行的影响[J].环境科学,2008,29(1):82-86

[8] 王雪梅,刘燕,华志浩,等.胞外聚合物对浸没式膜-生物反应器膜过滤性能的影响[J].环境科学学报,2005,25(12):1602-1607

[9] 张丽丽,姜理英,芳芳,等.好氧颗粒污泥胞外多聚物的提取及成分分析[J].环境工程学报,2007,1(4):127-130

[10] Liang S,Liu C,Song L F.Soluble microbial products in membrane bioreactor operation:Behaviors, characteristics,and fouling potential[J].water reaserch,2007,41(1):95-101

[11] 邹小玲,许柯,丁丽丽,等.不同状态下同一污泥胞外聚合物提取方法研究[J].环境工程学报,2010,4(2):436-440

[12] 杨敏,胡学伟,宁平,等.废水生物处理中胞外聚合物(EPS)的研究进展[J].工业水处理,2011,31(7):7-11

[13] 周君薇,陈一,闻岳,等.污水生物处理系统中溶解性微生物产物的研究进展[J].水处理技术,2011,37(7):6-11

[14] 傅博强,谢明勇,聂少平,等.茶叶中多糖含量的测定[J].食品科学,2001,22(11):69-73

[15] 王黎够,夏文水.蒽酮-硫酸法测定茶多糖含量的研究[J].食品科学,2005,26(7):185-188

[16] 张妙霞,孔祥生,郭秀璞,等.蒽酮法测定可溶性糖显色条件的研究[J].洛阳农专学报,1997,17(4):24-28

[17] 王宏军,邓旭明,蒋红,等.蒽酮-硫酸比色法检测多糖条件优化[J].中国饲料,2011(4):48-50