

第九章 糖类物质的测定

第一节 概述

一、糖类物质的定义和分类

糖类物质是由碳、氢、氧三种元素组成的一大类化合物。在这一类物质中氢与氧的比例数和水一样，因此常被称为碳水化合物。人体生命活动的热能 60%~70% 由它供给。它是世界上大部分人从膳食中取得热能最经济和最主要的来源，也是构成机体的重要物质，参与细胞的多种代谢过程。核糖与脱氧核糖是核酸的重要组成部分，一些糖可与蛋白质合成糖蛋白，还可与脂肪形成糖脂等，这些都是重要的生理功能物质，参与机体的代谢，维持生命活动。

糖类物质是食品工业的主要原料和辅助材料，是大多数食品的主要成分之一。它包括单糖，低聚糖和多糖。单糖是糖的最基本组成单位，低聚糖和多糖是由单糖组成的。食品中主要的单糖有葡萄糖、果糖和半乳糖，它们都是含有六个碳原子的多羟基醛或多羟基酮，分别称为己醛糖（葡萄糖、半乳糖）和己酮糖（果糖），此外还有核糖、阿拉伯糖、木糖等戊醛糖。低聚糖（又称为寡糖）是由二到十个分子的单糖通过糖苷键连接形成的直链或支链的一类糖，包括普通低聚糖和功能性低聚糖两大类。蔗糖、乳糖和麦芽低聚糖等属于普通低聚糖。功能性低聚糖包括异麦芽低聚糖、低聚果糖、低聚半乳糖、低聚木糖等，它们是保持和增进健康的重要配料。多糖是由许多单糖缩合而成的高分子化合物，按其化学组成不同可分为同多糖和杂多糖。前者是由同一单糖构成的，如淀粉、纤维素等。后者是由不同单糖分子和糖醛酸分子组成，如果胶分子中含有乳糖、阿拉伯糖、葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸等，黄原胶是由葡萄糖、甘露糖和葡萄糖醛酸构成。在这些糖类物质中，人体能消化利用的是单糖，普通低聚糖和多糖中的淀粉，称为有效碳水化合物；纤维素、半纤维素、果胶等由于不能被人体消化利用，称为无效碳水化合物。这些无效碳水化合物能促进肠道蠕动，改善消化系统机能，对维持人体健康有重要作用，是人们膳食中不可缺少的成分。

二、食品中糖类物质的分布与含量

糖类物质在自然界中分布很广，在各种食品中存在的形式和含量不同。葡萄糖和果糖等单糖主要存在于水果和蔬菜中，一般含量分别为 0.96%~5.82% 和 0.85%~6.53%；无子葡萄干和蜂蜜中单糖含量约为 70% 和 75%。蔗糖普遍存在于具有光合作用的植物中，一般含量较低，但甘蔗和甜菜含量较高，分别为 10%~15% 和 15%~20%，为工业制糖的原料；西瓜、菠萝约为 4% 和 8%。蔗糖是食品工业中最重要的甜味剂，被应用于各种加工食品中。乳糖存在于哺乳动物的乳汁中，牛乳中乳糖含量约为 4.7%。麦芽低聚糖和异麦芽低聚糖在自然界并不存在，通常由淀粉水解或转苷产生的。低聚果糖、低聚半乳糖、低聚木糖等在自然界含量较少，大多通过酶法合成后，作为功能性成分加入到食品中。淀粉广泛存在于农作物的籽粒（如小麦、玉米、大米、大豆）、根（如甘薯、木薯）和块茎中（马铃薯）；含量高的约达干物质的 80%。纤维素主要存在于谷类的麸糠和果蔬的表皮中；果胶物质存在于果蔬类植物的组织中，尤其在表皮中含量较高。

三、食品中糖类物质测定的意义

食品中糖类物质的测定，在食品工业中具有十分重要的意义。在食品加工工艺中，糖类对改变食品的形态、组织结构、物化性质以及色、香、味等感官指标起着十分重要的作用。如食品加工中常需要控制一定量的糖酸比；糖果中糖的组成及比例直接关系到其风味和质量；糖的焦糖化作用及羰氨反应既可使食品获得诱人的色泽和风味，又能引起食品的褐变，必需根据工艺需要加以控制。食品中糖类含量也在一定程度上标志着营养价值的高低，是某些食品的主要质量指标。糖类的测定历来是食品的主要分析项目之一。

四、食品中糖类物质的测定方法

测定食品中糖类物质的方法很多，可分为直接法和间接法两大类，直接法是根据糖的一些理化性质作为分析原理进行的各种分析方法，包括物理法、化学分析法、酶法、色谱法、电泳法、生物传感器及各种仪器分析法。间接法是根据测定的水分、粗脂肪、粗蛋白质、灰分等含量，利用差减法计算出来，常以总碳水化合物或无氮抽提物来表示。虽然间接法可测定食品中糖类化合物的总量，但采用直接法分别测定食品中各种糖的含量显得十分重要。

物理法包括相对密度法、折光法、旋光法和重量法等。可用于测定糖液浓度，糖品的蔗糖分，谷物中淀粉及粗纤维含量等。化学分析法是应用最广泛的常规分析方法，包括直接滴定法、高锰酸钾法、铁氰化钾法、碘量法、蒽酮法等。食品中还原糖、蔗糖、总糖、淀粉和果胶物质等的测定多采用化学分析法，但

所测得的多是糖类物质的总量，不能确定混合糖的组分及其每种糖的含量。利用纸色谱法、薄层色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法和糖离子色谱法等可以对混合糖中各种糖分进行分离和定量，其中薄层色谱法和高效液相色谱法已被确定为异麦芽低聚糖测定的国家标准方法。用酶分析法测定糖类也有一定的应用，如用酶-电极法和酶-比色法测定葡萄糖、半乳糖、乳糖和蔗糖含量，用酶水解法测定淀粉含量等。电泳法可对食品中各种可溶性糖分进行分离和定量，如葡萄糖、果糖、乳糖、棉子糖等常用纸上电泳法和薄层电泳法进行检验。近年来毛细管电泳法在一些低聚糖和活性多糖方面的测定越来越广泛，但尚未作为常规分析方法。生物传感器简单、快速、可实现在线分析，如用葡萄糖生物传感器可在线检测混合样品中葡萄糖的含量，是一种具有很大潜力的检测方法。

本章将分别介绍各种糖类物质的测定方法，重点介绍国内外的标准分析方法，同时适当介绍一些有影响的参考方法。

第二节 可溶性糖类的测定

一、可溶性糖类的提取和澄清

食品中的可溶性糖通常是指葡萄糖、果糖等游离单糖及蔗糖等低聚糖。测定可溶性糖时，一般须选择适当的溶剂提取样品，并对提取液进行纯化，排除干扰物质，然后才能测定。

(一) 提取

1. 常用的提取剂

糖类可用水作提取剂，温度一般控制在 40~50℃，提取效果好。若温度更高时，可提取出相当量的可溶性淀粉和糊精。水提取液中，除了糖类外，还可能含有色素、蛋白质、可溶性果胶、可溶性淀粉、有机酸等干扰物质，特别是乳与乳制品、水果及其制品、大豆及其制品中干扰成分较多。水果及其制品中含有许多有机酸，为防止蔗糖等低聚糖在加热时被部分水解，提取液应调为中性。

乙醇水溶液也是常见的糖类提取剂，糖类在乙醇水溶液中具有一定溶解度，当提取液中的乙醇浓度足够高时，蛋白质、淀粉和糊精等都不能溶解，通常用的是 70%~75% 的乙醇溶液。若样品含水量较高，混合后乙醇的最终浓度应控制在上述范围内。用乙醇溶液作提取剂时，提取液不用除蛋白质，因为蛋白质不会溶解出来。

2. 提取液制备的原则

提取液的制备方法要根据样品的性状而定，但应遵循以下原则：

(1) 确定合适的取样量和稀释倍数。

确定取样量和稀释倍数，要考虑所采用的分析方法的检测范围。一般提取液经净化和可能的转化后，每毫升含糖量应在 0.5~3.5mg 之间，提取 10g 含糖 2% 的样品可在 100mL 容量瓶中进行；而对于含糖较高的食品，可取 5~10g 样品于 250mL 容量瓶中进行提取。

(2) 含脂肪的食品需经脱脂后再进行提取。

对于乳酪、巧克力、蛋黄酱及蛋白杏仁糖等含脂肪的食品，一般以石油醚进行脱脂处理一次或几次，每次处理后，倾去石油醚层（如分层不好，可以进行离心分离），然后用水提取。

(3) 含有大量淀粉和糊精的食品，宜采用乙醇溶液提取。

对粮谷制品、某些蔬菜及调味品等，用水提取会使部分淀粉、糊精溶出，影响测定，同时过滤也困难，为此，宜采用乙醇溶液提取。提取时可加热回流，然后冷却并离心，倾出上清液，如此提取 2~3 次，合并提取液，蒸发除去乙醇。

(4) 含酒精和二氧化碳等挥发组分的液体样品，应在水浴上加热除去。加热时应保持溶液呈中性，以免造成低聚糖的水解及其单糖的分解。

(二) 提取液的澄清

上面得到的提取液中，除含有单糖和低聚糖等可溶性糖类外，还不同程度地含有一些影响测定的杂质，如色素、蛋白质、可溶性果胶、可溶性淀粉、有机酸、氨基酸、单宁等。这些物质的存在常会使提取液带有颜色，或呈现浑浊，影响测定终点的观察；也可能在测定过程中与被测成分或分析试剂发生化学反应，影响分析结果的准确性；胶态杂质的存在还会给过滤操作带来困难，因此必须把这些干扰物质除去。常用的方法是加入澄清剂沉淀这些干扰物质。

1. 糖类澄清剂的要求

能作为糖类澄清剂的物质，必须满足以下几个条件：

- (1) 能较完全地除去干扰物质；
- (2) 不吸附或沉淀被测糖分，也不改变被测糖分的理化性质；
- (3) 过剩的澄清剂应不干扰后面的分析操作，或易于除掉。

2. 常用的澄清剂

澄清剂的种类很多，在糖类分析中较常用的有以下几种：

(1) 中性醋酸铅 $[\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ 这是最常用的一种澄清剂。铅离子能与很多离子结合，生成难溶沉淀物，同时吸附除去部分杂质。它能除去蛋白质、果胶、有机酸、单宁等杂质。它的作用较可靠，不会沉淀样液中的还原糖，在室温下也不会形成铅糖化合物，因而适用于测定还原糖样液的澄清。但它的脱色能力较差，不能用于深色样液的澄清，适用于浅色的糖及糖浆制品、果蔬制品、焙烤制品等。铅盐有毒，使用时应注意。

(2) 乙酸锌和亚铁氰化钾溶液 它是利用乙酸锌 $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ 与亚铁氰化钾反应生成的氰亚铁酸锌沉淀来挟走或吸附干扰物质。这种澄清剂除蛋白质能力强，但脱色能力差，适用于色泽较浅，蛋白质含量较高的样液的澄清，如乳制品、豆制品等。

(3) 硫酸铜和氢氧化钠溶液 这种澄清剂是由五份硫酸铜溶液(69.28g $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶于1L水中)和两份1mol/L氢氧化钠溶液组成。在碱性条件下，铜离子可使蛋白质沉淀，适合于富含蛋白质的样品的澄清。

(4) 碱性醋酸铅 能除去蛋白质、有机酸、单宁等杂质，又能凝聚胶体。但它可生成体积较大的沉淀，可带走糖，特别是果糖。过量的碱性醋酸铅可因其碱度及铅糖的形成而改变糖类的旋光度。此澄清剂用以处理深色糖液。

(5) 氢氧化铝溶液(铝乳) 氢氧化铝能凝聚胶体，但对非胶态杂质的澄清效果不好。可用作浅色糖溶液的澄清，或作为附加澄清剂。

(6) 活性炭 能除去植物样品中的色素，适用于颜色较深的提取液，但能吸附糖类造成糖的损失，特别是蔗糖损失达6%~8%，限制了它在糖类分析上的应用。

除上述澄清剂外，还有硅藻土、六甲基二硅烷等也可作为澄清剂。澄清剂的种类很多，各种澄清剂性质不同，澄清效果也各不一样，使用澄清剂时应根据样液的种类、干扰成分及含量加以选择，同时还必须考虑到所采用的分析方法。如用直接滴定法测定还原糖时，不能用硫酸铜-氢氧化钠溶液澄清样品，以免样液中引入 Cu^{2+} ；用高锰酸钾滴定法测定还原糖时，不能用醋酸锌-亚铁氰化钾溶液澄清样液，以免样液中引入 Fe^{2+} 。

3. 澄清剂的用量

澄清剂的用量必须适当。用量太少，达不到澄清的目的，用量太多则会使分析结果产生误差。甚至中性醋酸铅之类安全的澄清剂，用量也不能过大。因为当样品试液在测定过程中进行加热时，铅将与糖(特别是果糖)结合生成铅糖化合物，使测得的糖含量虚假地降低。因此，要使误差为最小，必须使用最少量的澄清剂。或者加入除铅剂避免铅糖化合物生成。常用的除铅剂有草酸钠、草酸钾、硫酸钠、磷酸氢二钠等。使用时可以以固体状态加入(如固体草酸钠)，也可以以液体状态加入(如10% Na_2SO_4 或10% Na_2HPO_4 溶液)。但应注意，如用固体除铅剂，应先将样液定量到一定体积后再加入；如用液体除铅剂，应在加入除铅剂后再定容。除铅剂的用量也要适当。在保证使铅完全沉淀的前提下，使用量尽量减少。

不同的样液因干扰物质的种类和含量不同，所需加入澄清剂的量也不同。如用中性醋酸铅作为澄清剂时，一般先向样液中加入1~3mL醋酸铅饱和溶液(约30%)，充分混合后静置15min，向上层清液中加入几滴中性醋酸铅溶液，上层清液中如无新的沉淀形成，说明杂质已沉淀完全，如有新的沉淀形成，就再加入几滴，混匀并静置几分钟，如此重复直至无沉淀形成为止。也可以用20%或10%中性醋酸铅溶液。用乙酸锌-亚铁氰化钾溶液作澄清剂时，用量一般是50~75mL样液加入乙酸锌溶液(219g $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /L)和亚铁氰化钾溶液(10.6%)各5mL。用硫酸铜-氢氧化钠溶液作为澄清剂时，一般在50~75mL样液中加入10mL硫酸铜溶液(69.28g $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ /L)和4mL氢氧化钠溶液(1mol/L)。

二、还原糖的测定

V ——标定时消耗葡萄糖标准溶液的体积，mL。

再利用下面公式计算样品中还原糖的含量。

$$\text{还原糖 (以葡萄糖计, g/100g)} = \frac{F}{m \times \frac{V}{250} \times 1000} \times 100$$

式中： F ——10mL 碱性酒石酸铜溶液（甲、乙液各 5mL）相当于葡萄糖的质量，mg；

m ——样品质量（或体积），g（mL）；

V ——测定时平均消耗样品溶液体积，mL；

250——样品液总体积，mL。

（2）适用范围及特点

本法又称快速法，是国家标准分析方法（GB/T5009.7 中第二法），它是在兰-爱农容量法基础上发展起来的，其特点是试剂用量少，操作和计算都比较简便、快速，滴定终点明显，准确度高，重现性好。适用于各类食品中还原糖的测定。但测定酱油、深色果汁等样品时，因色素干扰，滴定终点模糊不清，影响准确性。

（3）说明与讨论

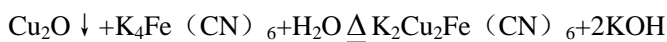
①本法所用的碱性酒石酸铜溶液配制方法不同于兰-爱农容量法和高锰酸钾滴定法，方法如下：

甲液 称取 15.00g 硫酸铜（ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ）及 0.05g 次甲基蓝，溶于水中并稀释至 1000mL。

乙液 称取 50.00g 酒石酸钾钠及 75g 氢氧化钠，溶于水中，再加入 4g 亚铁氰化钾，完全溶解后，用水稀释至 1000mL，贮存于具橡胶塞玻璃瓶中。

②碱性酒石酸铜甲液和乙液应分别贮存，用时才混合，否则酒石酸钾钠铜络合物长期在碱性条件下会慢慢分解析出氧化亚铜沉淀，使试剂有效浓度降低。

③为消除氧化亚铜沉淀对滴定终点观察的干扰，在碱性酒石酸铜乙液中加入了少量亚铁氰化钾，使之与 Cu_2O 生成可溶性的络合物，而不再析出红色沉淀，消除沉淀对观察滴定终点的干扰，使终点更为明显。其反应如下：



④本法以测定过程中的 Cu^{2+} 量为计算依据，因此，在样品处理时，不能用硫酸铜和氢氧化钠溶液作为澄清剂，以免引入 Cu^{2+} 。

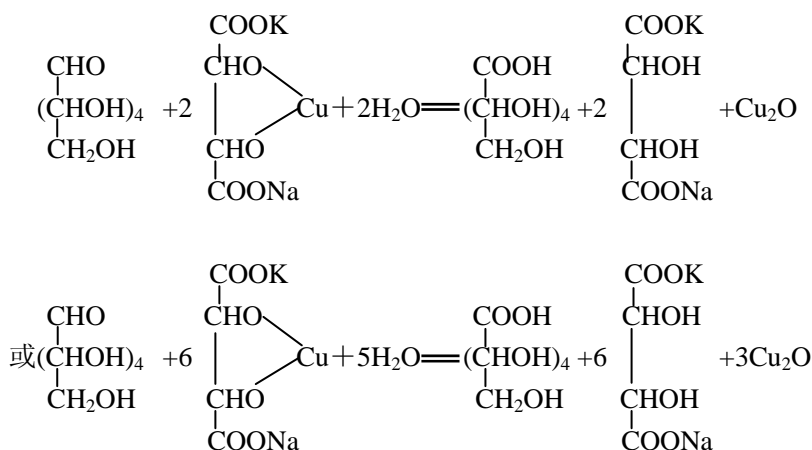
⑤滴定必须在沸腾条件下进行，其原因一是可以加快还原糖与 Cu^{2+} 的反应速度；二是次甲基蓝变色反应是可逆的。还原型次甲基蓝遇空气中氧时，又会被氧化为氧化型。此外，氧化亚铜也极不稳定，易被空气中的氧所氧化。保持反应液沸腾可防止空气进入。避免次甲基蓝和氧化亚铜被氧化而增加耗糖量。

⑥本法对滴定操作条件要求很严，整个滴定工作须控制在 3 min 内完成，其中 2min 内加热至沸，然后以每 2 秒 1 滴的速度滴定至终点。标准溶液的标定、样品溶液预测及测定的操作条件应保持一致。对每一次滴定被测溶液的使用量，锥形瓶规格，加热电炉功率，滴定速度，预加入大致体积，终点的确定方法等都尽量一致。并将滴定所需体积的绝大部分先加入碱性酒石酸铜溶液中共沸，使其充分反应，仅留 1mL 左右进行滴定，并判断终点，以减少因滴定操作带来的误差，提高测定精度。另外，滴定时不能随意摇动锥形瓶，更不能把锥形瓶从热源上取下来滴定，以防止空气进入反应溶液中。

⑦样品溶液必须进行预测。原因是本法对样品溶液中还原糖浓度有一定要求（0.1%左右），测定时样品溶液的消耗体积应与标定葡萄糖标准溶液时消耗的体积相近，通过预测可了解样品溶液浓度是否合适，浓度过大或过小应加以调整，使预测时消耗样液量在 10mL 左右；另外通过预测可知道样液大概消耗量，以便在正式测定时，预先加入比实际用量少 1mL 左右的样液，只留下 1mL 左右样液在续滴定时加入，以保证在规定时间内完成续滴定工作，提高测定的准确度。

⑧为了提高测定的准确度，要求用那种还原糖表示结果就用相应的还原糖标定碱性酒石酸铜溶液，如用葡萄糖表示结果就用葡萄糖标准溶液标定碱性酒石酸铜溶液。

⑨还原糖与碱性铜盐的反应，一般书刊上常写成：



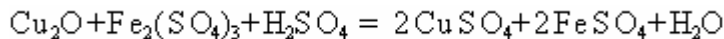
上述第一式表明葡萄糖在此反应中的电子转移数为 2，被氧化为葡萄糖酸；第二式表明葡萄糖的电子转移数为 6，被氧化为葡萄糖二酸。两式都没表明葡萄糖有脱羧基的降解反应。试验研究表明，还原糖的电子转移数接近于 6，同时，碱性酒石酸铜溶液是中等强度氧化剂，在此实验条件下，不易将葡萄糖氧化为葡萄糖二酸，实测结果也证明了反应后的溶液中确有相当量的 CO_3^{2-} 存在。因此，还原糖与碱性酒石酸铜溶液的反应应以本书所写示意式为合理。

2. 高锰酸钾滴定法

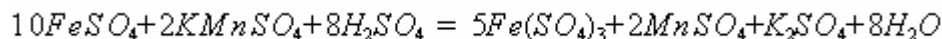
(1) 原理

将一定量的样液与一定量过量的碱性酒石酸铜溶液反应，在加热条件下，还原糖把二价铜盐还原为氧化亚铜。反应式同直接滴定法。

经抽气过滤，得到氧化亚铜沉淀，加入过量的酸性硫酸铁溶液，氧化亚铜被氧化为铜盐而溶解，硫酸铁被还原为亚铁盐。



用高锰酸钾标准溶液滴定生成的亚铁盐。



根据滴定时高锰酸钾标准溶液消耗量，计算氧化亚铜含量。计算公式如下：

$$X_1 = c \times (V - V_0) \times \frac{5}{2} \times \frac{143.08}{1000} \times 1000$$

式中： X_1 ——样品中还原糖质量相当于氧化亚铜的质量，mg；

c ——高锰酸钾标准溶液的浓度，mol/L；

V ——测定用样品液消耗高锰酸钾标准溶液的体积，mL；

V_0 ——试剂空白消耗高锰酸钾标准溶液的体积，mL；

143.08——氧化亚铜的摩尔质量，g/mol。

再从《相当于氧化亚铜质量时葡萄糖、果糖、乳糖、转化糖的质量表》中查出与氧化亚铜相当的还原糖量（见附表 10），即可计算出样品中还原糖含量。计算公式如下：

$$X_2 = \frac{A}{m \times \frac{V_1}{250} \times 1000} \times 100$$

式中： X_2 ——样品中还原糖的含量，%；

A ——由 X_1 查表得出的氧化亚铜相当的还原糖质量，mg；

m ——样品质量（体积），g（mL）；

V_1 ——测定用样品溶液的体积，mL；

250——样品处理后的总体积，mL。

(2) 适用范围及特点

本法又称贝尔德蓝 (Bertrand) 法, 是国家标准分析方法 (GB/T5009.7 中第一法), 方法的准确度和重现性都优于直接滴定法, 并适用于各类食品中还原糖的测定, 有色样液也不受限制。但操作复杂、费时, 需使用专用的检索表。

(3) 说明与讨论

①本法所用的碱性酒石酸铜溶液配制方法与直接滴定法不同。方法如下:

甲液 称取 34.639g 硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 加适量水溶解, 加 0.5mL 硫酸, 再加水稀释至 500mL, 用精制石棉过滤。

乙液 称取 173g 酒石酸钾钠与 50g 氢氧化钠, 加适量水溶解, 并稀释至 500mL, 用精制石棉过滤, 贮存于橡胶塞玻璃瓶内。

②本法以测定过程中产生的 Fe^{+2} 为计算依据, 因此, 在样品处理时, 不能用乙酸锌和亚铁氰化钾作为澄清剂, 以免引入 Fe^{+2} 。另外, 所用碱性酒石酸铜溶液是过量的, 即保证把所有的还原糖全部氧化后, 还有过剩的 Cu^{+2} 存在。所以, 煮沸后的反应液应呈蓝色 (酒石酸钾钠铜络离子)。如不呈蓝色, 说明样液含糖浓度过高, 应调整样液浓度。

③测定必须严格按照规定的操作条件进行, 必须控制好热源强度, 保证在 4min 内加热至沸, 否则误差很大。实验时先取 50mL 蒸馏水, 加碱性酒石酸铜甲、乙液各 25mL, 调整热源强度, 使其在 4min 内加热至沸, 维持热源强度不变, 再正式测定。另外, 在过滤及洗涤氧化亚铜沉淀的整个过程中, 应使沉淀始终在液面以下, 避免氧化亚铜暴露于空气中而被氧化。

④生成的氧化亚铜用铺好石棉的古氏坩埚或 G_4 垂融坩埚抽滤, 并用 60°C 热水洗涤烧杯及沉淀, 至洗液不呈碱性为止。石棉精制的方法如下: 取石棉先用 3mol/L 盐酸浸泡 2~3d, 用水洗净, 再加 10% 氢氧化钠溶液浸泡 2~3d, 倾去溶液, 再用热碱性酒石酸铜乙液浸泡数小时, 用水洗净。再以 3mol/L 盐酸浸泡数小时, 以水洗至不呈酸性。然后加水振摇, 使成微细的浆状软纤维, 用水浸泡并贮存于玻璃瓶中, 即可用作填充古氏坩埚用。

⑤还原糖与碱性酒石酸铜溶液的反应过程十分复杂, 除按上述反应式进行外, 还伴随有副反应。此外, 不同的还原糖还原能力也不同, 反应生成的 Cu_2O 量也不相同。因此, 不能根据生成的 Cu_2O 量按反应式直接计算出还原糖含量, 而需利用经验检索表。

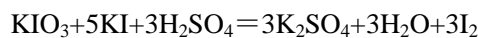
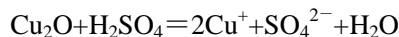
3. 萨氏法

(1) 原理

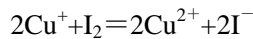
将一定量的样液与过量的碱性铜盐溶液共热, 样液中的还原糖定量地将二价铜还原为氧化亚铜。



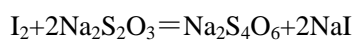
氧化亚铜在酸性条件下溶解为一价铜离子, 同时碘化钾被碘酸钾氧化后析出游离碘。



氧化亚铜溶解于酸后, 将碘还原为碘化物, 而本身从一价铜被氧化为二价铜。



剩余的碘与硫代硫酸钠标准溶液反应。



根据硫代硫酸钠标准溶液消耗量可求出与一价铜反应的碘量。从而计算出样品中还原糖含量。计算公式如下:

$$\text{还原糖} (\%) = \frac{(V_0 - V) \times S \times f}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times 1000} \times 100$$

式中 V ——测定用样液消耗 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标准溶液体积, mL;

V_0 ——空白试验消耗 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标准溶液体积, mL;

S ——还原糖系数 (mg/mL), 即 1mL 0.005mol/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标准溶液相当于还原糖的量 (mg), 见表 9-1;

表 9-1;

f —— $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标准溶液浓度校正系数, f =实际浓度/0.005;

V_1 ——样液总体积, mL;

V_2 ——测定用样液体积, mL;

m ——样品质量, g。

(2) 适用范围及特点

该法又称 Somogyi 法, 是一种微量法, 检出量为 0.015~3mg。灵敏度高, 重现性好, 结果准确可靠。因样液用量少, 故可用于生物材料或经过层析处理后的微量样品的测定。终点清晰, 有色样液不受限制。

(3) 说明与讨论

①萨氏试剂也是一种碱性铜盐溶液, 主要由硫酸铜-磷酸盐-酒石酸盐组成, 与碱性酒石酸铜溶液相比, 萨氏试剂用 Na_2HPO_4 代替了部分 NaOH , 使试剂碱性较弱, 因此不必配成甲、乙液, 配成的混合溶液也可保存较长时间。同时还还原糖的还原当量高, 可提高测定的灵敏度。因此, 该法可测定微量还原糖。另外, 萨氏试剂中加入了大量的 Na_2SO_4 , 可降低反应液中的溶解氧, 避免生成的 Cu_2O 重新氧化。萨氏法自 1933 年由 Somogyi 提出以来, 在萨氏试剂的组成上经过了多次改进, 使试剂更稳定, 方法更灵敏。目前形成了多种萨氏改良法, 除微量法外, 还有常量法。典型的萨氏试剂组成为: 71g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 40g 酒石酸钾钠, 100mL1mol/L NaOH 溶液, 8g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 410g $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 25mL1/6mol/L KIO_3 溶液, 依次溶解后混合在一起并加水至 1000mL, 用微孔玻璃漏斗过滤后备用。

②萨氏试剂碱度的降低, 还原糖的氧化速度变慢, 反应时间增加, 会延长测定时间, 因此试剂的碱度不宜过低。由于不同还原糖的还原能力及反应速度不同, 反应时所需加热时间也不同。另外, 萨氏试剂与碱性酒石酸铜溶液一样, 同还原糖的反应也不符合等摩尔关系。利用表 9-1 所示的加热时间和还原糖系数进行操作和计算, 可得到正确的测定结果。

表 9-1 还原糖的加热时间和系数

糖的种类	加热时间 (min)	系数 (mg/mL)	糖的种类	加热时间 (min)	系数 (mg/mL)
阿拉伯糖	25~35	0.143	半乳糖	35~45	0.175
木糖	25~35	0.127	转化糖	15~25	0.135
葡萄糖	15~25	0.135	麦芽糖	25~35	0.250
果糖	15~25	0.135	乳糖	30~40	0.216
甘露糖	25~35	0.135			

③碘化钾不加在萨氏试剂中, 而在临用前再加入, 可避免生成的 Cu_2O 沉淀溶解, 增加 Cu_2O 与氧接触的机会, 使其再被氧化。

④要严格控制操作条件, 确保测定的准确度, 保证空白试验, 萨氏试剂的标定和样品测定在同一条件进行。空白和试样均须作平行试验, 平行滴定之差不得超过 0.05mL。淀粉指示剂不宜加入过早, 否则会形成大量淀粉吸附物, 达到滴定终点时仍不褪色, 造成误差。另外, 滴定至蓝色消失时即为终点, 此是溶液呈微绿色, 而不是无色。

⑤硫代硫酸钠极易分解, 空气中的二氧化碳溶于水中生成的碳酸能与硫代硫酸钠作用生成亚硫酸氢钠和硫, 空气的氧化以及微生物的作用, 也可使有效成分减少, 造成误差。防止措施: 配制硫代硫酸钠溶液的蒸馏水在临用前煮沸, 以减少水中溶解的氧气、二氧化碳和防止微生物的作用; 硫代硫酸钠溶液要贮存在棕色瓶中, 抑制日光对硫代硫酸钠的分解; 每隔一定时间对硫代硫酸钠溶液进行重新标定。

4. 蓝-爱农法

(1) 原理

用样品试液滴定一定量、煮沸的碱性酒石酸铜溶液, 以次甲基蓝为指示剂, 达到终点时, 稍微过量的样品试液将蓝色的次甲基蓝还原为无色的隐色体, 而显出氧化亚铜的鲜红色沉淀。根据试液的用量, 查蓝-爱农法专用检索表 (见附表 7-9), 求得样品中还原糖的含量。

(2) 适用范围及特点

本法又称 Lane-Eynon Method, 准确度高、重现性好, 是一种快速简单的方法。许多国家和国际组织把该法定为测定还原糖的标准分析方法。但该法试剂、操作要求严格, 终点不易判断, 对于新学者不易掌握。

(3) 说明与讨论

①本法所用的碱性酒石酸铜溶液同高锰酸钾滴定法。

②还原糖与碱性酒石酸铜溶液的反应不符合等摩尔关系，不能用化学方程式计算。

③本法对滴定操作条件要求很严，要求滴定在沸腾条件下进行，样液必须在 2min 内加热至沸，总煮沸时间在 3min 内完成，其中维持沸腾 2min，然后以每 2 秒 1 滴的速度滴定至终点。实际上样液的滴加量约为 1mL。为了达到上述要求，一般需对样品溶液进行预测，以便预先加入比实际用量少 1mL 左右的样液，只留下 1mL 左右样液在续滴定时加入，以保证在规定时间内完成续滴定工作，提高测定的准确度。其他操作条件的要求同直接滴定法。

④由于个别操作和试剂成分的变动，实测的还原糖因数可能与表中所列值不相符。宜用标准还原糖对碱性酒石酸铜溶液进行校正。校正时测定结果用那种还原糖表示，就应用那种还原糖标准溶液，校正方法同样品测定，只是用还原糖标准溶液代替样品溶液，按下面公式计算校正系数。

$$F = \frac{C}{G}$$

式中 F——碱酒石酸铜溶液浓度校正系数；

C——还原糖标准溶液配制的实际浓度，mg / 100mL；

G——查表所得还原糖标准溶液 100mL 所含毫克数。

如允许有 1% 的测定误差，则可省略这项校正，可直接查蓝-爱农法那种还原糖因数表。也可用还原糖标准溶液标定 10mL 费林氏溶液而求出还原糖因数，此法误差为 0.5%。

⑤用本法测定加糖乳制品时，蔗糖的存在会使滴定时样液的消耗量减少，使测定结果偏高，故当蔗糖与乳糖的含量比超过 3 : 1 时，应加以校正。校正方法是在滴定消耗量上加表 9-2 中校正值再计算。

表 9-2 乳糖、蔗糖共存时测定乳糖的校正值

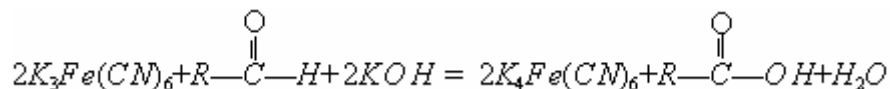
糖液滴定量 (mL)	10mL 碱性酒石酸铜溶液试液	
	蔗糖对乳糖量的比	
	3 : 1	6 : 1
15	0.15	0.30
20	0.25	0.50
25	0.30	0.60
30	0.35	0.70
35	0.40	0.80
40	0.45	0.90
45	0.50	0.95
50	0.55	1.05

(二) 铁氰化钾法

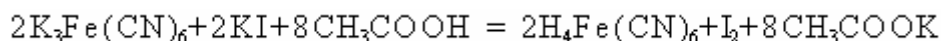
1. 第一法 (GB/T5513-85)

(1) 原理

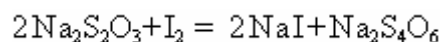
还原糖在碱性溶液中将铁氰化钾还原为亚铁氰化钾，本身被氧化为相应的糖酸。



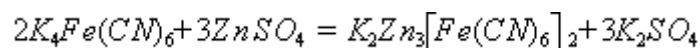
剩余的铁氰化钾在乙酸的存在下，与过量的碘化钾作用析出碘。



析出的碘用硫代硫酸钠标准溶液滴定。



由于反应是可逆的，为了使反应顺向进行，用硫酸锌沉淀反应中所生成的亚铁氰化钾。



实验表明，如试样中还原糖含量多时，剩余的铁氰化钾量少，而与碘化钾作用析出的游离碘也少，因此滴定游离碘所消耗的硫代硫酸钠量也少；反之，试样中还原糖少时，滴定游离碘所消耗硫代硫酸钠则多。但还原糖量与硫代硫酸钠用量之间不符合等摩尔关系。因而不能根据上述反应式直接计算出还原糖含量。而是首先按下面公式计算出氧化还原糖时所用去的铁氰化钾的量，再通过查经验表（见附表 11）的方法即可查得试样中的还原糖的百分数。

$$V = \frac{(V_0 - V_1) \times c}{0.1}$$

式中 V ——氧化样品液中还原糖所需 0.1mol/L 铁氰化钾溶液体积， mL ；

V_0 ——滴定空白液消耗硫代硫酸钠溶液体积， mL ；

V_1 ——滴定样品液消耗硫代硫酸钠溶液体积， mL ；

c ——硫代硫酸钠溶液的浓度， 1mol/L 。

(2) 适用范围及特点

本法的特点是滴定终点明显，准确度高，重现性好，适用于各类食品中还原糖的测定。是粮食、油料等样品中还原糖测定的国家标准分析方法，见 GB/T5513-1985。

(3) 说明与讨论

①本法是以铁氰化钾氧化还原糖，用硫代硫酸钠测定剩余的铁氰化钾量来计算样品中还原糖的含量。因此，在样品处理时，不能用乙酸锌和亚铁氰化钾作为澄清剂，以免亚铁氰化钾氧化引入 Fe^{3+} 。可用中性醋酸铅澄清样品。另外，所用的铁氰化钾溶液是过量的，即保证把所有的还原糖全部氧化后，还有过剩的 Fe^{3+} 存在。

②样品提取液与 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 溶液混合后应立即将试管放入剧烈沸腾的水浴中，并使管中液面在沸水液面下 $3\sim 4\text{cm}$ ，准确加热 20min 后取出，立即用水迅速冷却，否则误差很大。试管可置铁丝笼中，每次可同时作若干样品测定。

③铁氰化钾易分解、易氧化，宜置于棕色瓶中或外边罩一个黑色纸套于一般瓶中保存。每次使用前用必须标定铁氰化钾的浓度。方法为：吸取配制好的铁氰化钾溶液 10mL 于 250mL 锥形瓶中，共 $3\sim 5$ 份。各加入 10% 氢氧化钠溶液 2.5mL 、水 12.5mL 和玻璃珠数粒。置石棉网上加热至沸，保持 1min 。加入次甲基蓝指示剂 1 滴，立即用 0.1% 标准的还原糖滴定之蓝色退去为止。正式滴定时，先加入比预测时约少 0.5mL 的糖液，煮沸 1min ，次甲基蓝指示剂 1 滴，再用糖液滴定之蓝色退去为止。按下式计算：

$$A = c \times V$$

式中： A ——相当于 10mL 铁氰化钾溶液的还原糖的量， g ；

c ——还原糖的浓度， 0.1% ；

V ——滴定时消耗还原糖的体积， mL 。

2. 第二法

(1) 原理

样品中的还原糖具有还原性，在碱性溶液中能将煮沸的铁氰化钾还原。根据铁氰化钾的浓度和检液滴定量可计算出样品中的还原糖的含量。还原糖与铁氰化钾的反应同第一法。

当滴定到终点时，稍微过量的还原糖能将次甲基蓝还原为无色的隐色体。反应式见还原糖测定的直接滴定法。

实验表明，还原糖量与铁氰化钾溶液的反应不符合等摩尔关系。因而不能根据上述反应式直接计算出还原糖含量。而是需要用标准的还原糖标定一定量的铁氰化钾溶液，然后根据此值和样品滴定量来计算还原糖含量。

(2) 适用范围和特点

本法试剂用量少，操作简便、快速，重现性好，准确、误差小。适用于各类食品中还原糖的测定。但滴定要迅速，否则滴定终点模糊不清，影响准确性，尤其深色样品，见刘福岭、戴行钧编著，食品物理与

化学分析方法。

(3) 说明与讨论

①样品处理同铁氰化钾法第一法。

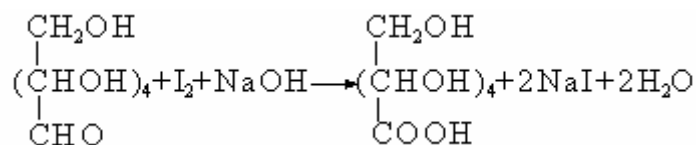
②本法对滴定操作条件要求很严，要求在低压电炉上将铁氰化钾溶液加热至沸，准确沸腾 1min，趁沸迅速用样液滴定至蓝色消失，这样终点易判断，误差小，重现性好。另外，锥形瓶规格，加热电炉功率，滴定速度，预加入大致体积，终点的确定方法等都尽量一致。并将滴定所需体积的绝大部分先加入碱性酒石酸铜溶液中共沸，使其充分反应，仅留 0.5mL 左右进行滴定，并判断终点，以减少因滴定操作带来的误差，提高测定精度。

③滴定时不能随意摇动锥形瓶，更不能把锥形瓶从热源上取下来滴定，以防止空气进入反应溶液中。

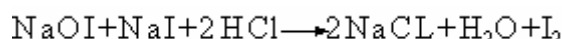
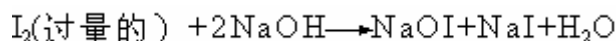
(三) 碘量法

1. 原理

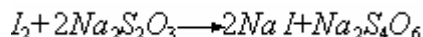
含有游离醛基的糖（葡萄糖）和半缩醛羟基的糖（乳糖、麦芽糖），于碱性溶液中在碘的作用下，可被氧化为相应的一元酸。反应式如下：



由于加入的碘与氢氧化钠都是过量的，两者作用生成次碘酸钠残留在反应液中，当加入盐酸使反应液呈酸性时析出碘：



用硫代硫酸钠标准溶液滴定析出的碘量，可计算出糖氧化时所消耗的碘量。反应式如下：



根据上述反应方程式，可以由消耗的碘量求出醛糖的量。

在一定范围内，上述反应是完全按化学反应式来定量的，因此，可以利用化学反应式进行定量计算，而不用经验检索表。从反应式可计算出 1mmol 碘相当于葡萄糖 180mg；麦芽糖 342 mg；乳糖 360 mg。

2. 适用范围和特点

本法可用于醛糖和酮糖共存时单独测定醛糖，适用于各类食品，如硬糖、异构糖、果汁等样品中葡萄糖量。详见黄伟坤等编，《食品检验与分析》，2000 年。

3. 说明与讨论

(1) 碘量法自 1918 年创始以来，已经历了多次改良，主要在碱性试剂的选择、反应体系的碱度、反应温度等方面进行了改进。其目的：一是防止酮糖的氧化，降低共存的酮糖的影响；二是使碱性条件下醛糖与碘的反应完全按反应式进行，以便于计算。例如用弱碱性的碳酸钠代替氢氧化钠，以降低反应体系的碱度，在 20℃ 恒温条件下进行。实验证明，在此条件下有 2 倍的果糖共存时，对葡萄糖的测定影响很小。因此本法常用于样品中有果糖存在时葡萄糖含量的测定。

(2) 样品中含有乙醇、丙酮等成分时，因为它们也会消耗碘，影响测定，故应除去。

(3) 碘量法分为常量法和微量法，主要差别在于测定时样液用量、试剂浓度及用量不同，常量法用样液量 20~25mL，样液含醛糖 0.02%~0.45%；微量法用样液量 5mL，检出量为 0.25~1mg。

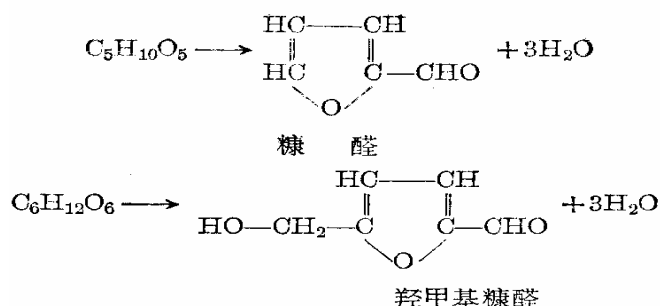
(4) 此法配合直接滴定法，可用于葡萄糖和果糖共存时果糖的测定。先用碘的碱性溶液把葡萄糖氧化，过量的碘用硫代硫酸钠液滴定除去，然后再用直接滴定法测定果糖的含量。

(四) 其他方法

1. 酚-硫酸法

(1) 原理

糖类物质与浓硫酸作用脱水，生成糠醛或糠醛衍生物。反应式如下：



糠醛或糠醛衍生物与苯酚溶液反应，生成黄至橙色化合物，在一定范围内，吸收值与糖含量呈线性关系，因此可比色测定。

(2) 适用范围及特点

此法简单、快速、灵敏、重现性好，颜色持久，对每种糖仅需制作一条标准曲线。最低检出量为 10 μg ，误差为 2%~5%。适用于各类食品中还原糖的测定，尤其是层析法分离洗涤之后的样品中糖的测定。但由于浓硫酸可水解多糖和糖苷，注意避免这方面的干扰。

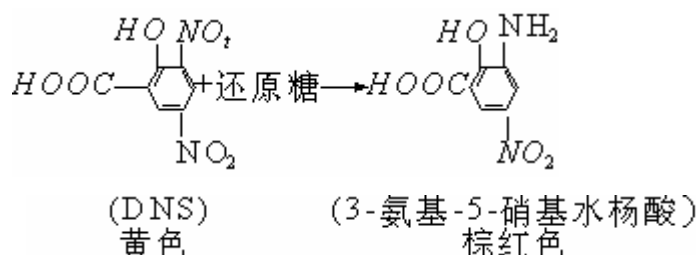
(3) 说明与讨论

由于不同的糖类能得到不同的色泽，可制成对应的各类糖的标准曲线，借此测定样品中的糖。己糖及其甲基化衍生物在 490nm 下比色测定；戊糖、糠醛酸及其甲基化衍生物在 480nm 下比色测定。

2.3, 5-二硝基水杨酸 (DNS) 比色法

(1) 原理

在氢氧化钠和丙三醇存在下，还原糖能将 3, 5-二硝基水杨酸中的硝基还原为氨基，生成氨基化合物。反应式如下：



此化合物在过量的氢氧化钠碱性溶液中呈桔红色，在 540nm 波长处有最大吸收，其吸光度与还原糖含量有线性关系。

(2) 适用范围及特点

此法适用于各类食品中还原糖的测定，相对误差为 2.2%，具有准确度高、重现性好、操作简便、快速等优点，分析结果与直接滴定法基本一致。尤其适用于大批样品的测定。

(3) 说明与讨论

①水杨酸比色法自 1922 年由大科利特戈弗提出后，经多次对 3, 5-二硝基水杨酸试剂的组成和配制比例进行改进，提高了试剂的稳定性、灵敏度和分析的准确度。目前普遍认可的配制方法是：称取 6.5g 3, 5-二硝基水杨酸溶于少量水中，移入 1000mL 容量瓶中，加入 2mol/L 氢氧化钠溶液 325mL，再加入 45g 丙三醇，摇匀，冷却后定容到 1000mL。

②若样品显酸性，可加入 2% 氢氧化钠溶液调至中性。

③显色试剂不能放置过久，否则标准曲线变动。

3. 半胱氨酸-吡唑法

(1) 原理

单糖与强酸反应生成糠醛或其衍生物，再与显色剂半胱氨酸及吡唑缩合成有色络合物，此络合物在 560nm 处有最大吸收，可以比色测定。

(2) 适用范围及特点

本法是微量法，适用于葡萄糖和果糖共存时果糖的测定。显色剂半胱氨酸和咪唑可与所有糖类反应，但果糖发色程度远远超过葡萄糖，即使葡萄糖含量高于果糖 1 倍，对测定结果影响也不大，因蔗糖在此测定条件下会水解，增加果糖含量，故此法不能用于有蔗糖共存的样品测定。

(3) 说明

样品处理液含酮糖控制在 5~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，用亚铁氰化钾和硫酸锌溶液澄清样品。测定时必须将样品处理液置于冰水浴中，缓缓加入硫酸溶液。冷却后再加入咪唑乙醇溶液，在 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 30min，冷却后测定吸光度。详见 GB/T16285-1996。

4. 旋光法(ICUMSA)

(1) 原理

葡萄糖、果糖、麦芽糖及乳糖等还原糖分子中具有不对称碳原子，故有旋光性。用旋光仪测定旋光度，在一定的条件下，旋光度的大小与试样中这些还原糖含量呈线性关系。

(2) 适用范围及特点

该法简单、快速，在制糖、食品、发酵厂和一些检验部门，常用于商品葡萄糖、果糖、麦芽糖等的测定。但被测糖溶液中常含有其它的糖和电解质等光学活性物质，将影响被测物质旋光度的大小，因此本法适合于纯度较高的糖溶液的测定。

(3) 说明与讨论

①由于葡萄糖等在溶解之后，常发生变旋作用。因此用旋光法测定这些糖时，宜放置过夜再测定。若需立即测定，可将糖液调为中性加热至沸，或加几滴氨水后再定容。

②本法适用于浅色和低浊度的糖液测定，若糖液颜色太深或混浊度太高，不能直接测定旋光度值，需要用中性醋酸铅澄清。

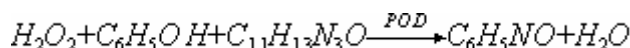
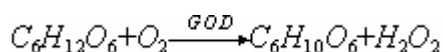
③用待测溶液将旋光管至少冲洗 2 次，并将溶液装满观测管，注意不使观测管内夹带空气泡。将帽盖旋紧于旋光管上，但仅须旋至防止溶液漏出的程度，过紧可能使盖玻璃变形并产生光学活性。并尽量少用手接触旋光管。

④ICUMSA 法规定旋光度的标准温度为 20.0 $^{\circ}\text{C}$ ，因此测定旋光度的待测液及仪器的温度应保持在 20.0 \pm 0.1 $^{\circ}\text{C}$ 。

5. 酶-比色法

(1) 原理

葡萄糖氧化酶 (GOD) 在有氧条件下，催化 β -D-葡萄糖 (葡萄糖水溶液状态) 氧化，生成 D-葡萄糖酸- δ -内酯和过氧化氢，受过氧化物酶 (POD) 催化，过氧化氢与 4-氨基安替比林和苯酚生成红色醌亚胺。



在波长 505nm 处测定醌亚胺的吸光度，可计算出食品中葡萄糖的含量。计算公式如下：

$$X = \frac{C}{m \times \frac{V_2}{V_1}} \times \frac{1}{1000 \times 1000} \times 100 = \frac{C}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times 10000}$$

式中：X——样品中葡萄糖的含量，质量百分率，%；

C——标准曲线上查出的试液中葡萄糖含量， μg ；

m——试样的质量，g；

V_1 ——试液的定容体积，mL；

V_2 ——测定时吸取试液的体积，mL。

(2) 适用范围及特点

本法属国家标准分析法(GB/T16285-1996)，最低检出限量为 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，为仲裁法。由于葡萄糖氧化酶 (GOD) 具有专一性，只能催化葡萄糖水溶液中 β -D-葡萄糖被氧化，不受其它还原糖的干扰，因此测定结果较直接滴定法和高锰酸钾法准确。适用于各类食品中葡萄糖的测定，也适用于食品中其它组分转化

为葡萄糖的测定。

(3) 说明与讨论

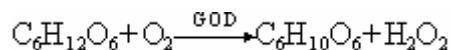
①葡萄糖组合试剂盒由三瓶试剂组成。1号瓶内含 0.2mol/L 磷酸盐缓冲溶液 (pH=7) 100 mL, 其中 4-氨基安替比林为 0.00154mol/L; 2号瓶内含 0.2mol/L 苯酚溶液 100 mL; 3号瓶内含葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶。1、2、3号瓶须在 4℃左右保存。用时将 1号瓶和 2号瓶的物质充分混合均匀, 再将 3号瓶的物质溶解其中, 使葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶完全溶解即得酶试剂溶液, 此溶液须在 4℃左右保存, 有效期一个月。

②试液制备时, 对不含蛋白质的试样, 用重蒸馏水溶解试样, 过滤, 弃去最初滤液, 得试液; 对含蛋白质的试样, 先用亚铁氰化钾溶液、硫酸锌溶液和氢氧化钠溶液沉淀蛋白质等杂质, 再过滤, 弃去初滤液, 得试液。对含二氧化碳的样品, 可取一定量样品于三角瓶中, 旋摇至基本无气泡, 然后置沸水浴中回流处理 10min, 取出冷却至室温。试液中葡萄糖含量大于 300μg/mL 时, 应适当增加定容体积。

6. 酶-电极法

(1) 原理

葡萄糖氧化酶 (GOD) 在有氧条件下催化 β-葡萄糖 (葡萄糖水溶液状态) 氧化, 生成 D-葡萄糖酸-δ-内酯和过氧化氢。



生成的过氧化氢与过氧化氢电极接触产生电流。该电流值与 β-D-葡萄糖的浓度呈线性比例, 在酶电极葡萄糖分析仪上直接显示葡萄糖含量。可按下面公式计算:

$$X = \frac{R \times V}{100} \times 100 = \frac{R \times V}{1000 \times m}$$

式中: X——样品中葡萄糖的含量, 质量百分率, %;

R——仪器测定值, mg / 100mL;

V——试液的定容体积, mL;

m——试样的质量, g。

(2) 适用范围及特点

本法属国家标准分析法(GB/T16285-1996), 最低检出限量为 1.0mg/100mL, 为快速法。由于葡萄糖氧化酶 (GOD) 具有专一性, 只能催化葡萄糖水溶液中 β-D-葡萄糖被氧化, 不受其它还原糖的干扰, 因此测定结果较直接滴定法和高锰酸钾法准确。适用于各类食品中葡萄糖的测定, 也适用于食品中其它组分转化为葡萄糖的测定。

(3) 说明与讨论

①用葡萄糖组合试剂盒测定, 组合试剂盒由葡萄糖氧化酶膜圈、复合试剂和 β-D-葡萄糖标准溶液三部分组成。

②试液制备时, 对一般固体试样和固液体试样, 用蒸馏水溶解试样, 用快速滤纸或脱脂棉过滤。弃去初滤液, 收集 1~2mL 滤液于带盖小试管中; 对水果、蔬菜试样, 加入一定量煮沸的蒸馏水和组合试剂盒中的缓冲液, 并继续煮沸 3~5min, 冷却至室温后用研钵研细或用组织捣碎机捣碎, 用蒸馏水稀释定容, 用快速过滤纸或脱脂棉过滤。弃去初滤液, 收集 1~2mL 滤液于带盖小试管中; 对食用葡萄糖试样, 用蒸馏水溶解后煮沸 2min, 冷却后用蒸馏水稀释至刻度, 摇匀。

③测定时首先将电极表面清理干净, 吸取由复合试剂配成的缓冲溶液滴在电极表面。用小镊子取一片酶膜圈, 安装在电极表面, 使酶膜圈中心和电极中心的白金完全贴紧, 形成无气泡的薄层液体, 然后将电极安装在反应池内。开动仪器, 缓冲溶液即自动进入反应池, 并自行冲洗, 当仪器出现进样指令后, 将标准溶液注入进样口内。20~40s 后仪器自动显示标准溶液的指示值, 再等 30~60s, 仪器自行完成冲洗过程, 即可重复注入标准溶液数次, 直至仪器显示允许开始测定样品。当连续两次标准溶液显示值的相对误差小于 2.0% 时, 即完成仪器校正步骤。然后准确注入试样, 20~40s 后读取显示值。

④当样品中葡萄糖含量小于 1.0% 时, 两次测定值不得超过其平均值的 5.0%; 当样品中葡萄糖含量大于或等于 1.0% 时, 两次测定值不得超过其平均值的 2.0%。

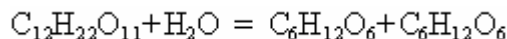
三、蔗糖的测定

蔗糖是葡萄糖和果糖组成的双糖，没有还原性，不能用碱性铜盐试剂直接测定，但在一定条件下，蔗糖可水解为具有还原性的葡萄糖和果糖。因此，可以用测定还原糖的方法测定蔗糖含量。对于纯度较高的蔗糖溶液，也可用相对密度法、折光法和旋光法等测定。

1. 盐酸水解法

(1) 原理

样品脱脂后，用水或乙醇提取，提取液经澄清处理以除去蛋白质等杂质再用盐酸进行水解，使蔗糖转化为还原糖。



然后按还原糖测定方法分别测定水解前后样品液中还原糖含量，两者差值即为由蔗糖水解产生的还原糖量，即转化糖的含量。乘以换算系数即为蔗糖含量。

根据蔗糖的水解反应，蔗糖的相对分子量为 342，水解后生成 2 分子单糖，相对分子量之和为 360，故由转化糖的含量换算成蔗糖含量时应乘以换算系数为 $342/360=0.95$ 。计算公式如下：

① 直接滴定法

$$\text{蔗糖}(\%) = \frac{F \left(\frac{100}{V_2} - \frac{100}{V_1} \right)}{m \times \frac{50}{250} \times 1000} \times 100 \times 0.95$$

式中： F ——10mL 酒石酸钾钠铜溶液相当于转化糖的质量，mg；

V_1 ——测定时消耗未经水解的样品稀释液体积，mL；

V_2 ——测定时消耗经过水解的样品稀释液体积，mL；

m ——样品质量，g；

② 高锰酸钾滴定法

$$x_1 = c(V_1 - V_0) \times \frac{5}{2} \times \frac{143.08}{1000} \times 1000$$

$$x_2 = c(V_2 - V_0) \times \frac{5}{2} \times \frac{143.08}{1000} \times 1000$$

$$\text{蔗糖}\% = \frac{A_2 - A_1}{m \times \frac{50}{250} \times \frac{V}{100} \times 1000} \times 100 \times 0.95$$

式中： c ——高锰酸钾标准溶液的浓度，mol/L；

V_1 ——测定用经水解的样品稀释液消耗高锰酸钾标准溶液的体积，mL；

V_2 ——测定用未经水解的样品稀释液消耗高锰酸钾标准溶液的体积，mL；

V_0 ——试剂空白消耗高锰酸钾标准溶液的体积，mL；

x_1 ——测定未经水解的样品稀释液时，与消耗的高锰酸钾标准溶液相当的 Cu_2O 量，mg；

x_2 ——测定经水解的样品稀释液时，与消耗的高锰酸钾标准溶液相当的 Cu_2O 量，mg；

A_1 ——由 x_1 查表得出的相当于还原糖的量，mg；

A_2 ——由 x_2 查表得出的相当于还原糖的量，mg；

m ——样品质量，g；

V ——测定用样品稀释液体积，mL；

(2) 说明与讨论

① 本法摘自 GB/T5009.8-1985 蔗糖是一种呋喃果糖苷，它的水解速度远比其他双糖、低聚糖和多糖要快得多。利用此特点可测定蔗糖。本方法规定的酸水解条件为：在 50mL 样液中，加 6mol/L 盐酸 5mL，在 68~70℃ 水浴中加热 15min，取出于流动水下迅速冷却，立即调至中性。在此条件下，蔗糖可完全水解，而其他双糖和淀粉等的水解作用很小，可忽略不计。

② 为获得准确的结果，必须严格控制水解条件。取样液体积、酸的浓度及用量、水解温度和时间都不

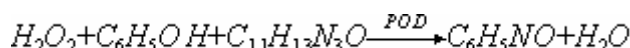
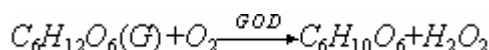
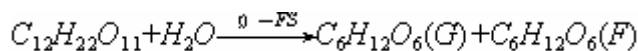
能随意改动，到达规定时间后应迅速冷却，以防止低聚糖和多糖水解，果糖的分解。

③用还原糖法测定蔗糖时，为减少误差，测得的还原糖含量应以转化糖表示。因此，选用直接滴定法时，应采用 0.1% 标准转化糖溶液标定碱性酒石酸铜溶液。选用高锰酸钾滴定法时，查附表 4 时应查转化糖项。

2. 酶-比色法

(1) 原理

在 β -D-果糖苷酶 (β -FS) 催化下，蔗糖被酶解为葡萄糖和果糖。葡萄糖氧化酶 (GOD) 在有氧条件下，催化 β -D-葡萄糖(葡萄糖水溶液状态)氧化，生成 D-葡萄糖酸- δ -内酯和过氧化氢。受过氧化物酶(POD)催化，过氧化氢与 4-氨基替比林和苯酚生成红色醌亚胺。



在波长 505nm 处测定醌亚胺的吸光度，按下式计算食品中蔗糖的含量。

$$X = \frac{C}{m \times \frac{V_2}{V_1}} \times \frac{1}{1000 \times 1000} \times 100 = \frac{C}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times 10000}$$

式中：X——样品中蔗糖的含量，质量百分率，%；

C——标准曲线上查出的试液中蔗糖的含量， μg ；

m——试样的质量，g；

V_1 ——试液的定容体积，mL；

V_2 ——测定时吸取试液的体积，mL。

(2) 适用范围及特点

本法属国家标准分析法（见 GB/T16286-1996），最低检出限量为 0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。适用于各类食品中蔗糖的测定。由于 β -D-果糖苷酶具有专一性，只能催化蔗糖水解，不受其它糖的干扰，因此测定结果较盐酸水解法准确。

(3) 说明与讨论

①蔗糖组合试剂盒由四瓶试剂组成。1 号瓶内含 β -D-果糖苷酶 400U，柠檬酸和柠檬酸钠；2 号瓶内含 0.2mol/L 磷酸盐缓冲溶液 (pH=7) 100mL，其中 4-氨基安替比林为 0.00154mol/L；3 号瓶内含 0.2mol/L 苯酚溶液 200 mL；4 号瓶内含葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶。1、2、3、4 号瓶须在 4 $^{\circ}\text{C}$ 左右保存。用时将 1 号瓶内的物质用重蒸馏水溶解，使其体积为 66 mL，此溶液即为 β -D-果糖苷酶试剂；2 号瓶和 3 号瓶的物质充分混合均匀，再将 4 号瓶的物质溶解其中，使葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶完全溶解即得葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶试剂溶液。这两种酶试剂溶液须在 4 $^{\circ}\text{C}$ 左右保存，有效期一个月。

②试液制备同酶-比色法测定葡萄糖。

③测定时，必须严格按酶反应条件进行，即取一定量试液，加入 1.0mL β -果糖苷酶溶液，在 36 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 恒温 20min。取出后加入 3mL 葡萄糖氧化酶-过氧化物酶溶液，摇匀，在 36 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 恒温 40min，冷却至室温，用重蒸馏水定容至刻度，在波长 505nm 处测定吸光度，查标准曲线计算样品中蔗糖含量。

四、总糖的测定

在许多食品中共存多种单糖和低聚糖。这些糖有的是来自原料，有的是生产过程中为某种目的而人为加入的，有的则是在加工过程中形成的（如蔗糖水解为葡萄糖和果糖）。对这些糖分别加以测定是比较困难的，通常也是不必要的。食品生产中通常需要测定其总量，这就提出了“总糖”的概念，总糖是指具有还原性的（葡萄糖、果糖、乳糖、麦芽糖等）和在测定条件下能水解为还原性单糖的蔗糖的总量。

总糖是食品生产中常规分析项目。它反映的是食品中可溶性单糖和低聚糖的总量，其含量高低对产品的色、香、味、组织形态、营养价值、成本等有一定影响。总糖是麦乳精、糕点、果蔬罐头、饮料等许多

食品的重要质量指标。

总糖的测定通常是还以还原糖的测定方法为基础的，常用的是直接滴定法，此外还有蒽酮比色法等。

(一) 直接滴定法

1. 原理

样品经处理除去蛋白质等杂质后，加入盐酸，在加热条件下使蔗糖水解为还原性单糖，以直接滴定法测定水解后样品中的还原糖总量，再按下式计算总糖的含量。

$$\text{总糖 (以转化糖计, \%)} = \frac{F}{m \times \frac{50}{V_1} \times \frac{V_2}{100} \times 1000} \times 100$$

式中：F——10mL 碱性酒石酸铜溶液相当的转化糖质量，mg；

V₁——样品处理液总体积，mL；

V₂——测定时消耗样品水解液体积，mL；

m——样品质量，g。

2. 说明与讨论

(1) 总糖测定的水解条件同蔗糖，测定时必须严格控制水解条件，使蔗糖完全水解，多糖不水解和单糖不分解。

(2) 直接滴定法测定还原糖，不完全符合等摩尔关系，测定时必须严格遵守操作中有关规定，否则结果将会有较大误差。

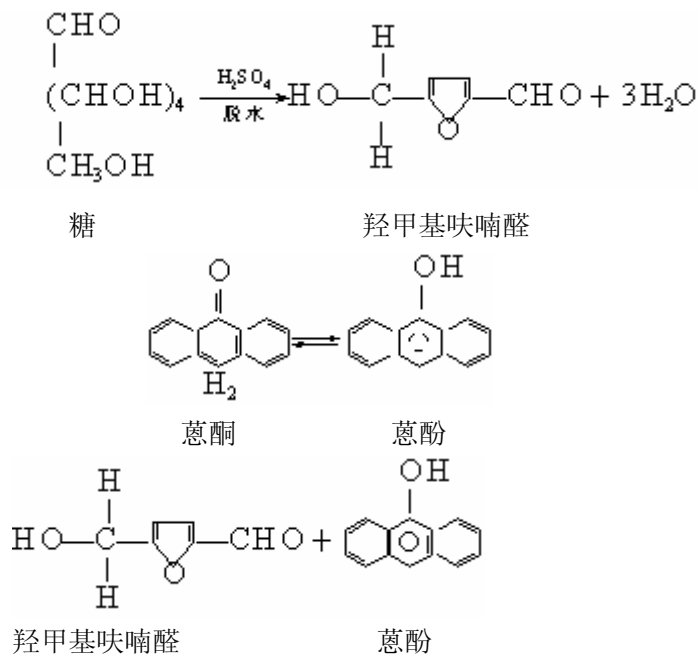
(3) 总糖测定结果一般以转化糖计，但也可以以葡萄糖计，要根据产品的质量指标要求而定。如用转化糖表示，应该用标准转化糖溶液标定碱性酒石酸铜溶液、如用葡萄糖表示，则应该用标准葡萄糖溶液标定。

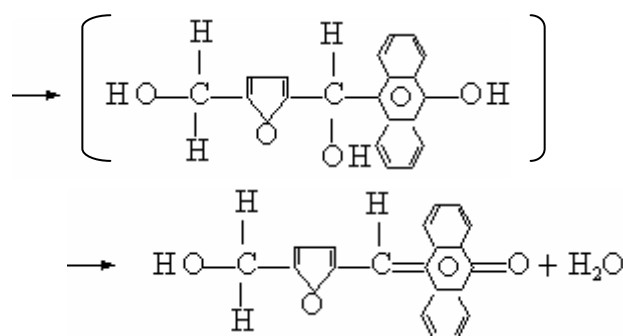
(4) 在营养学上，总糖是指能被人体消化，吸收利用的糖类物质的总和，包括淀粉。这里所讲的总糖不包括淀粉，因为在测定条件下，淀粉的水解作用很微弱。

(二) 蒽酮比色法

1. 原理

单糖类遇浓硫酸时，脱水生成糠醛衍生物，后者可与蒽酮缩合成蓝绿色的化合物。以葡萄糖为例，反应式如下：





蓝绿色的化合物

当糖的量在 20~200mg 范围内时, 其呈色强度与溶液中糖的含量成正比, 故可比色定量。可按下式计算糖的含量。

$$\text{总糖 (以葡萄糖计, \%)} = c \times \text{稀释倍数} \times 10^{-4}$$

式中 c ——从标准曲线查得的糖浓度, $\mu\text{g/mL}$;

10^{-4} ——将 $\mu\text{g/mL}$ 换算为 % 的系数。

2. 适用范围及特点

该法是微量法, 适合于含微量糖的样品, 具有灵敏度高、试剂用量少等优点。

3. 说明与讨论

①该法按操作的不同可分为几种, 主要差别在于蒽酮试剂中硫酸的浓度 (66%~95%)、取样液量 (1~5mL)、蒽酮试剂用量 (5~20mL)、沸水浴中反应时间 (6~15min) 和显色时间 (10~30min)。这几个操作条件之间是有联系的, 不能随意改变其中任何一个, 否则将影响分析结果。

②蒽酮试剂不稳定, 易被氧化, 放置数天后变为褐色, 故应当天配制, 添加稳定剂硫脲后, 在冷暗处可保存 48h。

③反应液中硫酸的浓度高达 60% 以上, 在此高酸度条件下, 在沸水浴中加热, 可使双糖、淀粉等发生水解, 再与蒽酮发生显色反应。因此测定结果是样液中单糖、双糖和淀粉的总量。如要求测定结果包括淀粉, 则样品处理时应采用 52% 高氯酸作提取剂; 如要求测定不包括淀粉, 应该用 80% 乙醇作提取, 以避免淀粉和糊精溶出。此外, 在测定条件下, 纤维素也会与蒽酮试剂发生一定程度的反应, 因此应避免样液中含有纤维素。

④本法反应条件控制较严, 如反应温度、显色时间、试剂和试液的初始温度等都将影响显色状况, 操作稍不留心, 就会引起误差。样液必须清澈透明, 加热后不应有蛋白质沉淀, 如样液色泽较深, 可用活性炭脱色。

五、可溶性糖类的分离与定量

前面介绍的几种测定糖的方法, 所测结果多是几种糖的总量, 不能确定糖的组成及每组分的含量。但是, 在科研和生产中, 有时需要对各种糖分别进行定量, 现在一般都采用色谱分析法来完成这项工作。由于食品种类繁多、组成、性状各异, 具体应用这些方法时, 必须根据样品的组成、性状、选择适当的色谱分离条件和样品处理方法。

(一) 气相色谱法

糖类分子间引力一般较强, 挥发性弱, 故不能直接进行气相色谱分析。但把糖制成某种具有挥发性的衍生物, 就可以用气相色谱法进行分离定量, 分析中常用衍生物有: 三氯硅烷 (TMS) 衍生物、三氟乙酰 (TEA) 衍生物、乙酰衍生物和甲基衍生物等。其中最常用的是前两种。

1. 原理

样品经处理后, 进行衍生使之生成挥发性 TMS 衍生物, 然后注入色谱仪器, 在一定色谱条件下进行分离, 用火焰电离检测器检测, 得出色谱图, 再与标准样品的色谱图比较, 根据峰的保留时间定性, 根据峰面积与内标物峰面积之比, 查标准曲线得出试样中糖的含量。

2. 适用范围

此法适用于果汁、果酱、饼干、糕点等加工食品以及水果、蔬菜。不适用于含乳糖的乳制品。

3. 色谱条件

色谱柱: 3% Silicone DCQF-1, chromosorb W (AW, DMOS) 60~80 目。

温度：柱温，120~240 ℃；进样口、检测器温度 250℃；升温速度，6℃ / min。
 流速：氮气流量，60mL / min；氢气 50mL / min；空气 1L / min。

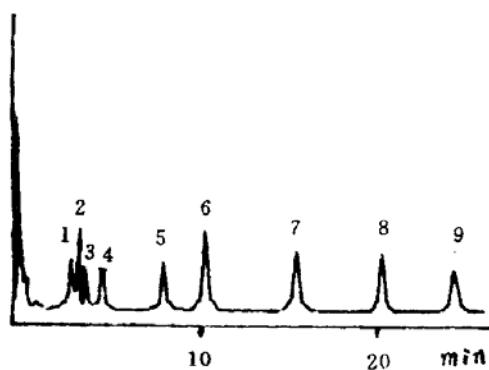


图 9-1 TMS 衍生物分析单糖和双糖的气相色谱图

1, 2.果糖；3, 5.葡萄糖；4.山梨糖醇，甘露糖醇；
 6.内标物苾；7.蔗糖；8, 9.麦芽糖；10.葡萄糖醇

4.说明与讨论

(1) 脂肪含量高的样品，应先用正己烷脱脂。含脂肪较低的样品不必脱脂。淀粉含量较高的样品应该用 80%乙醇提取，一般样品可用水提取。

(2) TMS 衍生物的制备方法是吸取适量制备的试样溶液（总糖含量在 10mg 以下），放入 25mL 的磨口圆底烧瓶中，水溶液试样要进行冷冻干燥，乙醇溶液试样要在 40℃ 以下减压干燥。用微量进样器吸取内标物苾的吡啶溶液（40mg / 50mL）500μL，加到干燥试样中，然后加 HMDS 0.45mL、TFA0.05mL，加塞，充分振荡混匀，使糖溶解，在室温上放置 15~60min，即得 TMS 衍生物溶液。

(3) 糖类的异构体较多，进行气相色谱法分析时，各异构体被分离，得出各自的峰（见图 9-1），定量时要把这些峰值加起来计算。

(二) 高效液相色谱法

1.原理

样品经适当的前处理后，将糖类的水溶液注入反相化学键合相色谱体系，用乙腈和水作为流动相，糖类分子按其分子量由小到大的顺序流出，经示差折光检测器检测，与标准比较定量。按下式计算：

$$\text{糖含量}(\%) = \frac{A \times V}{m \times 1000} \times 100$$

式中：A——由标准工作曲线查得的样液中某种糖浓度，mg/mL；

V——样液总体积，mL；

m——样品质量，g。

2.适用范围

本法广泛应用于食品中糖的测定。由于萃取与提取步骤、色谱条件和检测类型有着宽广的范围，因此，几乎所有含游离糖的样品都可以试用这种分析技术。测定不同的食品时，应根据待测糖的种类，改变流动相乙腈溶液的浓度，采取适当的样品处理方法等，提高方法的选择性、灵敏度和准确度，扩大其适用范围。操作方法可参照 QB/T2491-2000。

3.色谱条件

色谱柱：μBondapak Carbohydrate（4mm×300mm）；

流动相：乙腈+水（80+20）；流速：2.5mL / min；

进样量：20μL；温度：室温。

4.说明与讨论

(1) 本方法可以在 15min 内完成 5 种糖的分离，精密度和准确度都很好，变异系数小于 2%。

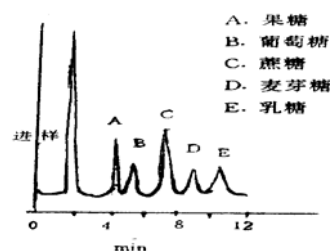


图 9-2 乳制品中糖类的分离

(2) μ Bondapak/Carbohydrate 色谱柱的寿命有限,应用 μ Bondapak/Porasil B 填充的保护柱可延长柱的使用寿命。此外,常用的还有氨丙烷基键合硅胶柱,如 Lichrosorb-NH₂, 国产的有 YWG-HN₂ (天津化学试剂二厂)。

(3) 也有用丙酮-乙酸乙酯-水代替毒性较大的乙腈作流动相的。

(三) 离子色谱法

1. 原理

糖是一种多羟基醛或酮的化合物,具有弱酸性,当 pH 在 12~14 时,会发生解离,所以能被阴离子交换树脂 (HPAC) 保留,用 pH 为 12 或碱性更大的氢氧化钠溶液淋洗,可实现糖的分离 (见图 9-3),再以脉冲安培检测器 (PAD) 检测,以峰保留时间定性,以峰高外标法定量。

2. 适用范围及特点

本法适用于果汁、蜂蜜、牛乳及其制品、饮料、黄酒、大豆粉等多种食品。具有灵敏度高 (检测下限可达 10^{-9} g/Kg 级)、选择性好、操作简单、样品不必经过复杂的前处理等优点。

3. 色谱条件

色谱柱: HPIC-AS6 阴离子分离柱,保护柱为 HPIC-AG6 检测器: 脉冲安培检测器,工作参数为:

E₁ 为 200mV, t₁ 60ms; E₂ 为 600mV, t₂ 60ms; E₃ 为 800mV, t₃ 240ms。

流动相: 0.15mol/L NaOH 溶液;

流速: 1.0mL/min。

4. 说明与讨论

(1) 用 HPAC-PAD 分析糖的唯一缺点是由于 1. 木糖醇 2. 山梨糖醇 3. 鼠李糖 4. 阿拉伯糖 5. 葡萄糖 检测过程属于氧化检测,所以象甲醇、丙醇 6. 果糖 7. 乳糖 8. 蔗糖 9. 棉子糖 10. 水苏糖 11. 麦芽糖 等有机改进剂在实验过程中不能使用。

(2) 流动相的脱气十分重要,流动相中的气体不仅会影响高压泵的正常运转,在 HPAC-PAD 分析样品时,还会影响基线稳定性。

(3) PAD 金电极使用后其表面有可能变得粗糙,影响基线稳定,此时必须对电极表面进行抛光,抛光必须严格按说明书上的技术要求进行。

(4) HPAC 柱每次后用比流动相稍浓一些的 NaOH 溶液冲洗,这样做能使保留值具有较好的重要性。

(四) 其它方法

1. 平面色谱法

(1) 原理

在一张层析滤纸或一块特制的薄板上,一端滴上要分离的糖溶液,放在密闭容器内,使展开剂从有样品的一端流向另一端,由于各种糖在展开剂中的分配系数、吸附能力、亲和力等的不同,从而使样品中的各组分以不同速度移动而得到分离。再通过适当溶剂显色使分离后的各组分在滤纸或薄板的各个不同位置上显示出来。与已知糖的 R_f 值比较进行定性分析,用斑点面积定量法、薄层扫描法、或将滤纸 (薄板) 上斑点剪下 (刮下) 等,用适当溶剂把各组分洗脱下来,再用酚-硫酸法、蒽酮法等微量法测定各组分糖的含量。

一般来说,在一定的操作条件下,每一种糖类物质都有恒定的 R_f 值,且 R_f 值从大到小依次为单糖,双糖,三糖,四糖,戊糖,己糖;在己糖中,酮糖,醛糖。也有例外情况,如展开剂内含有酚时,果糖移动速度就较木糖要慢些。双糖的 R_f 值中,1,4 键结合的要比 1,6 键结合的大;α-D 葡萄糖苷的双糖较 β-D 葡萄糖苷的双糖大。糖的定量方法很多,

(2) 适用范围及特点

本法具有设备简单,试剂廉价,操作方便,所需样品量少和灵敏度较高等特点,适合于糖的组分较复

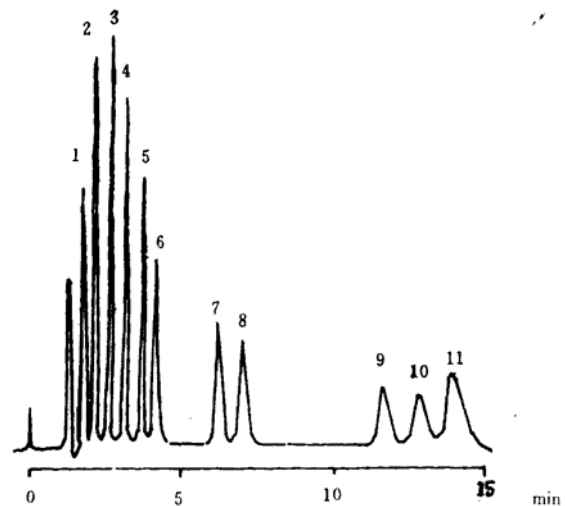


图 9-3 11 种糖的离子色谱图

杂的食品或配料中各组分糖的测定，如蜂蜜、淀粉糖浆和低聚糖等。但展开时间较长，准确度不高，属半定量方法。操作方法可参照 QB/T2491-2000。

(3) 说明与讨论

①要求所用滤纸质地均一，厚薄一致，并保持平整，否则会出现斑点畸形，溶剂前沿不齐与 R_f 值改变等；滤纸必须具有一定机械强度、合适的松紧程度和一定纯度，以便滤纸被溶剂润湿后能站立不倒，展开速度合适，不出现“复斑”和“托尾”现象。

②糖的薄层分析，常用硅胶 G 制作薄板，硅胶 G 是一种微酸性的极性吸附剂，表面积大，具有较强的吸附能力，吸附量大，其吸附活性与其含水量密切相关，一般含水量越大，活性越低；含水量越小，活性越高。在进行薄层分析时，要求薄层板厚薄均匀，厚度符合分析要求；表面平滑细腻，无气泡皱纹；薄层在板上粘附牢固不易脱落等特点，且在展开前须对薄板进行调活处理，使其活性适当。

③常用的展开剂及其应用范围列于表 9-3，

表 9-3 分离单糖和低聚糖常用的展开剂

展开剂	被分离的混合物
1. 乙酸乙酯：吡啶：水=2：1：2	木糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖
2. 乙酸乙酯：乙酸：水=3：1：3	低聚半乳糖、乳糖、半乳糖、葡萄糖
3. 正丙醇：水=85：15	乳糖、半乳糖、葡萄糖
4. 正丁醇：吡啶：水=45：25：40	异麦芽低聚糖、麦芽低聚糖、葡萄糖
5. 正丁醇：乙酸：水=3：3：1	蜜二糖、果糖、葡萄糖
6. 正丁醇：乙醇：水=10：1：2	葡萄糖、半乳糖、甘露糖等六碳糖，阿拉伯糖、木糖等五碳糖，乳糖等二糖
7. 正丁醇：乙酸：水=4：1：5	鼠李糖、岩藻糖、半乳糖、甘露糖、葡萄糖等
8. 正丁醇：吡啶：水=6：4：3	用于分离中性糖
9. 乙酸丁酯：乙酸：水=3：2：1	用于分离中性糖
10. 异戊醇：吡啶：0.1mol/L HCl=2：2：1	用于分离戊糖
11. 正丁醇：乙醇：水=4：1：1	用于分离中性单糖
12. 乙酸乙酯：吡啶：水：乙酸=5：5：3：1	

④常用氨-硝酸银、苯胺-二苯胺、苯胺-邻苯二甲酸、过碘酸-联苯胺等溶液作显色剂。

⑤糖的薄层色谱法一般较纸色谱法灵敏度高，样品用量少，展开后得到的斑点小而清晰，且可用具有腐蚀性的试剂直接喷雾显色。但薄层色谱法 R_f 值的重现性不如纸色谱法。

2. 电泳法

(1) 原理

电泳是指依靠带电物质在外加直流电场影响下的移动来分离混合物各组成成分的方法。一般分为自由电泳和区带电泳。自由电泳是没有支持介质的，混合物的不同组分显示在相应的运动区域内，而这些运动区域是一个一个部分重叠着，一般用作电泳速度的测定，但不能分离混合物，且使用的仪器复杂，难于操作，应用受到限制。区带电泳是利用浸透电解液的各种不同形式的支持介质如滤纸、玻璃纤维、琼脂、明胶和凝胶等来稳定电泳区域，使混合物的不同组分显示在相邻的运动区域内，而且这些运动区域是明显分开的。可用来分离混合物，测定物质的含量，且使用的仪器简单，操作方便，分辨力较好，应用广泛，糖类物质的电泳分析法即属此类。

带有电荷的糖类物质，在外加直流电场作用下，能作定向移动，其移动速度与其所带的电荷量、分子大小和形状等有关。即可将糖类物质分离出来。然后用适当的试剂显色，或用紫外、荧光方法进行定性和定量。电泳分离的速度与外加电压有关，电压越大，移动越快，分离所需时间越短。糖类物质，一般带净电荷少，导电性弱，在实验操作中常需采用较高电压。对于中性糖，必须经过适当的转化，使其变成带有电荷的衍生物，才能进行电泳分析。如利用硼酸与糖反应，糖中相邻的两个羟基与硼酸中的硼配位，失去两分子水，形成带电复合物。另外醋酸、巴比妥酸和亚砷酸等缓冲溶液也常作糖类物质的衍生剂。

2. 适用范围及特点

本法具有快速、准确、重现性好、样品用量少等特点，适用于各种食品中单糖、低聚糖和多糖的测定。

3. 说明与讨论

(1) 在一定 pH 缓冲溶液中糖类物质的移动速度随其质点带电荷大小而改变，特别是两性化合物，缓

冲溶液的 pH 值对物质带电荷有影响，当溶液的 pH 值低于等电点时，物质带正电荷，反之则带负电荷，在等电点时，其所带的正负电荷相等，此时则停留不动。因此，为了控制电泳速度，必须采用适宜的 pH 缓冲溶液。

(2) 缓冲溶液的离子强度的越高，电泳速度越慢，反之则越快。一般最适宜的离子强度在 0.02~0.2。此外缓冲溶液的粘度、温度、介质的紧密程度等都影响电泳速度。

(3) 现已使用滤纸、醋酸纤维素、玻璃纤维、琼脂、聚丙烯酰胺凝胶等分离测定了一些单糖、低聚糖和多糖。Oefner 等人用高效毛细管电泳分离，紫外检测，可同时测定 14 种单糖和低聚糖混合物，检出限为 0.3pmol。Mechref 等人用 7-氨基-1, 3-二萘磺酸衍生，紫外或荧光检测，分析酸性低聚糖，检出限在 fmol 级。

第三节 淀粉的测定

淀粉是人类食物的重要组成部分，也是供给人体热能的主要来源，广泛存在于植物的根、茎、叶、种子等组织中。它是由葡萄糖单位构成的聚合物，聚合度为 100~3000。按聚合形式不同，淀粉可分为直链淀粉和支链淀粉。直链淀粉是由葡萄糖残基以 α -1, 4 糖苷键连结构成的，分子呈直链状；支链淀粉是由葡萄糖残基以 α -1, 4 糖苷键连结构成直链主干，而支链通过第六碳原子以 β -1, 6 糖苷键与主链相连，形成“树枝”状支叉结构。一般淀粉均同时含有直链淀粉和支链淀粉，只是不同来源的淀粉，所含这两种淀粉的比例不同。如玉米含直链淀粉约为 27%，马铃薯约为 23%，甘薯约为 20%，其余部分为支链淀粉。糯玉米、糯大米和糯高粱几乎全部是支链淀粉。由于直链淀粉和支链淀粉的结构不同，性质上也有一定差异。如直链淀粉不溶于冷水，可溶于热水；支链淀粉常压下不溶于水，只有在加热并加压时才能溶解于水。直链淀粉可与碘生成深蓝色络合物；而支链淀粉与碘不能形成稳定的络合物，呈现较浅的蓝紫色。

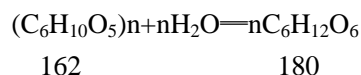
许多食品中都含有淀粉，有的是来自原料，有的是生产过程中为了改变食品的物理性状做为添加剂而加入的。如在糖果制造中做为填充剂；在雪糕、棒冰等冷饮食品中做为稳定剂；在午餐肉等肉类罐头中做为增稠剂，以增加制品的结着性和持水性；在面包、饼干、糕点生产中用来调节面筋浓度和胀润度，使面团具有适合于工艺操作的物理性质等。淀粉含量是某些食品主要的质量指标，是食品生产管理中常作的分析项目。

直链淀粉和支链淀粉都以颗粒状存在于胚乳细胞中，具有晶体结构，常称为淀粉粒。不同来源的淀粉，其淀粉粒的形状和大小各不相同，用显微镜观察可鉴别淀粉的种类。淀粉不溶于浓度在 30% 以上的乙醇溶液，在酸或酶的作用下可以水解，最终产物是葡萄糖。淀粉水溶液具有右旋性，比旋光度为 (+) 201.5°~205°。淀粉的许多测定方法都是根据淀粉的这些理化性质而建立的。常用的方法有：根据淀粉在酸或酶作用下能水解为葡萄糖，通过测定还原糖进行定量的酸水解法和酶水解法；根据淀粉具有旋光性而建立的旋光法；根据淀粉不溶于乙醇的性质而建立的重量法。现分别介绍如下。

一、酸水解法

1. 原理

样品经乙醚除去脂肪，乙醇除去可溶性糖类后，用盐酸水解淀粉为葡萄糖。水解反应为：



然后按还原糖测定方法测定水解所得的葡萄糖含量，再把葡萄糖含量折算为淀粉含量。换算系数为 162/180=0.9。计算公式如下：

(1) 高锰酸钾法

$$\text{淀粉}(\%) = \frac{(A - A_0) \times 0.9}{m \times \frac{V}{500} \times 1000} \times 100$$

式中：A——样品水解液中还原糖含量，mg；

A₀——空白液中还原糖含量，mg；

m——样品质量，g；

V——样品水解液的体积，mL；

500——样品水解液总体积， mL；
0.9——还原糖换算为淀粉的系数。

(2) 直接滴定法

$$\text{淀粉}(\%) = \frac{F \times 500 \times 0.9}{m \times 1000} \left(\frac{1}{V} - \frac{1}{V_0} \right) \times 100$$

式中：F——10mL 碱性酒石酸铜溶液相当的葡萄糖量， mg；

V——滴定时样品水解液消耗量， mL；

V₀——滴定时空白溶液消耗量， mL；

其他同上。

2. 适用范围及特点

此法一步可将淀粉水解至葡萄糖，简便易行，适用于淀粉含量较高，而半纤维素和多缩戊糖等其他多糖含量较少的样品。对富含半纤维素、多缩戊糖及果胶质的样品，因水解时它们也被水解为木糖、阿拉伯糖等还原糖，使测定结果偏高。该法应用广泛，但选择性和准确性不及酶水解法。操作方法可参阅 GB/T5009.9-1985。

3. 说明与讨论

(1) 本法要求对粮食、豆类、饼干和代乳粉等较干燥、易磨细的样品磨碎、过 40 目筛；对蔬菜、水果、粉皮和凉粉等水分较多的样品，需按 1:1 加水在组织捣碎机中捣成匀浆。再称取此处理后的样品进行分析。

(2) 样品含可溶性糖类时，会使结果偏高，可用 85% 乙醇分数次洗涤样品以除去。脂肪会妨碍乙醇溶液对可溶性糖类的提取，所以要用乙醚分数次洗去样品中的脂肪。脂肪含量较低时，可省去乙醚脱脂肪步骤。

(3) 样品加入乙醇溶液后，混合液中乙醇的浓度应在 80% 以上，以防止糊精随可溶性糖类一起被洗掉。如要求测定结果不包括糊精，则用 10% 乙醇洗涤。

(4) 水解条件要严格控制，要保证淀粉水解完全，并避免因加热时间过长对葡萄糖产生影响（形成糠醛聚合物，失去还原性）。对于水解时取样液量、所用酸的浓度及加入量、水解时间等条件，各方法规定有所不同。在国家标准分析方法中，样品中加入了 30mL 6 mol/L 盐酸，使混合液中盐酸的浓度达 5%，要求 100℃ 水解 2.0h。其它方法还有：混合液中盐酸的浓度达 1% 时，100℃ 水解 4h；混合液中盐酸浓度达 2% 时，100℃ 水解 2.5h。因水解时间较长，应采用回流装置，以保证水解过程中盐酸的浓度不发生变化。

(5) 样品水解液冷却后，应立即调至中性。可加入两滴甲基红，先用 40% 氢氧化钠调到黄色，再用 6mol/L 盐酸调到刚好变为红色，最后用 10% 氢氧化钠调到红色刚好褪去。若水解液颜色较深，可用精密 pH 试纸测试，使样品水解液的 pH 值约为 7。

(6) 用 20% 中性醋酸铅溶液，沉淀蛋白质、果胶等杂质，以澄清样品水解液。再加入 10% 硫酸钠溶液除去过多的铅。

二、酶水解法

1. 原理

样品经除去脂肪和可溶性糖类后，在淀粉酶的作用下，使淀粉水解为麦芽糖和低分子糊精，再用盐酸进一步水解为葡萄糖，然后按还原糖测定法测定其还原糖含量，并折算成淀粉含量。计算公式同酸水解法。

2. 适用范围及特点

利用淀粉酶水解样品，具有专一性和选择性，它只水解淀粉而不会水解半纤维素、多缩戊糖、果胶质等多糖，所以该法不受这些多糖的干扰，水解后可直接通过过滤除去这类多糖。适合于富含纤维素、半纤维素和多缩戊糖等多糖含量高的样品，分析结果准确可靠，重现性好。但是酶催化活力的稳定性受 pH 值和温度的影响很大，而且操作繁琐、费时，使用受到了一定程度的限制。本法为 GB/T5009.9-1985 中的第一法。

3. 说明与讨论

(1) 脂肪的存在会妨碍酶对淀粉的作用及可溶性糖类的去除，故应用乙醚脱脂。若样品中脂肪含量较少，可省略此步骤。

(2) 淀粉粒具有晶格结构，淀粉酶难以作用。加热糊化破坏了淀粉的晶格结构，使其易于被淀粉酶

作用。

(3) 常用于液化的淀粉酶是麦芽淀粉酶，它是 α -淀粉酶和 β -淀粉酶的混合物。 α -淀粉酶水解直链淀粉的初始产物是低分子糊精，最终产物是麦芽糖和葡萄糖；对支链淀粉的初始产物是界限糊精和低分子糊精，最终产物是麦芽糖、异麦芽糖和葡萄糖。 β -淀粉酶对直链淀粉和支链淀粉的最终水解产物都是麦芽糖。所以采用麦芽淀粉酶时，水解产物主要是麦芽糖、还有少量葡萄糖和糊精。

(4) 淀粉酶解过程中，淀粉粘度迅速下降，流动性增强。淀粉在淀粉酶中水解的顺序为：淀粉→蓝糊精→红糊精→麦芽糖→葡萄糖。与碘液呈色依次为：蓝色、蓝色、红色、无色、无色。因此可用碘液检验酶解终点。酶解终点为酶解液与碘液的反应不呈蓝色。若呈蓝色，再加热糊化，冷却至 60°C 以下，再加淀粉酶溶液，继续保温，直至酶解液加碘液后不呈蓝色为止。

(5) 使用淀粉酶前，应确定其活力及水解时加入量。可用已知浓度的淀粉溶液少许，加入一定量淀粉酶溶液，置 $55\sim 60^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温 1h，用碘液检验淀粉是否水解完全。以确定酶的活力及水解时的用量。

三、其他方法

(一) 旋光法

1. 原理

淀粉具有旋光性，在一定条件下旋光度的大小与淀粉的浓度成正比。用氯化钙溶液提取淀粉，使之与其他成分分离，用氯化锡沉淀提取液中的蛋白质后，测定旋光度，即可计算出淀粉含量。计算公式如下：

$$\text{淀粉}(\%) = \frac{\alpha \times 100}{L \times 203 \times m} \times 100$$

式中： α ——旋光度读数，度；

L ——观测管长度，dm；

m ——样品质量，g；

203——淀粉的比旋光度，度。

2. 适用范围及特点

本法适用于不同来源的淀粉，具有重现性好，操作简便、快速等特点。由于淀粉的比旋光度大，直链淀粉和支链淀粉的比旋光度又很接近，因此本法对于可溶性糖类含量不高的谷物样品，具有较高的准确度。但对于一些未知或性质不清楚的样品及淀粉已经受热或变性，分析结果的误差较大。

3. 说明与讨论

(1) 本法属于选择性提取法，用氯化钙溶液作为淀粉的提取剂，是因为钙能与淀粉分子上的羟基形成络合物，使淀粉与水有较高的亲合力而易溶于水中。

(2) 用氯化钙溶液淀粉提取时，需加热煮沸样品溶液一定时间，并随时搅拌，以提高淀粉提取率。加热后必须迅速冷却，以防止淀粉老化，形成高度晶化的不溶性淀粉分子微束。若加热煮沸过程中泡沫过多，可加入 1~2 滴辛醇消泡。

(3) 蛋白质也具有旋光性，为消除其干扰，本法加入氯化锡溶液，以沉淀蛋白质。蛋白质含量较高的样品，如高蛋白营养米粉，用旋光法测定时结果偏低，误差较大。

(4) 淀粉的比旋光度一般按 203° 计，但不同来源的淀粉也略有不同，如玉米，小麦淀粉为 203° ，豆类淀粉为 200° 。

(5) 可溶性糖类比旋光度低，如蔗糖为 $+66.5^{\circ}$ 、葡萄糖为 $+52.5^{\circ}$ 、果糖为 -92.5° ，都比淀粉的比旋光度低得多，它们对测定结果一般影响不大，可忽略不计。但糊精的比旋光度为 $+95^{\circ}$ ，对糊精含量高的样品测定结果有较大的误差。

(二) 重量法

1. 原理

把样品与氢氧化钾酒精溶液共热，使蛋白质、脂肪等溶解，而淀粉和粗纤维不溶解。过滤后，用氢氧化钾水溶液溶解淀粉，使之与粗纤维分离。然后用醋酸酸化的乙醇使淀粉重新沉淀，过滤后把沉淀于 100°C 烘干至恒重，再于 550°C 灼烧至恒重，灼烧前后重量之差即为淀粉的含量。计算公式如下：

$$\text{淀粉}(\%) = \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{m \times V} \times 100$$

式中： m_1 ——坩埚和内容物干燥后的质量，g；

m_2 ——坩埚和内容物灼烧后的质量，g；

m ——样品质量，g；

V ——测定时取样液量，mL；

100——样液总量，mL。

2.适用范围及特点

本法是北欧食品分析委员会的标准方法。适用于蛋白质、脂肪含量较高的熟肉制品，如午餐肉、灌肠等食品中淀粉的测定。结果准确，重现性好，但操作繁琐，时间较长。

3.说明与讨论

(1) 氢氧化钾酒精溶液是将 50gKOH 溶于 1000mL95% 乙醇溶液中；醋酸酸化的乙醇溶液是指 1000mL90% 乙醇溶液中加了 5mL 冰醋酸。

(2) 实验过程中有两次过滤，第一次是从样品溶液中分离提取出淀粉和粗纤维，用氢氧化钾酒精溶液洗涤沉淀，采用滤纸过滤；第二次是以醋酸酸化的乙醇溶液洗涤沉淀淀粉，采用古氏坩埚过滤。过滤过程中易造成损失，需细心操作，确保实验结果准确。

(3) 测定肉制品中淀粉也可以采用容量法。即把样品与氢氧化钾共热，使样品完全溶解，再加入乙醇使淀粉析出，经乙醇洗涤后加酸水解为葡萄糖，然后按测定还原糖的方法测定葡萄糖含量，再换算为淀粉含量。此方法没把淀粉与其他多糖分离开，如果在水解条件下这些多糖也能水解为还原糖，将产生正误差。

(三) 高压酸水解法

1.原理

在高压下用硫酸水解样品，使淀粉水解为葡萄糖，测定水解液中还原糖总量，同时测定样品总糖量，两者之差即为淀粉水解产生的还原糖量，再乘以换算系数即得淀粉含量。

2.适用范围及特点

该法适用于蔬菜、水果等淀粉含量较少的样品。根据样品中淀粉及脂肪含量少的特点，省略了乙醚除脂肪和乙醇除可溶性糖类的操作步骤，以避免处理过程中淀粉的流失（当淀粉含量少时这种损失不可忽略），并简化了样品处理过程，改变了水解条件，从而大大缩短了测定时间。

3.说明与讨论

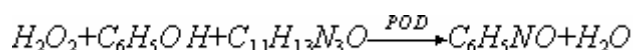
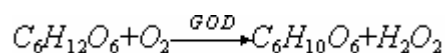
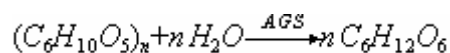
(1) 本法采用的高压酸水解条件是：样品中加入 100mL 0.5mol/L 硫酸，压力为 0.1Mpa，水解时间为 15min。

(2) 样品中如含有半纤维素、戊聚糖、果胶质等多糖类，也可能被水解，造成正误差。另外，水解淀粉的条件与测总糖时的水解条件不同，可溶性糖类如蔗糖、葡萄糖、果糖等在这两种水解条件下的产物不一定完全相同，这也会给结果带来误差。

(四) 酶-比色法

1.原理

淀粉在淀粉葡萄糖苷酶（AGS）催化下，最终水解为葡萄糖。葡萄糖氧化酶（GOD）在有氧条件下，催化 β -D-葡萄糖（葡萄糖水溶液）氧化，生成 D-葡萄糖酸- δ -内酯和过氧化氢。受过氧化物酶（POD）催化，过氧化氢与 4-氨基安替比林和苯酚生成红色醌亚胺。



生成的醌亚胺在 505nm 波长处有最大吸收峰，可测定吸光度值，计算食品中淀粉的含量。计算公式如下：

$$X = \frac{C}{m \times \frac{V_2}{V_1}} \times \frac{1}{1000 \times 1000} \times 100 = \frac{C}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times 10000}$$

式中： X ——样品中淀粉的含量，质量百分率，%；
 C ——标准曲线上查出的试液中淀粉含量， μg ；
 m ——试样的质量， g ；
 V_1 ——试液的定容体积， mL ；
 V_2 ——测定时吸取试液的体积， mL 。

2. 适用范围及特点

本法选自国家标准分析方法 GB/T16287-1996，简单快速，选择性好，不受其它糖类物质的干扰，适用于各类样品中淀粉的测定，最低检出限量为 $0.09\mu\text{g}/\text{mL}$ 。但需专用试剂，价格昂贵，不易保存，应用受到限制。

3. 说明与讨论

(1) 组合试剂盒由四瓶试剂组成。1 号瓶内含淀粉葡萄糖苷酶 200U，柠檬酸和柠檬酸钠；2 号瓶内含 0.2mol/L 磷酸盐缓冲溶液 ($\text{pH}=7$) 200 mL，其中 4-氨基安替比林为 0.00154mol/L ；3 号瓶内含 0.022mol/L 苯酚溶液 200 mL；4 号瓶内含葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶。4 个瓶须在 4°C 左右保存。用时将 1 号瓶内的物质用重蒸馏水溶解，使其体积为 66 mL，此溶液即为淀粉葡萄糖苷酶试剂；2 号瓶和 3 号瓶的物质充分混合均匀，再将 4 号瓶的物质溶解其中，使葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶完全溶解即得葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶试剂溶液。这两种酶试剂溶液须在 4°C 左右保存，有效期一个月。

(2) 酶水解条件很严格，制备试液时，要求用二甲基亚砷和 6mol/L 盐酸溶液于 $60\pm 1^\circ\text{C}$ ，加热提取 30min，冷却至室温后，用 6mol/L 氢氧化钠溶液调整 pH 值至 4.6 左右。用重蒸馏水定容，弃去初滤液。测定试液时，要求加入 1mL 淀粉葡萄糖酶试剂溶液，摇匀，于 $58\pm 2^\circ\text{C}$ 恒温水解 20min。冷却至室温后，加入 3mL 葡萄糖氧化酶-过氧化物酶试剂溶液，摇匀，在 $36\pm 1^\circ\text{C}$ 恒温 4min。冷却至室温，用重蒸馏水定容，摇匀，测定吸光度，查标准曲线计算样品中淀粉含量。

(五) 蒽酮-比色法

淀粉用稀酸水解为葡萄糖，然后在较高温度下用浓硫酸使葡萄糖脱水生成羟甲基糠醛，再使之与蒽酮缩合成蓝绿色的化合物。其呈色强度与溶液中葡萄糖的含量成正比，在 630nm 波长下测定吸光度，根据预先制得的标准曲线求得淀粉的浓度，再换算成样品中淀粉含量。

由于单糖、双糖、糊精和纤维素等都可与蒽酮试剂作用，故在淀粉水解前要除去这些干扰物质。

该法是微量法，适合于含微量淀粉的样品，具有灵敏度高、试剂用量少等优点。但反应温度、显色时间、样液有无颜色和沉淀等都将影响实验结果，因此必须严格控制反应条件。

四、淀粉其他性质的测定

(一) 直链淀粉含量的测定

稻米中直链淀粉含量多少是大米食用品质的关键因子。稻米的粘性、硬度、蒸煮时吸水量、蒸煮时间、米饭体积等等在很大程度上取决于稻米中直链淀粉与支链淀粉两组分含量变化以及直链淀粉相对分子质量的大小。当稻米中直链淀粉含量低于 2% 时，这种大米都呈糯性，蒸煮时米饭很粘；直链淀粉含量在 12%~19% 的稻米，蒸煮时吸水率低，蒸煮的米饭柔软，粘性较大，涨性小，冷却后仍能维持柔软的质地，食味品质良好；直链淀粉含量在 20%~24% 的稻米，蒸煮时吸水率高，体积膨胀率大，糊化温度高，米饭蓬松，较硬，冷却后变硬；直链淀粉含量在 25% 以上的稻米，蒸煮时米饭蓬松，硬，粘性差，冷却米饭变得更硬。因此，直链淀粉含量直接影响米饭香味与蒸煮品质，常被用作评定稻米食用和蒸煮品质的指标。

1. 原理

淀粉与碘形成碘-淀粉复合物，并具有特殊的颜色反应。支链淀粉与碘生成棕红色复合物，直链淀粉与碘生成深蓝色复合物。在淀粉总量不变条件下，将这两种淀粉分散液按不同比例混合，在一定条件下与碘作用，生成由紫红到深蓝一系列颜色，代表其不同直链淀粉含量比例，在 620nm 波长下测定吸光度，绘制吸光度与直链淀粉浓度的标准曲线，按下面公式计算。

$$X_1 = \frac{m_1 \times 100}{m \times 5} \times 100\%$$

$$X_2 = \frac{m_1 \times 100}{m_2 \times 5 \times (1 - M)} \times 100\%$$

式中 X_1 ——直链淀粉占淀粉总量质量分数，%

X_2 ——直链淀粉占样品干重的质量分数，%

m_1 ——从标准曲线求出的直链淀粉质量，mg

m ——样品中所含粗淀粉的质量，mg

m_2 ——样品的质量，mg。

M ——样品的水分含量，%。

2.适用范围和特点

本方法选自 GB / T 15684-1995，该方法简便快速、灵敏、准确度高，适用于稻米、玉米、谷子等食物。

3.说明与讨论

(1) 要求直链淀粉和支链淀粉纯品必须具备以下条件：

马铃薯直链淀粉： λ_{\max} 为 610~650nm，淀粉含量在 85% 以上，碘结合量在 19.5 以上， $A_{1\text{cm}}^{0.005\%}$
 λ_{\max} 在 20℃ 时为 340 以上。

支链淀粉为：稻谷， λ_{\max} 520~530nm， $A_{1\text{cm}}^{0.005\%}$ ，620nm 在 20℃ 时为 17 以下；

玉米： λ_{\max} 530~540nm， $A_{1\text{cm}}^{0.005\%}$ ，620nm 在 20℃ 时为 25 以下；

谷子： λ_{\max} 530-540nm， $A_{1\text{cm}}^{0.005\%}$ ，620nm 在 20℃ 时为 22 以下。

(2) 马铃薯直链淀粉纯品制备方法：称取马铃薯淀粉 10g，加少量无水乙醇使样品湿润，再加入 0.5mol / L 氢氧化钠 350mL，放入沸水浴中加热搅拌 20min，至完全分散，冷却，以 4000r/min 离心 20min，取上清液用 1.5mol/L 盐酸调至 pH6.5，然后加入丁醇-异戊醇 (1+1) 80mL，在沸水浴中加热搅拌 10min，冷却至室温，移入冰箱内 (2~4℃) 静置 24h，弃去上层污物层，再以 4000r/min 离心 15min，弃掉上清液，沉淀物即为粗直链淀粉。

用饱和正丁醇水溶液洗涤沉淀物 (粗直链淀粉)，以 4000r/min 离心 15min，将沉淀物转入 200mL 饱和正丁醇水溶液中，在沸水浴中加热溶解 10~15min，冷却至室温，放入冰箱内 (2~4℃) 24h，弃去上层污物层，以 4000r/min 离心 15min，沉淀物再加 200mL 饱和正丁醇水溶液加热溶解，反复纯化三次。最后沉淀物用无水乙醇反复洗涤离心 3~4 次，在真空干燥箱中于 55~56℃ 干燥，即得直链淀粉纯品。

(3) 本法用 1mol/L 氢氧化钠溶液在沸水浴中加热可加快分散步骤，避免发生沉淀，加热 10min 对直链淀粉测定结果也无影响。但要求测定样品与绘制标准曲线时的温度相差不能超过 $\pm 1^\circ\text{C}$ ，否则误差较大。

(4) 用无水乙醇作为湿润剂，可防止米粉在加入氢氧化钠时结块。

(二) 淀粉 α 化度的测定

未经糊化的淀粉分子，其结构呈微晶束定向排列，这种淀粉结构状态称为 β 型结构，通过蒸煮或挤压，达至糊化温度时，淀粉充分吸水膨胀，以致微晶束解体，排列混乱，这种淀粉结构状态叫 α 型，淀粉从 β 型转化为 α 型的程度叫淀粉 α 化度，也即糊化程度。

在食品的生产中，常需要了解产品的糊化程度，因为 α 度的高低影响复水时间和食品的品质。国家规定，油炸方便面的 α 度 $\geq 85\%$ ，热风干燥面 α 度 $\geq 80.0\%$ ，米粉熟透的质量指标在 85% 左右。

1.原理

已糊化的淀粉，在淀粉酶水解作用下，可水解成还原糖， α 化度越高，即糊化的淀粉越多，水解后生成的糖越多。先将样品充分糊化，经淀粉酶水解后，用碘量法测定糖。以此作为标准，糊化程度定为 100%。然后另取样品，不糊化，用淀粉酶直接水解，用同样方法测定糖，通过计算可求出被测样品的相对糊化程度，即样品的 α 化度。

2.说明与讨论

(1) 样品脱脂预处理时，为防止样品的糊化，不可加温到 50℃ 以上。

(2) 测定方法如表 9-4 所示。

(3) 样品的 α 化度按下面公式计算：

$$\alpha\text{化度}(\%) = \frac{(c - a_3) - (c - a_4) - (c - b)}{(c - a_1) - (c - a_2) - (c - b)} \times 100$$

(4) 样液及试剂的移加，应以相同的时间间隔，按照顺序依次迅速加入。

表 9-4 α 化度测定方法

	三角瓶标号					
	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	B	C
(1) 称样 1 克	+	+	+	+	/	/
(2) 加水 50 mL	+	+	+	+	+	/
(3) 在沸水浴中加热 15 分钟	+	+	/	/	/	/
(4) 急剧冷却至室温	+	+	/	/	/	/
(5) 加 5% 淀粉糖化酶液 5 mL	+	/	+	/	+	/
(6) 37℃ 下保温 90 分钟，时加振摇	+	+	+	+	+	/
(7) 加 1mol/L HCl 2 mL	+	+	+	+	+	/
(8) 定容至 100 mL	+	+	+	+	+	/
(9) 过滤	+	+	+	+	+	/
(10) 准确取滤液 10 mL，加塞	+	+	+	+	+	/
(11) 准确加水 10 mL	/	/	/	/	/	+
(12) 加 0.1mol/L 碘液 10 mL	+	+	+	+	+	+
(13) 加 0.1mol/L NaOH 18 mL	+	+	+	+	+	+
(14) 准确静置 15 分钟	+	+	+	+	+	+
(15) 加 10% H ₂ SO ₄ 2 mL	+	+	+	+	+	+
(16) 以 0.1mol/L Na ₂ S ₂ O ₃ 滴定	+	+	+	+	+	+
滴定值(mL)	a ₁	a ₂	a ₃	a ₄	b	c

第四节 粗纤维的测定

食品中的粗纤维在化学上不是单一组分的物质，而是包括纤维素、半纤维素、木质素等多种组分的混合物。是植物性食品的主要成分之一，广泛存在于各种植物体内，其含量随食品种类的不同而异，尤其在谷类、豆类、水果、蔬菜中含量较高。由于其组成十分复杂，且随食品的来源、种类而变化。因此，不同的研究者对纤维的解释也有所不同，其定义也就不同。目前，还没有明确的科学的定义。早在 19 世纪 60 年代，德国的科学家首次提出了“粗纤维”的概念，用来表示食品中不能被稀酸、稀碱所溶解，不能为人体所消化利用的物质。到了近代，在研究和评价食品消化率和品质时，从营养学的观点，提出了膳食纤维的概念。它是指人体消化系统或者消化系统中的酶不能消化、分解、吸收的物质。它包括粗纤维和半纤维分析方法所测得的那些化合物。如纤维素、半纤维素、戊聚糖、木质素、果胶、树胶等。膳食纤维比粗纤维更能客观、准确地反映食物的可利用率，因此有逐渐取代粗纤维的趋势。

纤维素与淀粉一样，也是葡萄糖的聚合物，但它是 300~2000 个葡萄糖残基以 β -1, 4 糖苷键连接而成的。它不溶于水，也不溶于任何有机溶剂，对稀酸、稀碱相当稳定，人类和大多数动物由于没有 β -1, 4 糖苷酶，故也不能消化利用纤维素。半纤维素往往与纤维素共存，它是指细胞壁中那些不溶于水，可溶于冷的稀碱溶液中的多糖。与酸共热时，可部分降解，降解产物有木糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖等。木质素是使植物木质化的物质，它不属于多糖而是多聚芳香族苯丙烷化合物，是纤维素的伴随物质，不能为人和动物消化。

纤维虽然不能被人体消化吸收和利用，营养价值很低，但它能吸收和保留水分使粪便柔软，有利于大便畅通。也能刺激消化液的分泌与肠道的蠕动，在维持人体健康、预防疾病方面有着独特的生理作用，因此已日益引起人们的重视。人类每天要从食品中摄入 8~12g 粗纤维才能维持人体正常的生理代谢功能。为保证纤维的正常摄取，一些国家强调增加纤维含量高的谷物、果蔬制品的摄食，同时还开发了许多强化纤维的配方食品。在食品生产和开发中，常需要测定粗纤维的含量，它也是食品成分全分析项目之一，对于食品品质管理和营养价值的评定具有重要意义。

食品中粗纤维的测定提出最早、应用最广泛的是重量法，此外还有纤维素测定仪法及不溶性膳食纤维

等的测定。兹分别介绍如下。

一、粗纤维的测定

(一) 重量法

1. 原理

在热的稀硫酸作用下，样品中的糖、淀粉、果胶等物质经水解而除去，再用热的氢氧化钾溶液处理，使蛋白质溶解、脂肪皂化而除去。然后用乙醇和乙醚处理以除去单宁、色素及残余的脂肪，所得的残渣即为粗纤维，如其中含有无机物质，可经灰化后扣除。计算公式如下：

$$\text{粗纤维}(\%) = \frac{G}{m} \times 100$$

式中： G ——残余物的质量（或经高温灼烧后损失的质量）， g ；

m ——样品质量， g 。

2. 适用范围及特点

该法选自 GB/T5009.10-85 具有操作简便、迅速，适用于各类食品。由 Helneberg 等人于 1860 年提出后，一直沿用至今，是应用最广泛的经典分析法，也是测定纤维的国家标准分析方法。目前，我国的食物成分表中“纤维”项的数据都是用此法测定的，但该法测定结果粗糙，重现性差。由于酸碱处理时纤维成分会发生不同程度的降解，使测得值与纤维的实际含量差别很大，这是此法的最大缺点。

3. 说明与讨论

(1) 试样一般要求通过 40 目筛，并且充分混合使之均匀，过粗过细都不好。过粗，则难以水解充分，往往使结果偏高；而过细则往往使结果偏低且过滤困难。

(2) 样品中脂肪含量高于 1% 时，应先用石油醚脱脂，然后再测定，否则结果将偏高。

(3) 严格控制酸、碱处理过程，确保测定结果的准确性。实验证明，酸、碱处理过程的回流时间和沸腾的状态等因素都将对测定结果产生影响。酸、碱处理时间必须严格掌握。注意沸腾不能过于剧烈，以防止样品脱离液体，附于液面以上的瓶壁上。每隔 5min 摇动锥形瓶一次，以充分混合瓶内物质，并注意加沸水维持原来液面的高度以保持酸、碱的浓度不变。如产生大量泡沫，可加入 2 滴硅油或辛醇消泡。

(4) 回流处理后，必须立即用亚麻布过滤，并用热水洗涤至洗液不呈酸性（以甲基红为指示剂），否则结果出入较大。用亚麻布过滤时，最好采用 200 目尼龙筛绢过滤，既耐较高温度，孔径又稳定，本身不吸留水分，洗残渣也较容易。过滤时间不能太长，一般不超过 10min，否则应适量减少称样量。

(5) 恒重要求：烘干 $< 1mg$ ，灰化 $< 0.5mg$ 。

(6) 本方法在测定中，纤维素、半纤维素、木质素等食物纤维成分都发生了不同程度的降解，且残留物中还包含了少量的无机物、蛋白质等成分，故测定结果称为“粗纤维”。

(7) 测定粗纤维的方法还有容量法。样品经 2% 盐酸回流，除去可溶性糖类、淀粉、果胶等物质，残渣用 80% 硫酸溶解，使纤维成分水解为还原糖（主要是葡萄糖），然后按还原糖测定方法测定，再折算为纤维含量。该法操作复杂，一般很少采用。

(二) 纤维素测定仪法

1. 仪器构造

纤维素测定仪主要由热抽提器和冷抽提器两部分组成。热抽提器由辐射加热、试剂和洗涤水的预热系统、冷凝水系统、水泵、试剂泵、真空泵、压力泵等部分组成。冷抽提器由阀门系统、真空排泄系统、压力系统等部分组成。该系统所使用的坩埚由硼硅玻璃（Pyrex）制成，配有不同孔隙度的过滤器，根据所配过滤器孔隙度的不同，坩埚可分为 P_0 、 P_1 、 P_2 、 P_3 几种型号，分别标注在坩埚上。 P_0 为粗过滤器， P_1 为 $90 \sim 150\mu m$ ， P_2 为 $40 \sim 90\mu m$ ， P_3 为 $15 \sim 40\mu m$ 。这些坩埚均可承受 $540^\circ C$ 的高温。但冷坩埚不可立即放入高温炉内，应从炉口低温区逐步放入炉内高温区；在 $500^\circ C$ 灰化后，热坩埚也不可立即放在冷的表面上，应先在炉口降温后拿出，以防破裂。仪器配有坩埚夹钳，便于将一组 6 个坩埚齐插入热、冷抽提器，或将 6 个坩埚从热冷抽提器中拔出。仪器还配有坩埚支架，便于将一组 6 个坩埚移到其它地方（如天平室）。

2. 工作原理

用水充满热抽提器的水箱，由电加热装置加热水箱中的水，温度保持 $94^\circ C$ 。由水泵使水在系统中循环。试剂瓶装保温的支承套中，由试剂泵将试剂泵出，再通过两个热交换器，最后又返回到贮存瓶内，热交换器与水箱内的水加热装置盘绕在一起，以此可使试剂加热升温。

当六个控制阀位于左边时，试剂 1（0.128mol/L 硫酸）被泵入试样坩埚和抽提筒内。由电辐射器加热试剂且保持合适的沸腾速度。当到达抽提时间后，辐射加热将自动关闭，循环终止，发出短促响声信号。然后将控制阀门推向真空位置，进行真空过滤。启动压力泵，排出废液。在热抽提器的上方配有喷雾器，可沿导杆滑动，导杆上设有定位槽，以保证喷雾器能依次向每个抽提筒内喷去离子水洗涤试样。依次用喷雾洗涤试样。当六个控制阀位于右边时，则试剂 2（0.223mol/L 氢氧化钠溶液）被泵入试样坩埚和抽提筒内，同上述试剂 1 的原理进行抽提和洗涤试样。当完成最后的抽提和洗涤后，移走坩埚，将其放入冷抽提器内，再用丙酮洗涤除去残留的有机物，烘干所得残余物减去灰分即为试样中的纤维素，计算公式如下：

$$\text{粗纤维}(\%) = \frac{G}{m} \times 100$$

式中： G ——残余物的质量（或经高温灼烧后损失的质量），g；

m ——样品质量，g。

3.适用范围及特点

本法样品的抽提、洗涤和过滤等操作由仪器自动完成，操作简便、迅速，适用于各类食品，但由于酸碱处理时，样品中纤维素、半纤维素等成分有不同程度的降解，使测定结果粗糙，重现性差。

4.说明与讨论

（1）要求试样水分含量为 5%~10%，通过孔径为 1mm 的筛绢。高脂肪含量的试样应先在冷抽提器内脱脂，再进行分析。

（2）当试剂开始沸腾后，火力调小，以保持缓慢而稳定的沸腾速率，使其准确沸腾 0.5h。如果试样浮在试剂表面，可加入一些乙醇以减少表面张力，也可加几滴辛醇以减少或消除泡沫的形成。

（3）如果试样在抽提筒内粘附在试剂表面上方的筒壁上，可将加热器开大些，以增加沸腾的强度，达到洗下粘附的试样的目的，也可以小心用玻璃棒将粘附的试样刮下，或用洗瓶喷水洗下。

（4）借助热抽提器内的反向气流作用，能有效地除掉滤渣或堵塞过滤坩埚的物料。减少过滤时可能会出现问题的另一种方法是使加热器工作，维持抽提筒的热量，使试样粘度不下降。

（5）完成每一试样抽提后，应及时检查水箱内的水位，如需要可加水补充；测定完成后，用压缩空气冲洗坩埚中的灰分，如果坩埚弄脏，可用铬酸洗涤。

二、不溶性膳食纤维的测定

鉴于粗纤维测定方法的诸多缺点，近几十年来各国学者对膳食纤维的测定方法进行了广泛的研究，提出了不溶性膳食纤维，试图用来代替粗纤维指标。不溶性膳食纤维是指来源于各类植物性食物中不溶于水的半纤维素、纤维素和木质素。目前有的国家把它列为营养分析的正式指标之一。

（一）原理

样品经热的中性洗涤剂溶液浸煮后，除去样品中糖、淀粉、蛋白质、果胶等物质被溶解除去，残渣用热蒸馏水充分洗涤后，加入 α -淀粉酶溶液以分解结合态淀粉，再用蒸馏水、丙酮洗涤，除去残存的脂肪、色素等，残渣经烘干，即为不溶性膳食纤维。计算公式如下：

$$\text{不溶性膳食纤维}(\%) = \frac{G}{m} \times 100$$

式中： G ——残余物的质量（或经高温灼烧后损失的质量），g；

m ——样品质量，g。

2.适用范围及特点

本法是美国谷物化学家协会（AACC）审批的方法也是我国国标 GB/T9822-88，GB12394-90 的方法，适用于谷物及其制品、饲料、果蔬等样品，对于蛋白质、淀粉含量高的样品，由于易形成大量泡沫，粘度大，过滤困难，使此法应用受到限制。本法设备简单、操作容易、准确度高、重现性好。所测结果包括食品中全部的纤维素、半纤维素、木质素，最接近于食品中膳食纤维的真实含量。

3.说明与讨论

（1）不溶性膳食纤维相当于植物细胞壁，它包括了样品中全部的纤维素、半纤维素、木质素、角质等。水溶性膳食纤维是指溶于水的膳食纤维，包括来源于水果的果胶、某些豆类种子中的豆胶、海藻的藻胶、某些植物的粘性物质等，由于食品中水溶性膳食纤维含量一般较少，所以不溶性膳食纤维接近于食品中膳食纤维的真实含量。

(2) 中性洗涤剂溶液: A.将 18.61g 乙二胺四乙酸钠和 6.81g 四硼酸钠用 250mL 水加溶解。B.将 30g 十二烷基硫酸钠和 10mL 乙二醇-乙醚溶于 200mL 热水中,合并于 A 液中。C.将 4.56g 磷酸氢二钠溶于 150mL 热水,并入 A 液中。然后用磷酸调节混合液 pH 至 6.9~7.1,最后加水至 1000mL。此液使用期间如有沉淀生成,须在使用前加热到 60℃,使沉淀溶解。

(3) 样品粒度对分析结果影响较大,本标准要求试样通过 1mm 筛。

(4) 许多样品易形成泡沫,干扰测定,可用十氢钠作为消泡剂,也可用正辛醇,但正辛醇测定结果精密度不及十氢钠。

(5) 不溶性膳食纤维测定值高于粗纤维测定值,且随食品种类的不同,两者的差异也不同,实验证明,粗纤维测定值占不溶性膳食纤维测定值的百分比:谷物为 13%~27%;干豆类为 35%~52%;果蔬为 32%~66%。

第五节 果胶物质的测定

果胶物质是由半乳糖醛酸、乳糖、阿拉伯糖、葡萄糖醛酸等组成的高分子聚合物,存在于水果、蔬菜及其它植物的细胞膜中,是植物细胞的主要成分之一。其基本结构是半乳糖醛酸以 α -1,4 苷键聚合形成的聚半乳糖醛酸。这些半乳糖醛酸中的部分羧基被甲基酯化,剩余部分被钙、镁、钾、钠、铵等离子所中和。

果胶物质以甲氧基含量或酯化程度不同分为原果胶、果胶酯酸、果胶酸。原果胶是与纤维素、半纤维素结合在一起的高度甲酯化的聚半乳糖醛酸,存在于细胞壁中,不溶于水,在原果胶酶或酸的作用下可水解为果胶酯酸。果胶酯酸是羧基不同程度甲酯化和中和的聚半乳糖醛酸,存在于植物细胞汁液中,可溶于水,溶解度与酯化程度有关,在果胶酶或酸、碱的作用下可水解为果胶酸。果胶酸是指甲氧基含量<1%的果胶物质,它可溶于水,在细胞汁中可与 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 等离子形成不溶于水或微溶于水的果胶酸盐。

植物中各种形态果胶物质含量与其成熟度有关,并影响植物组织的强度和密度。在果蔬未成熟时主要以原果胶形式存在于细胞壁中,整个组织比较坚硬。在逐渐成熟过程中,原果胶在酶的作用下水解为可溶性果胶酯酸,并与纤维素、半纤维素分离,渗入细胞汁液中,组织随之变软。如果过熟,果胶酯酸在酶的作用下水解为果胶酸,组织变成软烂状态。果胶物质在酸的作用下最终可水解为半乳糖醛酸。

果胶物质是一种植物胶,在食品工业中用途较广,如利用果胶的水溶液在适当的条件下可以形成凝胶的特性,可以生产果酱、果冻及高级糖果等食品;利用果胶具有增稠、稳定、乳化等功能,可以在解决饮料的分层、稳定结构、防止沉淀、改善风味等方面起着重要作用;利用果胶物质能治疗胃肠道、胃溃疡等疾病,低甲氧基果胶能与铅、汞等有害金属络合形成人体不能吸收的不溶解物的性质,可以用其制成功能性食品。

测定果胶物质的方法有重量法、咔唑比色法、果胶酸钙滴定法、蒸馏滴定法等。其中果胶酸钙滴定法主要适用于纯果胶的测定,当样液有颜色时,不易确定滴定终点,此外,由不同来源的试样得到的果胶酸钙中钙所占比例并不相同,从测得的钙量不能准确计算出果胶物质的含量,这使此法的应用受到了一定的限制。对于蒸馏滴定法,因为在蒸馏时有一部分糠醛分解了,使回收率较低,故此法也不常用。较常用的是重量法和咔唑比色法。

一、重量法

1.原理

先用 70%乙醇处理样品,使果胶沉淀,再依次用乙醇、乙醚洗涤沉淀,以除去可溶性糖类、脂肪、色素等物质,残渣分别用酸或用水提取总果胶或水溶性果胶。果胶经皂化生成果胶酸钠,再经醋酸酸化使之生成果胶酸,加入钙盐则生成果胶酸钙沉淀,烘干后称重。按下式计算:

$$\text{果胶物质 (以果胶酸计, \%)} = \frac{(m_1 - m_2) \times 0.9233}{m \times \frac{25}{250} \times 1} \times 100$$

式中: m_1 ——果胶酸钙和滤纸或垂融坩埚质量, g;

m_2 ——滤纸或垂融坩埚的质量, g;

m ——样品质量, g;

25——测定时取果胶提取液的体积, mL;

250——果胶提液总体积, mL

0.9223——由果胶酸钙换算为果胶酸的系数。果胶酸钙的实验式定为 $C_{17}H_{22}O_{11}Ca$, 其中钙含量约 7.67%, 果胶酸含量约为 92.33%。

2.适用范围及特点

此法适用于各类食品, 方法稳定可靠, 但操作较烦琐费时。果胶酸钙沉淀中易夹杂其他胶态物质, 使本法选择性较差。

3.说明与讨论

(1) 新鲜试样若直接研磨, 由于果胶酶的作用, 果胶会迅速分解, 故需将试样切片浸入热的 95%乙醇中, 使乙醇溶液最终浓度调整到 70%以上, 回流煮沸 15min, 以钝化酶的活性。

(2) 可溶性糖和脂类等物质对测定有影响, 测定前必须设法除去。除去方法为: 对于新鲜样品, 将试样切片回流煮沸 15min 后, 用布氏漏斗过滤, 残渣置于研钵中, 加 70%的热乙醇慢慢磨碎, 冷却后再过滤, 反复操作至滤液不呈糖的反应为止。然后残渣用 99%乙醇洗涤脱水, 再用乙醚洗涤以除去脂类和色素等; 对于通过 60 目筛的干燥样品, 加入热的 70%乙醇, 反复除去糖类物质, 直至滤液不呈糖的反应。然后残渣用 99%乙醇洗涤脱水, 再用乙醚洗涤以除去脂类和色素等。

(3) 糖分检验用苯酚-硫酸法: 取检液 1mL, 置于试管中, 加入 5%苯酚水溶液 1mL, 再加入硫酸 5mL, 混匀, 如溶液呈褐色, 证明检液中含有糖分。

(4) 水溶性果胶测定时, 用水在沸水浴上提取 1h, 冷却后加水定容, 摇匀, 过滤, 收集滤液; 总果胶用加热至沸的 0.5mol/L 盐酸溶液, 于沸水浴中回流提取 1h, 冷却后调中性后, 用水定容, 过滤, 收集滤液。

(5) 本法是用沉淀剂使果胶物质沉淀析出, 而后测定重量的方法。沉淀剂有两类: 一类是电解质, 如氯化钠、氯化钙等; 另一类是有机溶剂, 如甲醇、乙醇、丙酮等。果胶物质沉淀的难易程度与其酯化程度有关, 酯化度越大, 溶解度越大, 越难于沉淀。电解质适用于酯化度小和中等果胶物质, 如酯化度为 0~30%时, 常用氯化钠溶液; 酯化度为 40%~70%时, 常用氯化钙溶液作沉淀剂。有机溶剂适用于酯化度较大的果胶物质, 且酯化度越大, 选用的有机溶剂的浓度也应越大。

(6) 本法采用氯化钙溶液作沉淀剂, 加入氯化钙溶液时, 应边搅拌边缓缓滴加, 以减小过饱和度, 并避免溶液局部过浓。

(7) 由于果胶物质的粘度一般很大, 为了降低溶液的粘度, 加快过滤和洗涤速度, 并增大杂质的溶解度, 使其易被洗去, 需采用热过滤和热水洗涤沉淀。

二、咔唑比色法

1.原理

果胶经水解生成半乳糖醛酸, 在强酸中与咔唑试剂发生缩合反应, 生成紫红色化合物, 其呈色强度与半乳糖醛酸含量成正比, 可比色定量。按下式计算:

$$\text{果胶物质 (以半乳糖醛酸计, \%)} = \frac{c \times V \times K}{m \times 10^6} \times 100$$

式中: c ——从标准曲线上查得的半乳糖醛酸浓度, $\mu\text{g/mL}$;

V ——果胶提取液总体积, mL;

K ——提取液稀释倍数。

m ——样品质量, g

2.适用范围及特点

本法适用于各类食品, 较重量法操作简便、快速。标准样品的平均回收率为 98.4%~102.7%, 准确度高, 重现性好, 同一试样五次测定结果的标准误差为 $\pm 0.46 \sim 1.51$ 等优点。

3.说明与讨论

(1) 本法样品处理和果胶的提取, 同重量法。

(2) 糖分存在对呋唑的呈色反应影响较大, 使结果偏高。因此从样品中提取果胶物质之前, 用 70% 乙醇充分洗涤试样以完全除去糖分。

(3) 硫酸的浓度对呈色反应影响较大, 半乳糖醛酸在低浓度的硫酸中与呋唑试剂的呈色度极低, 甚至不显色, 只有在浓硫酸中才可使其显色, 且颜色深浅与浓硫酸浓度和纯度有关。故在测定样液和制作标准曲线时, 应使用同规格、同批号的浓硫酸, 以保证其浓度、纯度一致。

(4) 浓硫酸与半乳糖醛酸混合液, 在加热条件下可形成与呋唑呈色反应所必须的中间化合物, 在加热 10min 后即已形成, 在测定条件下显色迅速且具有一定的稳定性, 可满足测定要求。

(5) 本法的测定结果以半乳糖醛酸表示, 因不同来源的果胶中半乳糖醛酸的含量不同, 如甜橙为 77.7%, 柠檬为 94.2%, 柑桔为 96%, 苹果为 72%~75%。若把结果换算为果胶的含量, 可按上述关系计算换算系数。

思考题

1. 说明糖类物质的分类、结构、性质与测定方法的关系。
2. 直接滴定法测定食品中还原糖为什么必须在沸腾条件下进行滴定, 且不能随意摇动三角瓶?
3. 高锰酸钾法测定食品中还原糖的原理是什么, 在测定过程中应注意哪些问题?
4. 用铁氰化钾法测定食品中还原糖时, 向样品中加入铁氰化钾溶液后再加热, 是否会引起还原糖水解, 为什么?
5. 测定食品中蔗糖时, 为什么要严格控制水解条件?
6. 食品中淀粉测定时, 酸水解法和酶水解法的使用范围及优缺点是什么? 现需测定糙米、木薯片、面包和面粉中淀粉含量, 试说明样品处理过程及应采用的水解方法。
7. 为什么重量法测定的纤维素要以粗纤维表示结果?
8. 呋唑比色法测定食品中果胶物质的原理是什么, 如何提高测定结果的准确度?

(许牡丹)

附表1 转化糖因数表（蓝-爱农法）

糖液滴 定量 (毫升)	每 100 毫升糖液含蔗糖量 (克)									
	0		1		5		10		25	
	转化糖 因数*	每 100 毫升 糖液转化 糖毫克数	转化糖 因数*	每 100 毫升 糖液转化 糖毫克数	转化糖 因数*	每 100 毫升 糖液转化 糖毫克数	转化糖 因数*	每 100 毫升 糖液转化 糖毫克数	转化糖 因数*	每 100 毫升 糖液转化 糖毫克数
15	50.5	336	49.9	333	47.6	317	46.1	307	43.4	289
16	50.6	316	50.0	312	47.6	297	46.1	288	43.4	271
17	50.7	298	50.1	295	47.6	280	46.1	271	43.4	255
18	50.8	282	50.1	278	47.6	264	46.1	256	43.3	240
19	50.8	267	50.2	264	47.6	250	46.1	243	43.3	227
20	50.9	254.5	50.2	251.0	47.6	238.0	46.1	230.5	43.2	216
21	51.0	242.9	50.2	239.0	47.6	226.7	46.1	219.5	43.2	206
22	51.0	231.8	50.3	228.2	47.6	216.4	46.1	209.5	43.1	196
23	51.1	222.2	50.3	218.7	47.6	207.0	46.1	200.4	43.0	187
24	51.2	213.3	50.3	209.8	47.6	198.3	46.1	192.1	42.9	179
25	51.2	204.8	50.4	201.6	47.6	190.4	46.0	184.0	42.8	171
26	51.3	197.4	50.4	193.8	47.6	183.1	46.0	176.9	42.8	164
27	51.4	190.4	50.4	186.7	47.6	176.4	46.0	170.4	42.7	158
28	51.4	183.7	50.5	180.2	47.7	170.3	46.0	164.3	42.7	152
29	51.5	177.6	50.5	174.1	47.7	164.5	46.0	158.6	42.6	147
30	51.5	171.7	50.5	168.3	47.7	159.0	46.0	153.3	42.5	142
31	51.6	166.3	50.6	163.1	47.7	153.9	45.9	148.1	42.5	137
32	51.6	161.2	50.6	158.1	47.7	149.1	45.9	143.4	42.4	132
33	51.7	156.6	50.6	153.3	47.7	144.5	45.9	139.1	42.3	128
34	51.7	152.2	50.6	148.9	47.7	140.3	45.8	134.9	42.2	124
35	51.8	147.9	50.7	144.7	47.7	136.3	45.8	130.9	42.2	121
36	51.8	143.9	50.7	140.7	47.7	132.5	45.8	127.1	42.1	117
37	51.9	140.2	50.7	137.0	47.7	128.9	45.7	123.5	42.0	114
38	51.9	136.6	50.7	133.5	47.7	125.5	45.7	120.3	42.0	111
39	52.0	133.3	50.8	130.2	47.7	122.3	45.7	117.1	41.9	107
40	52.0	130.1	50.8	127.0	47.7	119.2	45.6	114.1	41.8	104
41	52.1	127.1	50.8	123.9	47.7	116.3	45.6	111.2	41.8	102
42	52.1	124.2	50.8	121.0	47.7	113.5	45.6	103.5	41.7	99
43	52.2	121.4	50.8	118.2	47.7	110.9	45.5	105.8	41.6	97
44	52.2	118.7	50.9	115.6	47.7	108.4	45.5	103.4	41.5	94
45	52.3	116.1	50.9	113.1	47.7	106.0	45.4	101.0	41.4	92
46	52.3	113.7	50.9	110.6	47.7	103.7	45.4	98.7	41.4	90
47	52.4	111.4	50.9	108.2	47.7	101.5	45.3	96.4	41.3	88
48	52.4	109.2	50.9	106.0	47.7	99.4	45.3	94.3	41.2	86
49	52.5	107.1	51.0	104.0	47.7	97.4	45.2	92.3	41.1	84
50	52.5	105.1	51.0	102.0	47.7	95.4	45.2	90.4	41.0	82

* 相当于 10 毫升费林氏试液的转化糖毫克数。

附表2 葡萄糖、果糖因数表（蓝-爱农法）

糖液滴 定量 (毫升)	费林氏试液 10 毫升			
	葡萄糖因素*	每 100 毫升 糖液含葡萄 糖毫克数	果糖因数**	每 100 毫升 糖液含果 糖毫克数
15	49.1	327	52.2	348
16	49.2	307	52.3	327
17	49.3	222	52.3	308

18	49.3	274	52.4	291
19	49.4	260	52.5	276
20	49.5	247.4	52.5	262.5
21	49.5	235.8	52.6	250.6
22	49.6	225.5	52.7	239.6
23	49.7	216.1	52.7	229.1
24	49.8	207.4	52.8	220.0
25	49.8	199.3	52.8	211.3
26	49.9	191.3	52.9	203.3
27	49.9	184.9	52.9	196.0
28	50.0	178.5	53.0	189.3
29	50.0	172.5	53.1	183.1
30	50.1	167.0	53.2	177.2
31	50.2	161.8	53.2	171.1
32	50.2	156.9	53.3	166.5
33	50.3	152.4	53.3	161.6
34	50.3	148.0	53.4	157.0
35	50.4	143.9	53.4	152.6
36	50.4	144.0	53.5	148.6
37	50.5	136.4	53.5	144.7
38	50.5	132.9	53.6	140.9
39	50.6	129.6	53.6	137.3
40	50.6	126.5	53.6	134.0
41	50.7	123.6	53.7	130.9
42	50.7	120.3	53.7	127.9
43	50.8	118.1	53.8	125.1
44	50.8	115.5	53.8	122.4
45	50.9	113.0	53.9	119.8
46	50.9	110.6	53.9	117.2
47	50.0	108.4	53.9	114.7
48	50.0	106.2	54.0	112.4
49	51.0	104.1	54.0	110.2
50	51.1	102.2	54.0	108.0

* 10 毫升费林氏试液相当的葡萄糖毫克数。

** 10 毫升费林氏试液相当的果糖毫克数。

附表 3 麦芽糖、乳糖因素表（蓝-爱农法）

糖液滴 定量 (毫升)	10 毫升费林氏试液							
	水合麦芽糖 $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$		无水麦芽糖 $C_{12}H_{22}O_{11}$		水合乳糖 $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$		无水乳糖 $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$	
	因数*	每 100 毫升 毫克数	因数*	每 100 毫升 毫克数	因数**	每 100 毫升 毫克数	因数**	每 100 毫 升毫克数
15	81.3	542	77.2	515	68.3	455	64.9	432
16	81.2	507	77.1	482	68.2	426	64.8	405
17	81.1	477	77.0	453	68.2	401	64.8	381
18	81.0	450	77.0	427	68.1	378	64.7	359
19	80.9	426	76.9	405	68.1	358	64.7	340
20	80.8	404.0	76.8	383.8	68.0	340.0	64.6	323.0
21	80.7	384.3	76.7	365.1	68.0	323.8	64.6	307.6
22	80.6	366.4	76.6	348.1	68.0	309.1	64.6	293.6
23	80.5	350.0	76.5	332.5	68.9	295.4	65.5	280.6
24	80.4	335.0	76.4	318.3	68.9	282.9	65.5	268.8

25	80.4	321.5	76.4	305.4	68.9	271.6	65.5	258.0
26	80.3	308.8	76.3	293.4	68.9	261.0	65.5	248.0
27	80.2	297.0	76.2	282.2	68.8	251.1	65.4	238.5
28	80.1	286.1	76.1	271.8	68.8	242.1	65.4	230.0
29	80.0	276.0	76.0	262.2	67.8	233.8	64.4	222.2
30	80.0	266.6	75.0	253.3	67.8	226.0	64.4	214.7
31	79.9	257.8	75.9	244.9	67.8	218.7	64.4	207.8
32	79.9	249.7	75.9	237.2	67.8	211.9	64.4	201.3
33	79.8	241.9	75.8	229.8	67.8	205.6	64.4	195.3
34	79.8	234.6	75.8	222.9	67.9	199.7	64.5	189.7
35	79.7	227.6	75.7	216.2	67.9	194.0	64.5	184.3
36	79.6	221.1	75.6	210.0	67.9	188.6	64.5	179.2
37	79.6	215.0	75.6	204.3	67.9	183.5	64.5	174.3
38	79.5	209.2	75.5	198.7	67.9	178.7	64.5	169.8
39	79.5	203.8	75.5	193.6	67.9	174.1	64.5	165.4
40	79.4	198.5	75.4	188.6	67.9	169.7	64.5	161.2
41	79.4	193.7	75.4	184.3	68.0	165.9	64.6	157.6
42	79.3	188.8	75.3	179.4	68.0	161.9	64.6	153.8
43	79.3	184.3	75.3	175.1	68.0	158.1	64.6	150.2
44	79.2	180.0	75.2	171.0	68.0	154.7	64.6	147.0
45	79.2	175.9	75.2	167.1	68.1	151.3	64.7	143.7
46	79.1	172.0	75.1	163.4	68.1	148.0	64.7	140.6
47	79.1	168.3	75.1	159.9	68.2	145.1	64.8	137.8
48	79.1	164.7	75.1	156.5	68.2	142.1	64.8	135.0
49	79.0	161.2	75.0	153.1	68.2	139.2	64.8	132.2
50	79.0	158.0	75.0	150.1	68.3	136.6	64.9	129.8

* 10 毫升费林氏试液相当的麦芽糖毫克数。

**10 毫升费林氏试液相当的乳糖毫克数。

附表 4 相当于氧化亚铜质量的葡萄糖、果糖、乳糖、转化糖质量表 mg

氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖	氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖
11.3	4.6	5.1	7.7	5.2	50.7	21.6	23.8	34.5	22.9
12.4	5.1	5.6	8.5	5.7	51.8	22.1	24.4	35.2	23.5
13.5	5.6	6.1	9.3	6.2	52.9	22.6	24.9	36.0	24.0
14.6	6.0	6.7	10.0	6.7	54.0	23.1	25.4	36.8	24.5
15.8	6.5	7.2	10.8	7.2	55.2	23.6	26.0	37.5	25.0
16.9	7.0	7.7	11.5	7.7	56.3	24.1	26.5	38.3	25.5
18.0	7.5	8.3	12.3	8.2	57.4	24.6	27.1	39.1	26.0
19.1	8.0	8.8	13.1	8.7	58.5	25.1	27.6	39.8	26.5
20.3	8.5	9.3	13.8	9.2	59.7	25.6	28.2	40.6	27.0
21.4	8.9	9.9	14.6	9.7	60.8	26.1	28.7	41.4	27.6
22.5	9.4	10.4	15.4	10.2	61.9	26.5	29.2	42.1	28.1
23.6	9.9	10.9	16.1	10.7	63.0	27.0	29.8	42.9	28.6
24.8	10.4	11.5	16.9	11.2	64.2	27.5	30.3	43.7	29.1
25.9	10.9	12.0	17.7	11.7	65.3	28.0	30.9	44.4	29.6
27.0	11.4	12.5	18.4	12.3	66.4	28.5	31.4	45.2	30.1
28.1	11.9	13.1	19.2	12.8	67.6	29.0	31.9	46.0	30.6
29.3	12.3	13.6	19.9	13.3	68.7	29.5	32.5	46.7	31.2
30.4	12.8	14.2	20.7	13.8	69.8	30.0	33.0	47.5	31.7
31.5	13.3	14.7	21.5	14.3	70.9	30.5	33.6	48.3	32.2

32.6	13.8	15.2	22.2	14.8	72.1	31.0	34.1	49.0	32.7
33.8	14.3	15.8	23.0	15.3	73.2	31.5	34.7	49.8	33.2
34.9	14.8	16.8	23.8	15.8	74.3	32.0	35.2	50.6	33.7
36.0	15.3	16.8	24.5	16.3	75.4	32.5	35.8	51.3	34.3
37.2	15.7	17.4	25.3	16.8	76.6	33.0	36.3	52.1	34.8
38.3	16.2	17.9	26.1	17.3	77.7	33.5	36.8	52.9	35.3
39.4	16.7	18.4	26.8	17.8	78.8	34.0	37.4	53.6	35.8
40.5	17.2	19.0	27.6	18.3	79.9	34.5	37.9	54.4	36.3
41.7	17.7	19.5	28.4	18.9	81.1	35.0	38.5	55.2	36.8
42.8	18.2	20.1	29.1	19.4	82.2	35.5	39.0	55.9	37.4
43.9	18.7	20.6	29.9	19.9	83.3	36.0	39.6	56.7	37.9
45.0	19.2	21.1	30.6	20.4	84.4	36.5	40.1	57.5	38.4
46.2	19.7	21.7	31.4	20.9	85.6	37.0	40.7	58.2	38.9
47.3	20.1	22.2	32.2	21.4	86.7	37.5	41.2	59.0	39.4
48.4	20.6	22.8	32.9	21.9	87.8	38.0	41.7	59.8	40.0
49.5	21.1	23.3	33.7	22.4	88.9	38.5	42.3	60.5	40.5

续表

氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖	氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖
90.1	39.0	42.8	61.3	41.0	129.5	56.7	62.1	88.2	59.4
91.2	39.5	43.4	62.1	41.5	130.6	57.2	62.7	89.0	59.9
92.3	40.0	43.9	62.8	42.0	131.7	57.7	63.2	89.8	60.4
93.4	40.5	44.5	63.6	42.6	132.8	58.2	63.8	90.5	61.0
94.6	41.0	45.0	64.4	43.1	134.0	58.7	64.3	91.3	61.5
95.7	41.5	45.6	65.1	43.6	135.1	59.2	64.9	92.1	62.0
96.8	42.0	46.1	65.9	44.1	136.2	59.7	65.4	92.8	62.6
97.9	42.5	46.7	66.7	44.7	137.4	60.2	66.0	93.6	63.1
99.1	43.0	47.2	67.4	45.2	138.5	60.7	66.5	94.4	63.6
100.2	43.5	47.8	68.2	45.7	139.6	61.3	67.1	95.2	64.2
101.3	44.0	48.3	69.0	46.2	140.7	61.8	67.7	95.9	64.7
102.5	44.5	48.9	69.7	46.7	141.9	62.3	68.2	96.7	65.2
103.6	45.0	49.4	70.5	47.3	143.0	62.8	68.8	97.5	65.8
104.7	45.5	50.0	71.3	47.8	144.1	63.3	69.3	98.2	66.3
105.8	46.0	50.5	72.1	48.3	145.2	63.8	69.9	99.0	66.8
107.0	46.5	51.1	72.8	48.8	146.4	64.3	70.4	99.8	67.4
108.1	47.0	51.6	73.6	49.4	147.5	64.9	71.0	100.6	67.9
109.2	47.5	52.2	74.4	49.9	148.6	65.4	71.6	101.3	68.4
110.3	48.0	52.7	75.1	50.4	149.7	65.9	72.1	102.1	69.0
111.5	48.5	53.3	75.9	50.9	150.9	66.4	72.7	102.9	69.5
112.6	49.0	53.8	76.7	51.5	152.0	66.9	73.2	103.6	70.0
113.7	49.5	54.4	77.4	52.0	153.1	67.4	73.8	104.4	70.6
114.8	50.0	54.9	78.2	52.5	154.2	68.0	74.3	105.2	71.1
116.0	50.6	55.5	79.0	53.0	155.4	68.5	74.9	106.0	71.6
117.1	51.1	56.0	79.7	53.6	156.5	69.0	75.5	106.7	72.2
118.2	51.6	56.6	80.5	54.1	157.6	69.5	76.0	107.5	72.7
119.3	52.1	57.1	81.3	54.6	158.7	70.0	76.6	108.3	73.2
120.5	52.6	57.7	82.1	55.2	159.9	70.5	77.1	109.0	73.8
121.6	53.1	58.2	82.8	55.7	161.0	71.1	77.7	109.8	74.3
122.7	53.6	58.8	83.6	56.2	162.1	71.6	78.3	110.6	74.9

123.8	54.1	59.3	84.4	56.7	163.2	72.1	78.8	111.4	75.4
125.0	54.6	59.9	85.1	57.3	164.4	72.6	79.4	112.1	75.9
126.1	55.1	60.4	85.9	57.8	165.5	73.1	80.0	112.9	76.5
127.2	55.6	61.0	86.7	58.3	166.6	73.7	80.5	113.7	77.0
128.3	56.1	61.6	87.4	58.9	167.8	74.2	81.1	114.4	77.6

续表

氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖	氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖
168.9	74.7	81.6	115.2	78.1	208.3	93.1	101.4	142.3	97.1
170.0	75.2	82.2	116.0	78.6	209.4	93.6	102.0	143.1	97.7
171.1	75.7	82.8	116.8	79.2	210.5	94.2	102.6	143.9	98.2
172.3	76.3	83.3	117.5	79.7	211.7	94.7	103.1	144.6	98.8
173.4	76.8	83.9	118.3	80.3	212.8	95.2	103.7	145.4	99.3
174.5	77.3	84.4	119.1	80.8	213.9	95.7	104.3	146.2	99.9
175.6	77.8	85.0	119.9	81.3	215.0	96.3	104.8	147.0	100.4
176.8	78.3	85.6	120.6	81.9	216.2	96.8	105.4	147.7	101.0
177.9	78.9	86.1	121.4	82.4	217.3	97.3	106.0	148.5	101.5
179.0	79.4	86.7	122.2	83.0	218.4	97.9	106.6	149.3	102.1
180.1	79.9	87.3	122.9	83.5	219.5	98.4	107.1	150.1	102.6
181.3	80.4	87.8	123.7	84.0	220.7	98.9	107.7	150.8	103.2
182.4	81.0	88.4	124.5	84.6	221.8	99.5	108.3	151.6	103.7
183.5	81.5	89.0	125.3	85.1	222.9	100.0	108.8	152.4	104.3
184.5	82.0	89.5	126.0	85.7	224.0	100.5	109.4	153.2	104.8
185.8	82.5	90.1	126.8	86.2	225.2	101.1	110.0	153.9	105.4
186.9	83.1	90.6	127.6	86.8	226.3	101.6	110.6	154.7	106.0
188.0	83.6	91.2	128.4	87.3	227.4	102.2	111.1	155.5	106.5
189.1	84.1	91.8	129.1	87.8	228.5	102.7	111.7	156.3	107.1
190.3	84.6	92.3	129.9	88.4	229.7	103.2	112.3	157.0	107.6
191.4	85.2	92.9	130.7	88.9	230.8	103.8	112.9	157.8	108.2
192.5	85.7	93.5	131.5	89.5	231.9	104.3	113.4	158.6	108.7
193.6	86.2	94.0	132.2	90.0	233.1	104.8	114.0	159.4	109.3
194.8	86.7	94.6	133.0	90.6	234.2	105.4	114.6	160.2	109.8
195.9	87.3	95.2	133.8	91.1	235.3	105.9	115.2	160.9	110.4
197.0	87.8	95.7	134.6	91.7	236.4	106.5	115.7	161.7	110.9
198.1	88.3	96.3	135.3	92.2	237.6	107.0	116.3	162.5	111.5
199.3	88.9	96.9	136.1	92.8	238.7	107.5	116.9	163.3	112.1
200.4	89.4	97.4	136.9	93.3	239.8	108.1	117.5	164.0	112.6
201.5	89.9	98.0	137.7	93.8	240.9	108.6	118.0	164.8	113.2
202.7	90.4	98.6	138.4	94.4	242.1	109.2	118.6	165.6	113.7
203.8	91.0	99.2	139.2	94.9	243.1	109.7	119.2	166.4	114.3
204.9	91.5	99.7	140.0	95.5	244.3	110.2	119.8	167.1	114.9
206.0	92.0	100.3	140.8	96.0	245.4	110.8	120.3	167.9	115.4
207.2	92.6	100.9	141.5	96.6	246.6	111.3	120.9	168.7	116.0

续表

氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖	氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖
247.7	111.9	121.5	169.5	116.5	287.1	131.0	141.8	196.8	136.3
248.8	112.4	122.1	170.3	117.1	288.2	131.6	142.4	197.5	136.8
249.9	112.9	122.6	171.0	117.6	289.3	132.1	143.0	198.3	137.4

251.1	113.5	123.2	171.8	118.2	290.5	132.7	143.6	199.1	138.0
252.2	114.0	123.8	172.6	118.8	291.6	133.2	144.2	199.9	138.6
253.3	114.6	124.4	173.4	119.3	292.7	133.8	144.8	200.7	139.1
254.4	115.1	125.0	174.2	119.9	293.8	134.3	145.4	201.4	139.7
255.6	115.7	125.5	174.9	120.4	295.0	134.9	145.9	202.2	140.3
256.7	116.2	126.1	175.7	121.0	296.1	135.4	146.5	203.0	140.8
257.8	116.7	126.7	176.5	121.6	297.2	136.0	147.1	203.8	141.4
258.9	117.3	127.3	177.3	122.1	298.3	136.5	147.7	204.6	142.0
260.1	117.8	127.9	178.1	122.7	299.5	137.1	148.3	205.3	142.6
261.2	118.4	128.4	178.8	123.3	300.6	137.7	148.9	206.1	143.1
262.3	118.9	129.0	179.6	123.8	301.7	138.2	149.5	206.9	143.7
263.4	119.5	129.6	180.4	124.4	302.9	138.8	150.1	207.7	144.3
264.6	120.0	130.2	181.2	124.9	304.0	139.3	150.6	208.5	144.8
265.7	120.6	130.8	181.9	125.5	305.1	139.9	151.2	209.2	145.4
266.8	121.1	131.3	182.7	126.1	306.2	140.4	151.8	210.0	146.0
268.0	121.7	131.9	183.5	126.6	307.4	141.0	152.4	210.8	146.6
269.1	122.2	132.5	184.3	127.2	308.5	141.6	153.0	211.6	147.1
270.2	122.7	133.1	185.1	127.8	309.6	142.1	153.6	212.4	147.7
271.3	123.3	133.7	185.8	128.3	310.7	142.7	154.2	213.2	148.3
272.5	123.8	134.2	186.6	128.9	311.9	143.2	154.8	214.0	148.9
273.6	124.4	134.8	187.4	129.5	313.0	143.8	155.4	214.7	149.4
274.7	124.9	135.4	188.2	130.0	314.1	144.4	156.0	215.5	150.0
275.8	125.5	136.0	189.0	130.6	315.2	144.9	156.5	216.3	150.6
277.0	126.0	136.6	189.7	131.2	316.4	145.5	157.1	217.1	151.2
278.1	126.6	137.2	190.5	131.7	317.5	146.0	157.7	217.9	151.8
279.2	127.1	137.7	191.3	132.3	318.6	146.6	158.3	218.7	152.3
280.3	127.7	138.3	192.1	132.9	319.7	147.2	158.9	219.4	152.9
281.5	128.2	138.9	192.9	133.4	320.9	147.7	159.5	220.2	153.5
282.6	128.8	139.5	193.6	134.0	322.0	148.3	160.1	221.0	154.1
283.7	129.3	140.1	194.4	134.6	323.1	148.8	160.7	221.8	154.6
284.8	129.9	140.7	195.2	135.1	324.2	149.4	161.3	222.6	155.2
286.0	130.4	141.3	196.0	135.7	325.4	150.0	161.9	223.3	155.8

续表

氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖	氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖
326.5	150.5	162.5	224.1	156.4	365.9	170.5	183.4	251.6	176.9
327.6	151.1	163.1	224.9	157.0	367.0	171.1	184.0	252.4	177.5
328.7	151.7	163.7	225.7	157.5	368.2	171.6	184.6	253.2	178.1
329.9	152.2	164.3	226.5	158.1	369.3	172.2	185.2	253.9	178.7
331.0	152.8	164.9	227.3	158.7	370.4	172.8	185.8	254.7	179.2
332.1	153.4	165.4	228.0	159.3	371.5	173.4	186.4	255.5	179.8
333.3	153.9	166.0	228.8	159.9	372.7	173.9	187.0	256.3	180.4
334.4	154.5	166.6	229.6	160.5	373.8	174.5	187.6	257.1	181.0
335.5	155.1	167.2	230.4	161.0	374.9	175.1	188.2	257.9	181.6

336.6	155.6	167.8	231.2	161.6	376.0	175.7	188.8	258.7	182.2
337.8	156.2	168.4	232.7	162.2	377.2	176.3	189.4	259.4	182.8
338.9	156.8	169.0	232.7	162.8	378.3	176.8	190.1	260.2	183.4
340.0	157.3	169.6	233.5	163.4	379.4	177.4	190.7	261.0	184.0
341.1	157.9	170.2	234.3	164.0	380.5	178.0	191.3	261.8	184.6
342.3	158.5	170.8	235.1	164.5	381.7	178.6	191.9	262.6	185.2
343.4	159.0	171.4	235.9	165.1	382.8	179.2	192.5	263.4	185.8
344.5	159.6	172.0	236.7	165.7	383.9	179.7	193.1	264.2	186.4
345.6	160.2	172.6	237.4	166.3	385.0	180.3	193.7	265.0	187.0
346.8	160.7	173.2	238.2	166.9	386.2	180.9	194.3	265.8	187.6
347.9	161.3	173.8	239.0	167.5	387.3	181.5	194.9	266.6	188.2
349.0	161.9	174.4	239.8	168.0	388.4	182.1	195.5	267.4	188.8
350.1	162.5	175.0	240.6	168.6	389.5	182.7	196.1	268.1	189.4
351.3	163.0	175.6	241.4	169.2	390.7	183.2	196.7	268.9	190.0
352.4	163.6	176.2	242.2	169.8	391.8	183.8	197.3	269.7	190.6
353.5	164.2	176.8	243.0	170.4	392.9	184.4	197.9	270.5	191.2
354.6	164.7	177.4	243.7	171.0	394.0	185.0	198.5	271.3	191.8
355.8	165.3	178.0	244.5	171.6	395.2	185.6	199.2	272.1	192.4
356.9	165.9	178.6	245.3	172.2	396.3	186.2	199.8	272.9	193.0
358.0	166.5	179.2	246.1	172.8	397.4	186.8	200.4	273.7	193.6
359.1	167.0	179.8	246.9	173.3	398.5	187.3	201.0	274.4	194.2
360.3	167.6	180.4	247.7	173.9	399.7	187.9	201.6	275.2	194.8
361.4	168.2	181.0	248.5	174.5	400.8	188.5	202.2	276.0	195.4
362.5	168.8	181.6	249.2	175.1	401.9	189.1	202.8	276.8	196.0
363.6	169.3	182.2	250.0	175.7	403.1	189.7	203.4	277.6	196.6
364.8	169.9	182.8	250.8	176.3	404.2	190.3	204.0	278.4	197.2

续表

氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖	氧化亚铜	葡萄糖	果糖	乳糖 (含水)	转化糖
405.3	190.9	204.7	279.2	197.8	444.7	211.7	226.3	307.0	219.1
406.4	191.5	205.3	280.0	198.4	445.8	212.3	226.9	307.8	219.8
407.6	192.0	205.9	280.8	199.0	447.0	212.9	227.6	308.6	220.4
408.7	192.6	206.5	281.6	199.6	448.1	213.5	228.2	309.4	221.0
409.8	193.2	207.1	282.4	200.2	449.2	214.1	228.8	310.2	221.6
410.9	193.8	207.7	283.2	200.8	450.3	214.7	229.4	311.0	222.2
412.1	194.4	208.3	284.0	201.4	451.5	215.3	230.1	311.8	222.9
413.2	195.0	209.0	284.8	202.0	452.6	215.9	230.7	312.6	223.5
414.3	195.6	209.6	285.6	202.6	453.7	216.5	231.3	313.4	224.1
415.4	196.2	210.2	286.3	203.2	454.8	217.1	232.0	314.2	224.7
416.6	196.8	210.8	287.1	203.8	456.0	217.8	232.6	315.0	225.4
417.7	197.4	211.4	287.9	204.4	457.1	218.4	233.2	315.9	226.0
418.8	198.0	212.0	288.7	205.0	458.2	219.0	233.9	316.7	226.6
419.9	198.5	212.6	289.5	205.7	459.3	219.6	234.5	317.5	227.2

421.1	199.1	213.3	290.3	206.3	460.5	220.2	235.1	318.3	227.9
422.2	199.7	213.9	291.1	206.9	461.6	220.8	235.8	319.1	228.5
423.3	200.3	214.5	291.9	207.5	462.7	221.4	236.4	319.9	229.1
424.4	200.9	215.1	292.7	208.1	463.8	222.0	237.1	320.7	229.7
425.6	201.5	215.7	293.5	208.7	465.0	222.6	237.7	321.6	230.4
426.7	202.1	216.3	294.3	209.3	466.1	223.3	238.4	322.4	231.0
427.8	202.7	217.0	295.0	209.9	467.2	223.9	239.0	323.2	231.7
428.9	203.3	217.6	295.8	210.5	468.4	224.5	239.7	324.0	233.2
430.1	203.9	218.2	296.6	211.1	469.5	225.1	240.3	324.9	232.9
431.2	204.5	218.8	297.4	211.8	470.6	225.7	241.0	325.7	233.6
432.3	205.1	219.5	298.2	212.4	471.7	226.3	241.6	326.5	234.2
433.5	205.1	220.1	299.0	213.0	472.9	227.0	242.2	327.4	234.8
434.6	206.3	220.7	299.8	213.6	474.0	227.6	242.9	328.2	235.5
435.7	206.9	221.3	300.6	214.2	475.1	228.2	243.6	329.1	236.1
436.8	207.5	221.9	301.4	214.8	476.2	228.8	244.3	329.9	236.8
438.0	208.1	222.6	302.2	215.4	477.4	229.5	244.9	330.8	237.5
439.1	208.7	232.2	303.0	216.0	478.5	230.1	245.6	331.7	238.1
440.2	209.3	223.8	303.8	216.7	479.6	230.7	246.3	332.6	238.8
441.3	209.9	224.4	304.6	217.3	480.7	231.4	247.0	333.5	239.5
442.5	210.5	225.1	305.4	217.9	481.9	232.0	247.8	334.4	240.2
443.6	211.1	225.7	306.2	218.5	483.0	232.7	248.5	335.3	240.8

表5 铁氰化钾定量试样法还原糖换算表
(还原糖含量以麦芽糖计)

0.1mol/LK ₃ Fe(CN) ₆ 体积/mL	还原糖含量 /%	0.1mol/LK ₃ Fe(CN) ₆ 体积/mL	还原糖含量 /%	0.1mol/LK ₃ Fe(CN) ₆ 体积/mL	还原糖含量 /%
0.10	0.05	3.40	1.71	6.70	3.79
0.20	0.10	3.50	1.76	6.80	3.85
0.30	0.15	3.60	1.82	6.90	3.92
0.40	0.20	3.70	1.88	7.00	3.98
0.50	0.25	3.80	1.95	7.10	4.06
0.60	0.31	3.90	2.01	7.20	4.12
0.70	0.36	4.00	2.07	7.30	4.18
0.80	0.41	4.10	2.13	7.40	4.25
0.90	0.46	4.20	2.18	7.50	4.31
1.00	0.51	4.30	2.25	7.60	4.38
1.10	0.56	4.40	2.31	7.70	4.45
1.20	0.60	4.50	2.37	7.80	4.51
1.30	0.65	4.60	2.44	7.90	4.58
1.40	0.71	4.70	2.51	8.00	4.65
1.50	0.76	4.80	2.57	8.10	4.72
1.60	0.80	4.90	2.64	8.20	4.78
1.70	0.85	5.00	2.70	8.30	4.85
1.80	0.90	5.10	2.76	8.40	4.92
1.90	0.96	5.20	2.82	8.50	4.99

2.00	1.01	5.30	2.88	8.60	5.02
2.10	1.06	5.40	2.95	8.70	5.12
2.20	1.11	5.50	3.02	8.80	5.19
2.30	1.16	5.60	3.08	8.90	5.27
2.40	1.21	5.70	3.15	9.00	5.34
2.50	1.26	5.80	3.22	9.10	5.42
2.60	1.30	5.90	3.28	9.20	5.50
2.70	1.35	6.00	3.34	9.30	5.58
2.80	1.40	6.10	3.41	9.40	5.68
2.90	1.45	6.20	3.47	9.50	5.78
3.00	1.51	6.30	3.53	9.60	5.88
3.10	1.56	6.40	3.60	9.70	5.98
3.20	1.61	6.50	3.67	9.80	6.08
3.30	1.66	6.60	3.73	9.90	6.18