

普通高等教育“十三五”规划教材

# 工业发酵分析

第二版

吴国峰 李国全 马永强 主编  
贾树彪 主审

CONG YE FA JIAO FEN XI



化学工业出版社

普通高等教育“十三五”规划教材

# 工业发酵分析

第二版

吴国峰 李国全 马永强 主编  
贾树彪 主审



化学工业出版社

· 北京 ·

本书主要介绍了发酵工业所用原料如玉米、秸秆、糖蜜、水、酶制剂、淀粉糖浆等，以及发酵产品如燃料酒精、食用酒精、白酒、啤酒、有机酸、抗生素、维生素、氨基酸、调味品、发酵乳等中一些主要指标的分析方法，其中以权威的仲裁方法为主，也有便于实际生产实时监测的快捷方法。同时，为使学生了解发达国家相关产品的情况，还将柠檬酸、乳酸、维生素 C 等发酵产品的质量要求及其主要指标的分析方法与美国、英国、日本等国的分析方法进行了对比。本书还介绍了工业发酵分析上常用的色谱和光谱技术的原理、样品前处理技术、仪器使用注意事项和日常的维护保养等仪器使用者非常关心的问题。

本书可作为生物工程、生物技术、食品科学与工程等专业的教材，也可供从事相关领域研究的科研人员使用和参考。

## 图书在版编目 (CIP) 数据

工业发酵分析/吴国峰, 李国全, 马永强主编. —2 版. —北京: 化学工业出版社, 2014. 12  
ISBN 978-7-122-21834-6

I. ①工… II. ①吴…②李…③马… III. ①工业发酵-分析-教材 IV. ①TQ920.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 214585 号

---

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 魏 巍

责任校对: 李 爽

装帧设计: 关 飞

---

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市宇新装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张 19 字数 480 千字 2015 年 7 月北京第 2 版第 1 次印刷

---

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

---

定 价: 38.00 元

版权所有 违者必究

# 前 言

《工业发酵分析》自 2006 年出版以来，被多所高校选为教材，还有一些生产企业将其作为重要的参考书。此书在多年的使用过程中也收到同行的建议。本次再版对编者进行了调整，对内容进行了修订和大幅度地更新，以及适度的增删。从结构上看，前面 34 章主要针对工业发酵所用原料（玉米、秸秆、糖蜜、水、酶制剂、淀粉糖浆等）和发酵产品（燃料酒精、食用酒精、白酒、啤酒、有机酸、抗生素、维生素、氨基酸、调味品、发酵乳等）中一些主要指标进行分析，介绍的方法以权威的仲裁方法为主，也有便于实际生产实时监测的快捷方法；后面几章为仪器分析内容，侧重工业发酵分析上常用的色谱和光谱技术的原理、样品前处理、仪器使用注意事项和日常的维护保养等仪器使用者非常关心的问题。

本书编写过程中，在融入了作者多年科研及教学中总结出来的经验和技巧的同时也注意为学生留出思考空间，这一点在每一章的讨论中均有体现。再有对检测指标与原料的关系、与发酵工艺和产品质量的关系等均有透彻的阐述，让学生清楚这个指标对于产品的质量意味着什么，生产上如何控制它以及如何辩证地解析检测的结果，从而知道怎样根据结果反过来指导生产工艺；书中还介绍了一些检测指标，美国、英国、日本等国所采用的分析方法及相关产品的质量要求。因此，学生在学习本书时，不仅可以学到工业发酵分析的理论，还可以运用其解决一些实际问题，了解国内外技术发展并掌握重要的实用技能，相信这是许多学生需要的。本书补充了大量的参考文献。如果仅仅作为一本教材，这可能并不必要，但是，对于想要深入了解某一章节或者进一步理解某些问题的读者而言，这无疑是一个好的途径。因此，本书还适用于对于分析领域有经验的工程技术人员或研究者。

本书由吴国峰，李国全，马永强担任主编，黑龙江省粮油卫生检验监测站张金龙承担第 27 章、第 31 章、第 40 章、第 41 章的修订工作，曾伟民在第一版基础上增加了第 37 章的修订任务，康宏修订第 38 章、第 39 章和附录二的内容。

《工业发酵分析》(第二版)被列为黑龙江大学“十二五”规划教材，是学校立项资助出版项目。在编写过程中得到了生命科学学院领导的积极支持和贾树彪、李盛贤、孟利老师的鼎力相助，以及旺信诚、张秀艳提供的第一手数据资料，化学工业出版社一如既往地给予支持和修改建议，在此，一并表示由衷的感谢。

本书再版虽花费不少时间和精力，但是还会有不足之处，欢迎读者批评指正。

编者  
于黑龙江大学  
2014 年 4 月

# 第一版前言

工业发酵分析是生物工程、生物制药、食品科学与工程等专业的学生在完成物理学、无机化学、有机化学、分析化学和生物化学、微生物学课程后学习的早期专业课程。

工业发酵生产的产品主要有燃料酒精、食用酒精、谷氨酸钠、柠檬酸、抗生素、维生素C、蒸馏酒、酿造酒、活性干酵母、酶制剂和发酵调味品等。在大规模的工业化生产中，对原料、发酵过程和成品进行分析检测已成为保证产品质量最为重要的关键环节，而且工业发酵分析已从传统的原料、中间产品和成品分析发展到对生产过程的全程监控分析，这对促进生产工艺进步和实现自控生产的意义是极大的。

近20多年，我国在生物工程技术产业上出现了世界上规模最大的谷氨酸钠（味精）产业、柠檬酸产业和亚洲最大、位居世界第二位的酒精产业。抗生素类产业已成为世界主体，较大数量出口国外。2002年开始我国的啤酒产量跃居世界第一位，现代大型淀粉糖产业、活性干酵母产业相继诞生。这种生物工程技术产业的快速发展和工艺技术的进步，使得工业化发酵产品呈现出多样化，与此同时用于控制生产原料、工艺、半成品和成品的分析检测对象也日渐增多。我们深知，生产设备、生产工艺及分析检测手段是制约、促进和发展发酵工业的主要因素。随着生产设备的更新、生产规模的扩大、生产工艺的不断进步以及分析仪器的推陈出新，检测方法也在不断地发生变化，尤其是伴随着生产设备和工艺水平的提高，与之相应的检测指标要求也越来越高。

工业发酵分析是在学生掌握一定的基础理论知识后培养其独立分析问题、解决问题的能力，使其深入了解并掌握现代研究的手段与方法，从而进一步对发酵设备、工艺、检测能有所创新的基础。未来社会对大学生的要求应该是不但具有发现问题的能力，更要有解决问题的能力，工业发酵分析恰恰体现出二者的有机结合。

基于此，我们组织黑龙江大学、齐齐哈尔大学、哈尔滨商业大学和东北农业大学4所院校的相关教师并参考国内外资料编写了这本《工业发酵分析》。在这本书中将原工业发酵分析方法与大部分仪器分析内容——气相色谱、高效液相色谱、原子吸收分光光度法、氨基酸自动分析仪、气相色谱-质谱联用仪和荧光分光光度法归并在一起，突出各部分的内在联系，使内容更好地整合，节省学时，比较适合现代教学改革的要求。这是本书有别于其他工业发酵分析之处，也是对邓楠同志2006年提出的教材改革意见的体现，因为中国教材正面临着与世界接轨。

本书参编人员除从事工业发酵分析教学和实验的相关教师外，还有专门从事该专业研究的研究所专业人员。同时还得到了发酵酒精企业和制药企业从事生产和分析的工程技术人员的大力支持。

本书编写人员有吴国峰（第1章、第2章、第13章~第19章、第21章、第30章、第34章、第35章）；李国全（第4章、第20章、第29章、第36章、附录一）；马永强（第8章~第10章、第26章、第28章、第38章）；康德福（第3章、第40章、第41章）；曾伟民（第5章~第7章、第22章~第25章、第32章、第33章、第42章）；江成英（第37章）；慕兴华（第11章、第12章、第39章、附录二）；邵淑丽（第27章、第31章）。吴国

峰和贾树彪负责全书内容的策划、组稿；李盛贤审阅各章初稿，为保证本书的质量起了一定的作用；吴国峰完成全书的整体编排、文字定稿及书稿校阅；贾树彪对全书进行了审定。

本书编写得到各协作单位的积极配合，化学工业出版社对本书的出版给予支持并提出宝贵的修改意见和建议；黑龙江大学生命科学学院院长平文祥教授、副院长李海英教授，齐齐哈尔大学生命科学与工程学院副院长邵淑丽教授，哈尔滨商业大学食品科学与工程学院院长石彦国教授，东北农业大学工程学院院长李文哲教授给予了大力支持；雷虹、张军、聂纤、付世江、丁明文、靳玉双、姜开荣、张妍妍、谢晓丹等同志为本书的编写提供了很多帮助，在此一并表示诚挚的谢意。

本书编写中虽经多次修改，但由于编者水平有限，还会存在不足和错误，恳请读者批评指正。

编者

于黑龙江大学

2006年5月

# 目 录

<b>1 水分的测定</b> .....	1	8.1 原理 .....	43
1.1 谷物原料水分的测定 .....	1	8.2 仪器和试剂 .....	43
1.2 啤酒花中水分的测定 .....	2	8.3 测定方法 .....	44
1.3 奶酪中水分的测定 .....	3	8.4 计算 .....	44
1.4 燃料用无水乙醇中微量水分的测定 .....	4	8.5 讨论 .....	44
<b>2 糖类的测定</b> .....	8	<b>9 糖化酶活力的测定</b> .....	46
2.1 淀粉质原料中粗淀粉的测定 .....	8	9.1 原理 .....	46
2.2 糖化醪中还原糖、总糖的测定 .....	12	9.2 仪器和试剂 .....	46
2.3 发酵成熟醪中残还原糖、残总糖的测定 .....	13	9.3 实验方法 .....	48
<b>3 发酵原料中粗蛋白质的测定</b> .....	16	9.4 计算 .....	48
3.1 最新的 AOAC 凯氏定氮测定公认标准方法 (2001 年) .....	16	9.5 讨论 .....	49
3.2 半自动凯氏定氮仪测定法 .....	22	<b>10 蛋白酶活力的测定</b> .....	51
3.3 全自动凯氏定氮测定法 .....	24	10.1 原理 .....	51
<b>4 脂肪的测定</b> .....	26	10.2 仪器和试剂 .....	51
4.1 玉米胚中脂肪的测定 .....	26	10.3 测定方法 .....	52
4.2 发酵乳中脂肪的测定 .....	28	10.4 计算 .....	53
<b>5 玉米秸秆中粗纤维素的测定</b> .....	31	10.5 讨论 .....	54
5.1 原理 .....	31	<b>11 糖蜜含糖的测定 (糖锤度计法)</b> .....	55
5.2 仪器和试剂 .....	31	11.1 原理 .....	55
5.3 测定方法 .....	32	11.2 仪器 .....	55
5.4 计算 .....	33	11.3 测定方法 .....	55
5.5 讨论 .....	33	11.4 计算 .....	56
<b>6 糖蜜灰分的测定</b> .....	35	11.5 讨论 .....	56
6.1 原理 .....	35	<b>12 淀粉糖浆 DE 值的测定</b> .....	57
6.2 仪器和试剂 .....	35	12.1 原理 .....	57
6.3 测定方法 .....	36	12.2 仪器和试剂 .....	57
6.4 计算 .....	36	12.3 测定方法 .....	58
6.5 讨论 .....	36	12.4 计算 .....	58
<b>7 酿造用水硬度的测定</b> .....	39	12.5 讨论 .....	58
7.1 原理 .....	40	<b>13 酒母醪的质量分析控制</b> .....	60
7.2 仪器和试剂 .....	40	13.1 糖度和外观耗糖率的测定 .....	60
7.3 测定方法 .....	41	13.2 酒母醪酸度的测定 .....	61
7.4 计算 .....	41	13.3 残还原糖的测定 .....	61
7.5 讨论 .....	42	13.4 酒精浓度的测定 .....	61
<b>8 耐高温 <math>\alpha</math>-淀粉酶活力的测定</b> .....	43	<b>14 乙醇浓度 (酒精度) 的测定</b> .....	62
		14.1 原理 .....	62
		14.2 仪器和试剂 .....	62
		14.3 测定方法 .....	63

14.4	计算	64	23	啤酒中双乙酰的测定	92
14.5	讨论	64	23.1	原理	92
15	成品酒精中高级醇的测定	66	23.2	仪器和试剂	92
15.1	原理	66	23.3	测定方法	93
15.2	仪器和试剂	66	23.4	计算	93
15.3	操作条件	67	23.5	讨论	94
15.4	测定方法	67	24	啤酒中甲醛残留量的测定	95
15.5	计算	67	24.1	原理	95
15.6	讨论	68	24.2	仪器和试剂	95
16	酒精硫酸试验色度的测定	69	24.3	测定方法	97
16.1	原理	69	24.4	计算	97
16.2	仪器和试剂	69	24.5	讨论	97
16.3	测定方法	70	25	柠檬酸含量的测定	99
16.4	讨论	70	25.1	成品柠檬酸含量测定	99
17	酒精氧化时间的测定	72	25.2	发酵醪液中柠檬酸含量的测定	102
17.1	原理	72	26	乳酸含量的测定	104
17.2	仪器和试剂	72	26.1	L-乳酸占总酸含量的测定	104
17.3	测定方法	74	26.2	乳酸含量(纯度)的测定	105
17.4	讨论	74	27	维生素C含量的测定	108
18	蒸馏酒中总酯的测定	75	27.1	高效液相色谱法测定多种维生素 含量	109
18.1	原理	75	27.2	碘量法测定维生素C的含量	110
18.2	仪器和试剂	75	27.3	2,6-二氯酚酚滴定法测定维生素C 含量	112
18.3	测定方法	76	28	抗生素效价的测定	115
18.4	计算	77	28.1	微生物检定法	115
18.5	讨论	77	28.2	高效液相色谱法测定青霉素G钠含量	117
19	蒸馏酒中总醛的测定	78	29	青霉素发酵液中苯乙酸残留量的 测定	120
19.1	气相色谱法	78	29.1	原理	120
19.2	化学分析法	79	29.2	仪器和试剂	120
20	蒸馏酒中铅的测定	81	29.3	色谱条件	120
20.1	石墨炉原子吸收光谱法	81	29.4	测定	121
20.2	氢化物原子荧光光谱法	82	29.5	计算	121
21	白酒中糖精钠的测定	85	29.6	讨论	121
21.1	原理	85	30	酱油中氨基酸态氮的测定	122
21.2	仪器与试剂	85	30.1	原理	122
21.3	测定方法	86	30.2	仪器和试剂	122
21.4	计算	86	30.3	测定方法	122
21.5	讨论	87	30.4	计算	123
22	啤酒原麦汁浓度的测定	88	30.5	讨论	123
22.1	原理	88	31	味精成品纯度的测定	125
22.2	仪器和试剂	89	31.1	旋光法	125
22.3	实验方法	89			
22.4	计算	89			
22.5	讨论	90			



31.2	高氯酸非水溶液滴定法	128	38.7	反相分配色谱氨基酸分析仪	221
<b>32</b>	<b>发酵乳中山梨酸、苯甲酸的测定</b>	131	<b>39</b>	<b>荧光分光光度分析</b>	223
32.1	原理	131	39.1	分子荧光概述	223
32.2	仪器和试剂	131	39.2	荧光分光光度计的结构及各部件功能	223
32.3	测定方法	132	39.3	荧光分光光度计的使用	226
32.4	计算	133	39.4	荧光分光光度分析的影响因素	229
32.5	讨论	133	39.5	注意事项	229
<b>33</b>	<b>酸牛乳中三聚氰胺的检测</b>	134	<b>40</b>	<b>原子吸收分光光度法</b>	230
33.1	高效液相色谱法	134	40.1	原子吸收分光光度计的基本结构	230
33.2	液相色谱-质谱/质谱法 (LC-MS/MS)	136	40.2	原子吸收分光光度计的工作原理	240
<b>34</b>	<b>乳酸酸菜质量检测</b>	139	40.3	原子吸收分析的实验技术	241
34.1	乳酸酸菜中亚硝酸盐含量的测定	139	40.4	原子吸收分析中的干扰效应及抑制方法	245
34.2	乳酸酸菜中 L-乳酸含量的测定	143	40.5	原子吸收的定量分析方法	249
34.3	乳酸酸菜中挥发酸的测定	144	40.6	原子吸收分光光度计使用注意事项	250
<b>35</b>	<b>气相色谱</b>	145	40.7	国内外原子吸收分光光度计发展简介	253
35.1	气相色谱的基本理论	145	<b>41</b>	<b>样品的采集与处理</b>	255
35.2	气相色谱仪	152	41.1	样品的代表性	255
35.3	气相色谱的应用	162	41.2	样品处理的原则及方法	255
<b>36</b>	<b>气相色谱-质谱联用仪</b>	171	<b>42</b>	<b>实验数据处理与分析结果的可靠性评价</b>	260
36.1	GC-MS 联用仪的定义及分类	171	42.1	分析结果的可靠性评价	260
36.2	GC-MS 联用仪的结构及其工作原理	171	42.2	实验数据处理	263
36.3	GC-MS 联用仪对 GC 和 MS 的要求	175	42.3	有限量实验数据的统计检验	265
36.4	GC-MS 法的优点	177	42.4	相关与回归	269
36.5	GC-MS 联用仪操作要点	177	<b>附录</b>		272
36.6	GC-MS 联用仪的应用	178	<b>附录一</b>		272
<b>37</b>	<b>高效液相色谱</b>	179	附表 1	费林试剂糖量表 (廉-爱农法)	272
37.1	高效液相色谱的基本理论	180	附表 2	吸光度与测试 $\alpha$ -淀粉酶浓度对照表 (GB 8275—2009)	272
37.2	高效液相色谱仪的主要结构与性能	182	附表 3	糖锤度测定与温度校正	275
37.3	高效液相色谱固定相	193	附表 4	酒精计示值换算成 20℃ 时的乙醇浓度 (酒精度)	277
37.4	高效液相色谱的流动相	194	附表 5	20℃ 时酒精水溶液的相对密度与酒精浓度 (乙醇含量) 对照表	278
37.5	高效液相色谱在发酵工业中的应用	201	附表 6	相对密度和可溶性浸出物对照表	282
<b>38</b>	<b>氨基酸自动分析仪</b>	203	附表 7	压力换算表	285
38.1	基本原理	204	<b>附录二</b>	<b>工业发酵分析中关键词中西文对照</b>	285
38.2	氨基酸分析仪的结构性能	209	<b>参考文献</b>		293
38.3	试样前处理方法	213			
38.4	HitachiL-8800 型全自动氨基酸分析仪操作程序	215			
38.5	使用氨基酸分析仪注意事项	217			
38.6	用 L-8800 型全自动氨基酸分析仪测定啤酒中的游离氨基酸	219			

# 1 水分的测定

水分在工业发酵中是一个极为重要的分析项目。原料中的水分对原料的品质与保存影响甚大。水分过高，原料贮藏时容易发霉变质，使其利用率下降；对于发酵产品，如味精、活性干酵母、奶酪等，水分是其重要的质量指标之一。

## 1.1 谷物原料水分的测定

工业发酵用谷物原料主要有玉米、小麦、大米、大麦、高粱和豆粕等，其水分测定采用常压干燥法。

### 1.1.1 原理

发酵原料（或食品）中的水分是指在常压下、 $100\sim 105^{\circ}\text{C}$ 加热后，或在减压条件下、 $55\sim 70^{\circ}\text{C}$ 加热后所失去的物质的质量。但实际上在此温度下所失去的是水和挥发性物质的总量，而不完全是水。同时应指出，在该条件下除去样品中的结合水是困难的。因此对水分更精确的描述，宜用水分活度值。

### 1.1.2 仪器

电热恒温鼓风干燥箱，电子天平（ $0.1\text{mg}$ ），干燥器，称量瓶（扁形）。

### 1.1.3 测定方法

将试样粉碎后，过40目筛。

取洁净的扁形称量瓶，置于 $(100\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 电热恒温鼓风干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，干燥2h，盖好取出，立即放入干燥器内冷却30min，称重。再放入 $(100\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 干燥箱中干燥1h，取出，放入干燥器内冷却30min后称重。重复干燥至恒重（前后两次质量差不超过 $0.5\text{mg}$ ）。

准确称取 $2\sim 5\text{g}$ 样品于上述已恒重的称量瓶中（样品厚度不宜超过 $5\text{mm}$ ），置 $(100\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，干燥3h，盖好取出，立即放入干燥器内冷却30min后称重。再放入 $(100\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 干燥箱中干燥2h，取出后立即置于干燥器内冷却30min，称重。重复干燥至恒重。

### 1.1.4 计算

$$\text{水分} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100\% \quad (1-1)$$

式中  $m_0$ ——称量瓶的质量，g；

$m_1$ ——称量瓶和样品干燥前的质量，g；

$m_2$ ——称量瓶和样品干燥后的质量，g。

### 1.1.5 讨论

(1) 本法操作简单, 结果准确, 但比较费时, 且不适合胶体、高脂肪、高糖样品及含有较多的高温易氧化、易挥发物质的样品。

(2) 本法测得的水分实际上还应包括微量的芳香油、醇、有机酸等挥发性物质。

(3) 本法操作时, 须戴干净的白细线手套接触称量瓶, 否则手上的汗渍、油渍等将导致称量瓶难以恒重。

(4) 当原料中的水分大于 16% 时, 在原料粉碎过程中水分会较大损失, 因此需在低温下 (约 60℃) 预先将水分干燥至 12%~14%, 此时测得的水分称前水分。然后将原料粉碎, 准确测定其水分, 此时测得的水分称为后水分。原料总水分:

$$\text{总水分} = [1 - (1 - \text{后水分}\%) \times (1 - \text{前水分}\%)] \times 100\%$$

(5) 发酵工业生产中常用的活性干酵母含水量为 5%~8%, 属含水量较低的产品, 其水分测定采用该方法时需要注意样品开封后应及时测定, 以免吸湿; 干燥温度不宜高于 103℃; 初次干燥时间 5h 为宜 (见 QB 2074—1995)。

(6) 本方法最低检出量为 0.002g, 取样量为 2g 时, 方法检出限为 0.10g/100g, 方法相对误差 ≤ 5%。

## 1.2 啤酒花中水分的测定

啤酒花中含有易挥发的芳香油, 如用常压干燥法测定水分, 不可避免地将这部分挥发性物质连同水分失去, 造成分析上的误差。此外, 啤酒花中的  $\alpha$ -酸等在干燥过程中, 会部分发生氧化等化学反应, 这也是造成误差的因素之一。所以测定啤酒花中的水分宜采用减压 (真空) 干燥法。

### 1.2.1 原理

在减压条件下, 水的沸点降低, 可用比较低的温度进行干燥以排除水分, 样品质量减少的量即为样品中的水分含量。本法适用于在 100℃ 以上加热容易变质及含有不易除去结合水的样品, 测定结果比较接近样品所含的真实水分。

### 1.2.2 仪器

真空干燥箱, 电子天平 (0.1mg), 干燥器, 称量瓶。

### 1.2.3 测定方法

啤酒花经粉碎过 40 目筛后, 准确称取该啤酒花试样 3~5g, 置入已干燥恒重的称量瓶中, 放入真空干燥箱内。启动真空泵, 抽出干燥箱内空气至所需压力 (一般为 40~53kPa), 同时打开电源, 加热至所需温度 (55±5)℃, 关闭真空泵的开关, 停止抽真空, 使干燥箱内保持该温度及压力 3h。打开真空泵开关, 使空气经干燥装置缓缓通入干燥箱内, 待干燥箱内恢复常压后再打开箱门。取出称量瓶, 立即放入干燥器中冷却 30min, 然后称重。再于相同条件下干燥 2h, 同上操作, 直至恒重。

### 1.2.4 计算

同 1.1.4 节。

### 1.2.5 讨论

(1) 本法适用于胶状样品、高温易分解的样品及含水量较多的样品，如淀粉制品、豆制品、味精、玉米糖浆等。由于采用较低的蒸发温度，可防止含脂肪高的样品中的脂肪在高温下氧化；含糖高的样品在高温下脱水炭化；也可防止含高温易分解成分的样品在高温下分解。

(2) 本法一般选择压力为 40~53kPa，温度为 50~60℃。但实际应用时可根据样品性质及干燥箱耐压能力不同而调整压力和温度，如美国官方分析化学家协会（Association of Official Analytical Chemists, AOAC）的方法中咖啡：3.3kPa 和 98~100℃；奶粉：13.3kPa 和 100℃；干果：13.3kPa 和 70℃；坚果和坚果制品：13.3kPa 和 95~100℃；糖及蜂蜜：6.7kPa 和 60℃等。

## 1.3 奶酪中水分的测定

奶酪含水量较高又易发生油脂氧化，宜用蒸馏法。即采用水和与其不相溶的有机溶剂组成的二元或三元共沸体系进行蒸馏，其沸点低于体系中各组分的沸点，从而保持样品中易挥发、易氧化成分不受损失。

### 1.3.1 原理

在水分测定蒸馏器中加入比水轻且与水互不相溶的有机溶剂和样品，加热时使水分与有机溶剂共同蒸出，水冷凝回流落入接收管的下部，有机溶剂浮在水面。当流入接收管的有机溶剂液面高于接收管的支管时，就流回至烧瓶中。待水分体积不再增加，读取其体积即得到样品的水分含量。

常用的有机溶剂有甲苯（沸点 111℃，与 4℃水的相对密度 0.8669）、二甲苯（沸点 140℃，与 4℃水的相对密度为 0.8685）和正戊醇（沸点 137.8℃，与 4℃水的相对密度为 0.812~0.819）。

### 1.3.2 仪器和试剂

(1) 仪器 水分测定蒸馏器（图 1-1），电子天平（0.1mg）。

(2) 试剂

二甲苯+正戊醇（1+1）：取二甲苯、正戊醇各 50mL，先以水饱和后，分去水层，进行蒸馏，收集馏出液备用。

### 1.3.3 测定方法

将楔形块状奶酪切成条，用食品切碎机切 3 次；或将楔形奶酪放在食品切碎机中捣碎，也可切成细条再混匀。

准确称取适量样品（含水 2~5mL），放入水分测定蒸馏器的烧瓶中，加 75mL 新蒸馏的二甲苯+正戊醇（1+1），连接水分测定蒸馏器装置。从冷凝管顶端注入二甲苯+正戊醇（1+1），装满水分接收管。加热，缓慢蒸馏（每秒约 2 滴馏出液），待大部分水分蒸出后，加快蒸馏速度至 4 滴/s，待水分全部蒸出后，接收管内的水层体积不再增加时，从冷凝管顶端加入二甲苯+正戊醇（1+1）

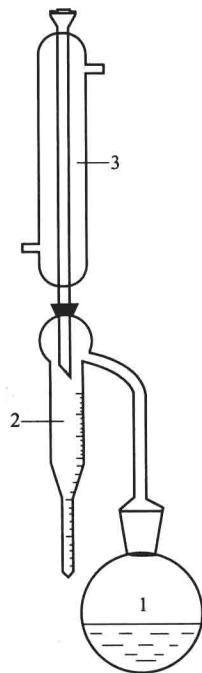


图 1-1 水分测定蒸馏器  
1—250mL 蒸馏烧瓶；  
2—水分刻度接收管；  
3—冷凝管

冲洗。如冷凝管壁附有水滴,再蒸馏片刻,直至接收管上部及冷凝管壁无水滴附着为止。准确读取接收管内水层的体积。

### 1.3.4 计算

$$\text{水分} = \frac{V \times 0.9982}{m} \times 100\% \quad (1-2)$$

式中  $V$ ——水分测定蒸馏器接收管中水的体积, mL;

$m$ ——样品的质量, g;

0.9982——20℃时水的密度, g/cm<sup>3</sup>。

### 1.3.5 讨论

(1) 由于一些样品中含有大量的挥发性物质,如醚类、芳香油、挥发酸、氨和 CO<sub>2</sub> 等,用干燥法测定误差较大,使用蒸馏法较为准确。

(2) 本法与干燥法有较大的差别,干燥法是以干燥后样品减少的质量为依据,而蒸馏法是以蒸馏收集到的样品中的水量为准,避免了挥发性物质减少及脂肪氧化对水分测定的影响。因此蒸馏法适用于含水较多又有较多挥发性成分的发酵食品及香辛料等食品,且是香料唯一公认的水分检验分析方法。

(3) 一般加热时要用石棉网,如样品含糖量高,用油浴加热较好。

(4) 样品如为粉状或半流体,须先将瓶底铺满干净海沙,再加入样品及共沸溶剂。

(5) 所用共沸溶剂必须无水,可取甲苯或二甲苯,先以水饱和后,分去水层,进行蒸馏,收集馏出液备用;也可将甲苯或二甲苯经过氯化钙或无水硫酸钠干燥,过滤蒸馏,弃去最初馏出液,收集澄清透明溶液得无水甲苯、二甲苯。

(6) 所用仪器必须刷洗干净,否则接收管和冷凝管壁将附着水珠。

(7) 加热温度不宜太高,温度太高使冷凝管上端的水蒸气难以全部回收;蒸馏时间因样品而异,一般需 2~3h。

(8) 有机溶剂用后,可用蒸馏法回收,以备再用。

(9) 水与甲苯形成共沸物,84.1℃沸腾;水与二甲苯形成共沸物,92℃沸腾;水与苯形成共沸物,69.4℃沸腾。

(10) 对不同的样品,可以选择不同的蒸馏共沸溶剂。甲苯多用于测定大多数香辛料;己烷用于测定含糖高的香辛料;对于高温易分解的样品用苯做共沸溶剂。

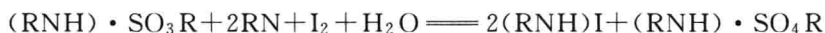
## 1.4 燃料用无水乙醇中微量水分的测定

燃料用无水乙醇中含水不超过 0.8% (体积分数) 为合格,所以燃料用无水乙醇的含水量宜采用适于微量水分测定的卡尔费休 (Karl Fischer, KF) 法来测定。

### 1.4.1 原理

利用无吡啶 Karl Fischer 试剂标定已知含量的水,求得 1mL Karl Fischer 试剂相当于水的毫克数 (水当量),再用无吡啶 Karl Fischer 试剂滴定试样,根据消耗 Karl Fischer 试剂的体积,即可计算出试样中的水分含量。选用自动 Karl Fischer 测定仪,以电极之间电压的突然减少 (或电流的突然增加) 确定终点。基本原理如下。





式中 RN——有机碱，通常是多种有机碱的混合物；

ROH——常指甲醇。

### 1.4.2 仪器和试剂

(1) 仪器 自动 Karl Fischer 滴定仪 (图 1-2)，电子天平 (0.1mg)，微量注射器 (25 $\mu$ L)。

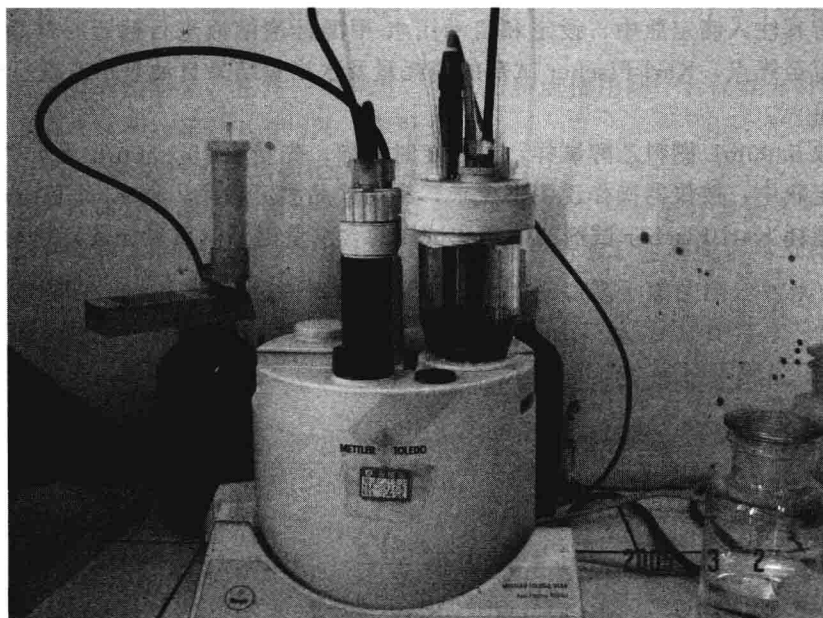


图 1-2 自动 Karl Fischer 滴定仪

#### (2) 试剂

- ① Karl Fischer 试剂 每毫升试剂约相当于 5mg 水 (须用稳定性好、可靠的成品)。
- ② 无水甲醇 水分含量小于 0.05% (质量分数)。
- ③ 水标准溶液 普通蒸馏水经石英亚沸蒸馏器再次蒸馏的重蒸水或三次蒸馏水。
- ④ 水-甲醇标准溶液 (1mL 溶液含 10mg 水) 准确吸取 1.00mL 水标准溶液于预先充分干燥、盛有约 50mL 无水甲醇的 100mL 容量瓶中，用无水甲醇定容，混匀备用。

### 1.4.3 测定方法

#### (1) 微量水分测定仪工作原理

测定样品中微量水分或测定深色样品时常用“永停法”来确定终点。其原理是浸入溶液中的电极同加 10~25mV 电压，当溶液全部为碘化合物而无游离碘时，电极间极化无电流通过；当溶液中有游离碘时，体系呈去极化，溶液导电，有电流通过，微安表指针偏转至一定刻度并保持不变，即为终点。上海化工研究院研制的 KF-1 型微量水分测定仪具有“永停法”装置。梅特勒托利多 (METTLER TOLEDO) 生产的微量水分测定仪也是该原理。

(2) 标定 Karl Fischer 试剂 可使用水标准溶液或水-甲醇标准溶液进行标定。

吸取 25~50mL 无水甲醇加入到无水洁净的滴定瓶中，按照滴定仪操作说明书进行溶剂的预滴定，直至滴定终点。

按质量法称取水标准溶液或按体积法吸取水-甲醇标准溶液。

① 按质量法称取水标准溶液 用微量注射器吸取约  $20\mu\text{L}$  水标准溶液, 用滤纸揩去针头外部附着的微量水滴, 将注射器放入与仪器配套的电子天平中称量, 然后迅速打开进样口的塞子, 将其注入滴定瓶中 (注: 最后一滴水应吸回针管中, 不要残留在针头外), 将微量注射器重新放回电子天平中称量, 用减量法算得实际加入水标准溶液的质量 (精确至  $0.1\text{mg}$ ), 输入到仪器中, 设定和启动用水标定时参数和程序进行自动滴定直至终点。Karl Fischer 试剂的消耗量及水当量结果自动显示或被打印出来。

② 按体积法吸取水-甲醇标准溶液 准确吸取  $2.00\text{mL}$  水-甲醇标准溶液, 迅速打开进样口的塞子, 将其注入滴定瓶中, 设定和启动用水-甲醇标准溶液进行标定时的参数和程序进行自动滴定直至终点。Karl Fischer 试剂的消耗量及水当量结果自动显示或被打印出来。

### (3) 测定

准确吸取  $5.00\text{mL}$  燃料乙醇试样, 同标定时一样, 先量取  $25\sim 50\text{mL}$  无水甲醇加入到无水洁净的滴定瓶中, 按仪器操作说明书要求, 启动样品测定程序, 用 Karl Fischer 试剂滴定直至终点, 消耗 Karl Fischer 试剂的体积和试样的含水量以 % (质量分数) 自动显示并打印出来。

## 1.4.4 计算

### ① Karl Fischer 试剂的水当量 (T)

$$T = \frac{m_1}{V_1} \quad (1-3)$$

或

$$T = \frac{c \times V_2}{V_1} \quad (1-4)$$

式中  $T$ ——Karl Fischer 试剂的水当量,  $\text{mg H}_2\text{O}/\text{mL}$ ;

$m_1$ ——注入滴定瓶中水的质量,  $\text{mg}$ ;

$V_1$ ——标定时消耗 Karl Fischer 试剂的体积,  $\text{mL}$ ;

$c$ ——每毫升水-甲醇标准液中所含水的质量,  $\text{mg}/\text{mL}$ ;

$V_2$ ——注入滴定瓶中水-甲醇标准液的体积,  $\text{mL}$ 。

### ② 试样中的水分

$$\text{水分(质量分数, \%)} = \frac{V_1 - V_0 \times T \times 10^{-3} \times 100}{V \times \rho} = \frac{(V_1 - V_0) \times T \times 10^{-3} \times 100}{m} \quad (1-5)$$

式中  $V_0$ ——滴定试剂空白时消耗 Karl Fischer 试剂的体积,  $\text{mL}$ ;

$V_1$ ——滴定试样时消耗 Karl Fischer 试剂的体积,  $\text{mL}$ ;

$T$ ——Karl Fischer 试剂的水当量,  $\text{mg H}_2\text{O}/\text{mL}$ ;

$V$ ——取样量,  $\text{mL}$ ;

$\rho$ ——试样密度,  $\text{g}/\text{cm}^3$ ;

$m$ ——试样质量,  $\text{g}$ 。

换算成体积分数时, 可按下列式计算。

$$\text{水分(体积分数, \%)} = \frac{\text{水分(质量分数, \%)} \times \rho}{\rho_1} \quad (1-6)$$

式中  $\rho$ ——试样密度,  $\text{g}/\text{cm}^3$ ;

$\rho_1$ ——20℃时水的密度，g/cm<sup>3</sup>。

取两次重复测定结果的算术平均值作为试样中水分含量，精确至 0.01%（体积分数）。

#### 1.4.5 讨论

(1) 采用全自动 Karl Fischer 滴定仪和商品试剂，可以迅速而准确地测定水分，Karl Fischer 法是化工产品水分测定的主要方法之一，常被作为水分特别是痕量水分的标准测定方法。

(2) Karl Fischer 法属于非水滴定法，所用容器均需按程序严格净化、干燥。

(3) 本方法源于 GB 18350—2001（采用无吡啶 Karl Fischer 试剂和自动滴定仪），作者有改动。

(4) 该方法重现性要求：在同一实验室，同一分析者使用同一台仪器分析同一样品，重复测定所得结果之差不应超过 0.008%（体积分数）。

(5) Karl Fischer 试剂需每日标定。

(6) 测定时取样量可根据样品水分含量高低进行增减，一般水分含量在 0.2%（质量分数）左右时，可取样 5.00mL；水分含量在 0.5%（质量分数）左右时，可取样 2.00mL。

(7) 试验表明：Karl Fischer 法测定样品的水分等于烘箱干燥法测定的水分加上干燥法烘过的样品经 Karl Fischer 法测定的残留水分，说明 Karl Fischer 法测定水分也能将样品中的结合水测定出来，反映样品实际水分含量。所以测定样品中水分活度值也可按照此方法的原理进行。



## 2 糖类的测定

糖类是发酵微生物所需要的主要碳源，工业发酵中的糖类主要有淀粉、糊精、双糖、单糖等。

糖类的测定在工业发酵中具有特别重要的意义。原料中淀粉含量是原料的重要质量指标；发酵过程中可以根据糖量的变化，判断发酵是否正常；发酵（如谷氨酸等）生产中，也需测定发酵醪中的残糖含量以确定发酵终止时间。此外，淀粉酶、糖化酶的活力测定实际上也是通过测定糖量进行计算的。

### 2.1 淀粉质原料中粗淀粉的测定

测定淀粉质原料（玉米、小麦、大麦、马铃薯、甘薯、木薯等）中淀粉含量的目的是掌握购进原料的质量（可利用性），进而估计原料的成品产率，如玉米的酒精产率等。

测定原料中淀粉含量的方法较多，但均需将淀粉水解成单糖，通过测定单糖含量计算原料中淀粉的含量。

淀粉是多糖类物质，可逐步水解为短链淀粉、糊精、麦芽糖、葡萄糖。工业上将淀粉水解成糖常用的方法曾有3种：酸解法、酸酶法和双酶法。其中，双酶法制糖因具有葡萄糖值（DE值）高的优势，在发酵企业已取代了酸解法和酸酶法而成为常规工艺。根据淀粉糖生产企业资料，不同的糖化工艺所得糖化液（醪）的DE值不同——酸解法91%、酸酶法95%、双酶法98%。可以看出，双酶法葡萄糖值最高、糖液杂质（灰分、羟甲基糠醛、色素等）最少、糖的精制较容易。

依据上述资料分析，并通过实验室比对实验已认定，淀粉质原料中淀粉含量的测定，其淀粉水解以双酶法为宜，因它可提高淀粉含量测定的准确度。但廉-爱农（Lane-Eynon）法仍是测定糖类最经典的传统方法，现在也是国内发酵企业的通用方法。

#### 2.1.1 廉-爱农法测糖原理

葡萄糖（或还原糖）能还原铜盐类（以酒石酸钾钠铜为最显著）为氧化亚铜（ $\text{Cu}_2\text{O}$ ），呈砖红色沉淀。主要反应如下。

(1) 淀粉经水解生成葡萄糖，葡萄糖中的醛基易被氧化。

