

主编 邓 静 熊 莉

生物工程专业 分析实验

SHENGWU
GONGCHENG ZHUANYE
FENXI SHIYAN



西南交通大学出版社

生物工程专业分析实验

主 编	邓 静	熊 莉	
副主编	张 静	赵长青	邹 伟
参 编	吴华昌	吉志伟	易宇文
	张雪峰	侯 华	

西南交通大学出版社

· 成 都 ·

图书在版编目 (C I P) 数据

生物工程专业分析实验 / 邓静, 熊莉主编. —成都:
西南交通大学出版社, 2015.8
ISBN 978-7-5643-4106-0

I. ①生… II. ①邓… ②熊… III. ①生物工程—实
验—高等学校—教材 IV. ①Q81-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 180855 号

生物工程专业分析实验

主编 邓 静 熊 莉

责 任 编 辑 牛 君
封 面 设 计 原谋书装

出 版 发 行 西南交通大学出版社
(四川省成都市金牛区交大路 146 号)

发 行 部 电 话 028-87600564 028-87600533

邮 政 编 码 610031

网 址 <http://www.xnjdcbs.com>

印 刷 四川煤田地质制图印刷厂

成 品 尺 寸 185 mm × 260 mm

印 张 11

字 数 273 千

版 次 2015 年 8 月第 1 版

印 次 2015 年 8 月第 1 次

书 号 ISBN 978-7-5643-4106-0

定 价 25.00 元

课件咨询电话: 028-87600533

图书如有印装质量问题 本社负责退换

版权所有 盗版必究 举报电话: 028-87600562

前 言

生物工程专业旨在培养能综合应用现代科学理论和技术手段, 具有较强工程实践能力、创新能力和较高综合素质, 能面向行业、面向企业生产一线, 成为各行各业“吃得苦、留得住、用得上”的高素质应用型工程技术人才。而生物工程专业分析实验是提升学生工程实践能力和创新能力的重要环节。

本书内容上侧重酿造调味品、酒类及发酵食品等方面的分析。实验项目的设计从最基础的验证性分析实验, 过渡到综合分析实验, 再到设计性分析实验, 由低到高, 由易到难, 分层次设计, 旨在强化学生基本操作技能的基础上, 培养学生的实验设计能力、动手能力、创新能力、团队合作能力。

本书是编者在四川理工学院生物工程相关专业多年来开设专业分析实验的基础上, 结合相关企业的实际情况和国家标准编写的一本实验指导教材。主编为四川理工学院邓静教授和熊莉高级实验师, 副主编为四川理工学院副教授张静、赵长青和邹伟; 参编人员有四川理工学院吴华昌教授, 四川旅游学院吉志伟、易宇文, 四川自贡盐味源食品有限公司张雪峰高级工程师, 四川天子酒业有限公司侯华高级工程师。

本书可作为高等院校生物工程专业实验教学用书, 也可作为高等院校生物科学、生物技术和食品科学等相关专业本、专科学习用书, 还可供从事生物工程、酿造行业的企业和研究所人员参考。

由于编者水平有限, 书中难免存在不妥之处, 衷心希望广大读者批评指正。

编 者

2015 年 7 月

目 录

第一章 基础实验	1
实验一 水分含量的测定	1
实验二 粗淀粉含量的测定	4
实验三 还原糖含量的测定	8
实验四 总酸含量的测定	12
实验五 酱、腌制品中亚硝酸盐含量的测定	16
实验六 酱油中氨基酸态氮含量的测定	19
实验七 食品中黄曲霉毒素 B ₁ 含量的测定	22
实验八 发酵乳中脂肪含量的测定	29
实验九 酱油中可溶性无盐固形物含量的测定	33
实验十 泡菜中挥发性酸度的测定	35
实验十一 酱类过氧化值的测定	38
实验十二 食醋中非挥发性酸（乳酸计）含量的测定	40
实验十三 酱油中总氮含量的测定	43
实验十四 酒样中酒精度的测定	47
实验十五 酒样中固形物含量的测定	50
实验十六 酒样中甲醇含量的测定	52
实验十七 啤酒中甲醛含量的测定	55
实验十八 啤酒中二氧化碳含量的测定	59
实验十九 啤酒中双乙酰含量的测定	63
实验二十 啤酒中蔗糖转化酶的活性分析	66
实验二十一 葡萄酒、果酒中二氧化硫含量的测定	68
实验二十二 葡萄酒、果酒中二氧化碳含量的测定	71
实验二十三 蛋白酶活力的测定	73
实验二十四 麦芽糖化力的测定	77
实验二十五 液化型淀粉酶活力的测定	81
实验二十六 多酚氧化酶活力的测定	84
实验二十七 纤维素酶活力的测定	86

第二章 综合实验	89
实验一 复合调味品中系列添加剂含量的测定	89
I 复合调味品中山梨酸、苯甲酸含量的测定	89
II 复合调味品中番茄红素含量的测定	91
III 复合调味品中茶多酚含量的测定	94
IV 复合调味品中环己基氨基磺酸钠(甜蜜素)含量的测定	96
实验二 腌肉中系列添加剂含量的测定	98
I 腌肉中赤藓红及其铝色淀含量的测定	98
II 腌肉中没食子酸丙酯含量的测定	99
III 腌肉中硝酸钠含量的测定	101
实验三 腐乳中生理活性物质分析	103
I 腐乳中大豆多肽含量的测定	103
II 腐乳中超氧化物歧化酶活力的测定	107
III 腐乳中异黄酮含量的测定	109
IV 腐乳中低聚糖含量的测定	112
V 腐乳中游离氨基酸成分分析	114
实验四 乳品中维生素含量的测定	117
I 乳品中维生素 A、D、E 含量的测定	117
II 乳品中维生素 B ₁ 含量的测定	122
III 乳品中维生素 B ₂ 含量的测定	125
IV 乳品中维生素 B ₆ 含量的测定	127
V 乳品中维生素 B ₁₂ 含量的测定	130
VI 乳品中维生素 C 含量的测定	134
VII 乳品中维生素 K ₁ 含量的测定	136
实验五 浓香型白酒中风味成分的检测	140
I 白酒中挥发性风味成分的检测	140
II 白酒中总酯含量的检测	142
III 白酒中乙酸乙酯含量的测定	144
第三章 设计性实验	147
实验一 泡菜安全性评价	147
实验二 酒类色度分析实验	149
实验三 宜宾芽菜中乳酸菌总数的测定	151
实验四 香菇多糖分析实验	153
附 录	155
参考文献	168

第一章 基础实验

实验一 水分含量的测定

原料中的水分含量对其品质与保存有重要的影响，水分含量过高会导致原料在保藏时容易发霉变质，影响原料的利用价值。因此水分含量在工业发酵中是一个极为重要的分析项目。水分含量测定方法有许多种，一般根据样品的性质进行选择。常采用的水分含量测定方法有热干燥法、蒸馏法、卡尔费休法。热干燥法还可以分为常压干燥法、真空干燥法和红外线干燥法。下面主要介绍常压干燥法测定样品中的水分含量。

一、实验目的

- (1) 了解常压干燥法的原理和方法。
- (2) 掌握恒温干燥箱的正确操作方法及恒重^①技术。

二、实验原理

试样中的水分一般在一个大气压（101.3 kPa）下、温度 101 ~ 105 °C 加热时变为水蒸气而挥发出来，再根据试样在干燥前后的质量差而算出含水量。

三、试剂和仪器

1. 试 剂

除特殊说明外，实验用水为蒸馏水，试剂为分析纯。

- (1) 6 mol/L 盐酸：取 50 mL 浓盐酸，加水稀释，定容至 100 mL。
- (2) 6 mol/L 氢氧化钠溶液：取 24 g 氢氧化钠，加水溶解，定容至 100 mL。

^① 实为质量，包括后文的净重、鲜重等，但因为在农林、食品工业等行业实际生产中一起沿用，为使学生了解、熟悉生产实际，本书予以保留。——编者注

(3) 海砂：取海砂先用 6 mol/L 盐酸煮沸 0.5 h，用水洗至中性，再用 6 mol/L 氢氧化钠溶液煮沸 0.5 h，用水洗至中性，在 105 °C 干燥，备用。

2. 仪 器

- (1) 称量瓶；
- (2) 干燥器（内附干燥剂）；
- (3) 电子恒温干燥箱；
- (4) 电子天平（感量为 0.1 mg）；
- (5) 加厚棉手套，研钵。

四、实验步骤

1. 固体试样

(1) 试样预处理：将试样磨细至颗粒直径小于 2 mm，不易研磨的样品应尽可能切碎。

(2) 称量瓶干燥恒重：取洁净的称量瓶，置于 101 ~ 105 °C 干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，加热 1.0 h，盖好瓶盖，取出，置于干燥器内冷却 0.5 h，称量。重复干燥，至前后两次质量差不超过 2 mg，即为恒重。

(3) 试样干燥恒重：称取 2 ~ 10 g（精确至 0.0001 g）预处理后的试样，放入干燥至恒重的称量瓶中，试样厚度一般不超过 5 mm，如为疏松试样，厚度不超过 10 mm，加盖，精密称量，置于 101 ~ 105 °C 干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，加热 2 ~ 4 h，盖好瓶盖，取出，置于干燥器内冷却 0.5 h，称量。然后再放入 101 ~ 105 °C 干燥箱中干燥 1 h 左右，取出放入干燥器内冷却 0.5 h，称重。重复以上操作，至前后两次质量差不超过 2 mg，即为恒重。

2. 半固体或液体试样

(1) 取洁净的称量瓶，内加 10 g 海砂及 1 根小玻璃棒，置于 101 ~ 105 °C 干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，加热 1.0 h，盖好瓶盖，取出，置于干燥器内冷却 0.5 h，称量。重复干燥至恒重。

(2) 试样干燥恒重：称取 5 ~ 10 g（精确至 0.0001 g）试样，置于称量瓶中，用小玻璃棒搅匀，放在沸水浴上蒸干，擦去瓶底的水滴，置于 101 ~ 105 °C 干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，加热 4 h，盖好瓶盖，取出，置干燥器内冷却 0.5 h，称量。然后再放入 101 ~ 105 °C 干燥箱中干燥 1 h 左右，取出，放入干燥器内冷却 0.5 h，称量。重复以上操作，至前后两次质量差不超过 2 mg，即为恒重。

3. 结果计算

(1) 试样中水分的含量按下式进行计算：

$$X = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} \times 100$$

式中 X ——试样水分的含量，g/100 g；

m_1 ——称量瓶（加海砂、玻璃棒）和试样的质量，g；

m_2 ——称量瓶（加海砂、玻璃棒）和试样干燥后的质量，g；

m_3 ——称量瓶（加海砂、玻璃棒）的质量，g。

（2）精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

五、注意事项

（1）实验过程中拿称量瓶时最好戴上手套，或者在称量瓶外壁加一层滤纸再拿起，这样可以避免手上的油脂或水分干扰。

（2）两次干燥后称量的质量差应不大于 ± 0.2 mg 时才能认为还到恒重，若大于这个范围，则需继续干燥，直至 2 次干燥后的称量质量差达到或小于这个范围为止。

（3）干燥法一般要求水是唯一的挥发成分，水分挥发要完全，并且其他成分由于受热而引起的化学变化可以忽略不计。

六、思考题

（1）样品在烘箱中干燥后，为什么要冷却以后再进行称量？

（2）影响样品水分含量测定准确性的因素有哪些？

实验二 粗淀粉含量的测定

淀粉含量的测定方法有物理法和化学法，物理法包括相对密度法、折光法和旋光法，化学法包括还原糖法、碘量法和比色法。还原糖法是采用酸解或酶解法使样品中的淀粉成为还原糖，再运用 3, 5-二硝基水杨酸比色法（DNS 法）或费林氏容量法测定还原糖含量，通过还原糖与淀粉含量的换算，间接测出试样中粗淀粉的含量。下面主要介绍酸水解法结合 DNS 法来测定样品中的粗淀粉含量。

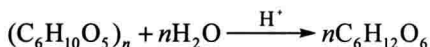
一、实验目的

- （1）加深对酸水解淀粉的方法及 DNS 测定还原糖的原理和方法的理解。
- （2）掌握酸水解淀粉的方法及 DNS 测定还原糖方法的操作要点，熟练掌握其基本操作技术。

二、实验原理

淀粉经酸水解生成具有还原性的单糖（葡萄糖），所生成的葡萄糖用 DNS 法测定。主要反应如下：

- （1）淀粉经酸水解生成具有还原性的单糖（葡萄糖）。



- （2）DNS 法反应

在碱性条件下，3, 5-二硝基水杨酸与还原糖发生氧化还原反应，生成 3-氨基-5-硝基水杨酸，该产物在煮沸条件下显棕红色，且在一定浓度范围内颜色深浅与还原糖含量成比例关系，用比色法（540 nm 波长下测定吸光度）测定还原糖的含量。

因 DNS 法的产物显色的深浅只与糖类游离出还原基团的数量有关，而对还原糖的种类没有选择性，故 DNS 方法适合用于多糖（如纤维素、半纤维素和淀粉等）水解产生的多种还原糖体系。

三、试剂和仪器

1. 试 剂

除特殊说明外，实验用水为蒸馏水，试剂为分析纯。

- (1) 盐酸 (1 : 1): 浓盐酸与水的体积比为 1 : 1, 量取 50 mL 浓盐酸与 50 mL 蒸馏水混合。
- (2) 20% 氢氧化钠溶液: 称取氢氧化钠 20 g, 用水溶解后定容至 100 mL。
- (3) DNS 试剂: 将 6.3 g DNS 和 262 mL 2 mol/L 氢氧化钠加到 500 mL 含有 182 g 酒石酸钾钠的热水溶液中, 再加上 5 g 重苯酚和 5 g 亚硫酸钠, 搅拌溶解, 冷却后加水定容到 1000 mL, 即制成 3, 5-二硝基水杨酸试剂, 储于棕色瓶中备用。
- (4) 葡萄糖标准溶液: 精密称取 1.000 g 经 80 °C 干燥至恒重的葡萄糖, 加水溶解后加入 5 mL 盐酸 (如果即配即用就不加), 并以水稀释至 1000 mL。此溶液葡萄糖含量为 1 mg/mL。
- (5) 85% (体积分数) 的乙醇溶液: 取无水乙醇 85 mL, 用水稀释, 定容至 100 mL。
- (6) 石油醚。

2. 仪 器

- (1) 电子分析天平;
- (2) 干燥器;
- (3) 可见分光光度计;
- (4) 水浴锅、电炉;
- (5) 电热恒温干燥箱;
- (6) 40 目筛子;
- (7) 250 mL 烧瓶、冷凝管、容量瓶、酸式滴定管、移液管;
- (8) pH 试纸;
- (9) 小型粉碎机。

四、实验步骤

1. 样品处理

(1) 粉碎、过筛: 将原料在电热恒温干燥箱中烘干 (50 ~ 70 °C), 用小型粉碎机粉碎, 过 40 目筛, 备用。

(2) 除脂肪和可溶性糖: 称取 2 ~ 5 g 样品, 置于放有滤纸的漏斗中, 用 50 mL 石油醚分 5 次洗去脂肪。用 150 mL 85% 的乙醇分数次洗涤残渣, 除去可溶性糖类物质。最后再以 100 mL 水洗涤残渣。

2. 酸水解

将上述水洗后的残渣置入 250 mL 烧瓶中, 加入 1 : 1 盐酸 30 mL, 瓶口装上冷凝管, 制成水解回流装置 (图 1-2-1)。烧瓶置于水浴锅中, 在沸水浴中回流水解 2 h 左右, 然后立即冷却。冷却后, 逐滴加入 20% 氢氧化钠溶液中和至 pH 6 ~ 7。然后将溶液及残渣转入 250 mL 容量瓶中, 瓶内所留残余物用蒸馏水冲洗 2 ~ 3 次, 一并转入容量瓶中, 定容至刻度。最后用滤纸过滤, 弃去初滤液 (前 20 mL), 收集剩余清液, 待测定。

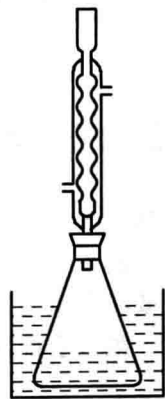


图 1-2-1 水解回流装置

3. 制作葡萄糖标准曲线

取 7 支 25 mL 比塞管，编号，按表 1-2-1 所示的量依次加入葡萄糖标准液（1 mg/mL）和 DNS 试剂，沸水浴加热 5 min，流水冷却至室温，用水补足到 25 mL 刻度，混匀，然后在 540 nm 波长下测定吸光度。以加入的葡萄糖质量（单位：mg）为横坐标轴，以吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线，并得到回归方程及相关系数（ $R^2 \geq 0.99$ ）。

表 1-2-1 葡萄糖标准溶液配制

试剂用量/mL	管 号						
	1	2	3	4	5	6	7
葡萄糖标准液	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2
蒸馏水	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1	0.8
DNS 试剂	2	2	2	2	2	2	2

4. 检 测

试液适当稀释，使糖浓度为 0.1 ~ 1.0 mg/mL，取稀释后的试液 1.0 mL 于 25 mL 比色管中，加蒸馏水 1 mL、DNS 试剂 2.0 mL，沸水煮沸 5 min，冷却后用水补足到 25 mL 刻度，在 540 nm 波长下测定吸光度，从标准曲线查出相应的还原糖质量，求出样品中糖含量。

5. 结果计算

（1）试样中淀粉的含量按下式进行计算：

$$Y = \frac{m \times 150 \times 0.9}{w \times 50 \times V / 100 \times 1000} \times 100$$

式中 Y——试样中淀粉的含量，g/100 g；
m——测定用试样中葡萄糖的质量，mg；
0.9——葡萄糖换算成淀粉的换算系数；
w——试样质量，g；
V——测定用试样处理液的体积，mL。

（2）精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

五、注意事项

本法（酸法）适用于含淀粉量较多、不含或少含其他能水解为还原糖的样品。由于酸水解时也会把半纤维素、多缩戊糖等水解为还原糖，从而使结果偏高，故测定结果称粗淀粉含量。若要测出较为精确的结果，可采用酶解法。麸皮等含较多的多缩戊糖，适用于酶法测淀粉含量，酸法会使其结果偏高。其他原料一般都可用酸解法。

六、思考题

- (1) 3, 5-二硝基水杨酸比色法是如何对样品中粗淀粉含量进行测定的?
- (2) 如何正确绘制和使用标准曲线?

实验三 还原糖含量的测定

还原糖是指含有自由醛基或酮基的糖类，单糖（葡萄糖）都是还原糖，双糖和多糖不一定是还原糖，其中乳糖和麦芽糖是还原糖，蔗糖和淀粉是非还原糖。还原糖含量的检测方法一般有高锰酸钾滴定法、3,5-二硝基水杨酸比色法（DNS法）和直接滴定法（费林氏容量法）。下面介绍费林氏容量法测定样品中的还原糖含量。

一、实验目的

- （1）加深费林氏容量法测定食品中还原糖含量原理的理解。
- （2）掌握费林氏容量法测定食品中还原糖含量的操作要点，熟练掌握其基本操作技术。

二、实验原理

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（碱性酒石酸铜溶液），费林氏液被还原析出氧化亚铜。以次甲基蓝为指示剂，在滴定终点时，稍过量的还原糖立即将蓝色的氧化型次甲基蓝还原为无色的还原型次甲基蓝。根据样品消耗体积，计算还原糖含量。本法参照国标 GB 5009.9—2008，检出限为 0.25 g/100 g。

三、试剂和仪器

1. 试剂

（1）费林甲液（碱性酒石酸铜甲液）：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 1000 mL。

（2）费林乙液（碱性酒石酸铜乙液）：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 1000 mL，储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 10.6 g 亚铁氰化钾，用水溶解并稀释至 100 mL。

（5）葡萄糖标准溶液：精密称取 1.000 g 经 80 °C 干燥至恒重的葡萄糖（纯度在 99% 以上），加水溶解后加入 5 mL 盐酸（如果即配即用就不加），并以水稀释至 1000 mL。此溶液葡萄糖含量为 1 mg/mL。

（6）40 g/L 氢氧化钠：取 4 g 氢氧化钠，用水溶解并定容至 100 mL。

(7) 浓盐酸: 常用的为 12 mol/L。

2. 仪 器

(1) 烧杯: 100 mL、烧杯: 250 mL;

(2) 容量瓶: 1000 mL、容量瓶: 250 mL;

(3) 酸式滴定管: 25 mL;

(4) 锥形瓶: 250 mL;

(5) 滤纸、玻璃珠、电炉、铁架台、石棉板、漏斗等。

四、实验步骤

(一) 样品处理与试液制备

1. 一般食品

称取粉碎后的固体试样 2.5 ~ 5 g, 或混匀后的液体试样 5 ~ 25 g, 置于 250 mL 容量瓶中, 加 50 mL 水, 摇匀后慢慢加入 5 mL 乙酸锌及 5 mL 亚铁氰化钾溶液, 加水至刻度, 混匀, 静置 0.5 h。用干燥滤纸过滤, 弃去初滤液 (刚开始过滤出的几毫升), 收集滤液作为试液, 待测。

2. 酒与酒精性饮料

取 100 g 试样, 置于蒸发皿中, 用氢氧化钠 (40 g/L) 溶液中和至中性, 在水浴上蒸发至原体积的 1/4, 移入 250 mL 容量瓶中。然后按上述一般食品的操作中“慢慢加入 5 mL 乙酸锌溶液”起依次操作。

3. 含大量淀粉的食品

称取 10 ~ 20 g 粉碎后或混匀后的试样, 置于 250 mL 容量瓶中, 加 200 mL 水, 在 45 °C 水浴中加热 1 h, 并经常摇振。冷却后, 加水至刻度, 混匀, 静置, 沉淀。吸取 200 mL 上清液置于另一 250 mL 容量瓶中, 然后按上述一般食品的操作中“慢慢加入 5 mL 乙酸锌溶液”起依次操作。

(二) 测 定

1. 标定碱性酒石酸铜溶液

吸取 5.0 mL 费林氏甲液 (碱性酒石酸铜甲液) 及 5.0 mL 乙液, 置于 250 mL 锥形瓶中, 加水 10 mL, 加入玻璃珠 3 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 V_1 。平行操作 3 份, 取其平均值。计算每 10 mL (甲、乙液各 5 mL) 碱性酒石酸铜溶液相当于葡萄糖的质量 (单位: mg)。

$$A = V_1 \times C$$

式中 C ——葡萄糖标准溶液的浓度, mg/mL;
 V_1 ——标定时消耗葡萄糖标准溶液的平均体积, mL;
 A ——10 mL 费林氏液 (碱性酒石酸铜溶液) 相当于葡萄糖的质量, mg。

2. 样品溶液预测

吸取 5.0 mL 费林氏甲液 (碱性酒石酸铜甲液) 及 5.0 mL 乙液, 置于 250 mL 锥形瓶中, 加水 10 mL, 加入玻璃珠 3 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, 直至溶液蓝色褪去, 出现亮黄色为终点。如果样品液颜色较深, 滴定终点则为蓝色褪去出现明亮颜色 (如亮红), 记录消耗样品溶液的总体积。

当样品溶液中还原糖浓度过高时, 应当适当稀释后再进行正式测定, 使滴定消耗样品溶液的体积控制在与标定碱性酒石酸铜溶液时所消耗的还原糖标准溶液的体积相近, 约 10 mL。

3. 样品溶液测定

吸取 5.0 mL 费林氏甲液 (碱性酒石酸铜甲液) 及 5.0 mL 乙液, 置于 250 mL 锥形瓶中, 加水 10 mL 水, 加入玻璃珠 3 粒, 在 2 min 内加热至沸, 快速从滴定管中滴加比预测体积小 1 mL 的样品溶液, 然后趁沸继续以每两秒 1 滴的速度滴定至终点, 记录消耗样品溶液的总体积。同法平行操作 2~3 份, 得出平均消耗体积。

4. 结果计算

(1) 试样中还原糖的含量 (以葡萄糖计) 按下式进行计算:

$$W = \frac{A \times 250}{m \times V_2 \times 1000} \times 100$$

式中 W ——试样中还原糖的含量 (以葡萄糖计), g/100 g;
 A ——10 mL 费林氏液溶液 (碱性酒石酸铜溶液) 相当于葡萄糖的质量, mg;
 m ——试样质量, g;
 V_2 ——测定时平均消耗试液的体积, mL;
250——试液总体积, mL。

(2) 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

五、注意事项

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。

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

还原糖的测定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，则应以该还原糖为标准品，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，则以某种还原糖为标准品，结果以该还原糖计，但不代表该糖的真实含量。

六、思考题

- (1) 费林氏容量法测定还原糖的原理是什么？
- (2) 费林氏容量法测定还原糖为什么要进行预测？