

工 业 生 物 学

分 析 与 制 备

(一)

内部资料，注意保存

中 山 大 学 生 物 系 编

一 九 七 〇 年 八 月

最 高 指 示

在生产斗争和科学实验范围内，人类总是不断发展的，自然界也总是不断发展的，永远不会停止在一个水平上。因此，人类总得不断地总结经验，有所发现，有所发明，有所创造，有所前进。停止的论点，悲观的论点，无所作为和骄傲自满的论点，都是错误的。

中国人民有志气，有能力，一定要在不远的将来赶上和超过世界先进水平。

备战、备荒、为人民。

教育必须为无产阶级政治服务，必须同生产劳动相结合。

学生也是这样，以学为主，兼学别样，即不但学文，也要学工、学农、学军，也要批判资产阶级。

我们必须打破常规，尽量采用先进技术，在一个不太长的历史时期内，把我国建设成为一个社会主义的现代化强国。

前 言

在伟大的七十年代的第一年，我国亿万军民高举毛泽东思想伟大红旗，全面落实党的“九大”提出的各项战斗任务。革命、生产形势一片大好，而且越来越好。“灿烂的思想政治之花，必然结出丰硕的经济之果。”工业生物学分析与制备方面的新工艺、新技术，新产品也和其他科学技术一样，在战无不胜的毛泽东思想指引下，得到了迅速发展，对支援农业，支援工业，支援国防建设正在起着重大作用。这些新工艺，新技术，新产品的广泛使用，使农业获得了大幅度的增产，引起了某些工业的巨大改革，大大降低了成本，提高了产品的产量和质量。并在综合利用方面为工、农、医、战备等方面提供了许多新的产品。我们抱着向工农学习的态度，向本省有关生产单位及科研单位进行了学习和调查，并收集了国内一些先进地区的有关资料，汇编成这本小册子（分二集印发）。由于时间仓促和我们的水平有限，难免有错误之处，希望同志们批评、指正。

目 录

第一部份 一般常规分析方法	1
一、水份的测定	1
二、灰份的测定	2
三、挥发酸的测定	2
四、钾的测定	3
五、钙和镁的测定	4
六、铁的测定	5
七、铅和砷的测定	6
八、醛的测定	8
九、二氧化硫的测定	9
十、总糖含量测定	10
十一、蔗糖的旋光测定法	11
十二、纤维素的测定	12
十三、甲种纤维和半纤维素的测定	13
十四、木质素的测定	15
十五、总氮量的测定	16
十六、氨基氮测定法	17
十七、成品酵母中谷胱甘肽测定	18
十八、氨基酸的纸上层析	19
十九、粗脂肪的定量测定	21
二十、碘值的测定	22
二十一、皂化值的测定	23
二十二、维生素A测定	24
二十三、维生素B ₁ 的测定——荧光法	25
二十四、维生素B ₂ (核黄素)的测定法	27
1、荧光法	28
2、微生物法	28
二十五、维生素C定量	30
1、还原型抗坏血酸的测定	31
2、总抗坏血酸的测定	31

第二部份 几种新农药的制备与分析	33
二十六、赤霉素的制备、测定及应用	33
二十七、“七〇二”的制备、测定及应用	48
二十八、“杀螟杆菌”细菌农药的制备及检定	59
二十九、“5406”农药的制备及应用 (编入第二集)	
第三部份 抗菌素的制备与分析	65
三十、土霉素的制备及测定	65
三十一、四环素的制备及测定	78
第四部份 几种工业酶制剂制备与分析	84
三十二、淀粉液化酶之制备、测定和应用	84
三十三、糖化酶的制备、测定和应用	90
三十四、蛋白酶制备、测定和应用	92
三十五、果胶酶的制备、测定和应用	99
三十六、纤维素酶的制备、测定和应用	102
三十七、生物硷的测定	
三十八、单宁的测定	107
三十九、糖甙的测定	107
四十、植物药物成份的系统分析	111
附录	125

第一部份 一般常规分析方法

水份的测定

一、原理：动植物材料中的水份以游离水，吸附于旦白质、多糖及细胞膜上的水、与糖及盐类结合的水三种形式存在，新鲜样品一般用烘干法在 105°C 测定水份，但象水果和糖类等含糖量多的样品不宜在 105°C 烘干，因糖在高温时容易分解，尤其是果糖，故宜采用减压（ $50\sim 100\text{ mm}$ 汞柱）低温干燥法，用烘干法测定的水分中还包括了少量的芳香油、醇及有机酸等物质。

二、操作：

1. 将称瓶或玻璃皿置于 105°C 烘箱内烘2小时，然后用坩埚钳将玻皿或称瓶放入干燥器内冷却至室温后称重，后再烘半小时再称重，如此重复直至恒重为止。

2. 称重2—10克鲜样品于上述已知重量的称瓶或玻璃皿内，其余操作同上。

三、计算：

$$\text{水分重(克)\%} = \frac{\text{烘前玻皿及样品重量} - \text{烘后玻皿及样品重量}}{\text{样品重量}} \times 100$$

四、注意事项：

1. 恒重的准则是： ± 0.01 克（ $\frac{1}{100}$ 天平）， ± 0.002 克（ $\frac{1}{1000}$ 天平）， ± 0.0003 克（ $\frac{1}{10000}$ 天平）。

例如用灵敏度为 $\frac{1}{100}$ 克的天平，第一次称重为34.67克，第二次称量为34.66克即达恒重，纪录34.66克数值，若第二次称重为34.68克则取34.67克数值。

2. 含水分多的样品，开始时应在 $60\sim 70^{\circ}\text{C}$ ，先把大部分水分烘去后再提高至 105°C 烘干，若一开始就用高温，则样品粘在玻璃皿上，会使测定结果误差增大。

3. 测定粘稠品如果酱、蜂蜜、油脂等样品的水分时，可取大粒沙子定量渗入样品中（沙子用1:1 HCl浸洗烘干），并用小玻棒一支（也应称重，作烘干过程搅拌用）使样品疏松，加速烘干过程，如此测得数值也较可靠。

4. 将热烘烘的玻皿放入干燥器后，不可立即盖紧，须稍冷却

隙短时间后才盖好，以免空气膨胀冲开干燥器盖致跌落损坏。

灰分的测定

一、原理：灰分为测定物中的矿物质，或称无机盐，主要为钾、钙、钠、镁、硫、硅、磷、铁及其他微量元素。测定方法是在适当的温度下把测定物中的有机物质烧灼氧化后，把残余的白色物质用分析天平称量，即得灰分的重量。

二、操作：

将用 1:4 HCl 煮过的瓷坩埚洗净，在灰化炉内在 550—500°C 温度下烧灼半小时。待炉温降到 200°C 以下时，将坩埚移入干燥室内，待至室温，称坩埚重量。将样品 2~5 克称入坩埚内，先用电炉或煤气灯将样品炭化到化烟，再移入灰化炉中在 550—600°C 下初步烧灼二小时。待冷后将坩埚取出，加蒸馏水少许将灰分溶解，并在水浴锅上将水分蒸干；或加 10% 硝酸银、10% 硝酸、过氧化氢等氧化剂，然后于浴锅上蒸干，再将坩埚置灰化炉内烧灼 4 小时。候温度降低到 200°C 以下时，将坩埚移入干燥器内，待至室温，用天平称重。如坩埚内仍有黑色炭质或一对称同样品的灰分重量不一致时，可再烧灼 2 小时，再称重。

三、计算：

$$\text{灰分\%} = \frac{\text{坩埚重量} + \text{灰分重量} - \text{空坩埚重量}}{\text{样品重量}} \times 100$$

四、注意事项：

烧灼温度不得超过 600°C，如超过则磷酸盐溶化，凝结为固形物，其中所含的炭粒不易氧化。温度过高，钾、钠、氯等也能挥发，致使测得结果产生误差。

在第一次烧灼后稍加蒸馏水的目的，是把已灰化的物质溶解到坩埚底，使中间未灰化的物质露出表面，易于灰化。

在用电炉炭化样品前，可在样品上酌加无灰植物油数滴，以防样品膨胀流溢坩埚外面。

挥发酸的测定

一、原理：挥发酸是指挥发性的有机酸，先用硫酸分解这些酸的盐类，然后用水蒸汽法蒸馏出来进行测定。

二、操 作：（以糖蜜为例）

称取20克糖蜜于500毫升园底烧瓶中，溶解于200毫升蒸馏水内，逐滴加入比重1.84的硫酸0.5—1.0毫升和比重1.66的磷酸1.0毫升。进行蒸馏，待得馏液180—200毫升时，用酚酞作指示剂和0.1N NaOH 滴定至微红色于30秒钟内不消失为止。

三、计 算：

总挥发酸以醋酸计，以对糖蜜重量的百分数表示，因为1毫升0.1N NaOH相当于0.006克醋酸，所以：

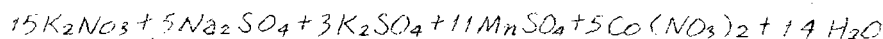
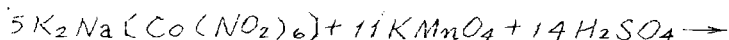
$$\text{总挥发酸量} = \frac{\text{滴定所耗NaOH毫升数} \times \text{NaOH溶液当量系数} \times 0.006}{\text{试样(20)克数}} \times 100 (\% \text{重量})$$

$$\ast \text{当量系数} = \frac{\text{溶液实际当量浓度}}{\text{方法规定当量浓度}}$$

正常糖蜜的总挥发酸量应不超过0.65%（对糖蜜重量）。

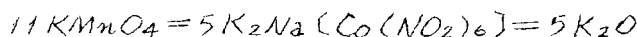
钾 的 测 定

一、原理：在含有钾盐的溶液中加入亚硝酸钴钠试剂时，即产生亚硝酸钴钠钾黄色沉淀，其反应式如下： $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6] + 2\text{K}^+ \rightarrow \text{NaK}_2[\text{Co}(\text{NO}_2)_6] \downarrow (\text{黄色}) + 2\text{Na}^+$ ，而沉淀（钴亚硝酸钾钠）用过量的标准浓度氧化剂（如高锰酸钾等）溶解之，其反应式如下：



当反应式终结后再用标准还原剂溶液来滴定多余的氧化剂，即可计算出与氧化剂作用的亚硝酸钴钠的沉淀的量。

据上述的反应式可知：



即11克分子的 KMnO_4 相当于10克原子K，因之消耗于分解沉淀每一个毫升0.1N KMnO_4 溶液（即0.00316克 KMnO_4 ，所相当的K，可由下式算出

$$\frac{39.1 \times 10 \times 0.00316}{158.03 \times 11} = 0.000711 \text{克K 或 } 0.000856 \text{克K}_2\text{O}$$

式中：39.1——K的当量（ K_2O 的当量为47.1）

158.03—— KMnO_4 的分子量

0.00316——1ml 0.1N KMnO_4 溶液中 KMnO_4 克数

二、操 作：

称取样品 5—10 克，在烧杯中加少量水润湿，慢慢加入稀盐酸 30—50 ml。煮沸半小时，分离出 SiO_2 ，然后将溶液转入 250 ml 容量瓶中，稀至标线，振荡均匀后，用干滤纸过滤。然后吸取滤液 50 ml 放在 400 ml 烧杯中，放在水浴锅上蒸发浓缩到 5—6 ml，逐滴加入亚硝酸钴钠试剂 10 ml，在 80—90°C 水浴锅上蒸至糊状，不断搅拌。冷却后加 10% 醋酸 5 ml 仔细研磨均匀，再加水 10—15 ml 经古氏坩埚或微孔玻璃坩埚过滤，所得黄色沉淀用 2.5% Na_2SO_4 洗涤，直至滤液无色为止。在原烧杯中放入 150 ml 蒸馏水和 20 ml 6N H_2SO_4 ，然后加入过量 0.1N KMnO_4 标准溶液（约 50 ml），加热至 60°C，不断搅拌使沉淀完全溶解，这时溶液应呈紫红色，否则应再加入过量的 KMnO_4 溶液。然后用 0.1N 的标准 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ （或 0.1N 草酸）滴定至溶液完全褪色为止。

三、计 算：

$$\text{K}_2\text{O}\% = \frac{(N_1 V_1 - N_2 V_2) \times 0.000856}{A} \times 100$$

式中： N_1 ——高锰酸钾标准液的当量浓度

V_1 ——加入烧杯中的 KMnO_4 标准溶液的总用量 (ml)

N_2 ——草酸标准溶液的当量浓度

V_2 ——滴定时所加草酸标准溶液的量 (ml)

A——样品重量 (克)

0.000856——氧化还原中 K_2O 每个毫克当量的克数

钙 和 镁 的 测 定

一、原理：EDTA（乙二胺四醋酸钠盐）能与钙或镁离子络合，生成极稳定的络合物，其解离常数 $K_{\text{Ca}} = 2.6 \times 10^{-11}$ ， $K_{\text{Mg}} = 2 \times 10^{-9}$ 。因此，当钙、镁离子共存时，试剂先与钙离子起反应，然后与镁离子起反应，指示剂为铬黑 T，能与镁离子生成紫红色络合物。但因这个指示剂与镁离子生成的络合物较 EDTA 与镁离子生成的络合物易于解离，故再加入 EDTA 溶液后起置换反应，使溶液从紫红色变为蓝色。

二、操作：（以蔗汁样品为例）

吸取（称取）蔗汁样品二分，一分测钙镁总量，一分作镁的测定，二者之差为钙的含量。

1. 钙镁总量的测定:

称取 (或准确吸取) 蔗汁 (混合汁 5 ml, 清汁 10 ml), 加蒸馏水 200—300 ml, 加铵盐缓冲液 5 毫升, 指示剂铬黑 T 9—10 滴, 摇匀后用 0.05 N EDTA 慢慢滴定, 不断摇动溶液, 到达终点时溶液便由酒红色变为蓝色。

(如超过终点或终点不明确时, 可用已知钙镁盐回滴)。

2. 镁含量的测定:

称取 (或吸取) 定量蔗汁 (混合汁 5 ml, 清汁 10 ml), 加蒸馏水 150—200 ml, 加铵盐缓冲液 5 ml, 加 5% 草酸铵 2—3 ml 摇动静置片刻, 用较好滤纸 (密) 过滤, 用蒸馏水洗涤沉淀 3—4 次, 洗水併回滤液, 再加 5 ml 铵盐缓冲液, 然后依上法滴定。

3. 钙含量的测定:

由滴定 Ca^{++} 、 Mg^{++} 离子共存时的 EDTA 毫升数减去滴定 Mg^{++} 时耗去之 EDTA 毫升数而得。

三、计 算:

$$CaO\% = \frac{N(V-V')}{W} \times 100$$

$$MgO\% = \frac{N \times V' \times m}{W} \times 100$$

式中: N = EDTA 浓度

V = Ca^{++} 、 Mg^{++} 共存时滴定用去之 EDTA 毫升数

V' = 滴定 Mg^{++} 所耗 EDTA 的毫升数

m = CaO 或 MgO 毫克当量

W = 试样重量

四、注意事项:

1. 如蔗汁中含有 Cu^{++} 、 Zn^{++} 、 Mn^{++} 等离子, 则要通 H_2S 除去后再进行测定。

2. 分析样品最好取三个, 而取其中二个较接近数值计数。

铁的测定

一、原理: 用硫酸或过氯酸或过氧化氢将样品中的有机物氧化, 并使铁成为三价铁的硫酸盐。三价铁与硫氰酸钾形成红色的硫氰酸盐。用 485 毫微米波长或兰绿色滤光片进行比色法。

二、操作：

1. 取样：称取 2 克样品于凯氏烧瓶中，加 10 毫升分析纯浓硫酸，轻轻摇动，使与样品混匀。将凯氏烧瓶放置于消化架上加热。待瓶内所发浓烟近于完毕时，将烧瓶移开消化架，小心缓慢地用刻度滴管分别滴入 $2/3$ ml 过氯酸。继续加热至溶液无色为止。冷却，小心加入少许蒸馏水，此时瓶内消化的溶液移入 100 ml 量瓶中，并用蒸馏水将烧瓶冲洗数次，一并倒入量瓶内，稀释至 100 ml，混匀。每次取样，同时制备一对空的消化液（即 10 ml 浓 H_2SO_4 与 $2/3$ ml $HClO_4$ 混合，在消化架上加热至无色，冷却，稀释到 100 ml）。

2. 比色：取 5 ml 消化后的稀释液，放入试管中，加 0.2 ml 2% 过二硫酸钾，再加入 2 ml 20% 硫氰酸钾，混匀后，可进行比色。按所读得的透光度在标准曲线上寻找出未知液中铁的含量。

3. 标准曲线：将每 ml 含铁 0.1 微克的储备标准液稀释成为每 ml 含铁 5 微克/毫升的标准液。

A) 向试管中，分别加入 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 毫升的标准铁溶液（5 微克/毫升），各加 0.5 ml 浓硫酸，以蒸馏水稀释使最终体积为 5 ml（体积少的先加水，后加 H_2SO_4 ）。

B) 每管加 0.2 ml 2% 过二硫酸钾，2 ml 20% 硫氰酸钾混匀。进行比色。将透光度记录下，在半对数值表格纸上取得各点，画成直线。

三、计算：

$$\text{铁毫克/100克} = a (\text{微克}) \times \frac{100}{W(\text{克})} \times \frac{100}{1000}$$

式中：a = 在标准曲线上找到的数

W = 样品重量

四、注意事项：如果样品中铁的含量很低，显色很浅，则取 10 ml 消化后的稀释液，将稀释液均置入带塞的离心管内，依次加入试剂及 5 ml 异戊醇，用手振荡 2 分钟，再用离心机旋转 5 分钟。此时水溶液中的红色即被投入异戊醇内，再用滴管将异戊醇吸入比色杯内比色。

铅和砷的测定

一、铅的测定：（以糖果为样品）

取样品 2—5 克于 250—500 凯氏烧瓶中，加水 5—8 ml，使成糊状，加浓硝酸（比重 1.42）10 ml、浓硫酸（比重 1.84）8 ml，摇匀静置后（产泡沫时，淋浴降温），微火加热，有棕色气体产生，待溶液变棕黑色时，渐升温，并开始沿瓶壁逐滴加入硝酸，使溶液变无色或淡黄色为止，再加热至发白烟 2—3 分钟，停止加热，冷却后加入硝酸银溶液 2 ml，并用水少许冲洗瓶颈，用小火加热至发浓白烟 2 分钟，冷却后加入草酸铵（饱和）溶液 5 ml，再加热至沸，初出现小气泡至消失，最后溶液澄清，停止加热（此时表示有机物已完全破坏）。

将上述溶液倾入 400 ml 烧杯，用水洗涤烧瓶数次，使总体积约为 200 ml，加热至沸 3 分钟，静置过夜，用倾泻法通过细滤纸过滤，以 5% H_2SO_4 洗涤 3 次，最后用蒸馏水洗一次，溶液待用。

另在漏斗上分二次加入醋酸铵（70%）的近沸热溶液共 30 ml，将滤纸上的沉淀物中铅化物溶解原存有沉淀烧杯中，加水煮沸 15 分钟，并保持体积（不断加入消失的水分），冷却，注加氨水（比重 0.9）5 ml，用原滤纸过滤于 100 ml 钠氏比色管内，并用热蒸馏水充分洗涤烧杯及滤纸，其总体积约为 90 ml，加饱和硫化氢溶液 1 ml，加水至 100 ml，摇匀后，与标准管进行比色，测定时用同样试剂与同样方法进行空白试验。

铅标准液的制备：

分别吸 0.02, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 硝酸铅标准溶液于 100 ml 钠氏比色管中加 70% 醋酸铵 15 ml，加水使总体积为 90 ml，然后与样品管同时加入氨水 5 ml 及饱和 H_2S 溶液 1 ml，摇匀即成。

计算结果：

$$\frac{(V_1 - V_2) \times 0.01}{W} \times 1000$$

式中： V_1 —样品管与硫化铅标准溶液呈色相同 ml 数

V_2 —空白管与硫化铅标准溶液呈色相同 ml 数

W —样品重量

二、砷的测定：

砷被氢还原后生成气态砷化氢（ AsH_3 ），砷化氢可以和用升汞浸湿过的纸片起作用，显出棕黄色斑点。把这斑点和在同样条件下由含已知砷量的溶液所放出的 AsH_3 作用而得的斑点比较，

即可测出样品中砷的含量。

将测定砷时保留之滤液于400ml烧杯内蒸发至约60ml，洗入100ml量瓶中，加水至刻度，吸取20ml移入定砷反应瓶内，加蒸馏水30ml、碘化钾液（20%）2ml，摇匀静置5分钟，滴加酸性氯化亚锡2滴（如棕黄色不退，则要多加），使棕黄色褪去后，加入无砷盐酸5ml，再加入2克无砷锌粒，立即加盖塞紧，摇匀静置40分钟后，取出溴化汞（或氯化高汞）纸片与标准砷斑进行比色（标准砷斑临用时与试样同时进行制备），并进行空白试验（空白试验取无灰滤纸一块代试样，测定方法与试验样品相同）。

计算结果：

$$\text{砷} = \frac{(V_1 - V_2) \times 0.001}{W \times \frac{20}{100}} \times 1000$$

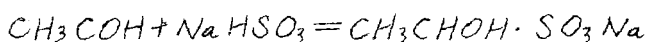
式中：V₁——样品液与砷标准液呈色相同 ml 数

V₂——空白试验与砷标准液呈色相同 ml 数

W——样品重量（克）

醛 的 测 定

一、原理：醛类具有与亚硫酸或其盐类相合而形成非挥发性化合物的特性：



当重亚硫酸盐与醛类相互作用后，直接用碘溶液滴定所取重亚硫酸盐的量，即可计算所取样品中醛的含量。

二、操作：（以测酒精中醛量为例）

将样品稀释至50%，取25ml于磨塞三角瓶中，再加入15ml 1.2%亚硫酸氢钠溶液，最后加入7ml 0.1N盐酸，振荡后放置一小时。

反应完毕后，以0.1N碘液滴定，以1—2ml淀粉液作指示剂，接近终点时改用0.02N碘液滴至淡蓝色出现，再加入20ml 1M碳酸氢酸钠溶液，微启瓶塞，振荡半小时，以0.02N碘液滴至淡兰色再出现为止。

如样品含醛少，试剂本身应做空白试验，如样品含醛多（0.1%以上），则可取25ml试剂加入10ml样品（浓度50%），以上法测定。

三、计 算

$$\text{醛}\% = (V - V_1) \times N \times 0.022 \times 8 / 0.7899$$

V —滴定 NaHSO_3 所耗 $0.02N$ 碘液数

V_1 —空白试验所耗 $0.02N$ 碘液数

N —碘液当量浓度

0.022 —乙醛毫升当量

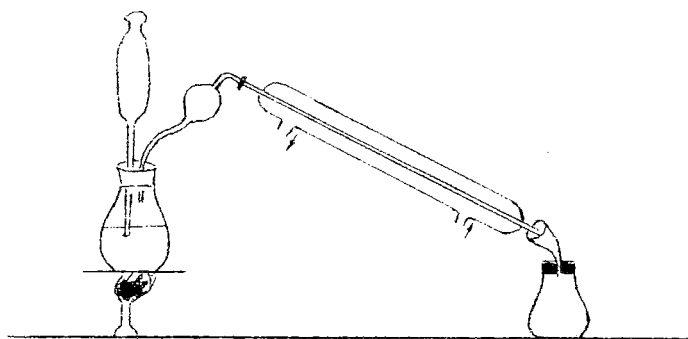
$8/0.7899$ —换算系数即换算为无水酒精中乙醛体积为样品含醛

二氧化硫的测定

一、原理：通常根据用碘氧化亚硫酸为硫酸的原理进行测定。

二、操作：（以糖蜜样品为例）

准确称取糖蜜 5 克，在容量瓶溶解至 250 ml，溶解后摇匀，吸取 25 ml 于 100 ml 蒸馏瓶内，再加入 2 毫升 1:3 H_2SO_4 ，迅速按图装置用盛有 40 ml 蒸馏水、10 ml 1N NaOH 和 10 ml 0.005N 碘液的锥形瓶作受器，随即蒸馏 5 分钟（加热沸腾），然后用少



量蒸馏水洗涤插入受器内的连接玻璃管，再沿瓶壁用吸管加 1:3 H_2SO_4 于接受瓶内，加塞摇匀后，放置 2—3 分钟，然后用 0.005N 硫化硫酸钠滴至微黄色，加 1 ml 1% 淀粉溶液，继续滴定至兰色消失为止。

另取 25 ml 蒸馏水，按上述方法进行空白试验。

三、计 算：

$$\text{总二氧化硫量} = \frac{0.16 \times N (V_2 - V_1) \times 250 \times 100}{5 \times 25 \times 1000} = 0.032 \times N (V_2 - V_1)$$

式中： V_1 ——滴定样品 0.005 N 硫代硫酸钠溶液的 ml 数

V_2 ——空白试验所耗 0.005 N 硫代硫酸钠溶液的 ml 数

0.16——1 ml 0.005 N 硫代硫酸钠相当的 SO_2 mg 数

N ——硫代硫酸钠溶液当量数

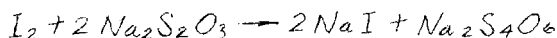
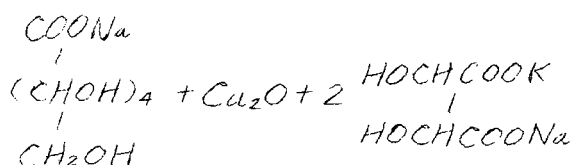
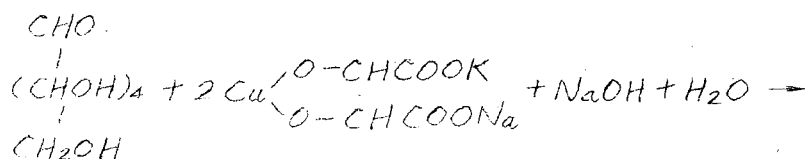
糖的定量分析

总糖含量测定

一、原理：

把多糖水分为具有还原性的单糖，能在碱性溶液中将二价铜还原成一价铜（氧化亚铜），与过量的碘起氧化还原反应，多余的碘用标准硫代硫酸钠滴定。

铜离子在碱性溶液中要沉淀，加入酒石酸钾钠使生成络离子而防止沉淀。



二、操作：

1. 标准曲线的制备：精确称取无水葡萄糖 50 mg 于 50 ml 容量瓶中，配制成 1 mg/ml 葡萄糖标准液，分别吸取此标准液 1、2、3、4、5 毫升于五个三角瓶中，准确加入 5 ml 铜试剂，并加水至 20 毫升，加热 5 分钟，冷却，加 1 N H_2SO_4 5 ml，摇匀，待氧化亚铜完全溶解后立即用 0.01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 滴定至近终点，加淀粉指示剂，再滴定至无色为终点。空白管：用水 15 ml，加铜试剂 5 ml，按上法进行，记录消耗 0.01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 毫升数。以 0.01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 毫升数作纵坐标，以糖的毫克数作横坐标，绘制标准曲线。

2. 发酵液中总糖含量的测定：

先将发酵液摇匀过筛，吸取滤液1ml于100ml三角瓶中加水至5ml，加6N HCl 5ml，置沸水浴中加热15分钟，取出加10ml 3N NaOH，放冷，加20% ZnSO₄ 5ml，加酚酞指示剂2滴，用3N NaOH滴定至呈红色，再用1N H₂SO₄回滴至无色（或微红色），用水稀释至刻度，摇匀过筛，吸取滤液2ml，按标准曲线方法进行测定。

三、计 算：

空白滴定消耗0.01N Na₂S₂O₃毫升数减去样品滴定所消耗0.01N Na₂S₂O₃毫升数。以标准曲线上查出相当于葡萄糖的毫克数(m)，按下式计算：

$$\text{总糖}\% = \frac{m \times 100}{\frac{1}{100} \times 2 \times 1000}$$

还原糖含量测定

吸取发酵滤液1毫升于50ml三角瓶中，加水20ml（不需加HCl水介）以下操作同总糖测定。

蔗糖的旋光测定法

很多有机物质，如糖类、糊精、芳香油及大多数氨基酸，羧酸等均为光学活性物质。它们都具有旋转偏光的能力，这是由于其分子存在有不对称碳原子的关系。能将偏光向右旋转的称为右旋，反之为左旋。在相同的旋转条件下，偏光的旋转方向和旋转角度是某一化合物在一定浓度下的特征，因此，测定偏光旋转度数，便可检定物质的旋光性。

偏光通过糖液时，所产生的偏光旋转角度随糖液的浓度、液层厚度、光源之性质及温度而异。若取一定厚度之糖液在标准温度下，用一定的光源，则偏光旋转角度直接与该溶液的浓度有关。

测定旋光作用的仪器称为旋光计，旋光计由旋光器与钠光灯所组成。旋光器的主要部分是一个固定的三稜镜和一个能旋转的分析三稜镜。二镜之间有一盛测定液的玻管（观测管），在分析三稜镜处，附有可转变的刻度圆盘，用以检察旋光的角度。

被测液的旋光角度，与其浓度及玻管的长度成正比例。测得被测液的旋光角度后，按下式求其浓度。

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{LC} \times 100$$

$[\alpha]$ 为物质的比旋度〔在钠光(D)和温度20°C下进行〕

α : 测得旋光角度

L : 玻管的长度(分米)

C : 被测液的浓度(%)

按公式可知比旋度是当偏光透过1分米长的100% (即1克/1毫升)的物质溶液时所测得的旋光角度。物质向右旋光者叫右旋, 以“+”号表示; 向左旋光者叫左旋, 以“-”号表示。

兹将一般糖类的比旋度 $[\alpha]_D^{20}$ 列于下:

D—葡萄糖	+52.5°	蔗糖	+66.5°
D—果糖	-92.3°	乳糖	+52.5°
D—米乳糖	+81.5°	麦芽糖	+137.0°
D—甘露糖	+14.2°	糊精	+195.0°
α —阿拉伯糖	+104.5°	可溶性淀粉	+196.0°
D—木糖	+19.0°	糖元	+197.0°

操作:

1. 置玻璃复片和皮圈于干燥而洁净的玻璃样品管的一端, 并用螺旋盖紧, 待装满蒸馏水后, 同样将他端也盖紧, 注意勿使管内有气泡存在, 将管置于旋光管的园轴槽内。

2. 在旋光器后面200毫米处, 置一水银灯弧(钠光), 然后旋转刻度盘调整到两半球视野的暗度相等, 记录刻度盘的读数, 是为零点。

3. 另取一干燥而洁净的玻璃样品管, 依上法装入待测定的未知蔗糖溶液, 放于旋光器的园轴槽内。由于糖液的旋光作用, 从目镜所观察到的两半球视野的暗度不等。

4. 旋转刻度盘直至两半球视野所呈的暗度完全相同为止, 记录刻度盘上的读数。

5. 从测得的旋光角度, 按公式算出测定液中蔗糖的浓度。

纤维素的测定

一、原理: 在富于木质素及半纤维素的材料中(如草类或木材等), 在用乙醇的硝酸溶液处理后, 其他各种物质被氧化和溶解, 剩下残渣——纤维素。