

第九章 糖类物质的测定



主要内容

第一节 碳水化合物概述（理解）

第二节 可溶性糖类的测定

- 可溶性糖类的提取和澄清（理解）
- 直接滴定法还原糖的测定（掌握）
- 高锰酸钾滴定法还原糖的测定（理解）
- 蔗糖的测定（了解）
- 总糖的测定（理解）

这里指单糖、
双糖的总量

第三节 淀粉的测定（掌握）

第四节 膳食纤维的测定（了解）

第五节 果胶物质的测定（了解）



食品分析精品课程网址：

<http://www1.gdou.edu.cn/xy/spxy/foodanalysis/default.htm>



9.1概述

➤ 碳水化合物的概念

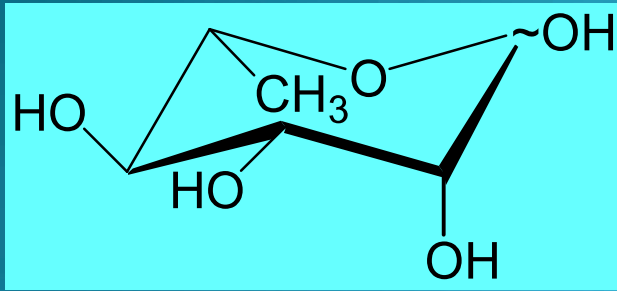
碳水化合物为多羟基醛和多羟基酮的环状半缩醛化合物以及由其缩合或衍生而成的化合物。

➤ 碳水化合物的作用

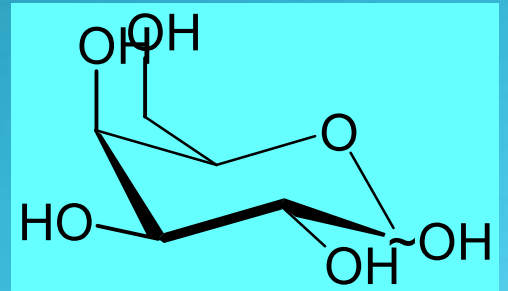
- 人体**60-70%**的热能来自碳水化合物。
- 构成机体的重要物质。
- 参与细胞的多种代谢过程。



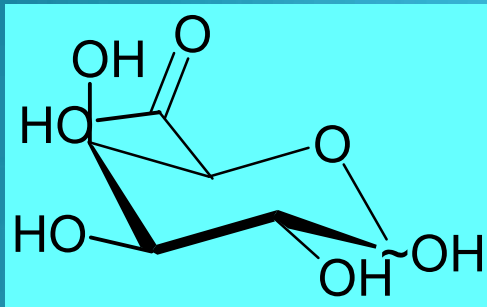
组成单糖的化学结构



L-rhamnopyranose
鼠李糖(L-Rhap)



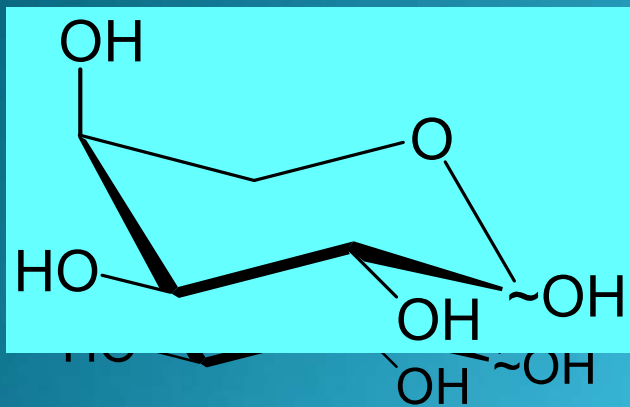
D-galactopyranose
半乳糖(D-Galp)



D-galactopyranosyluronic acid
半乳糖醛酸 (D-GalpA)

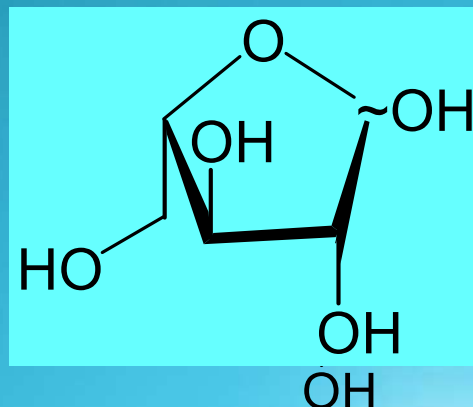


组成单糖的化学结构



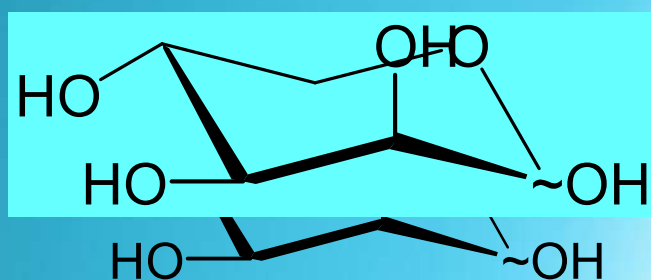
L-arabinopyranose

吡喃结构形阿拉伯糖(L-Arap)



L-arabinofuranose

呋喃结构形阿拉伯糖(L-Araf)



D-xylopyranose

木糖(D-Xylp)



9.1概述

➤ 碳水化合物的种类

根据分子大小进行分类

单糖

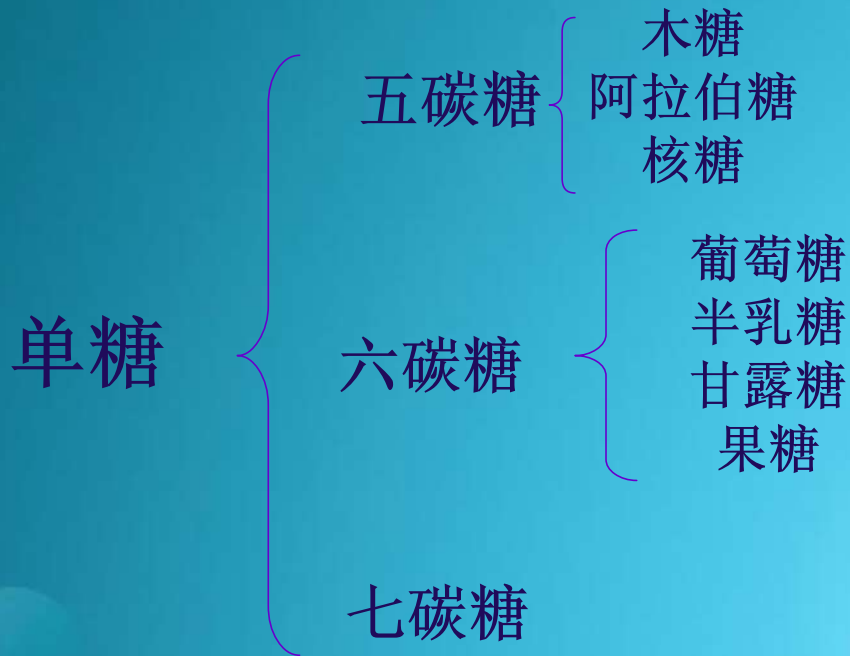
低聚糖

多糖



9.1概述

➤ 碳水化合物的种类



9.1概述

➤ 碳水化合物的种类

低聚糖(寡糖)
(2-10个单糖聚合物)

普通低聚糖

蔗糖

麦芽糖

乳糖

功能性低聚糖

低聚果糖

低聚半乳糖糖

低聚木糖糖

海藻糖



9.1概述

➤ 碳水化合物的种类

多糖
(10个以上单糖聚合物)

果胶

纤维素

淀粉



9.1概述

➤ 碳水化合物的种类

根据营养学进行分类

有效碳水化合物

普通低聚糖

淀粉

无效碳水化合物
(又称膳食纤维)

纤维素

半纤维素

果胶

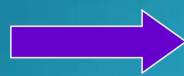


9.1概述

➤食品中糖类物质的分布与含量

葡萄糖

果糖



水果蔬菜

无子葡萄干, **70%**

蜂蜜, **75%**

蔗糖

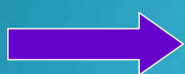


植物

甘蔗, **10%-15%**

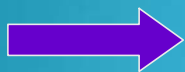
甜菜, **15%-20%**

乳糖



乳汁: 牛乳, **4.7%**

淀粉



农作物

纤维素



麦芽糖, 果蔬表皮



9.1概述

➤糖类物质测定的意义

糖类

食品形态

组织结构

物化性质

色、香、味

糖酸比

糖组成

糖比例

加以控制

改善食品的风味和质量



9.1概述

➤糖类物质测定的意义

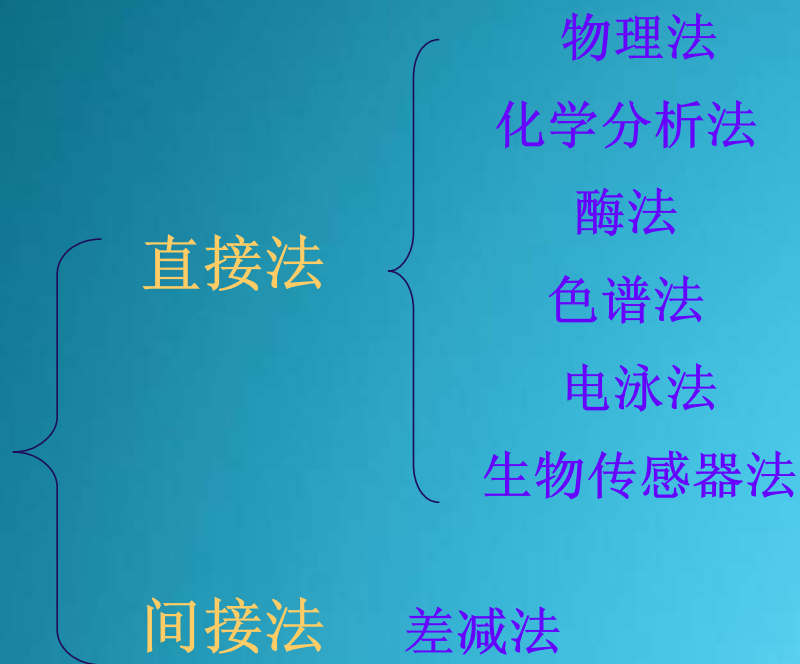


➤糖类含量是营养价值高低的指标



9.1 概述

➤ 糖类物质的测定方法



$$\text{总碳水化合物}(\%) = 100 - (\text{蛋白质} + \text{脂肪} + \text{水分} + \text{灰分})$$

9.1概述

➤糖类物质的测定方法

物理法 { 相对密度法
折光法
旋光法
重量法 } → 糖液浓度
糖品蔗糖含量
谷物淀粉, 粗纤维

化学分析法 { 直接滴定法
高锰酸钾法
铁氰化钾法
碘量法
蒽酮法 } → 还原糖
蔗糖
总糖
淀粉
果胶



9.1概述

➤ 糖类物质的测定方法

色谱法

纸色谱法

薄层色谱法

气相色谱法

高效液相色谱法

可对混合糖进行
分离和定量



9.2.1 可溶性糖类的提取和澄清

➤ 测定糖的一般程序

提取糖类物质



纯化



排除干扰物质



测定



9.2.1 可溶性糖类的提取和澄清

➤ 糖类物质的提取

常用提取剂 { 水
乙醇溶液

提取液制备的原则

取样量和稀释倍数的确定

含脂肪的食品

含有大量淀粉和糊精的食品

含酒精和 CO_2 的液体样品

提取固体样品



9.2.1可溶性糖类的提取和澄清

➤糖类物质的提取

取样量和稀释倍数的确定

要考虑所采用的分析方法的检测范围。

含脂肪的食品

通常是脱脂 → 水提取。脱脂溶剂：石油醚。

含有大量淀粉和糊精的食品

宜采用**70-75%**乙醇溶液提取。



9.2.1可溶性糖类的提取和澄清

➤糖类物质的提取

含酒精和 CO_2 的液体样品

通常蒸发至原样体积的**1/3 – 1/4**。

如酸性食品。先中和再蒸发。

提取固体样品

提取时，可以加热(**40-50℃**)以提高提取效果。如用乙醇做提取剂。



9.2.1 可溶性糖类的提取和澄清

➤ 提取液中的杂质

色素
蛋白质
可溶性果胶
可溶性淀粉
单宁
氨基酸
有机酸



胶状

有色

浑浊



过滤困难

干扰测定

影响终点观察



9.2.1 可溶性糖类的提取和澄清

➤ 提取液的澄清

澄清剂的要求

- ① 能较完全地除去干扰物质；
- ② 不吸附或沉淀被测糖分，也不改变被测糖分地
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。



9.2.1 可溶性糖类的提取和澄清

常用的澄清剂

中性醋酸铅 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

碱性醋酸铅

氢氧化铝溶液

乙酸锌和亚铁氰化钾溶液

CuSO_4 和 NaOH 溶液

活性炭



9.2.1可溶性糖类的提取和澄清

➤ 中性醋酸铅 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

特点

- ① 铅离子能与很多离子结合，生成难溶沉淀物，同时吸附部分杂质(蛋白质、果胶、有机酸、单宁等)；
- ② 不会沉淀样液中的还原糖，室温下不会形成铅糖化合物；

缺点 脱色能力差；铅盐有毒。



9.2.1可溶性糖类的提取和澄清

➤ 乙酸锌和亚铁氰化钾溶液

乙酸锌 $\xrightarrow{\text{亚铁氰化钾}}$ 氰亚铁酸锌沉淀

\longrightarrow 挟走或吸附干扰物质

特点 除蛋白质能力强，但脱色力差。



9.2.1可溶性糖类的提取和澄清

➤ CuSO_4 和 NaOH 溶液

碱性条件下，铜离子可以使蛋白质沉淀。

➤ 碱性醋酸铅

能沉淀还原糖。

➤ 氢氧化铝溶液

只能除去胶态杂质。

➤ 活性炭

能吸收糖类。



9.2.1 可溶性糖类的提取和澄清

➤ 澄清剂的选择

样液的种类

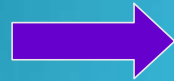
干扰成分的种类

干扰成分的含量

分析方法

➔ 决定澄清剂的选择

直接滴定法



不能用 **$\text{CuSO}_4 \cdot \text{NaOH}$** 澄清剂，以免引入 **$\text{Cu}^{2+}$**

高锰酸钾滴定法

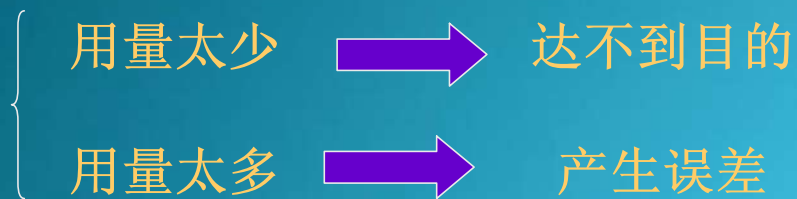


不能用醋酸锌·亚铁氰化钾，以免样液中引入 **Fe^{3+}**



9.2.1可溶性糖类的提取和澄清

➤澄清剂的用量



中性醋酸铅澄清剂

样液 → 加入**1-3 ml**醋酸铅饱和溶液($\approx 30\%$),
混合 → 静置**15 min** → 上层清液。

是否沉淀完全的检验方法

加入几滴中性醋酸铅，无新沉淀，则沉淀完全；
有新沉淀，则沉淀不完全，再混合，重新操作。



9.2.1可溶性糖类的提取和澄清

➤澄清剂的用量

乙酸锌-亚铁氰化钾

一般每**50-75 ml**样液，加入乙酸锌溶液(**219g/L**)、**10.6%**亚铁氰化钾溶液各**5 ml**。

CuSO₄ · NaOH

一般每**50-75 ml**样液，加入**10 ml CuSO₄**溶液，**4 ml 1 M NaOH**溶液。



9.2.1可溶性糖类的提取和澄清

➤ 除铅剂

还原糖
(特别是果糖) $\xrightarrow{\text{铅离子}}$ 铅糖化合物 \longrightarrow 影响测定

除铅剂

- 草酸钠可以固态加入。样液定容后再加入除铅剂
- 草酸钾。
- **10% Na_2SO_4** 。加入除铅剂后再定容。
- **10% Na_2HPO_4** 。加入除铅剂后再定容。



9.2.2还原糖的测定

碱性铜盐法

铁氰化钾法

碘量法

比色法

酶法

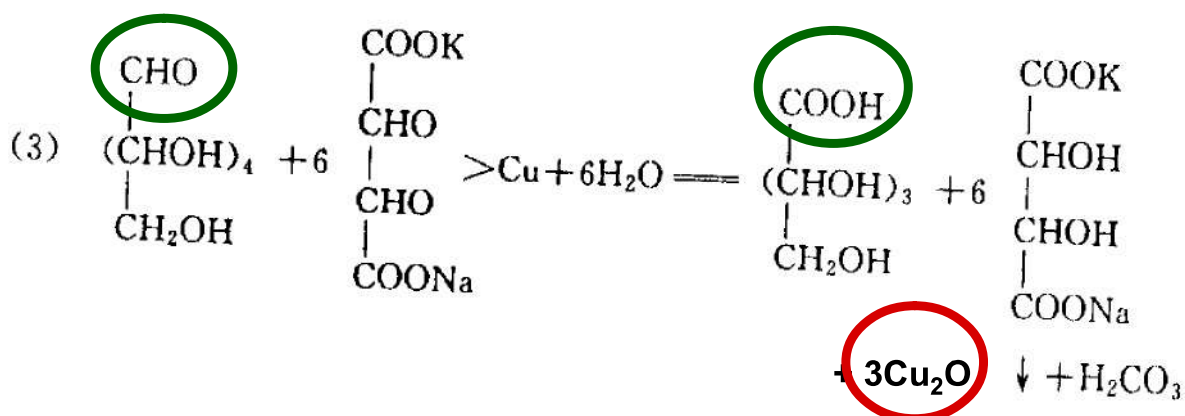
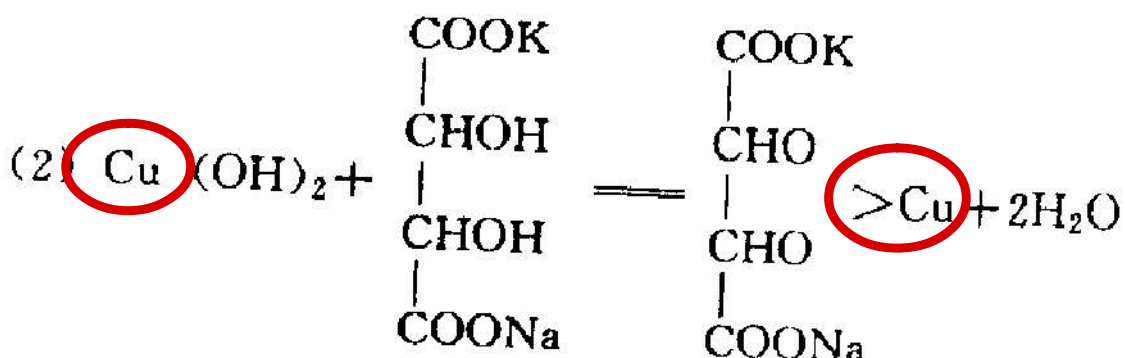
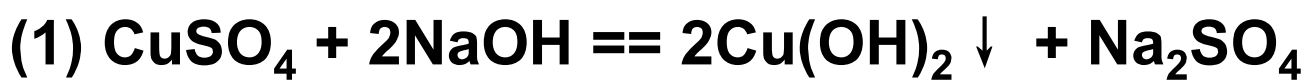
1. 直接滴定法
2. 高锰酸钾法
3. 萨式法
4. 蓝-爱农法

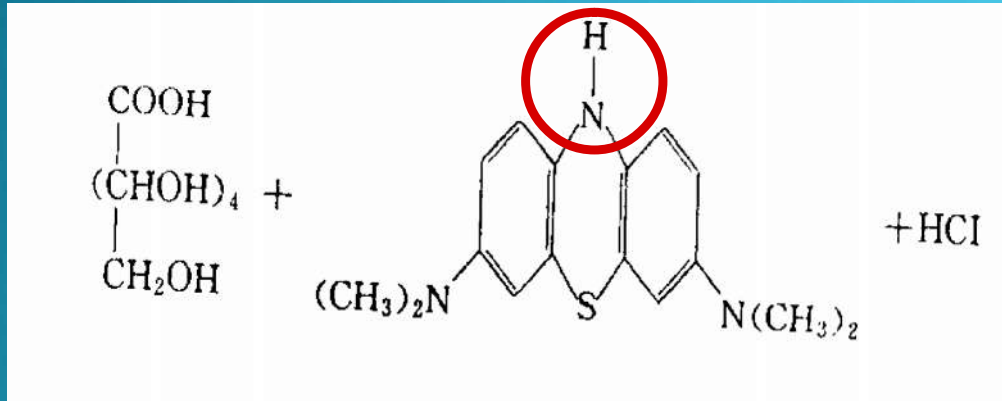
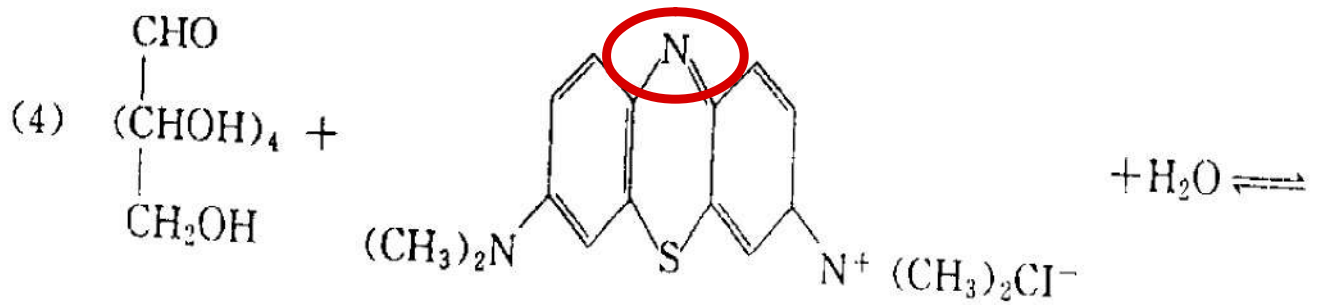
- 3,5-二硝基水杨酸法
- 酶比色法



9.2.2 直接滴定法还原糖的测定

➤ 原理





- 理论上，1 mol Glc → 还原 → 6 mol Cu^{2+} 。
- 实际上，1 mol Glc → 还原5 mol多一点的 Cu^{2+} ，且随反应条件而变化。



9.2.2 直接滴定法还原糖的测定

➤ 适用范围及特点

- 适用范围。

本法为国际法，适用于各类食品。

- 本法是篮-爱农容量法基础上发展起来的快速法。

- 酱油、深色果汁，由于其色素干扰，影响准确性。



9.2.2 直接滴定法还原糖的测定

➤ 试剂

碱性酒石
酸铜甲液



15 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.05 g 次甲基蓝 → 加水定容至**1000 ml**。

碱性酒石
酸铜乙液



50 g 碱性酒石酸钾钠, 70 g NaOH → 烧杯 → 加水溶解 → 加入**4 g 亚铁氰化钾**, 溶解 → 定容至**1000 ml** → 橡皮塞玻璃瓶保存。

乙酸锌溶液



21.9 g 乙酸 → 烧杯 → 加入**3 ml 冰醋酸**, 溶解 → 移入**100 ml 容量瓶** → 定容。

0.1% Glc 标液



Glc → **98-100°C** 烘干至恒重 → **1.0000g Glc** → 加水定容至**1000 ml**。

10.6% 亚铁
氰化钾溶液



9.2.2直接滴定法还原糖的测定

➤测定

1、样品处理

取样 → 提取液 → **250 ml**容量瓶 → 加入乙酸锌液，亚铁氰化钾液各**5 ml** → 定容 → 摇匀 → 静置**30 min** → 过滤 → 虑液(弃去初虑液)。

2、碱性酒石酸铜溶液的标定

碱性酒石酸铜甲液**5 ml**，碱性酒石酸铜乙液**5 ml**，水**10 ml** → **250 ml**锥形瓶 → 放入**3**粒玻璃珠，从滴定管放入约**9 ml Glc**标液 → 加热(在**2 min**内沸腾) → 准确沸腾**30 min** → **Glc**标液滴定(**1滴/秒**) → 蓝色刚好退去 → 记录**Glc**标液的消耗数。



9.2.2 直接滴定法还原糖的测定

➤ 计算公式

$$F = C \cdot V$$

F —— 10 ml碱性酒石酸铜相当于Glc的质量

c —— Glc标液的浓度

v —— 标定时消耗Glc标液的总体积, ml



9.2.2 直接滴定法还原糖的测定

3、样品预测

待测液**10 ml**代替标定时的**10 ml**水，其他操作基本相同。预测目的是调整测定样品的糖浓度，预测**Glc**标液消耗量。

4、样液测定

滴定前预留**1ml**左右的**Glc**标液进行滴定。其他操作同上。



9.2.2 直接滴定法还原糖的测定

➤ 结果计算

$$\text{还原糖(以Glc计)\%} = \frac{F}{m \times \frac{V}{250} \times 1000} \times 100$$

m —— m 样品的质量

V —— V 滴定所消耗的Glc标液的体积, ml



9.2.2 直接滴定法还原糖的测定

➤ 说明与讨论

1. 本法所用的氧化剂碱性酒石酸铜的氧化性能较强，醛糖和酮糖都可被氧化，测得的是总还原糖量。
2. 本法中， Cu^{2+} 是定量的基础，所以不能用铜盐作为澄清剂。
3. 次甲基蓝也是一种氧化剂，在测定条件下，氧化能力小于 Cu^{2+} 。
4. 乙液中的亚铁氰化钾可与 Cu_2O 生成可溶性的无色络合物，不析出红色沉淀，因此可以消除干扰。
5. $\text{Cu}_2\text{O} \downarrow + \text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{K}_2\text{Cu}_2\text{Fe}(\text{CN})_6 + 2\text{KOH}$



9.2.2 直接滴定法还原糖的测定

➤ 说明与讨论

6. 甲液和乙液使用时才混合。酒石酸钾钠铜络合物在碱性条件下，分解析出 Cu_2O 沉淀。
7. 滴定要在沸腾的条件下进行。
8. 反应液的碱度、热源强度、煮沸时间以及滴定速度都影响测定结果。

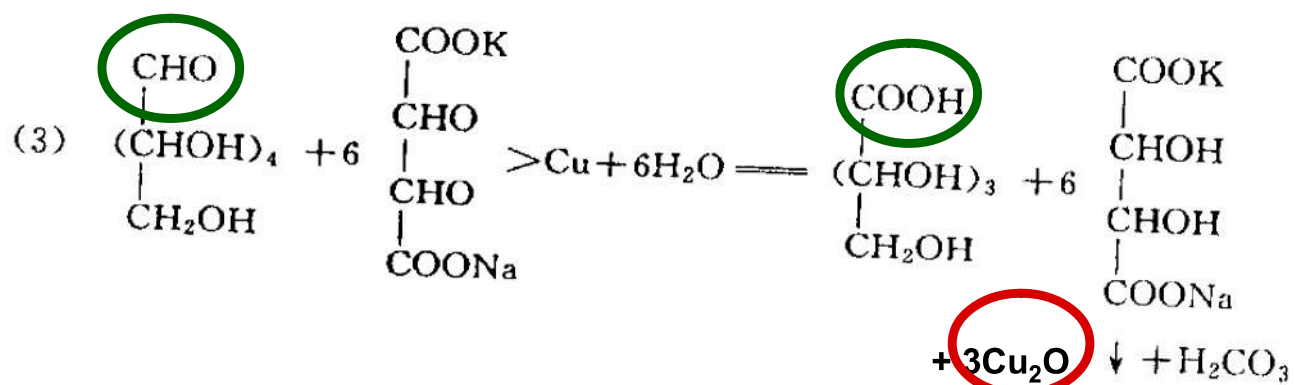
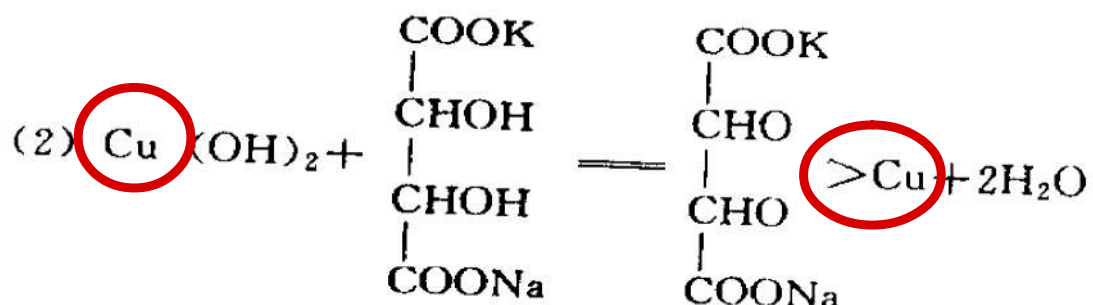
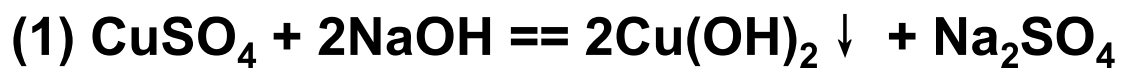
原因

- ① 加快还原糖与 Cu^{2+} 的反应。
- ② 次甲基蓝反应是可逆的。还原型次甲基蓝 + $\text{O}_2 \rightarrow$ 氧化型。
- ③ $\text{Cu}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow$ 氧化。加热可防止空气进入反应溶液。



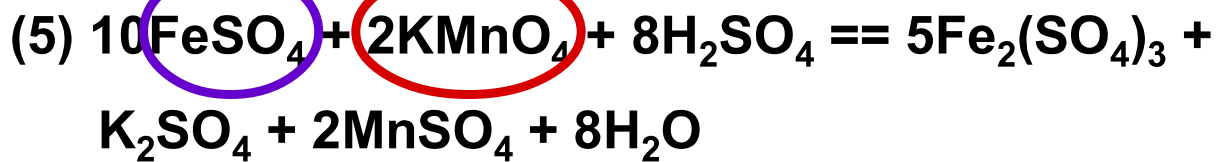
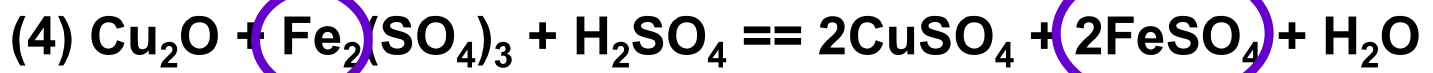
9.2.3 高锰酸钾滴定法还原糖的测定

➤ 原理



9.2.3高锰酸钾滴定法还原糖的测定

➤原理

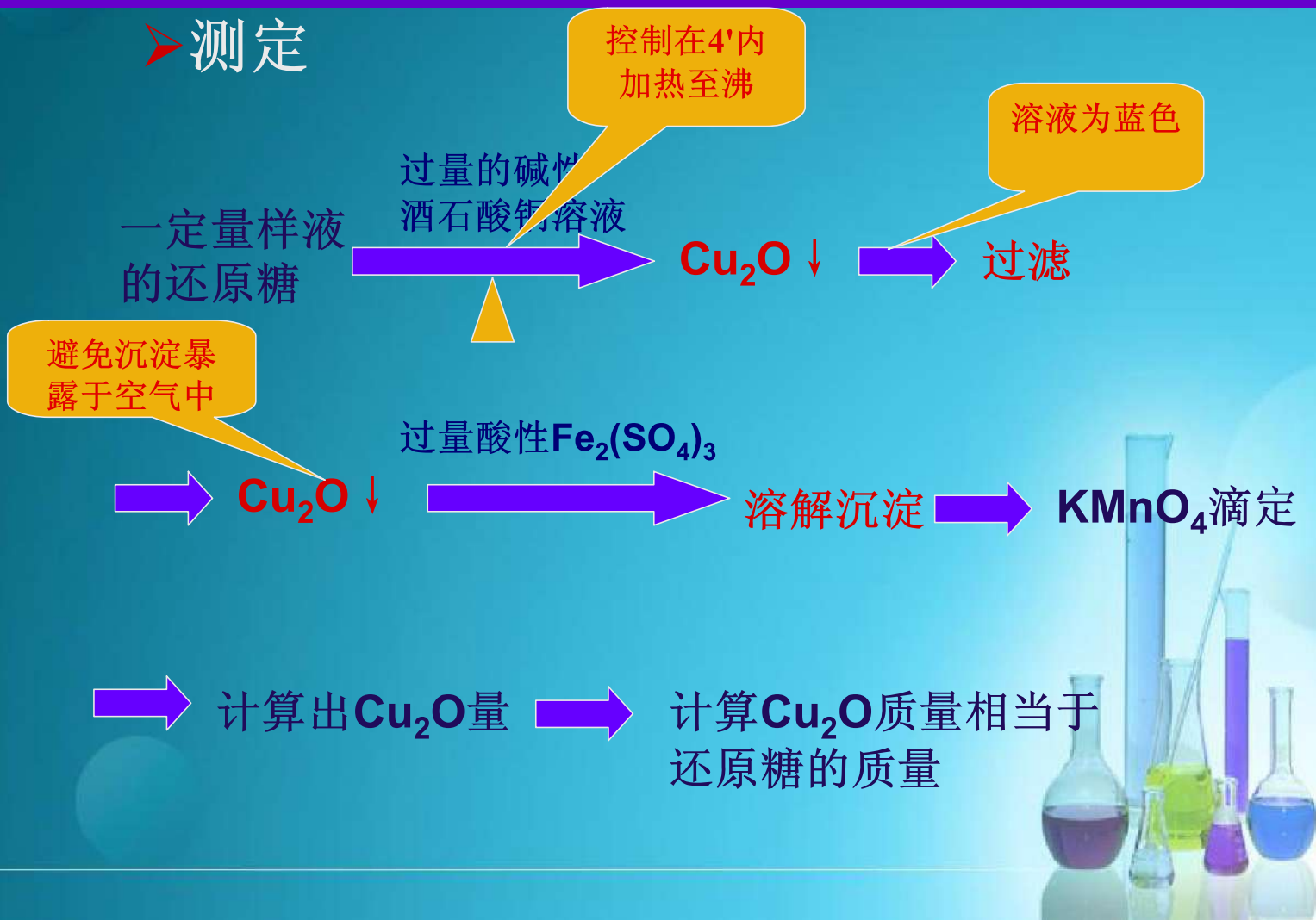


这个方法又称贝尔德蓝(Bertran)法



9.2.3高锰酸钾滴定法还原糖的测定

测定



9.2.3 高锰酸钾滴定法还原糖的测定

➤ 说明与讨论

1. 本法以测定过程中产生的**Fe**为计算依据，故在样品处理时，不能用乙酸铅和亚铁氰化钾作为澄清剂。
2. 所用的碱性酒石酸铜液是过量的，即保证把所有的还原糖全部氧化后，还有过剩的**Cu²⁺**存在。所以煮沸后的反应液应呈蓝色，如不呈蓝色，说明溶液含糖浓度过高。
3. 测定必须严格按照规定条件进行，必须控制好热源强度，保证在**4 min**内加热至沸，否则误差很大。



9.2.3高锰酸钾滴定法还原糖的测定

➤说明与讨论

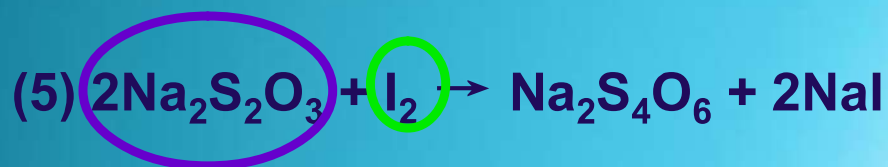
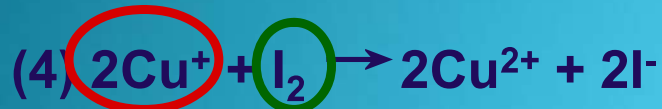
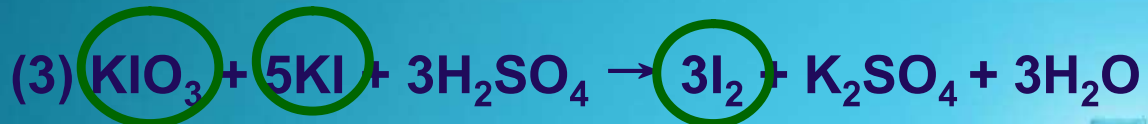
4. 在过滤及洗涤氧化亚铜的整个过程中，应使沉淀始终在液面以下，避免氧化亚铜暴露于空气中而被氧化。
5. 还原糖与碱性酒石酸铜液的反应过程非常复杂，常伴有其他副反应。另外，不同的还原糖其还原能力也不同，生成的氧化亚铜量也不同，所以不能按照反应式直接算出还原糖含量，要根据经验检索表查表计算。



萨式法还原糖的测定

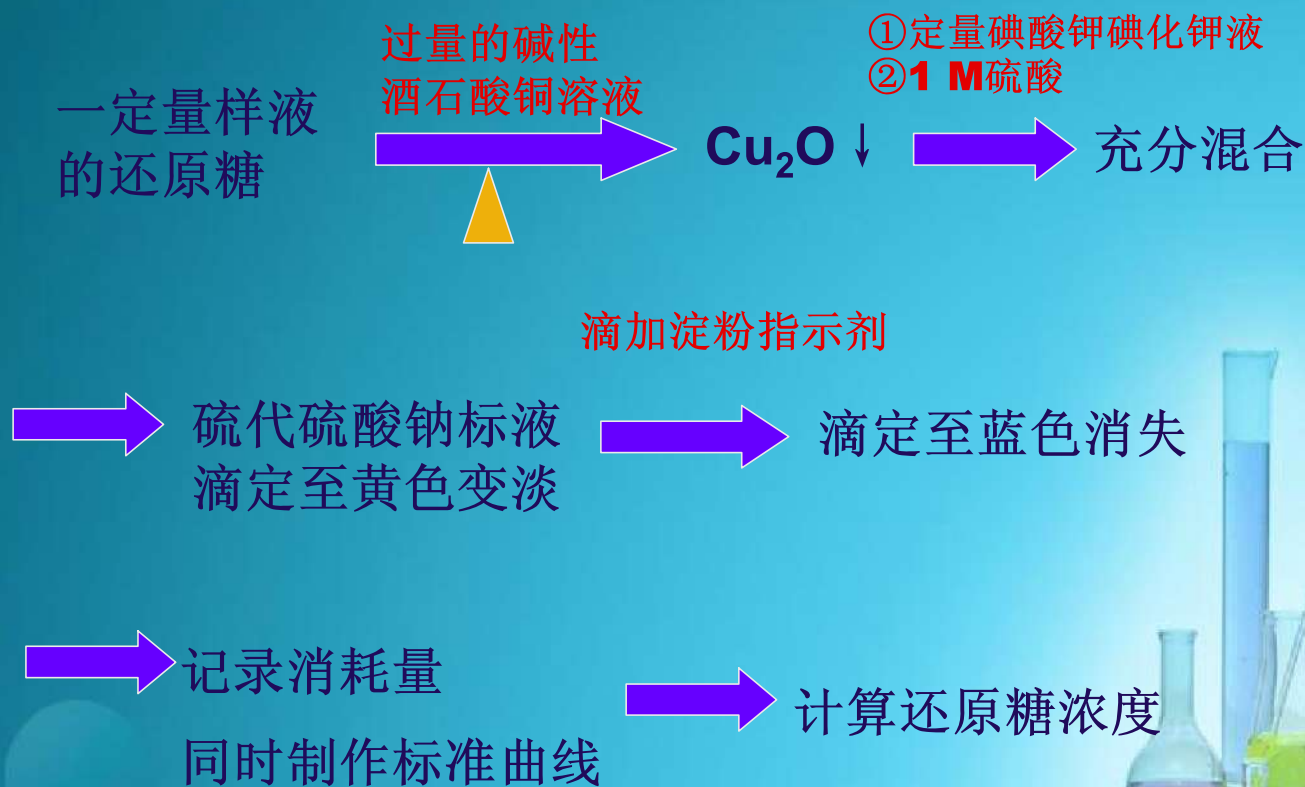
➤ 原理

碱性



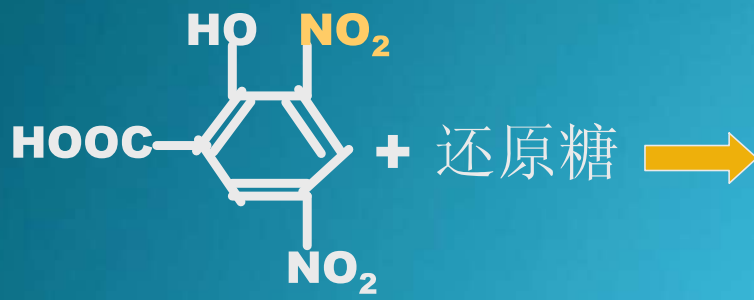
萨式法还原糖的测定

测定方法



3, 5-二硝基水杨酸还原糖的测定

➤ 原理



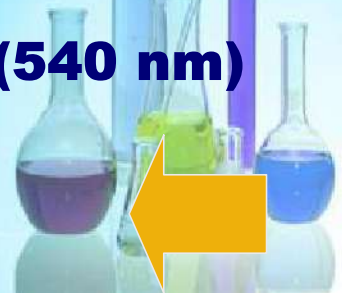
3, 5-二硝基水杨酸(DNS)
黄色

3-氨基-5-硝基水杨酸

棕红色

过量的碱

橘红色(540 nm)



9.2.4蔗糖的测定

➤原理

蔗糖由一个分子的葡萄糖和一个分子的果糖组成，蔗糖经过加酸水解后生成以上单糖(还原糖)。这些单糖可以用还原糖的测定方法来测定而求出蔗糖的含量。

➤试剂

- 6 M HCl;
- 0.1%甲基红乙醇溶液;
- 其他试剂同还原糖测定。



9.2.4蔗糖的测定

➤操作方法

GB/T 5009.8 -2003

1、样品处理 同还原糖测定中的直接滴定法

2、测定 样液**50 ml** → **100 ml**容量瓶 → 加入**5 ml**
6 M HCl → **68-70℃**, **15 min** → 冷却
→ 滴入**2滴**甲基红指示剂 → **20% NaOH**
滴定至中性 → 定容 → 测定。

➤结果计算 $X (\%) = (X_2 - X_1) \times 0.95$

X —— X 蔗糖百分含量

X1 —— X1 不经水解处理还原糖的含量

X2 —— X2 水解处理后还原糖的含量

0.95 —— 还原糖换算成蔗糖的系数



9.2.5总糖的测定

➤测定方法

滴定法

蒽酮比色法

苯酚-硫酸法



9.2.5.1 滴定法总糖的测定

➤ 操作方法

样品 → 除蛋白质 → 盐酸水解 → 按蔗糖的测定方法测定。

➤ 结果计算。 $X = \frac{m_1}{W \times \frac{50}{V_1} \times \frac{V_2}{100} \times 1000} \times 100$

X —— X 蔗糖百分含量

m₁ —— m₁ 直接滴定法中10 ml碱性酒石酸铜相当于
Glc量(mg)

W —— W 样品质量, g

V₁ —— V₁ 样品处理液的总体积, ml

V₂ —— V₂ 测定总糖量取用水解液的体积, ml



9.2.5.2 蒽酮比色法总糖的测定

➤ 原理

糖与硫酸脱水反应生成羟甲基呋喃甲醛，再与蒽酮缩合成蓝色络合物。此物质在**620 nm**下有最大吸收峰。糖浓度与吸光度成正比。

➤ 试剂

易氧化 稳定剂

蒽酮试剂

0.2 g蒽酮，**1 g**硫脲 → 边搅拌边加入
100 ml浓 H_2SO_4 → 溶解 → 黄色透明液
→ 冰箱可保存**2**个星期。

Glc标液

0 ~ 100 mg/ml系列标液。



9.2.5.2 蒽酮比色法总糖的测定

➤ 操作方法

样液 **1 ml** → 加入 **5 ml** 蒽酮液 → 混合 → 盖上玻璃盖 → 沸水浴 **10 min** → 流水冷却 **20 min** → **620 nm** 测定。

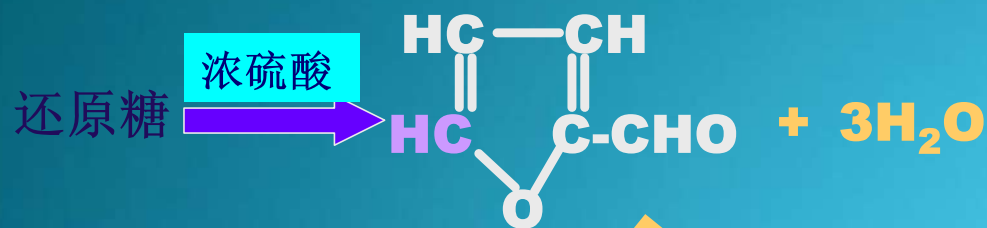
➤ 注意事项

如样品中蛋白质，色素含量较高，可以用醋酸钡作沉淀剂。



9.2.5.3 苯酚-硫酸法总糖的测定

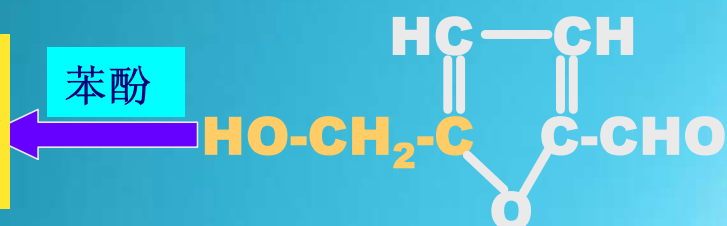
➤ 原理



糠醛

或者

黄至橙色化合物
(490 nm)



羟甲基糠醛



9.2.5.3 苯酚-硫酸法总糖的测定

➤ 试剂

5% 苯酚溶液

浓硫酸

Glc 标液

0 ~ 100 $\mu\text{g/ml}$ 等系列标液。

➤ 测定

样液 **0.5 ml**



① **0.5 ml 5% 苯酚液**

② **2.5 ml 浓硫酸**

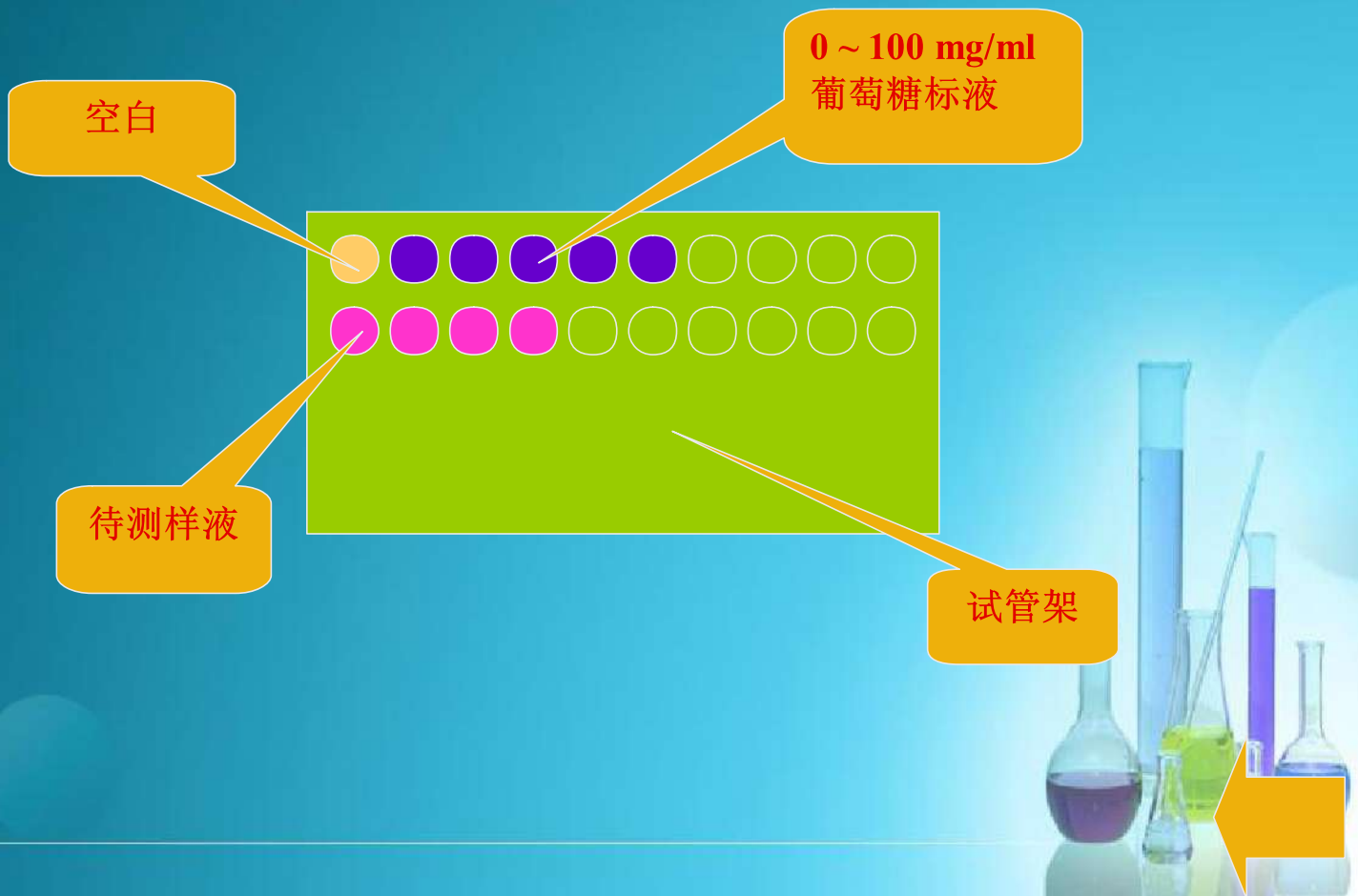
静置 **30 min**

490 nm 测定



9.2.5.3 苯酚-硫酸法总糖的测定

测定



可溶性糖的分离与定量

➤ 分析糖常用的色谱法

高效液相色谱法

气相色谱法

离子色谱法



气相色谱法的原理

➤原理

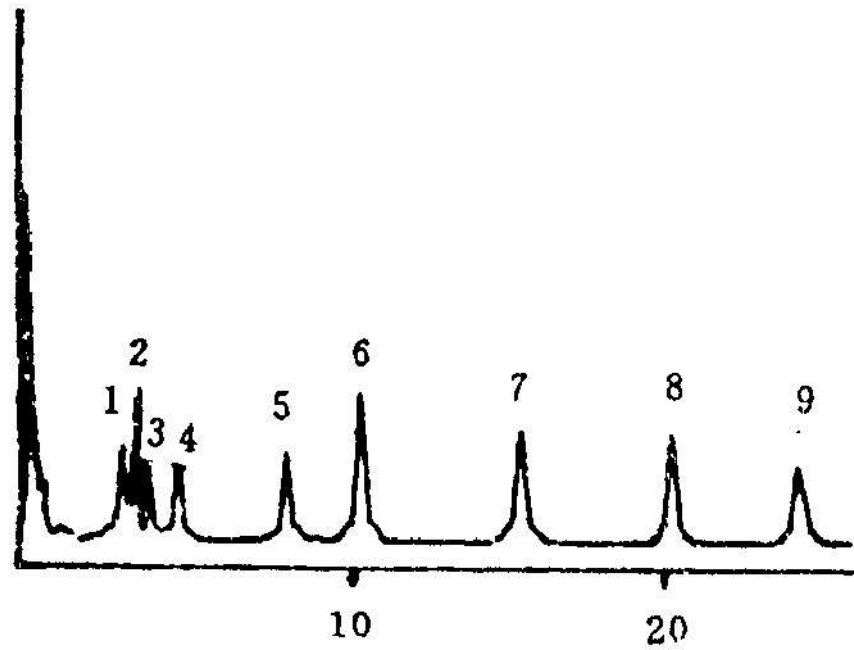
样品经处理后，进行衍生使之生成挥发性**TMS**衍生物，然后注入色谱仪器，在一定色谱条件下进行分离，得出色谱图，再与标准样品的色谱图比较，根据峰的保留时间定性，根据峰面积内标法定量。

➤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。



气相色谱图



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. 麦芽糖醇



高效液相色谱法

➤ 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，用乙腈和水作流动相，糖类分子按其分子量由大到小的顺序流出，经差示折光检测器检测，与标准比较定量。

➤ 适用范围

适用于各类食品。

➤ 仪器

- 高效液相色谱仪。附有示差折光检测器，数据处理机。
- 微量注射器。



淀粉的测定

➤ 淀粉的主要性质

水溶性

可溶于热水。

醇溶性

不溶于> **30%**乙醇溶液。

水解性

酸或酶的作用下水解生成葡萄糖。

旋光性

呈右旋性， $[\alpha]_D^{20} = (+) 201.5 \sim 205$ 。

➤ 淀粉的应用

填充剂

稳定剂

增稠剂



9.3 淀粉的测定

➤ 淀粉的测定方法

酸水解法

酶水解法

旋光度法



9.3.1 酸水解法淀粉的测定

➤ 原理

样品经乙醚除去脂肪，乙醇除去可溶性糖类物质后，在酸性条件下把淀粉水解成葡萄糖，按照还原糖测定方法求出还原糖含量，再折算为淀粉的含量。

➤ 适用范围及特点

本法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。

本法操作简单，应用广泛，但选择性和准确性不如酶法。



9.3.1 酸水解法淀粉的测定

➤ 试剂

- 乙醚。
- 85%乙醇。
- 6 M HCl。
- 40% NaOH。
- 10% NaOH。
- 0.2%甲基红乙醇溶液。
- 20%中性醋酸铅溶液。
- 精密pH试纸。
- 10% Na₂SO₄。



9.3.1 酸水解法淀粉的测定

➤ 操作方法

1、样品处理

较干燥、易
研磨的样品

如粮食、豆类等

铺有慢速滤纸

磨碎过**40**目筛的样品**2-5 g**(淀粉 \approx **0.5 g**) → 漏斗 →
用**30 ml**乙醚**3**次洗涤样品 → 再用**150 ml 85%**乙
醇分数次洗涤残渣 → 用**50 ml**水将残渣移入**250 ml**
锥形瓶。



9.3.1 酸水解法淀粉的测定

➤ 操作方法

水分较多，不易
研细、分散的样品

样品 → 加入**1**倍量的水 → 捣碎机捣碎 → **5-10 g**样品 → **250 ml**锥形瓶 → 加入**30 ml**乙醚，
滤纸过滤 → 残渣 → 用**300 ml**乙醚分**2**次洗涤
残渣 → 用**150 ml 85%**乙醇分数次洗涤 → 用
水将残渣移入**250 ml**锥形瓶



9.3.1 酸水解法淀粉的测定

3、水解

加入**30 ml 6 M HCl** → 装上冷凝管 → 沸水浴回流**2 h** → 流水冷却 → 加入**2滴甲基红** → 用**40% NaOH**调至黄色 → 再用**6 M HCl**调至刚好变红色 → 用**10% NaOH**调至红色刚好退去 (**pH 7.0**) → 加入**20 ml 20%醋酸铅** → 摇匀, 放置**10 min** → 加入**20 ml 10% Na₂SO₄**, 除去过多的铅 → 摇匀 用水将样液移入**500 ml容量瓶** → 定容 → 过滤 → 滤液(弃去初滤液)。

空白试验 **100 ml水** → **250 ml锥形瓶** → 加入**30 ml 6 M HCl** → 其他操作同上。



9.3.1 酸水解法淀粉的测定

➤ 说明与讨论

1. 脂肪妨碍乙醇溶液对可溶性糖类的提取，所以要预先用乙醚除去脂肪。
2. 样品加入乙醇溶液后，混合液的乙醇浓度应大于**80%**，防止糊精被洗掉。如不需测定包括糊精，用**10%**乙醇洗涤即可。
3. 水解回流装置是保证水解过程中，**HCl**浓度保持不变。
4. 水解条件要严格控制，以保证水解完全，避免加热时间过长对葡萄糖产生影响(形成糖醛聚合物，失去还原性)。



9.3.2 酶水解法

➤ 原理

样品经除去脂肪和可溶性糖类后，在淀粉酶的作用下，淀粉被水解为麦芽糖和低分子糊精。用盐酸将其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。

➤ 适用范围

- 本法适用于淀粉含量高的食品。
- 由于淀粉酶有严格的选择性，不受半纤维素，多缩戊糖、果胶质等多糖的干扰。



9.3.2酶水解法

➤试剂

乙醚

85%乙醇溶液

0.5 g 淀粉
酶溶液

➡ 0.5 g 淀粉酶 加入 100 ml 水，溶解
→ 加入数滴甲苯或 CHCl_3 → 低温保
存。

碘溶液

➡ 3.6 g KI → 20 ml 水 → 加入 1.3 g
 I_2 ，溶解 → 100 ml 容量瓶。

其他试剂



9.3.2酶水解法

➤测定

1、样品处理及酶水解

样品 → 乙醚除脂肪 → 残渣 → 用**50 ml**水将残渣移入**250 ml**烧杯中 → 沸水浴**15 min**，糊化淀粉 → 冷却至**< 60℃** → 加入**20 ml**淀粉酶 → **55-60℃ 1 h**，不时搅拌 → **100℃, 10 min** → 冷却 → **250 ml**定容 → 过滤 → 滤液。



9.3.2酶水解法

➤测定方法

检验淀粉是否消化完全

1滴样液 → 白色滴板上 → 加入1滴碘液
→ 不呈蓝色 → 消化完全。

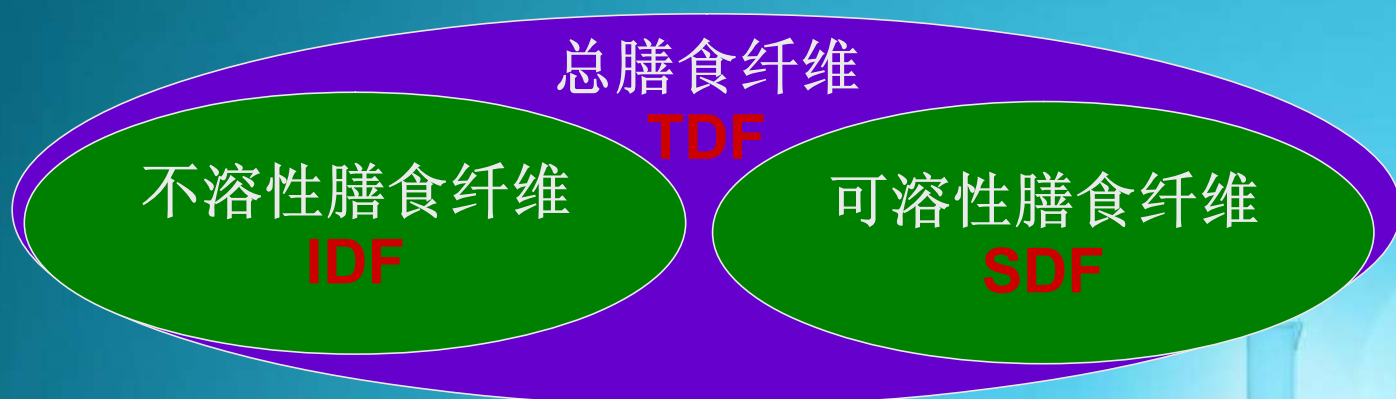
➤说明与讨论

- ① 加热糊化，破坏淀粉的晶格结构。
- ② 使用酶前，应预先确定其活力及水解时的加入量。



9.3.2.1 膳食纤维的测定

➤ 膳食纤维的种类



9.3.2.1 膳食纤维的测定

➤ 膳食纤维的测定方法

非酶—重量法

可测定总膳食纤维(可溶 + 不可溶性纤维)

中性洗涤法
(**GB5009 – 2003** 国标)

酶化学法

酶重量法
(**AOAC**的标准法)



9.3.2.2 中性洗涤剂法膳食纤维测定

➤ 原理

在中性洗涤剂的消化作用下，样品中的糖、淀粉、蛋白质、果胶等物质被溶解除去，不能消化的残渣为不溶性膳食纤维(IDF)。主要包括纤维素、半纤维素、木质素、角质、二氧化硅和不溶性灰分。

➤ 主要试剂

- 中性洗涤剂溶液(1.86% EDTA, 0.68%四硼酸钠, 3%十二烷基硫酸钠, 0.456%磷酸氢二钾的水溶液, pH 7)。
- 磷酸盐缓冲溶液 pH 7.0
- 2.5% α -淀粉酶溶液
- 耐热玻璃棉。



9.3.2.2 中性洗涤剂法膳食纤维测定

➤ 主要仪器设备

- 烘箱
- 恒温箱
- 纤维测定仪(附有带控温加热器、高型烧杯、玻料坩埚、回流冷凝装置、抽滤装置等)

➤ 操作方法

1、样品制备

粮食 → 磨碎，过**40-60**目筛。

蔬菜及其他植物性食品 → 用水洗净，吸去水分，打碎后混匀。

脂肪含量大于**10%**样品 → **1.00 g**样品，用**30 ml**石油醚分**3**次抽提脂肪。



9.3.2.2 中性洗涤剂法膳食纤维测定

2、测定

样品(0.5-1.0 g) → 加入**100 ml**中性洗涤剂, **0.5 g**无水 Na_2SO_4 → 加热, **5 min**内煮沸 → 保持微沸**1 h** → 趁热过滤 → 用**600 ml**热水分数次洗涤, 抽干 → 滤器下部塞上橡皮塞 → 加入酶液(覆盖样品) → 加入几滴甲苯, 盖上表面皿 → **37℃** 放置过夜 → 除去塞子, 抽去酶液 → 用**300 ml**热水分数次洗去残留酶液 → 抽干 → 丙酮洗涤**2次** → **110℃**, **4 h**烘干 → 恒重 (m_2)。

玻料坩埚中铺上**1 g**玻璃棉 → **110℃**, **4 h** → 冷却 → 恒重(m_1)



9.3.2.2 中性洗涤剂法膳食纤维测定

➤ 结果计算

$$X = \frac{m_2 - m_1}{W} \times 100\%$$

X —— 不溶性膳食纤维(%)

W —— 样品质量 (g)



9.3.2.3酶-重量法膳食纤维测定

➤测定原理

样品分别用 α -淀粉酶、蛋白酶、葡萄糖苷酶进行酶解，除去蛋白质和可消化淀粉后用重量法测定膳食纤维。



9.3.2.3 酶-重量法膳食纤维测定

➤ 操作要点

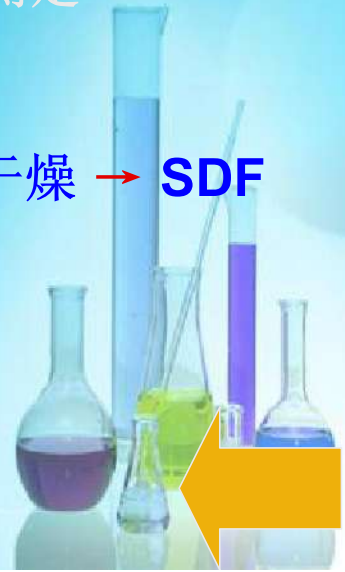
1、总膳食纤维(TDF)测定

酶解 → 乙醇沉淀 → 沉淀物 → 过滤 → 乙醇、丙酮
依次冲洗残渣 → 干燥 → 恒重 → 总膳食纤维量。

2、不溶性和可溶性膳食纤维(IDF & SDF)测定

酶解 → 过滤

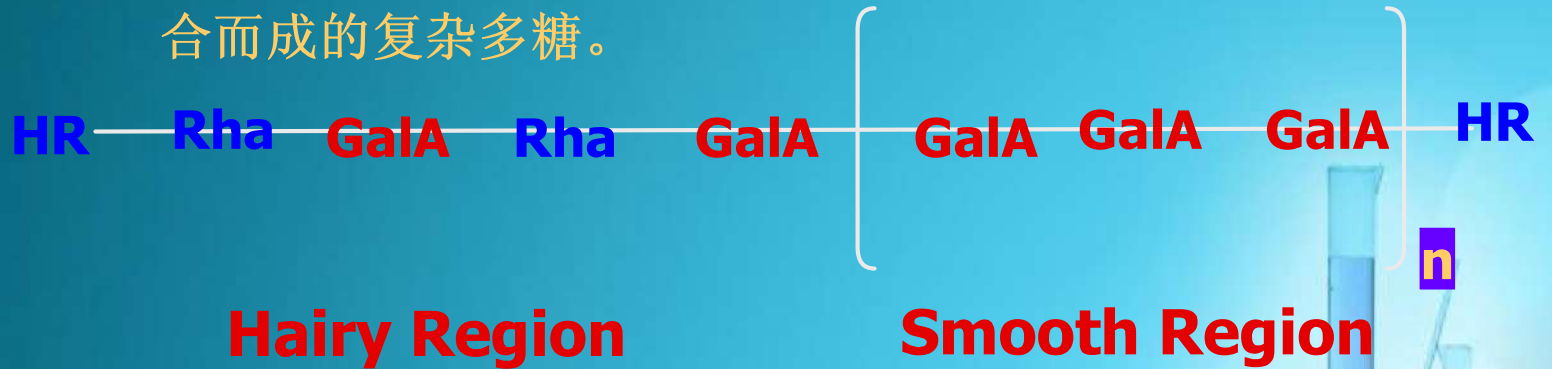
- 残渣 → 热水洗涤 → **IDF**量。
- 滤液 → 乙醇沉淀 → 过滤 → 干燥 → **SDF**量。



9.4 果胶的测定

➤ 果胶物质(pectin substance)

果胶物质是一种主要由半乳糖醛酸(GalA)和鼠李糖(Rha)、乳糖、阿拉伯糖、木糖等少量中性糖聚合而成的复杂多糖。



9.4果胶的测定

➤果胶物质的种类

根据化学性质

原果胶
Protopectin

果胶酯酸
Pectinic acid

果胶酸
Pectic acid

根据酯化程度

高甲氧基果胶
High-methoxy pectin

低甲氧基果胶
Low-methoxy pectin



9.4果胶的测定

➤果胶的测定方法

✓ 咔唑比色法

重量法

果胶酸钙滴定法



9.4.1 咔唑比色法测定果胶物质

➤ 原理

果胶分子中的聚半乳糖醛酸在硫酸溶液中与咔唑试剂作用，生成紫红色化合物，此物质在**530 -540 nm**处有最大吸收峰，其吸光度与半乳糖醛酸含量成正比。

➤ 试剂

- 浓 H_2SO_4
- 0.5 mol/L 硫酸溶液
- 0.15% 咔唑乙醇溶液。
- 半乳糖醛酸标液。0 ~ 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 系列浓度。



苯酚-硫酸法总糖的测定

测定

样液**0.25 ml**



冷水浴

1.5 ml
浓硫酸



玻珠

沸水浴，
10 min

0.05 ml
咔唑液

静置**30 min**

540 nm测定



苯酚-硫酸法总糖的测定

测定

