

还原糖的测定方法

食物中还原糖的测定方法：高锰酸钾滴定法和直接滴定法。

一、高锰酸钾滴定法

1.原理

样品经除去蛋白质后，其中还原糖在碱性环境下将铜盐还原为氧化亚铜，加硫酸铁后，氧化亚铜被氧化为铜盐，以高锰酸钾溶液滴定氧化作用后生成的亚铁盐，根据高锰酸钾消耗量计算氧化亚铜含量，再查表得还原糖量。

2.适用范围

GB5009.7-85，本法适用于所有食品中还原糖的测定以及通过酸水解或酶水解转化成还原糖的非还原性糖类物质的测定。

3.仪器

- (1) 滴定管
- (2) 25ml 古氏坩埚或 G4 垂融坩埚
- (3) 真空泵
- (4) 水浴锅

4.试剂

除特殊说明外，实验用水为蒸馏水，试剂为分析纯。

4.1 6 mol/L 盐酸：量取 50ml 盐酸加水稀释至 100 ml。

4.2 甲基红指示剂：称取 10mg 甲基红，用 100ml 乙醇溶解。

4.3 5 mol/L 氢氧化钠溶液：称取 20g 氢氧化钠加水溶解并稀释至 100ml。

4.4 碱性酒石酸铜甲液：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。

4.5 碱性酒石酸铜乙液：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中。

4.6 精制石棉：取石棉先用 3mol/L 盐酸浸泡 2~3 天，用水洗净，再加 2.5mol/L 氢氧化钠溶液浸泡 2~3 天，倾去溶液，再用热碱性酒石酸铜已液浸泡数小时，用水洗净。再以 3 mol/L 盐酸浸泡数小时，以水洗至不呈酸性。然后加水振摇，使成微细的浆状软悬液，用水浸泡并贮存于玻璃瓶中，即可用做填充古氏坩埚用。

4.7 0.1000mol/L 高锰酸钾标准溶液。

4.8 1mol/L 氢氧化钠溶液：称取 4g 氢氧化钠，加水溶解并稀释至 100ml。

4.9 硫酸铁溶液：称取 50g 硫酸铁，加入 200ml 水溶解后，慢慢加入 100ml 硫酸，冷却后加水稀释至 1L。

4.10 3mol/L 盐酸：量取 30ml 盐酸，加水稀释至 120ml。

5. 操作方法

5.1 样品处理：

5.1.1 乳类、乳制品及含蛋白质的食品：称取约 0.5~2 g 固体样品（吸取 2~10 ml 液体样品），置于 250 ml 容量瓶中，加 50 ml 水，摇匀。加入 10 ml 碱性酒石酸铜甲液及 4 ml 1mol/L 氢氧化钠溶液，加水至刻度，混匀。静置 30min，用干燥滤纸过滤，弃去初滤液，滤液备用。（注：此步骤目的是沉淀蛋白）

5.1.2 酒精性饮料：吸取 100 ml 样品，置于蒸发皿中，用 1 mol/L 氢氧化钠溶液中和至中性，在水浴上蒸发至原体积 1/4 后（注：如果蒸发时间过长，应注意保持溶液 pH 为中性），移入 250 ml 容量瓶中。加 50 ml 水，混匀。以下按 5.1.1 自“加 10ml 碱性酒石酸铜甲液”起依法操作。

5.1.3 含多量淀粉的食品：称取 2~10 g 样品，置于 250 ml 容量瓶中，加 200 ml 水，在 45℃ 水

上海洪纪仪器设备有限公司

浴中加热 1 h, 并时时振摇。(注意: 此步骤是使还原糖溶于水中, 切忌温度过高, 因为淀粉在高温条件下可糊化、水解, 影响检测结果。)冷却后加水至刻度, 混匀, 静置。吸取 200 ml 上清液于另一 250 ml 容量瓶中, 以下按 5.1.1 自"加 10ml 碱性酒石酸铜甲液"起依法操作。

5.1.4 含有脂肪的食品: 称取 2~10 g 样品, 先用乙醚或石油醚淋洗 3 次, 去除醚层。加入 50ml 水混匀, 以下按 5.1.1 自"加 10ml 碱性酒石酸铜甲液"起依法操作。

5.1.5 汽水等含有二氧化碳的饮料: 吸取 100 ml 样品置于蒸发皿中, 在水浴上除去二氧化碳后, 移入 250 ml 容量瓶中, 并用水洗涤蒸发皿, 洗液并入容量瓶中, 再加水至刻度, 混匀后, 备用。

5.2 样品测定:

吸取 50ml 处理后的样品溶液, 于 400ml 烧杯中, 加入 25ml 碱性酒石酸铜甲液及 25ml 乙液, 于烧杯上盖一表面皿, 加热, 控制在 4min 内沸腾, 再准确煮沸 2min, 乘热用铺好石棉的古氏坩埚或 G4 垂融坩埚抽滤, 并用 60℃ 热水洗涤烧杯及沉淀, 至洗液不成碱性为止。(注: 还原糖与碱性酒石酸铜试剂的反应一定要在沸腾状态下进行, 沸腾时间需严格控制。煮沸的溶液应保持蓝色, 如果蓝色消失, 说明还原糖含量过高, 应将样品溶液稀释后重做。)将古氏坩埚或垂融坩埚放回原 400ml 烧杯中, 加 25 ml 硫酸铁溶液及 25ml 水, 用玻棒搅拌使氧化亚铜完全溶解, 以 0.1mol/L 高锰酸钾标准液滴定至微红色为终点。

同时吸取 50ml 水, 加与测样品时相同量的碱性酒石酸铜甲、乙液, 硫酸铁溶液及水, 按同一方法做试剂空白实验。

6. 计算:

$$X1 = (V - V_0) \times N \times 71.54 \quad (1)$$

式中: $X1$ --样品中还原糖质量相当于氧化亚铜的质量, mg;

V --测定用样品液消耗高锰酸钾标准液的体积, ml;

V_0 --试剂空白消耗高锰酸钾标准液的体积, ml;

N --高锰酸钾标准溶液的浓度;

71.54--1ml 1mol/L 高锰酸钾溶液相当于氧化亚铜的质量, mg。

根据 (1) 式中计算所得氧化亚铜质量, 查附表"氧化亚铜质量相当于葡萄糖、果糖、乳糖、转化糖的质量表", 再计算样品中还原糖含量。

$$X2 = (m1 \times V2) / (m2 \times V1) \times (100/1000) \quad (2)$$

式中: $X2$ --样品中还原糖的含量, g/100g (g/100ml);

$m1$ --查表得还原糖质量, mg;

$m2$ --样品质量 (或体积), g (ml);

$V1$ --测定用样品处理液的体积, ml;

$V2$ --样品处理后的总体积, ml。

7. 举例:

称取某食物样品 3.00g, 经过处理后用水定容至 250ml。取 50ml 进行测定, 消耗 0.1003 mol/L 高锰酸钾标准液 5.20ml, 同时测试剂空白为 0.36ml, 则 样品中还原糖质量相当于氧化亚铜的质量为:

$$X1 (\text{mg}) = (5.20 - 0.36) \times 0.1003 \times 71.54 = 34.73$$

查表得还原糖质量为相当于葡萄糖 16.22 mg,

样品中还原糖含量 (以葡萄糖计) 为:

$$X2 (\text{g}/100\text{g}) = (16.22 \times 250) / (3.00 \times 50) \times (100/1000) = 2.70$$

8. 注释:

本法用碱性酒石酸铜溶液作为氧化剂。由于硫酸铜与氢氧化钠反应可生成氢氧化铜沉淀, 氢氧化铜沉淀可被酒石酸钾钠缓慢还原, 析出少量氧化亚铜沉淀, 使氧化亚铜计量发生误差, 所以甲、乙试剂要分别配制及贮藏, 用时等量混合。

上海洪纪仪器设备有限公司

二、直接滴定法

1. 原理

样品经除去蛋白质后，在加热条件下，直接滴定已标定过的费林氏液，费林氏液被还原析出氧化亚铜后，过量的还原糖立即将次甲基蓝还原，使蓝色褪色。根据样品消耗体积，计算还原糖量。

2. 适用范围

GB5009.7-85，本方法适用于所有食品中还原糖的检测。检出限 0.1mg。

3. 主要仪器

滴定管

4. 试剂

除特殊说明外，实验用水为蒸馏水，试剂为分析纯。

(1) 费林甲液：称取 15 g 硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)，及 0.05 g 次甲基蓝，溶于水中并稀释至 1 L。

(2) 费林乙液：称取 50 g 酒石酸钾钠与 75 g 氢氧化钠，溶于水中，再加入 4 g 亚铁氰化钾，完全溶解后，用水稀释至 500 ml，贮存于橡胶塞玻璃瓶内。

(3) 乙酸锌溶液：称取 21.9 g 乙酸锌，加 3 ml 冰乙酸，加水溶解并稀释至 100 ml。

(4) 亚铁氰化钾溶液。称取 10.6g 亚铁氰化钾，用水溶解并稀释至 100ml。

(5) 盐酸。

(6) 葡萄糖标准溶液：精密称取 1.000 g 经过 80 °C 干燥至恒量的葡萄糖（纯度在 99%以上），加水溶解后加入 5 ml 盐酸，并以水稀释至 1 L。此溶液相当于 1 mg/ml 葡萄糖。（注：加盐酸的目的是防腐，标准溶液也可用饱和苯甲酸溶液配制）

5. 操作方法

5.1 样品处理：

5.1.1 乳类、乳制品及含蛋白质的食品：称取约 0.5~2 g 固体样品（吸取 2~10 ml 液体样品），置于 100 ml 容量瓶中，加 50 ml 水，摇匀。边摇边慢慢加入 5 ml 乙酸锌溶液及 5 ml 亚铁氰化钾溶液，加水至刻度，混匀。静置 30 min，用干燥滤纸过滤，弃去初滤液，滤液备用。（注意：乙酸锌可去除蛋白质、鞣质、树脂等，使它们形成沉淀，经过滤除去。如果钙离子过多时，易与葡萄糖、果糖生成络合物，使滴定速度缓慢；从而结果偏低，可向样品中加入草酸粉，与钙结合，形成沉淀并过滤。）

5.1.2 酒精性饮料：吸取 50 ml 样品，置于蒸发皿中，用 1 mol/L 氢氧化钠溶液中和至中性，在水浴上蒸发至原体积 1/4 后，移入 100 ml 容量瓶中。加 25 ml 水，混匀。以下按 4.1.1 自“加 5 ml 乙酸锌溶液”起依法操作。

5.1.3 含多量淀粉的食品：称取 2~5 g 样品，置于 100 ml 容量瓶中，加 50 ml 水，在 45°C 水浴中加热 1 h，并时时振摇（注意：此步骤是使还原糖溶于水，切忌温度过高，因为淀粉在高温条件下可糊化、水解，影响检测结果。）。冷后加水至刻度，混匀，静置。吸取 50 ml 上清液于另一 100 ml 容量瓶中，以下按 4.1.1 自“5 ml 乙酸锌溶液”起依法操作。

5.1.4 汽水等含有二氧化碳的饮料：吸取 50 ml 样品置于蒸发皿中，在水浴上除去二氧化碳后，移入 100 ml 容量瓶中，并用水洗涤蒸发皿，洗液并入容量瓶中，再加水至刻度，混匀后，备用。（注意：样品中稀释的还原糖最终浓度应接近于葡萄糖标准液的浓度。）

5.2 标定费林氏液溶液：吸取 5.0 ml 费林氏甲液及 5.0 ml 乙液，置于 150 ml 锥形瓶中（注意：甲液与乙液混合可生成氧化亚铜沉淀，应将甲液加入乙液，使开始生成的氧化亚铜沉淀重溶），加水 10 ml，加入玻璃珠 2 粒，从滴定管滴加约 9 ml 葡萄糖标准溶液，控制在 2 min 内加热至沸，趁沸以每两秒 1 滴的速度继续滴加葡萄糖标准溶液，直至溶液蓝色刚好褪去并出现淡黄色为终点，记录消耗的葡萄糖标准溶液总体积，平行操作三份，取其平均值，计算每 10 ml（甲、

上海洪纪仪器设备有限公司

乙液各 5 ml) 碱性酒石酸铜溶液相当于葡萄糖的质量 (mg)。(注意: 还原的次甲基蓝易被空气中的氧化, 恢复成原来的蓝色, 所以滴定过程中必须保持溶液成沸腾状态, 并且避免滴定时间过长。)

5.3 样品溶液预测: 吸取 5.0 ml 费林氏甲液及 5.0 ml 乙液, 置于 150 ml 锥形瓶中, 加水 10 ml, 加入玻璃珠 2 粒, 控制在 2 min 内加热至沸, 趁沸以先快后慢的速度, 从滴定管中滴加样品溶液, 并保持溶液沸腾状态, 待溶液颜色变浅时, 以每秒 1 滴的速度滴定, 直至溶液兰色褪去, 出现亮黄色为终点。如果样品液颜色较深, 滴定终点则为兰色褪去出现明亮颜色 (如亮红), 记录消耗样液的总体积。(注意: 如果滴定液的颜色变浅后复又变深, 说明滴定过量, 需重新滴定。)

5.4 样品溶液测定: 吸取 5.0 ml 碱性酒石酸铜甲液及 5.0 ml 乙液, 置于 150 ml 锥形瓶中, 加水 10 ml, 加入玻璃珠 2 粒, 在 2 min 内加热至沸, 快速从滴定管中滴加比预测体积少 1 ml 的样品溶液, 然后趁沸继续以每两秒 1 滴的速度滴定直至终点。记录消耗样液的总体积, 同法平行操作两至三份, 得出平均消耗体积。

6. 计算

$$X3 = (C \times v1 \times V) / (m \times v2 \times 1000) \times 100$$

式中: X—样品中还原糖的含量 (以葡萄糖计), %;

C—葡萄糖标准溶液的浓度, mg/ml;

v1— 滴定 10 ml 费林氏溶液 (甲、乙液各 5 ml) 消耗葡萄糖标准溶液的体积, ml;

v2—测定时平均消耗样品溶液的体积, ml;

V—样品定容体积, ml;

m—样品质量, g;

7. 注意事项

(1) 本方法测定的是一类具有还原性质的糖, 包括葡萄糖、果糖、乳糖、麦芽糖等, 只是结果用葡萄糖或其他转化糖的方式表示, 所以不能误解为还原糖=葡萄糖或其他糖。但如果已知样品中只含有某一种糖, 如乳制品中的乳糖, 则可以认为还原糖=某糖。

(2) 分别用葡萄糖、果糖、乳糖、麦芽糖标准品配制标准溶液分别滴定等量已标定的费林氏液, 所消耗标准溶液的体积有所不同。证明即便同是还原糖, 在物化性质上仍有所差别, 所以还原糖的结果只是反映样品整体情况, 并不完全等于各还原糖含量之和。如果已知样品只含有某种还原糖, 则应以该还原糖做标准品, 结果为该还原糖的含量。如果样品中还原糖的成分未知, 或为多种还原糖的混合物, 则以某种还原糖做标准品, 结果以该还原糖计, 但不代表该糖的真实含量。