

市售饮料中果糖含量的便捷检测

毕玉耀, 王煜, 李行, 孟繁宇, 徐靖堯, 付鹏超, 夏鸣*

沈阳航空航天大学理学院, 辽宁 沈阳

收稿日期: 2023年9月3日; 录用日期: 2023年10月1日; 发布日期: 2023年10月8日

摘要

本研究将半胱氨酸-吡唑溶液与果糖溶液反应进行显色, 采用紫外分光光度法评定了该显色反应的最佳显色条件, 在此基础上, 制作了比色卡。利用所确定的最佳显色条件和比色卡, 可通过比色法实现市售饮料中果糖含量的便捷检测。该方法具有一定的应用前景, 能够为果糖检测提供一种快速便捷的解决方案, 为相关领域的研究和应用提供有力支持。

关键词

比色卡, 显色反应, 便捷检测, 分光光度法

Convenient Detection of Fructose Content in Commercially Available Beverages

Yuyao Bi, Yu Wang, Xing Li, Fanyu Meng, Jingyao Xu, Pengchao Fu, Ming Xia*

Faculty of Science, Shenyang Aerospace University, Shenyang Liaoning

Received: Sep. 3rd, 2023; accepted: Oct. 1st, 2023; published: Oct. 8th, 2023

Abstract

In this study, the reaction of cysteine carbazole solution and fructose solution was carried out, and the optimal condition of the reaction was evaluated by UV spectrophotometry, on the basis of which, a colorimetric card was made. Under the optimum condition, the content of fructose in commercial beverages can be easily detected by colorimetry and colorimetric card. This method has a certain application prospect, because it can provide a quick and convenient solution for fructose detection, and provide strong support for research and application in related fields.

*通讯作者。

Keywords

Colorimetric Card, Color Development Reaction, Convenient Detection, Spectrophotometry

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

显色反应是一类将试样中被测组分转变成有色化合物的化学反应。有色化合物的浓度大小与其颜色深浅成正比，通过比较或测量有色物质溶液颜色深度来确定待测组分含量的方法，是化学中十分常用的比色法。显色反应和比色法被广泛应用于生活中各类物质的鉴别以及含量的测定。例如：利用重铬酸钾与酒精作用使溶液由橙红色变为绿色的显色反应，可以进行酒后驾车时酒精含量的测量[1]；空气中的甲醛被酚试剂溶液吸收，反应生成嗪，嗪在酸性溶液中被显色剂高铁离子氧化形成蓝绿色化合物，此方法可以用来检测空气中甲醛的含量[2]，等等。

市场上大多数饮料中都含有果糖，相比食用高葡萄糖饮料而言，在用餐时食用高果糖饮料会导致胰岛素和瘦素的水平降低，饥饿激素水平升高，同时会加大肝细胞的代谢负担，导致肥胖、非酒精性脂肪肝等一系列问题，对于果糖不耐受人群危害更大[3]。如图1果糖在强酸条件下脱水生成糠醛，糠醛可以与半胱氨酸盐酸盐及吡唑生成紫红色络合物，不同浓度梯度的果糖会有不同深度的颜色产生[4]。根据该显色反应可进行饮料中果糖含量的测量。

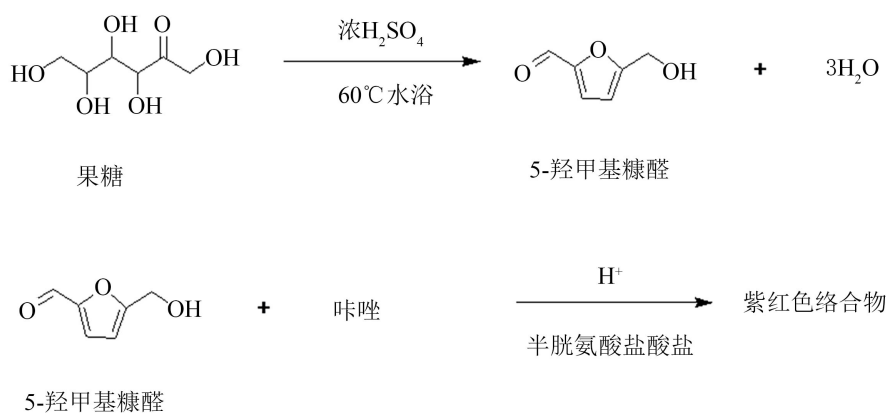


Figure 1. Experimental principle of fructose color reaction

图1. 果糖显色反应实验原理

目前在饮料中果糖含量测定时，主要依赖分光光度法，以吸光度为指标，通过朗伯比尔定律描述出浓度和吸光度的关系，进而根据显色反应后测得的吸光度得出果糖的浓度[5]。分光光度法广泛适用于食品中总糖以及多糖的测定，利用糖经水解转化后，与特定化合物反应可以生成有色物质，根据其对一定范围波长光的吸收程度与糖的浓度呈正比，外标法测得糖的含量。除此之外还有液相色谱法，离子色谱检测法等[6] [7] [8]。以上方法均可准确测定饮料中的果糖含量，但在实际应用过程中，这些方法均需用到大型仪器设备，不能实现对果糖的便捷检测。目前报道的果糖的快速便捷检测方法较少[9] [10]，随着

人们对果糖含量的重视，急需一种居家就可进行便捷检测方法。

基于以上问题，我们以不同浓度果糖的标准液进行了显色实验，并且制作出标准比色卡，将发生显色反应后的待测溶液颜色与比色卡进行对比即可简便直观的确定待测溶液中果糖的大致浓度。同时我们还借助紫外可见分光光度计探索了果糖显色反应的最佳反应条件，以便于取得最佳的实验效果。

2. 实验部分

2.1. 试剂或材料

果糖、吡啶、半胱氨酸盐酸盐，以上试剂为分析纯，上海麦克林生化科技有限公司；浓硫酸(98%)，天津渤海化工集团供销公司；99.5%无水乙醇，分析纯，国药集团化学试剂有限公司；市面上常见饮料。

2.2. 仪器

比色管、恒温水浴装置、量筒、烧杯、磁力搅拌器、250 mL 容量瓶、移液管、洗耳球、100 mL 容量瓶、紫外可见分光光度计(尤尼科 UV-2100)。

2.3. 实验方法

2.3.1. 紫外可见分光光度计确定最佳显色条件

吡啶是果糖检测过程中的显色剂，其浓度会影响显色效果进而影响检测的灵敏度和准确性。同时，果糖的检测需要在一定的 pH 范围内进行，如果 pH 值过高或过低，会影响吡啶显色剂和半胱氨酸盐酸盐的还原能力，从而影响检测的准确性。为了取得更好的显色效果，采用紫外可见分光光度计对反应温度、显色时间、硫酸及显色剂用量等显色反应的影响因素进行了详细探索，确定了最佳显色条件。具体实验过程如下：

配制溶液：质量分数为 1.5%的半胱氨酸盐酸盐溶液，质量分数为 0.12%的吡啶酒精溶液，浓硫酸溶液(98%的浓硫酸与去离子水以 2.5:1 比例混合)，标准果糖溶液(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。

最大吸收波长的确定：取三只比色管，里面分别加入配制好的果糖标准溶液 0、0.4、0.8 mL (用移液管移取)，用移液管分别移取蒸馏水 1、0.6、0.2 mL，依次加入到上述比色管中，每只管内加入 0.2 mL 半胱氨酸盐酸盐溶液，6 mL 硫酸溶液，摇匀，于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温 10 min，取出用水冷却至室温，加入 2 mL 质量分数为 0.12%的吡啶酒精溶液，摇匀使得其呈红紫色，分别在波长 480, 500, 520, 540, 550, 560, 570, 580 nm 下测其吸光度。

最佳反应温度的确定：取一支 50 mL 比色管，于比色管中加入质量浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的果糖标准溶液 0.4 mL，再用移液管移取 0.6 mL 蒸馏水至上述比色管中，然后在管中加入 0.2 mL 半胱氨酸盐酸盐溶液，6 mL 浓硫酸溶液，摇匀，在 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温 10 min，取出用水冷却至室温，加入 2 mL 质量分数为 0.12%的吡啶酒精溶液，摇匀待其反应 20 min 后，用 10 mm 光径的比色皿，在最大吸收波长下测其吸光度。重复上述步骤，分别将比色管置于 50 $^{\circ}\text{C}$ ，60 $^{\circ}\text{C}$ ，70 $^{\circ}\text{C}$ ，80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温 10 min，重复后续步骤，在 20 min 测吸光度，将五组吸光度数据进行比较。

最佳显色时间的确定：取两支 50 mL 比色管，分别加入果糖标准溶液 0、0.4 mL，(用移液管移取)，用移液管分别移取蒸馏水 1、0.6 mL，依次加入到上述比色管中，每只管内加入 0.2 mL 半胱氨酸盐酸盐溶液，6 mL 硫酸溶液，摇匀，于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温 10 min，取出用水冷却至室温，加入 2 mL 质量分数为 0.12%的吡啶酒精溶液，摇匀。从加入吡啶酒精溶液开始计时，隔 2 min 计时一次，0.4 mL 果糖溶液的最大吸光度的时间即为最佳测定时间。

硫酸用量的确定：取五支 50 mL 比色管，加入果糖标准溶液 0.4 mL，(用移液管移取)，用移液管移

取蒸馏水 0.6 mL, 每只管内加入 0.2 mL 半胱氨酸盐酸盐溶液, 分别加入 4、5、6、7、8 mL 硫酸溶液, 摇匀, 于 60℃ 水浴中保温 10 min, 取出用水冷却至室温, 分别加入 2 mL 质量分数为 0.12% 的咪唑酒精溶液, 摇匀, 用酒精溶液补充至相同体积, 从加入咪唑酒精溶液开始计时, 测定其在最佳测定时间的吸光度。

显色剂用量的确定: 取五支 50 mL 比色管, 加入果糖标准溶液 0.4 mL, (用移液管移取), 用移液管移取蒸馏水 0.6 mL, 每只管内加入 0.2 mL 半胱氨酸盐酸盐溶液, 6 mL 硫酸溶液, 摇匀, 于 60℃ 水浴中保温 10 min, 取出用水冷却至室温, 分别加入 0、1、2、3、4 mL 质量分数为 0.12% 的咪唑酒精溶液, 摇匀, 用酒精溶液补充至相同体积, 从加入咪唑酒精溶液开始计时, 测定其在最佳测定时间的吸光度。

2.3.2. 制作比色卡

取 50 mL 比色管, 分别加质量浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的果糖标准溶液 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mL, 1 mL, 再用蒸馏水分别补充至 1 mL, 然后每管中加入 0.2 mL 半胱氨酸盐酸盐溶液, 6 mL 浓硫酸溶液, 摇匀, 于 60℃ 水浴中保温 10 min, 取出用水冷却至室温, 加入 2 mL 质量分数为 0.12% 的咪唑酒精溶液, 摇匀 20 min, 呈不同深浅的红紫色。根据颜色不同来制作比色卡, 待测量溶液经显色后可以根据其颜色来直接得出其浓度, 以 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为基准 1。所得比色卡如图 2 所示。

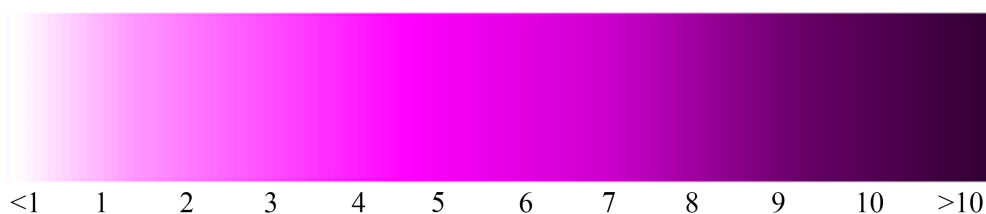


Figure 2. Standard colorimetric card of fructose content detection in beverages ($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ as 1)
图 2. 饮料中果糖含量检测标准比色卡($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为基准 1)

2.3.3. 市售饮料中果糖含量的便捷检测

取饮料 1 mL 放入烧杯中, 放入水浴锅中, 60℃ 加热 3 min, 赶出气泡。将烧杯从水浴锅中取出, 冷却至室温。向 100 mL 容量瓶中加入 1 mL 处理好的饮料, 加蒸馏水定容; 取上述溶液 5 mL, 将其加入另一只 100 mL 容量瓶中, 加蒸馏水定容。用移液管取 1 mL 稀释 2000 倍后的雪碧溶液, 加入到装有 0.2 mL 半胱氨酸盐酸盐溶液, 6 mL 硫酸溶液的 50 mL 比色管内。60℃ 水浴中保温 10 min, 取出用水冷却至室温。加入 2 mL 质量分数为 0.12% 的咪唑酒精溶液, 摇匀, 静置 10 min, 将溶液的颜色与所制作的标准比色卡进行对比, 即可得出溶液中果糖浓度的大致范围。

3. 结果与讨论

3.1. 最佳显色条件的确定

3.1.1. 最大吸收波长的确定

利用分光光度法对待测样品进行定量分析时, 确定出最大吸收波长有助于提高测试的灵敏度, 减少系统误差, 提高测定结果的准确度。为了确定紫红色络合物的最大吸收波长, 本实验测试了样品在 480 nm~580 nm 的波长范围内的吸光度。由图 3 可见, 紫红色络合物在 480 nm~580 nm 波长范围内的吸光度呈现出先增加后减小的趋势, 当吸收波长为 560 nm, 其吸光度达到最大值 0.494。因此, 本实验的后续测试所选择最大吸收波长 560 nm 下进行测试。

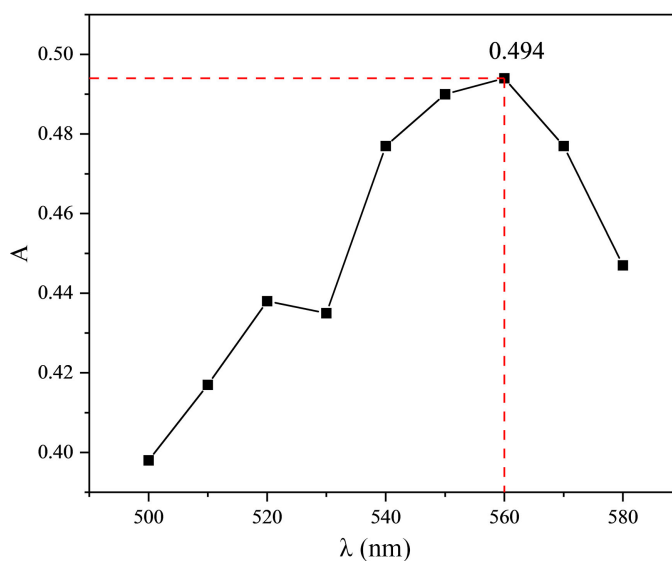


Figure 3. Absorbance of fructose complex at different wavelengths
图 3. 果糖络合物在不同波长下的吸光度

3.1.2. 最佳反应温度的确定

为了研究反应温度对于吸光度的影响,在保证其它条件不变的前提下,改变显色反应时的环境温度,分别测试在 40℃、50℃、60℃、70℃、80℃ 下时反应溶液的吸光度,测试结果如图 4 所示。由图 4 可见,随着反应温度的逐渐升高,吸光度也随之增大,在 60℃ 处达到最大值 0.442。当反应温度继续升高时,吸光度下降,可能是由于温度过高不利于的显色反应的完全发生,故本实验中溶液反应的最佳温度为 60℃。

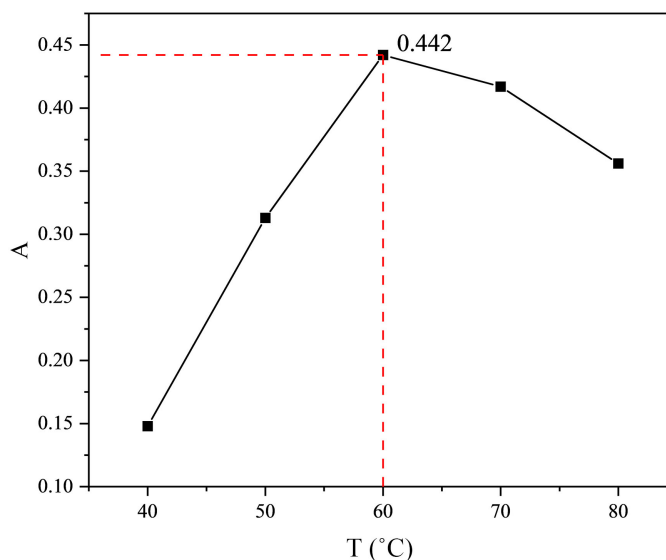


Figure 4. Absorbance with different reaction temperatures
图 4. 不同反应温度对吸光度的影响

3.1.3. 络合物最佳显色反应时间的确定

适宜的显色时间是确保的显色反应完全和吸光度测试准确的基础,其值的大小必须通过实验来确定。

为了研究显色时间对吸光度的影响,本实验在保证硫酸、吡啶酒精溶液的用量一定时,从加入吡啶酒精溶液开始计时,隔 2 min 计时一次。如图 5 所示,当显示时间从 0 分钟增加至 8 分钟时,吸光度急剧增加。当显色时间从 8 分钟继续增加至 18 分钟至 20 分钟时,曲线趋于平缓,吸光度变化较小,之后吸光度开始明显下降,推测可能是反应物发生了分解,故显色时间为 18 到 20 分钟时即可满足显色要求,为便于把控实验时间故本实验的最佳显色时间为 20 分钟。

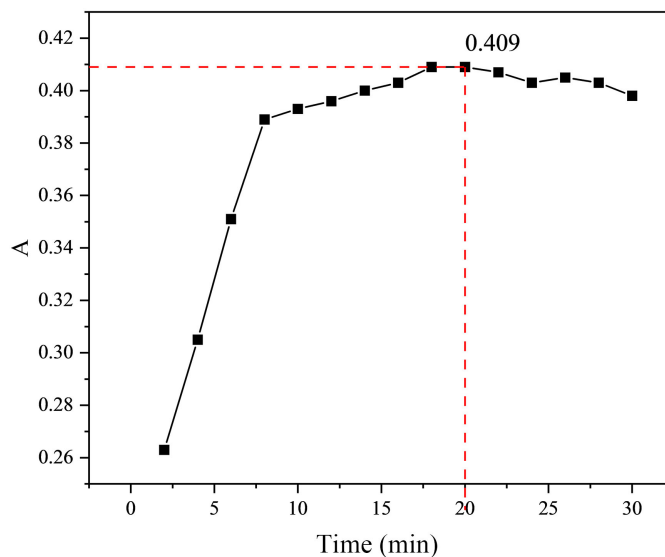


Figure 5. Absorbance with different reaction time
图 5. 显色时间对吸光度的影响

3.1.4. 硫酸最佳用量的确定

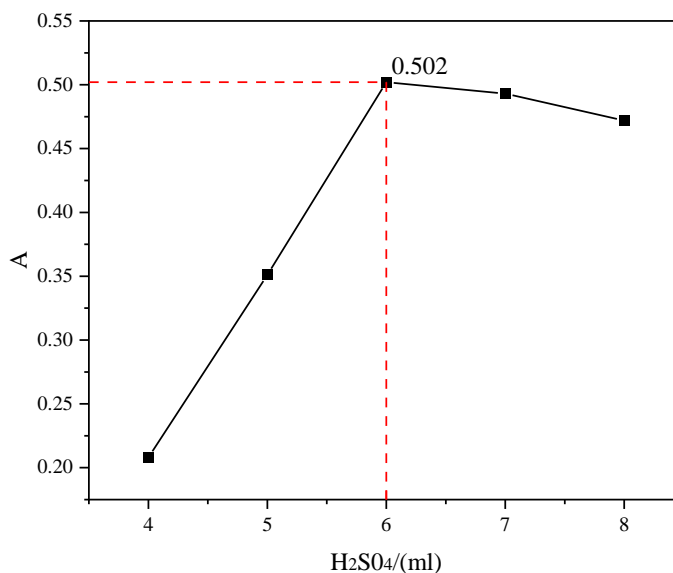


Figure 6. Absorbance with different acid medium dosages
图 6. 酸性介质用量对吸光度的影响

为了研究硫酸的用量对于吸光度的影响,在保证其它条件不变的前提下,改变混合溶液中加入的硫

酸的体积,分别测试了加入 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 mL 的 28% 硫酸溶液时混合溶液的吸光度,测试结果如图 6 所示。由图 6 可见,随着 28% 硫酸溶液的体积不断增加,吸光度也随之增大,在 6.0 mL 处达到最大值 0.502。当 28% 硫酸溶液的体积继续增加时,吸光度下降,可能是由于溶液体系中过多的硫酸溶液不利于的显色反应的完全发生,故本实验中 28% 硫酸溶液的最佳用量为 6.0 mL。

3.1.5. 显色剂最佳用量的确定

为了分析半胱氨酸盐酸盐溶液的用量对吸光度的影响,在固定其它条件不变的前提下,改变混合溶液中加入的半胱氨酸盐酸盐溶液的体积,分别测试了加入 0、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 的半胱氨酸盐酸盐溶液时混合溶液的吸光度。如图 7 所示,随着半胱氨酸盐酸盐溶液的体积不断增加,吸光度呈现先增加后减小的趋势,在 2.0 mL 处达到最大值 0.498。当溶液体积进一步增加时,吸光度下降,可能是由于过多的半胱氨酸盐酸盐溶液易使溶液的酸度过大,整个体系过于稳定,减缓了显色反应的发生,故本实验选用 2.0 mL 的半胱氨酸盐酸盐溶液。

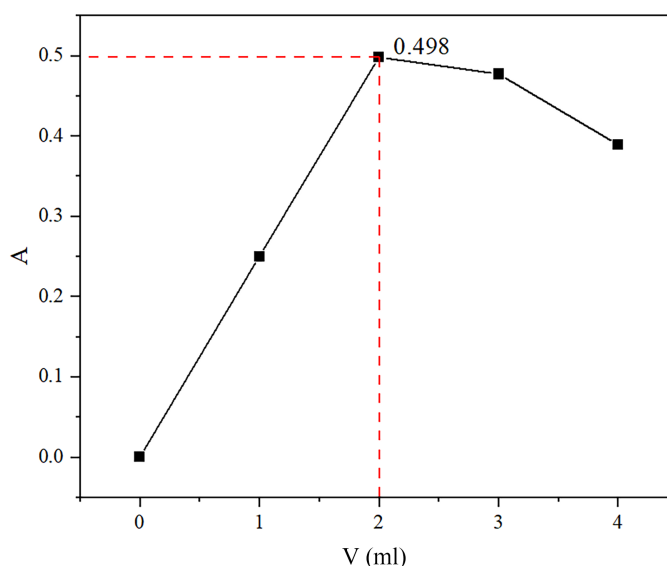


Figure 7. Absorbance with different dosages of cysteine hydrochloride solution
图 7. 不同半胱氨酸盐酸盐溶液用量对吸光度的影响

由以上实验数据可以得出,最佳反应温度为 60℃;显色反应的最佳时间为 10 min;硫酸的最佳用量为 6 mL;显色剂的最佳用量为 2 mL。

3.2. 市售饮料中果糖含量的便捷检测

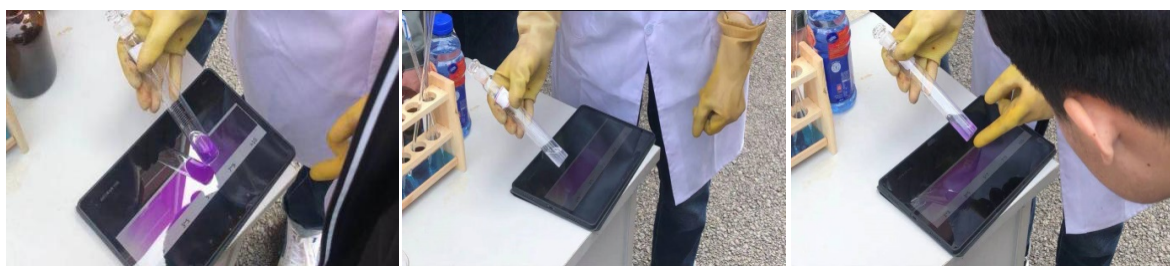


Figure 8. Demonstration and experiment results of fructose content in three drinks: Sprite, Christine and Pulsating
图 8. 雪碧、清汀、脉动三种饮料中果糖含量测量演示实验结果

以市场上常见的饮料如雪碧、清汀、脉动等作为实验对象进行实验。如图 8 果糖在浓无机酸(硫酸、盐酸)作用下,脱水生成糠醛及糠醛衍生物,后者能与半胱氨酸盐酸盐及吡啶生成紫红色络合物,果糖的浓度越高,溶液颜色越深,通过与比色卡进行颜色对比,便可确定溶液中果糖的大致浓度。

在上述确定的最佳显色,从比色结果看,三种饮料中,雪碧中果糖含量最高,大概为 6~7 g/100mL,脉动的果糖含量大概为 3~4 g/100mL,清汀中果糖含量最低,检测结果为 0。

4. 结论

(1) 将半胱氨酸-吡啶溶液与果糖溶液反应进行显色,通过分光光度法确定了最大吸收波长和最佳显色条件。结果表明,在 560 nm 最大吸收波长下,当显色剂和硫酸溶液的用量分别为 2 mL 和 6 mL,显色时间为 20 分钟,可获得最大吸光度,取得最佳显色效果。

(2) 在上述最佳显色条件下,对不同浓度的果糖标准溶液进行显色实验,根据所得溶液颜色的深浅自制出标准比色卡。以市场上常见的三种饮料进行显色实验,并与自制标准比色卡比对,得出:雪碧中果糖含量最高,大概为 6~7 g/100mL,脉动的果糖含量大概为 3~4 g/100mL,清汀中果糖含量最低,检测结果为 0。

(3) 本检测方法操作简单、便捷,参照论文给出的比色卡居家即可完成。

参考文献

- [1] 曹玉民. 酒后驾车人员体内酒精含量的检测[J]. 化学教育, 2011, 32(9): 1-2, 22.
- [2] 王鼎, 翁际渊, 石燕娜, 邹德云, 陆琳玲, 张皓. 酚试剂分光光度法测定废水中的甲醛[J]. 浙江化工, 2016, 47(5): 52-54.
- [3] 王欣宇, 段继周. 果糖对人类健康更有益吗?[J]. 生物学通报, 2019, 54(6): 4.
- [4] 刘连永, 张东升, 王延吉. 5-羟甲基糠醛的制备与应用进展[J]. 现代化工, 2020, 40(8): 49.
- [5] 占达东. 紫外分光光度法测定蜂蜜中果糖的含量[J]. 湘潭大学自然科学学报, 2003(2): 41-42.
- [6] 张磊, 周光明, 熊建飞. 离子色谱法检测水果、饮品中的蔗糖、葡萄糖和果糖[J]. 食品科学, 2012, 33(8): 159-162.
- [7] 李静芳, 张素文, 彭美纯. 高效液相色谱法检测乳制品中果糖、葡萄糖、蔗糖和乳糖的含量[J]. 食品工业科技, 2011, 32(6): 391-393.
- [8] 李水芳, 张欣, 李姣娟, 等. 拉曼光谱法无损检测蜂蜜中的果糖和葡萄糖含量[J]. 农业工程学报, 2014, 30(6): 249-255.
- [9] 叶维佳, 吴红静, 吴雨宸. 部分市售果汁果糖含量的快速检测[J]. 食品安全导刊, 2018(21): 80, 82.
- [10] 兰州大学中卫高新技术研究院. 一种检测食品中果糖的方法[J]. 化学分析计量, 2017, 26(3): 53.