

# 第一章 概 论

## 一、保健食品的概念

“保健食品”是中国对某类食品的统一名称。国外有关保健食品的名称有“健康食品”(health foods)或“功能性食品”(functional foods),还有一类称之为膳食补充剂(dietary supplements)。但不论其名称有何不同,这一类食品都是针对某些特殊人群的,这类人群在健康上有着不同的需求,在进食以外,还需要补充一些保健食品以增进健康并能预防或减少某些非传染性的慢性疾病,如冠心病、糖尿病、高血压、肥胖症、癌症等疾病。并且这些食品还应该具有增强机体对外来疾病的抵抗力(如增强免疫力、调节人体的免疫力),增强记忆力,延缓衰老的进程(起到延年益寿的作用),增强机体的抗氧化能力,保护体内各种细胞的完整性与正常的代谢功能,增强机体对辐照射线的抵抗力,增强对疲劳的耐受力(即抗疲劳),调节人体生物钟以利于睡眠等作用。对于儿童来说,这些食品还可以起到促进生长发育的作用。保健食品应具有食品的形态,然而为了浓缩其起保健作用的功效成分,故保健食品常具有丸、丹、膏、散、片、口服液等形状。卫生部《保健食品管理办法》中规定的第二条中说明“保健食品系指表明具有特定保健功能的食品”,即适宜于特定人群食用,具有调节机体功能,不以治疗疾病为目的的食品,保健食品必备的要素主要有以下几种:

- (1) 对人体无毒害,食用安全。
- (2) 具有明确和稳定的保健作用。
- (3) 具有明确的功效成分。

## 二、保健食品的功效成分

保健食品之所以能够对人体健康起到不同的有益作用，是因为这类食品中有促进健康，具有一定的保健功能的有效成分。称之为“功效成分”，保健食品中所用的不同食物资源具有不同的功效成分和营养成分。这些成分对人体起到了一定的保护作用，有益于人的身心健康。

保健食品中应含有具保健功能作用的一种或多种成分。但我国的保健食品中有一大类是利用中国传统的药食两用，或采用药膳中所采用的动植物原料为组方的保健食品，具有特定的保健作用。但目前尚未能确定其有效的成分。因此只能列出可能具有保健作用的“功效成分”或代表该产品配方中原料的独特成分。这类保健食品的“功效成分”尚待研究和确定。这项研究是从事保健食品研究和开发者任重而道远的一项任务。

有关目前经卫生部审批的保健食品中的功效成分的功能及来源简列于下表中。

部分保健食品功效成分功能及来源

功效成分	功 能	来 源
多糖 7个以上糖分子组成	抗疲劳、增强免疫力、降血糖、降血脂、抗癌	灵芝、香菇、枸杞、银耳、螺旋藻、虫草、猪苓、党参、人参、昆布、黑木耳、山药、刺五加、黄芪、茯苓
低聚糖 3~6个糖分子组成，如低聚乳糖、低聚果糖、低聚异麦芽糖、大豆低聚糖	益生源(益生菌的培养基)、降胆固醇、调节胃肠功能、促进消化吸收、润肠通便、调节肠道菌群、调节免疫力、抗肿瘤、保护肝功能、防龋齿	发酵工业制品原料：大豆、玉米、淀粉、半乳糖等；酵母菌等发酵产品

续表

功效成分	功 能	来 源
皂苷(皂甙) 红景天苷	抗疲劳、调节免疫力、抗衰老、抗肿瘤 抗辐射、耐缺氧、降血脂和胆固醇(保护心血管系统)	人参、西洋参、红景天、绞股蓝、山药、三七
膳食纤维	润肠通便、降血糖、降胆固醇、减肥、防癌	粮食(粗)、蔬菜、水果
壳聚糖(几丁聚糖)	调节免疫力、改善便秘、预防防癌、降低胆固醇、调节肠道菌群、降血压、抗心血管疾病	虾、蟹壳的提取物
抗氧化剂 维生素 A、胡萝卜素、维生素 E、维生素 C、SOD、硒、多酚类	抗氧化作用、增强免疫力、清除自由基、抗衰老、抗肿瘤、抗辐射	动物肝脏、绿色蔬菜、植物油、水果、蔬菜、牛血、猪血、沙棘果的提取物
不饱和脂肪酸 油酸、亚油酸、亚麻酸 $\gamma$ -亚麻酸、EPA、DHA 角鲨烯、鲨鱼软骨素	降低甘油三酯、美容(祛斑) 降血脂、降血压、预防动脉硬化、预防糖尿病、预防视力下降 抗氧化、耐缺氧	植物油(红花油、大豆油、葵花子油、玉米胚芽油、米糠油、芝麻油、菜子油、月见草油、黑加仑、沙棘子油、紫苏油) 螺旋藻、小球藻 鱼油(金枪鱼、沙丁鱼、鲨鱼、鲑鱼、鲇鱼、乌贼、马面豚肝)
磷脂 大豆磷脂、卵磷脂	改善记忆、增强神经传导、预防高血压和冠心病、降低胆固醇、预防脂肪肝、降血糖、预防便秘 美容: 消除青春痘、祛斑	大豆、蛋黄

续表

功效成分	功 能	来 源
黄酮(生物类黄酮) 银杏黄酮、茶叶黄酮	降血脂、降血压、耐缺氧、抗衰老、抗氧化、清除自由基、保护心血管、抗肿瘤、保护脑神经系统	银杏叶、茶叶、大豆、山楂、沙棘、蜂蜜、陈皮、红花、甘草、金银花、银杏和茶叶的提取物
异黄酮 黄豆苷原、葛根素、大豆黄素	阻断和抑制致癌物的作用,类似雌激素作用;预防化学性肝损伤;降低胆固醇、防心血管病、抗氧化作用、促进免疫作用、抗血小板凝聚	大豆、甘蓝、蔷薇果、木瓜、葛根、柑橘类、洋葱、青椒、绿茶、谷粒
植物雌激素(多元醇类)	抗氧化、抑制自由基、防乳腺癌和前列腺癌	大豆等豆类、亚麻子
活性肽 二肽、多肽	增加钙吸收、易于消化吸收、降血脂、降低胆固醇、促进脂肪代谢、调节免疫力	蛋白质的水解产物如酪磷酸肽、大豆水解产物
免疫球蛋白	增强免疫力	牛初乳
多酚类 茶多酚  香豆素、木酚素	辅助抑制肿瘤、抗氧化剂、降低胆固醇、降低血压、抗癌、预防心脑血管病  抗氧化剂、阻断或抑制癌病变	茶叶、大蒜、黄豆、亚麻子、甘草根  亚麻子、蔬菜、水果、全谷粒制品
芹菜甲素	增强记忆、改善脑缺血、镇静作用	旱芹
花青素	降低胆固醇、增加冠脉流量、预防心血管疾病、延缓衰老、抗癌	葡萄子及枝
大蒜素	预防冠心病、降血脂、抗菌、抗癌、调节血糖、清除自由基	大蒜
虫草素	调节免疫力、调节血脂、抗疲劳、抗肿瘤	冬虫夏草、发酵制品

续表

功效成分	功 能	来 源
花粉(黄酮、激素、酶)	保护心脑血管、增强记忆、抗疲劳、增强免疫力、抗衰老	花粉
珍珠粉	美容、调节免疫	珍珠
L-肉碱	减肥、促进脂肪酸氧化、减少体脂、提高机体耐受力	从肉汁膏中提取、工业合成
洛伐它丁 红曲素K	降血脂、降胆固醇	红曲提取物
醌类 蒽醌、苯醌、萘醌	抗肿瘤、抗菌、止血	芦荟、大黄、决明子、番泻叶、紫草、何首乌
10-羟基- $\alpha$ -癸烯酸	增强免疫力	蜂蜜
褪黑素	调节睡眠、延缓衰老、预防心脏病、预防糖尿病及高血压、增强免疫力、增强药物的抗癌效果	燕麦、甜玉米、大米、番茄、香蕉、化学合成
蚓激酶	抗血小板凝聚	蚯蚓提取物
蚁酸	预防风湿性关节炎	蚂蚁
益生菌 乳酸菌(菌体及代谢产物)	改善肠道菌群、改善肠道功能、抗突变、抗肿瘤、抗衰老、增强免疫力	乳酸菌(LB9416)、乳杆菌、链球菌、明串珠菌及乳球菌属、嗜酸乳酸杆菌、保加利亚乳杆菌、植物乳酸杆菌
双歧菌	降低胆固醇、生成营养物质 调节肠道菌群	双歧杆菌、两叉双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、短和长双歧杆菌

续表

功效成分	功 能	来 源
微量元素 铬(Cr) 锗(Ge)  钙(Ca)  铁(Fe)	促进糖代谢、降血糖 抗肿瘤、调节免疫力、抗突 变 增加骨密度、预防骨质疏松 和佝偻病  预防缺铁性贫血、补铁	富铬酵母、南瓜 灵芝  葡萄糖酸钙、骨及贝壳、 珍珠粉、碳酸钙等各种钙 制剂、奶及其制品、鱼、虾 硫酸亚铁、富马酸铁、叶 啉铁、葡萄糖酸亚铁、柠檬 酸亚铁、动物血和肝脏
单萜 香芹酮、桉树脑、薄 荷脑	阻断致癌物的作用、阻断癌 细胞的再分化	大蒜、柑橘类、葫芦种植 物、茴香、芹菜子、薄荷
有机硫化物 二烯丙基二硫化物	阻断或抑制癌的发生	大蒜、洋葱、小葱、十字 花科植物
皂角苷 黄豆皂角苷、甘草 皂角苷	抗癌	黄豆、香辛料、甘草根、 蔬菜
氨基酸类 牛磺酸 精氨酸、赖氨酸	改善记忆、促进大脑发育、 增加记忆、延缓衰老 调节免疫力、促进伤口愈 合、提高钙的吸收、加速骨骼 生长	乌鸡肉、火鸡肉、牛肉、 白鱼、蛤贝类 奶、蛋、畜禽肉、鱼、虾
密环菌 密环菌素(三种倍 半萜类 甾醇、多糖、 有机酸)	延长睡眠、降压、扩张血管 作用、治疗眩晕和头痛	天麻、发酵生产的提取 物

### 三、保健食品的营养成分

凡食品均有营养成分，但不是一种食物就能具有人体所需的各种营养素。因此在谈保健食品时除了必须有“功效成分”外，还应有一定的营养成分，能为人体提供主要营养的是三大营养素：即蛋白质、脂肪和碳水化合物。此外还有很多微量营养素，它们在人体内含量很少，但均是人体所必需的，缺少了就会影响健康，并可发生一些营养缺乏症。这些微量营养素包括：维生素和常量及微量元素。这些营养素的量在人体内缺乏时就导致疾病，在适当时能保持人体健康，在充裕时能促进健康，此外还能预防一些疾病的发生。然而有些人体必需的营养素也不能多吃，吃过量了也会中毒。营养学上公认的一些营养素除了具有营养作用外，还能起到保健作用，也就是保健食品中的“功效成分”。例如：当前保健食品中常用的有维生素 A、维生素 E、维生素 C 和胡萝卜素以及微量元素硒。它们有抗氧化的作用；维生素 D 和钙有预防骨质疏松和增加骨密度的作用；维生素 A、维生素 C 以及蛋白质等还有增加机体免疫力的作用；磷脂和 DHA 有改善记忆和降低血脂的作用；维生素 B<sub>6</sub> 和牛磺酸与婴幼儿的智力发育有关；微量元素锌有促进生长发育的作用；铬有缓解糖尿病的作用；膳食纤维有润肠通便及预防糖尿病的作用等。因此食物中的营养素也是“功效成分”。

### 四、保健食品的质量

自 1996 年我国卫生部发布了“保健食品管理办法”以来，对我国保健食品加强了监督管理，以保证保健食品的质量。并对保健食品、保健食品说明书实行审批制度，要求保健食品的配方组成及用量必须具有科学依据，具有明确的功效成分。如在现有的技术条件下不能明确功效成分，应确定与保健功能有关的主要原料名称。自 1996 年实

施此管理办法以来 至今已五年 保健食品的科技含量逐年提高 对保健食品的‘功效成分’也逐渐由只提供‘保健功能有关的原料名称’而上升为提供‘功效成分’的含量或有关原料的特征成分的含量 这样就在最低限度上对保健食品的质量进行了有科学依据的质量监督。在此基础上要求今后的保健食品必须有明确的‘功效成分’。这是对保健食品的质量实行监督管理的重要措施之一。

## 五、保健食品功效成分的检测

保健食品中的营养成分已有较完善的检测方法。但，功效成分检测方法的研究在国内外均处于初级阶段。为了适应保健食品开发与生产以及监督的需要，我国也在积极的研究和建立各种“功效成分”的测定方法。中国营养学会营养分析分会的同志们平时工作在检测工作的前沿，在研究和建立多种功效成分的测定方法方面做了一些工作也积累了一些经验。由于保健食品中的功效成分检测存在很多难点 其难点在于保健食品的配方复杂 原料可多达几十种 而其中的‘功效成分’含量很少 在大量干扰物存在的情况下就使检测方法增加了复杂性 因此 如果采用去除杂质的办法但又不能在去杂质的同时去掉了所要检测的‘功效成分’ 如果用提纯的方法 提取待测的‘功效成分’ 是否能达到一定的纯度 检测结果是否能反映真实的含量等许多问题在检测中均需考虑。

在保健食品的‘功效成分’中 常可见到所采用的方法是‘药典’的定量或定性的测定方法。这些方法适用于高纯度药品的检测 但绝不适用于保健食品中功效成分的检测。为此我们的同志在过去的几年实践中建立了一些针对保健食品中功效成分的检测方法。显然这些方法不一定完善 尚有不足之处 有待逐步完善和改进以救燃眉之急。为了加强监督和促进保健食品科技水平的提高 我们将一些经过实践的检测方法提供有关人士参考 希望能以此书做出微薄的贡献。

(王光亚)

# 第二章 保健食品中 功效成分的测定方法

## 一、粗多糖的测定方法

### (一) 碱性酒石酸铜滴定法

本方法适用于保健食品中粗多糖的测定。

#### 1 方法提要

样品多糖沉淀物经酸解后，全部转成单糖，单糖具还原性，在加热条件下直接滴定标定过的碱性酒石酸铜液，以亚甲蓝作指示剂，根据样品液消耗的体积计算还原糖含量，再乘以换算系数 0.9 计算多糖含量。

#### 2. 仪器

- (1) 离心机：4000r/min。
- (2) 离心瓶容量 100mL 或具盖 10mL 离心管。
- (3) 水解瓶：500mL 带冷凝回流装置。
- (4) 电炉：1000W。
- (5) pH 计。
- (6) 水浴锅。

#### 3. 试剂

实验用水为双蒸水，所用试剂为分析纯级。

(1) 碱性酒石酸铜甲液：称取硫酸铜 ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 15g 亚甲蓝 次甲基蓝) 0.05g 加水溶解 并稀释至 1000mL。

(2) 碱性酒石酸铜乙液：称取 50g 酒石酸钾钠及 75g 氢氧化钠 溶于水 再加入 4g 亚铁氰化钾，完全溶解后，用水稀释至

1000mL储存于橡胶塞玻璃瓶内。

(3) 无水乙醇。

(4) 浓盐酸。

(5) 40% 氢氧化钠。

(6) 葡萄糖标准液：准确称取 1.0000g 经过 98~100 干燥至恒重的分析纯葡萄糖加水溶解后并以水稀释至 1000mL 此溶液 1mL 含 1mg 葡萄糖，现用现配。

#### 4. 测定步骤

(1) 样品处理：

a. 胶囊、片剂、粉剂、颗粒等(不含淀粉)的样品准确称取均匀研碎的样品粉末 3~5g 置于 100mL 的离心瓶中加 15mL 热水(温度 > 90℃) 搅拌直至溶解无沉淀物为止 如样品难溶 可在沸水浴中加热 30min 后过滤，定容。取此待测液 15mL 加 75mL 无水乙醇搅拌均匀 若只有 10mL 离心管 则每管加入 1.5mL 样品溶液，后加 7.5mL 无水乙醇，加盖反复倾倒管子数次)。在离心机中以 4000r/min 离心 10min 并小心弃去上清液 再加 15mL 热水(温度 > 90℃) 冲洗离心瓶中沉淀物 或用 1.5mL 热水冲洗离心管中沉淀物 重复一次后再以 4000r/min 离心 10min，小心地用吸管将上层液体吸去。

用玻璃棒或小羹匙将沉淀物取出并转移至 500mL 酸水解瓶底部 取 50mL 热水(温度 > 90℃)，其中部分用来冲洗离心瓶或离心管壁中剩余的沉淀物 将沉淀物一并转移至 500mL 酸水解瓶中 加入 15mL 浓盐酸于酸水解瓶中，开启冷凝水，在沸水浴中加热 2h，冷却 然后先用 40% 的氢氧化钠粗调，后用稀的氢氧化钠细调，再置于 pH 计上调整 pH 在 6.8~7.2 之间(不要用 pH 纸调试)

将已中和的酸解液转移至 100~250mL 容量瓶中(视糖浓度而定)加水定容  $V_1$ )。用滤纸过滤 滤液为待测液。

b. 口服液样品：准确吸取均匀样品溶液 15mL 于 100mL 的离心瓶中 或 1.5mL 于 10mL 离心管中 同上操作。

c. 胶囊、片剂、粉剂、颗粒等含淀粉的样品准确称取2g均匀研碎的样品粉末，置于100mL的具塞锥形瓶中加50mL热水( $>90^{\circ}\text{C}$ )溶解在沸水浴中加热15min使淀粉糊化冷却至 $60^{\circ}\text{C}$ 以下。加1.0mL10%的淀粉酶溶液，加0.5mL乙酸钠缓冲液(pH7.4)加塞，于 $55\sim 60^{\circ}\text{C}$ 保温1h中间间歇搅拌取1滴上清液用碘液检验是否完全水解。若呈蓝色，再加淀粉酶溶液并继续保温直至酶解液加碘液后不呈蓝色为止)加热至沸(使酶失活)然后再加入1%的葡萄糖酶在 $37^{\circ}\text{C}$ 温箱中保温24h使淀粉全部酶解成葡萄糖。再移样液于蒸发皿中，并在沸水浴中稍浓缩，放冷，小心将样液转入25mL容量瓶中用水洗容器并定容至刻度过滤。

然后按上法用无水乙醇沉淀多糖并用85%的乙醇洗沉淀物2次将沉淀物酸解中和、定容后待测。

#### (2) 标定碱性酒石酸铜液：

a. 用定量移液管吸取碱性酒石酸铜甲、乙液各5mL于150mL的锥形瓶中加10mL蒸馏水及数粒玻璃珠。

b. 用滴定管加入9.0mL标准葡萄糖溶液于锥形瓶中并将锥形瓶置电炉上迅速加热，务必在2min内至沸并保持溶液在微沸的状态下再用标准葡萄糖溶液滴定，待溶液颜色变浅时，以每2s1滴的速度滴至蓝色刚退去为终点，记录消耗标准葡萄糖溶液的体积同时平行操作3次取其平均值 $V_G$ )。

#### (3) 样品溶液的预测：

a. 按4(2)a操作。

b. 将锥形瓶置电炉上迅速加热，务必在2min内至沸并保持溶液在微沸的状态下，从滴定管中滴加样品溶液，待溶液颜色变浅时以2s1滴的速度滴至蓝色刚退去为终点，记录样液消耗体积即为预测体积。

#### (4) 样品测定：

a. 按4(2)a操作。

b. 从滴定管中滴加比预测体积小1.0mL的样品溶液将锥形

瓶置电炉上迅速加热，务必在 2min 内至沸 并保持溶液在微沸的状态下 从滴定管中滴加样品溶液 待溶液颜色变浅时 以 2s 1 滴的速度滴至蓝色刚退去为终点，记录样液消耗的总体积，同时平行操作 3 次 取其平均值  $V_2$ ).

## 5. 结果计算

$$\text{样品中粗多糖的含量} = \frac{V_G \times c \times V_1}{m \times V_2 \times 1000} \times 0.9 \times 100\%$$

式中  $V_G$  —— 标定 10mL 碱性酒石酸铜液 (甲、乙各 5mL) 消耗标准葡萄糖溶液 mL 数；

$c$  —— 标准葡萄糖溶液的浓度 (mg/mL)；

$m$  —— 样品质量 (g)；

$V_1$  —— 酸解液中和后定容的体积 (mL)；

$V_2$  —— 测定时平均消耗样品溶液体积 (mL)；

1000 —— mg 换算成 g；

0.9 —— 还原糖换算成多糖的系数。

计算举例：

灵芝胶囊 灵芝粉 称 3.9080g 于 100mL 离心瓶中 加 15mL 热水溶解 加 75mL 无水乙醇沉淀多糖 将沉淀物酸解后 调 pH 至 6.8~7.2 用水定容至 250mL。滴定 10mL 碱性酒石酸铜液 (甲、乙液各 5mL 耗样品液 8.02mL。

标准葡萄糖溶液的浓度为 1.0mg/mL。

10mL 碱性酒石酸铜液消耗标准葡萄糖溶液的体积为 10.90mL。

$$\text{粗多糖} = \frac{10.90 \times 1.0 \times 250}{3.9080 \times 8.02 \times 1000} \times 0.9 \times 100\% = 7.82\%$$

## 6. 回滴法

如样品含糖量少或水解后溶液颜色太深，影响终点观察误差较大时 可采用回滴法 操作同 4(2)。但将加水 10mL 及标准葡萄糖溶液 9.0mL 改为加样品水解液 20mL 然后用标准葡萄糖溶液

滴定至终点(预试)正式实验时可先加比预试少 1mL 的标准葡萄糖液于锥形瓶中 如上法测定 记录标准葡萄糖液的总耗量 ( $V_g$ )。

计算公式同上：式中  $V_G$  用  $V_G'$  表示。

$$V_G' = (V_G - V_g)$$

计算举例：

样品 4.3280g 溶于热水，放冷并定容至 25mL 取 1.5mL 于 10mL 具塞试管中 加 7.5mL 无水乙醇沉淀多糖，将沉淀物酸解后，调 pH 用水定容至 100mL。

测定	样液用量 /mL	葡萄糖液 加入量/mL	葡萄糖液回滴用量/mL					
			粗略	用量 1	用量 2	用量 3	平均	总耗量
预试	20		9.70					
正试	20	8.70		0.63	0.60	0.60	0.61	9.31

标准葡萄糖溶液的浓度为 1.0mg/mL, 10mL 碱性酒石酸铜液消耗标准葡萄糖溶液的体积为 10.90mL:

$$\text{粗多糖} = \frac{(10.90 - 9.31) \times 1.0 \times 100 \times 25}{4.3280 \times 20 \times 1.5 \times 1000} \times 0.9 \times 100\% = 2.75\%$$

## 7. 注释

(1) 保健食品中糖的种类很多，欲测定样品中多糖的含量，可先将样品溶于热水 后用 5 倍容量的无水乙醇将多糖沉淀，经离心分离后除去水溶性的单糖及低聚糖，再用热水冲洗沉淀物，重复沉淀 - 分离步骤 获得活性多糖。

分离后的多糖可用盐酸水解，过滤后用碱性酒石酸铜滴定法测定其还原糖含量，再换算成多糖含量。

用热水溶解多糖沉淀物，并用苯酚 - 硫酸法或蒽酮 - 硫酸法以葡萄糖为对照品用分光光度法测定。

(2) 为了减少实验误差，在操作时应严格遵守所规定的操作条件 注意热源强度(电炉功率)锥形瓶规格、加热时间、滴定速度的一致性。

(3) 保健食品中样液多为有色溶液，可采用回滴法。回滴法因标准糖溶液浓度是已知的，所以终点更容易控制，但在正式滴定前，一定要进行预测，以确定加入标准葡萄糖溶液的量，同时可以练习掌握操作条件。

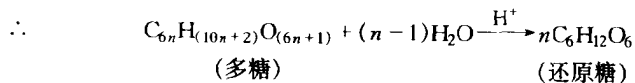
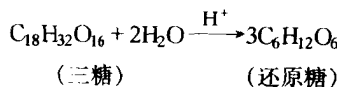
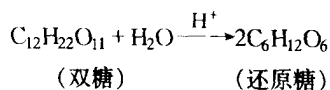
(4) 加热至沸后，用标准葡萄糖溶液滴定至终点时，标准液的用量必须控制在 0.5~1.0mL 之间，平行测定相差不超过 0.1mL，否则应再重复滴定。

(5) 亚甲蓝被糖还原为无色，表示终点到达，但与空气接触又可被氧化为蓝色，所以一定要保持在微沸状态下（防止空气进入）滴定。具体操作时可将石棉网中的石棉部分平放在电炉的一半位置，调节好酸式滴定管的高度，电炉先通电待温度恒定后才加热，并用烧瓶夹固定锥形瓶，置电炉上迅速加热至沸后再将锥形瓶移于另一半有石棉网的电炉上继续加热，这样可避免把锥形瓶从热源上取下，并保持在微沸状态下滴定，而且方便终点观察。

(6) 淀粉酶的水解具有专一性，它只水解淀粉而不会水解其它多糖，在淀粉酶的作用下，使淀粉水解成低分子糊精和麦芽糖，再在葡萄糖酶的作用下变成葡萄糖。酶的用量应根据酶活力而定。

(7) 脂肪的存在会妨碍酶对淀粉的作用及可溶性糖类的去除 故应用乙醚脱脂 如样品中脂肪含量较少 可省略此步。

(8) 多糖 - 还原糖换算系数  $F$  值之计算解释：



设：还原糖为  $A$  多糖为  $B$

解：含量 A 换算成含量 B 时

$$\begin{aligned} \frac{B}{A} &= \frac{C_{6n}H_{(10n+2)}O_{(5n+1)}}{nC_6H_{12}O_6} \\ B &= \frac{12 \times 6n + 1 \times (10n + 2) + 16 \times (5n + 1)}{n(12 \times 6 + 1 \times 12 + 16 \times 6)} \times A \\ &= \frac{72n + 10n + 2 + 80n + 16}{180n} \times A \\ &= \frac{162n + 18}{180n} \times A \\ \text{当 } n > 25 \text{ 时 } \left( \frac{162n + 18}{180n} \right) &\leq 0.9 \end{aligned}$$

## (二) 蒽酮比色法

本方法适用于保健食品中粗多糖的测定。

### 1. 方法提要

多糖经乙醇沉淀分离后，去除其他可溶性糖及杂质的干扰，糖与硫酸在沸水浴中加热脱水生成羟甲基呋喃甲醛（羟甲基糖醛），再与蒽酮缩合成蓝绿色化合物，其呈色强度与溶液中糖的浓度成正比。在 620nm 波长下比色定量。

### 2. 仪器

- (1) 离心机：4000r/min。
- (2) 离心瓶容量 100mL 或具盖 10mL 离心管。
- (3) 分光光度计。
- (4) 水浴锅。

### 3. 试剂

实验用水为双蒸水；所用试剂为分析纯级。

(1) 葡萄糖标准液：准确称取 1.0000g 经过 98~100 干燥至恒重的分析纯葡萄糖，加水溶解后以水稀释至 1000mL。此溶液 1mL 含 1mg 葡萄糖。用前稀释 10 倍 (0.1mg/mL) 现用现配。

(2) 0.2% 蒽酮硫酸溶液：称取 0.2g 蒽酮置于烧杯中，缓慢加入 100mL 浓硫酸 (分析纯) 溶解后呈黄色透明溶液。现用现配。

### 4. 测定步骤

(1) 样品处理：准确称取样品 1~2g 按上法用乙醇沉淀多糖（口服液与含淀粉类样品按碱性酒石酸铜法处理），然后用热水分次溶解沉淀并稀释定容至 100~250mL（使样液含糖量在 0.02~0.08mg/mL 间）过滤 弃去初滤液即为待测液。

(2) 标准曲线的绘制：准确吸取葡萄糖标准液（0.1mg/mL）0.0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL 于 10mL 具塞比色管中，加水至 1.0mL 加入蒽酮试剂 5mL 充分混匀，在沸水浴中加热 10min 取出在流水中冷却 20min 后 在 620nm 波长下 以试剂空白调零 测定各管的吸收值绘制标准曲线。

(3) 样品测定：准确吸取样品待测液 10mL（含糖 20~80 $\mu$ g）按标准曲线绘制步骤于 620nm 波长下测定吸光度值并求出样品含糖量。

## 5. 结果计算

$$\text{粗多糖} = \frac{m_1}{m \times 1000} \times F \times n \times 100\%$$

式中  $m_1$  —— 由标准曲线查得样品液含糖质量 (mg)；

$m$  —— 样品质量 (g)；

$n$  —— 稀释倍数；

$F$  —— 换算因子。

换算因子的测定：准确称取被测物质的纯品 20mg 置 100mL 容量瓶中，加蒸馏水溶解并稀释至刻度，吸取 0.2~0.4mL 于 10mL 具塞比色管中，加水至 1.0mL 按上法测定。从标准曲线中查出供试液中相当于标准葡萄糖的质量 (mg)。

$$F = \frac{m}{m_1 \times n}$$

式中  $m$  —— 多糖纯品的质量 (mg)；

$m_1$  —— 多糖纯品供试液中相当于标准葡萄糖的质量 (mg)；

$n$  —— 供试液的稀释倍数。

例：灵芝多糖纯品 22.4mg 用水溶解并定容至 100mL 取

0.4mL于10mL具塞比色管中加水至1.0mL按上法测定比色相当于标准葡萄糖0.0288mg:

$$F = \frac{22.4}{0.02888 \times 250} = 3.11$$

## 6. 注释

(1) 本方法线性范围在0.01~0.1mg/mL,线性方程为:

$$y = 0.0136 + 5.26x$$

(2) 蒽酮反应并非多糖之特异性反应,样液中的微量碳水化合物单糖、双糖、淀粉在此实验条件下均能与蒽酮显色所以对样液的纯度要求较高,样液必须清澈透明,加热后不应有沉淀,如样液色泽太深,可用活性炭脱色。

(3) 蒽酮反应颜色的深浅随温度条件和加温时间而变化,方法所用蒽酮试剂中硫酸的浓度(66%~99%)、取样液量(1~5mL)、蒽酮试剂用量(5~20mL)、沸水浴中反应时间(6~13min)这几个操作条件之间是有联系的。因此,采用此法控制反应条件很重要,否则会影响分析结果。

(4) 蒽酮试剂的质量等级较差会使标准零管的底色加深对比色灵敏度有一定影响,故可改用硫酸-苯酚比色法:

标准系列葡萄糖标液(0.1mg/mL)用量为0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL相当于糖质量0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10mg样品提取液适量相当于糖量0.02~0.08mg)各加水至2.0mL精制苯酚(50g/L)水溶液1.0mL在漩涡混合器中混合均匀,加浓硫酸5.0mL并于漩涡混合器中充分混合均匀,在沸水浴中加热2min,置于分光光度计485nm波长下比色测定。

附:

多糖的定义、构成及范围都较复杂本文所指的多糖是用作保健食品以及添加在保健食品中的植物或中草药及其提取液所含的植物多糖和真菌多糖。但因保健食品配方的特殊性,要从不同材料中提取活性多糖,就具有一定的难度由于多糖的活性与相对分子量、溶解度、黏度及结构有关,一般来说中相对分子质量的多糖活性大于高相对分子质量及低相对分子质量的多糖,现