

功能性食品及其加工技术丛书

功能性食品活性成分测定

马 莺 王 静 牛天娇 编著
吴谋成 主审



化学工业出版社
化学与应用化学出版中心

· 北 京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

功能性食品活性成分测定/ 马莺, 王静, 牛天娇编著.
北京: 化学工业出版社, 2005. 3
(功能性食品及其加工技术丛书)
ISBN 7-5025-6734-8

. 功... . 马... 王... 牛... . 疗效食品-
生物活性-化学成分-测定 . TS218

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 017396 号

功能性食品及其加工技术丛书
功能性食品活性成分测定
马 莺 王 静 牛天娇 编著
吴谋成 主审
责任编辑: 王蔚霞
文字编辑: 李姿娇
责任校对: 王素芹
封面设计: 郑小红

*

化学工业出版社 出版发行
化学与应用化学出版中心
(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)
发行电话: (010) 64982530
[http:// www. cip. com. cn](http://www.cip.com.cn)

*

新华书店北京发行所经销
北京云浩印刷有限责任公司印装
开本 850mm×1168mm 1/32 印张 11 字数 298 千字
2005 年 5 月第 1 版 2005 年 5 月北京第 1 次印刷
ISBN 7-5025-6734-8/ TS·256
定 价: 28.00 元

版权所有 违者必究
该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前 言

随着人们健康意识的提高，功能性食品方兴未艾，未来市场发展潜力巨大，蕴含无限商机。功能性食品中真正起生理作用的成分，称为生理活性成分，富含这些成分的物质则称为功能性食品基料或生理活性物质。显然，这些功能性食品基料或生理活性物质是生产功能性食品的关键。功能性食品的研究和开发经历了第 1 代、第 2 代，现在已经发展到第 3 代。第 3 代功能性食品与第 2 代功能性食品的根本区别就在于前者的功能因子清楚、结构明确、含量确定，而后者则往往未能搞清产品中起作用的成分与含量。目前功能性食品的种类很多，已经涵盖了食品的方方面面。业已确认的功能性食品基料包括以下 11 类。

(1) 活性多糖 抗肿瘤的多糖、调节免疫功能的多糖、调节血糖水平的多糖等。

(2) 功能性甜味料 功能性单糖、功能性低聚糖及多元糖醇等。

(3) 功能性油脂 ω -3 多不饱和脂肪酸、必需脂肪酸、复合脂质等。

(4) 氨基酸、肽与蛋白质 牛磺酸、酪蛋白磷肽、高 F 值低聚肽、乳铁蛋白、金属硫蛋白及免疫球蛋白等。

(5) 维生素 A、D、E、C 及 B 族维生素等。

(6) 矿物元素 常量矿物元素与微量活性元素等。

(7) 微生态调节剂 主要是乳酸菌类，尤其是双歧杆菌。

(8) 自由基清除剂 酶类与非酶类清除剂。

(9) 醇、酮、酚与酸类 黄酮类化合物、二十八醇、谷维素、茶多酚、L-肉碱及潘氨酸等。

(10) 低能量或无能量基料 油脂替代品与强力甜味剂等。

(11) 其他基料 褪黑素、皂苷、叶绿素等。

功能性食品的出现，标志着对于食品中关键组分关注的重点从追求大量的传统营养素开始转向微量的活性成分。由于活性成分普遍存在“微量”与“高效”的问题，应用常规的检测手段已经不能适应微量成分的测定。现代分析技术的发展将促进这个问题的圆满解决。

功能性食品中活性成分的定性、定量分析是功能性食品生产和管理的重要环节，同时对我国的功能性食品走向科学化、系列化、标准化和国际化也会起到积极的促进作用。基于此目的，本书编写组成员在多年工作的基础上，收集了大量国内外文献，结合我国目前功能性食品的生产 and 市场产品情况组织编写了本书，希望能够对从事功能性食品研究的教学和科研人员、生产企业的技术人员及产品质量监督管理人员的工作有所帮助。

本书编写分工如下：

第一章	活性多糖的测定	牛天娇
第二章	功能性低聚糖的测定	梁恒宇
第三章	糖醇类的测定	陈冬梅
第四章	多糖类的测定	张寒冰
第五章	活性脂的测定	刘国艳
第六章	维生素的测定	王丹
第七章	活性肽与活性蛋白质的测定	牛天娇
第八章	微量元素的测定	徐冲
第九章	其他生物活性物质的测定	马莺、王静

本书得以出版，要特别感谢华中农业大学吴谋成教授对全书进

行审定并提出了宝贵的意见，感谢上述各位作者在百忙中全力配合，以及有关同志在编审过程中为本书付出的辛勤劳动。

由于本书编写时间较紧，难免有不妥之处，请广大读者批评指正。

编著者

2004年9月

说 明

本书在编写过程中省略了一些食品分析中常用的术语和方法，为了便于读者了解和使用方便，特作简单说明。

(1) 使用的名词：有的名词太长，则采用习惯上通用的缩写或商品名称，如 EDTA 即为乙二胺四乙酸，EDTA-2Na 即为乙二胺四乙酸二钠。

(2) 水：除注明为普通水或自来水外，其余都为蒸馏水。在微量成分分析（如色谱分析、微量元素测定等）中一般均指不含有待测成分的重蒸水或去离子水。

(3) 水浴：除回收有机溶剂及注明温度外，其余均指 100 的沸水浴。

(4) 溶液：除有注明外，“溶液”或“液”均指水溶液。

(5) 检验方法中所使用的砝码、滴液管、容量瓶、刻度吸管以及分光光度计等均需按国家有关规定及规程进行校正。

(6) 在操作方法中所指的各种试剂，为简便起见，一般都不再标明浓度，可参照相应的手册配制。配制微量物质的标准溶液时，所用的试剂纯度应在分析纯以上，色谱分析用试剂要求色谱纯，不再注明；作为标定标准溶液浓度用的试剂纯度应为基准级或优级纯。

(7) 采样、样品制备和检验中的基本要求、结果分析及数据处理可参照有关章节。

(8) 使用的单位：我国法定计量单位。

(9) 溶液的浓度（或组成）有以下几种表示方法：物质的量浓度（简称浓度），表示单位体积溶液中含有溶质的物质的量，多以 mol/L 为单位；质量浓度（如以 g/mL 为单位），多用于溶质为固体、溶剂为液体的情况，也用于溶质、溶剂均为液体的情况，

表示单位体积溶液中含有溶质的质量； 体积分数，数值一般以百分数表示，一般用于溶质与溶剂均为液体的情况，为溶质体积与溶液体积之比，例如 50% 乙酸溶液表示 100mL 溶液中含有乙酸 50mL；在某些情况下，虽为液体与液体混合，但其中一种液体本身并非单一物质，例如，利用浓盐酸和水配制盐酸溶液的情况，浓盐酸不是单一物质，用体积分数就不合适，在这种情况下，用质量浓度比较合适，如 10% 盐酸溶液是指 100mL 该溶液中含有氯化氢 10g，而不是含浓盐酸 10mL； 也是用于溶质与溶剂均为液体的情况下，采用配制溶液时两种液体的体积比例表示，例如 1 : 4 硫酸是指 1 体积的浓硫酸与 4 体积的水相混合而成的溶液。

(10) 关于色谱柱的表示方法：如 Bondapak NH₂ 柱，3.9mm × 300mm，5μm，是指色谱柱内径为 3.9mm，柱长为 300mm，载体颗粒直径为 5μm。

目 录

第一章 活性多糖的测定	1
第一节 粗多糖的测定	1
一、粗多糖含量的直接测定	1
二、粗多糖含量的葡聚糖表示法	2
第二节 苯酚-硫酸法测定多糖	6
第三节 蒽酮-硫酸法测定多糖	8
第四节 碱性酒石酸铜溶液滴定法测定多糖	10
第五节 高效液相色谱法测定香菇多糖	12
第六节 间接碘量法测定槐耳多糖	14
第七节 分光光度法测定魔芋葡甘聚糖	16
第八节 高效液相色谱法测定魔芋葡甘露聚糖	18
第九节 碱量法测定壳聚糖的氨基	19
第十节 乙酰丙酮-对二甲基苯甲醛法测定壳聚糖	21
第十一节 高效液相色谱法测定壳聚糖	22
参考文献	24
第二章 功能性低聚糖的测定	25
第一节 高效液相色谱法测定低聚果糖	25
第二节 高效薄层色谱法测定低聚半乳糖	28
第三节 大豆低聚糖的测定	30
一、高效液相色谱法测定大豆低聚糖	30
二、气相色谱法测定大豆低聚糖	31
第四节 高效液相色谱法测定低聚木糖	34
第五节 高效液相色谱法测定低聚异麦芽糖	35
第六节 高效液相色谱法测定半乳甘露聚糖	37
第七节 高效液相色谱法测定低聚麦芽糖	39
第八节 高效液相色谱法测定低聚菊糖	41
第九节 低聚纤维糖的测定	42
一、高效液相色谱法测定低聚纤维糖	42

二、气相色谱法测定低聚纤维糖	44
第十节 高效液相色谱法测定异麦芽酮糖	47
第十一节 高效液相色谱法测定乳果糖	48
第十二节 薄层扫描法分析低聚乳果糖	49
第十三节 高效液相色谱法测定异构化乳糖	51
第十四节 海藻糖的测定	52
一、高效液相色谱法测定海藻糖	52
二、薄层色谱法测定海藻糖	54
三、酶-DNS (3,5-二硝基水杨酸) 比色法测定海藻糖	55
第十五节 反相高效液相色谱法测定龙胆低聚糖	57
第十六节 高效液相色谱-蒸发光散射检测器测定水苏糖	58
参考文献	60
第三章 糖醇类的测定	61
第一节 木糖醇的测定	61
一、气相色谱法测定木糖醇	61
二、胶束电动毛细管色谱法测定木糖醇	63
第二节 山梨糖醇的测定	64
一、滴定法测定山梨糖醇	64
二、山梨糖醇脱氢酶法测定山梨糖醇	66
三、气相色谱法测定山梨糖醇和甘露糖醇	67
第三节 赤藓糖醇的测定	70
一、高碘酸氧化法测定赤藓糖醇	70
二、高效液相色谱法测定赤藓糖醇	72
第四节 乳糖醇的测定	73
一、高效液相色谱-蒸发光散射检测器测定乳糖醇	73
二、高效液相色谱-示差折光检测器测定乳糖醇	74
第五节 高效液相色谱法测定蔗糖、葡萄糖、果糖、麦芽糖醇和 山梨糖醇	75
第六节 高效液相色谱法测定异麦芽酮糖醇	78
第七节 气相色谱法测定甘露糖醇、山梨糖醇及麦芽糖醇	79
第八节 高效液相色谱法测定木糖醇、阿拉伯醇、卫矛醇、甘露醇、 山梨醇	81
参考文献	83

第四章 多糖类的测定	84
第一节 果胶的测定	84
一、果胶的鉴定	84
二、重量法测定果胶	87
三、分光光度法测定果胶	89
四、3,5-二甲苯酚分光光度法测定果胶	91
第二节 膳食纤维的测定	92
一、酸碱醇醚处理法测定粗纤维素	92
二、酸性洗涤剂法测定粗纤维素	94
三、重铬酸钾-碘量法测定纤维素	95
四、不溶性膳食纤维的测定	97
五、酶-重量法测定膳食纤维	100
第三节 褐藻胶的测定	103
一、薄层色谱法测定褐藻胶	103
二、分光光度法测定褐藻胶	105
三、气相色谱法测定褐藻胶	107
第四节 抗性淀粉的测定	109
第五节 瓜尔豆胶的鉴定	111
第六节 阿拉伯胶的鉴定	113
第七节 槐豆胶的鉴定	114
第八节 高效液相色谱法测定菊糖	116
第九节 罗望子胶的鉴定	117
第十节 亚麻籽胶的鉴定	118
参考文献	118
第五章 活性脂的测定	119
第一节 气相色谱法测定亚油酸	119
第二节 气相色谱法测定亚油酸和 9 <i>c</i> ,11 <i>t</i> -共轭亚油酸	121
第三节 γ -亚麻酸的测定	124
一、高效液相色谱测定 γ -亚麻酸	124
二、气相色谱法测定 γ -亚麻酸	126
第四节 气相色谱法测定亚油酸和 γ -亚麻酸	128
第五节 高效液相色谱法测定 γ -亚麻酸、亚油酸、油酸	130
第六节 气相色谱法测定多不饱和脂肪酸	132
第七节 高效液相色谱法测定王浆酸	134

第八节	气相色谱法测定花生四烯酸	136
第九节	大豆磷脂的测定	137
第十节	卵磷脂的测定	139
	一、薄层扫描法测定卵磷脂	139
	二、高效液相色谱法测定卵磷脂	141
第十一节	高效液相色谱法测定大豆磷脂中的卵磷脂、脑磷脂、 肌醇磷脂	142
	参考文献	144
第六章	维生素的测定	145
第一节	维生素 A 的测定	145
	一、紫外分光光度法测定维生素 A	146
	二、荧光分析法测定维生素 A	148
第二节	三氯化锑比色法测定维生素 D	150
第三节	荧光法测定维生素 E	152
第四节	胡萝卜素的测定	154
第五节	荧光法测定维生素 B ₁	158
第六节	维生素 B ₂ 的测定	161
	一、荧光光度法测定维生素 B ₂	161
	二、高效液相色谱法测定维生素 B ₂	164
第七节	维生素 B ₆ 的测定	165
	一、气相色谱法测定维生素 B ₆	165
	二、高效液相色谱法测定维生素 B ₆	166
第八节	烟酸的测定	167
	一、气相色谱法测定烟酸	167
	二、高效液相色谱法测定烟酸和烟酰胺	169
第九节	荧光分光光度法测定叶酸	171
第十节	比色法测定泛酸	173
第十一节	维生素 C 的测定	175
	一、荧光分光光度法测定维生素 C	175
	二、高效液相色谱法测定维生素 C	179
第十二节	离子交换色谱法测定维生素 B ₁₂	179
第十三节	高效液相色谱法测定维生素 A 和维生素 E	181
第十四节	高效液相色谱-库仑电化学检测法测定多种脂溶性 维生素	183

第十五节	高效液相色谱法同时测定 4 种水溶性维生素	184
第十六节	高效液相色谱法测定维生素 B ₁ 和维生素 B ₂	186
参考文献	189
第七章	活性肽与活性蛋白质的测定	190
第一节	循环法测定总谷胱甘肽	190
第二节	血清 γ -球蛋白的盐析测定法	193
第三节	免疫球蛋白的测定	195
一、	免疫电泳法测定免疫球蛋白	195
二、	高效亲和色谱测定免疫球蛋白 IgG	197
第四节	ELISA 法测定肉制品中的大豆蛋白	198
第五节	酪蛋白磷酸肽的测定	201
一、	直接定磷法测定酪蛋白磷酸肽	201
二、	DS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 法测定酪蛋白磷酸肽	202
三、	毛细管区带电泳测定酪蛋白磷酸肽	204
第六节	乳铁蛋白的测定	206
一、	辐射状免疫扩散 (RID) 技术测定牛初乳中乳铁蛋白的浓度	206
二、	高效液相色谱法测定牛初乳中乳铁蛋白的总含量	208
第七节	高 <i>F</i> 值低聚肽的测定	209
参考文献	210
第八章	微量元素的测定	211
第一节	铁的测定	211
一、	硫酸氢盐比色法测定铁	211
二、	邻菲罗啉比色法测定铁	213
第二节	钙的测定	214
一、	高锰酸钾滴定法测定钙	214
二、	火焰原子吸收分光光度法测定铁和钙	216
第三节	铬的测定	218
一、	二苯氨基脲比色法测定铬	218
二、	原子吸收分光光度法测定铬	220
第四节	硒的测定	221
一、	3,3'-二氨基联苯胺比色法测定硒	221
二、	荧光分光光度法测定硒	223

第五节 锌的测定	225
一、双硫脲比色法测定锌	225
二、原子吸收分光光度法测定锌	227
第六节 微量元素的测定	229
一、原子吸收分光光度法测定微量元素	229
二、等离子发射光谱法测定食品中的微量元素	235
参考文献	237
第九章 其他生物活性物质的测定	239
第一节 气相色谱法测定高级烷醇	239
第二节 比色法测定大豆总皂苷	241
第三节 高效液相色谱法测定腺苷	243
第四节 绞股蓝皂苷的测定	245
第五节 人参皂苷的测定	248
一、比色法测定人参皂苷的含量	248
二、高效液相色谱法测定西洋参中的人参皂苷 Rb ₁	250
第六节 黄酮类化合物的测定	252
一、高效液相色谱法测定黄酮类化合物	252
二、分光光度法测定黄酮类化合物	253
第七节 芦丁的测定	255
一、反相高效液相色谱法测定芦丁	255
二、高效液相色谱化学发光抑制检测法测定芸香苷	256
第八节 茶多酚的测定	258
一、酒石酸亚铁比色法测定茶多酚的含量	258
二、原子吸收分光光度法测定茶多酚的含量	259
三、微波加热快速测定茶叶中的茶多酚	260
第九节 儿茶素的测定	262
一、高效液相色谱法测定茶多酚中的儿茶素	262
二、反相高效液相色谱法测定儿茶素	264
第十节 水果及蔬菜中酚酸的测定	265
第十一节 阿魏酸的测定	268
一、紫外分光光度法测定阿魏酸	268
二、高效液相色谱法测定阿魏酸	269
三、薄层扫描法测定阿魏酸	271
四、毛细管电泳法测定阿魏酸	273

第十二节	超氧化物歧化酶的测定	274
第十三节	姜黄素的测定	276
一、	荧光分光光度法测定姜黄素	276
二、	反相高效液相色谱法测定姜黄素	278
三、	薄层扫描法测定姜黄素	279
第十四节	生育三烯酚的测定	280
第十五节	芝麻素的测定	282
第十六节	高效液相色谱法测定褪黑素	284
第十七节	角鲨烯的测定	285
一、	气相色谱法测定角鲨烯	285
二、	高效液相色谱法测定角鲨烯	286
第十八节	番茄红素的测定	288
一、	高效液相色谱法测定番茄红素	288
二、	紫外分光光度法测定番茄红素	289
第十九节	大蒜素的测定	291
一、	气相色谱法测定大蒜素	291
二、	重量法测定鲜蒜中的大蒜素	292
第二十节	虾青素的测定	294
一、	分光光度法测定红发夫酵母中的虾青素	294
二、	高效液相色谱法测定虾青素	295
第二十一节	高效液相色谱法测定甘草苷	297
第二十二节	植酸的测定	298
一、	钼盐滴定法测定植酸	298
二、	钼蓝比色法测定植酸	300
三、	间接滴定法测定植酸	301
第二十三节	核苷酸的测定	302
第二十四节	1,6-二磷酸果糖的测定	304
一、	发酵液中1,6-二磷酸果糖的测定	304
二、	酶法测定1,6-二磷酸果糖	306
第二十五节	麦角甾苷的测定	308
第二十六节	洛伐他汀的测定	309
一、	分光光度法测定洛伐他汀	309
二、	薄层色谱法测定洛伐他汀	311
三、	高效液相色谱法测定洛伐他汀	312
第二十七节	高效液相色谱法测定熊去氧胆酸	314

第二十八节	分光光度法测定氯化高铁血红素	315
第二十九节	高效液相色谱法测定胆甾醇	317
第三十节	植物甾醇的测定	319
第三十一节	高效液相色谱法测定核苷类化合物	321
第三十二节	高效液相色谱法测定去氢表雄酮	323
第三十三节	高效液相色谱法测定甘草酸	324
第三十四节	高效液相色谱法测定反式白藜芦醇	326
第三十五节	分光光度法测定原花色素	328
第三十六节	高效液相色谱法测定三尖杉酯碱	330
第三十七节	分光光度法测定绿藻精	331
第三十八节	高效液相色谱法测定芦荟苷	332
第三十九节	高效液相色谱法测定异秦皮啶	334
第四十节	高效液相色谱法测定红景天苷	335
第四十一节	牛磺酸的测定	336
一、	高效液相色谱法测定食品中的牛磺酸	336
二、	荧光法测定食物中的牛磺酸	338
参考文献	340

第一章

活性多糖的测定

自然界中的活性多糖（polysaccharide）化合物包括植物多糖、动物多糖以及微生物多糖。目前从天然产物中提取分离出来的活性多糖已达 300 多种，其中以植物多糖和微生物多糖中的水溶性多糖最为重要。多糖最初是以它对免疫系统有重要调节作用而引起人们的注意的。从 20 世纪 60 年代开始，科学工作者逐渐发现多糖类化合物还具有抗肿瘤、抗衰老、抗感染、降血糖血脂、治疗艾滋病等方面的生物活性。近年来，又发现多糖的糖链在控制细胞的分裂和分化、调节细胞的生长和衰老等方面起着决定性作用。多糖已逐渐显示出越来越广泛的应用前景。

活性多糖有些是以单纯碳水化合物的结构形态存在，有些则以共价键与脂质、肽类或蛋白质结合。自然界中的活性多糖大部分是以共价键与脂质、肽类或蛋白质结合态存在的复合物。因此，活性多糖的含量可直接以活性多糖的复合物的含量作为粗多糖含量来表示，也可用葡聚糖的质量表示样品中粗多糖的含量。

第一节 粗多糖的测定

一、粗多糖含量的直接测定

1. 原理

相对分子质量大于 10000 的高分子物质经 80% 乙醇多次沉淀纯化后，以沉淀来计算样品中粗多糖的含量。

2. 仪器

(1) 旋转混匀器；

- (2) 离心机;
- (3) 恒温水浴锅。

3. 试剂

80%乙醇: 800mL 无水乙醇加水 200mL。

4. 操作方法

称取混合均匀的固体样品 1.000g, 置于经真空干燥并恒重过的 50mL 离心管中, 加入 80%乙醇 20mL, 在旋转混匀器中混匀 5~10min 后, 以 3000r/min 离心 5min, 弃去上清液。残渣用 80%乙醇反复操作 3~4 次。将 50mL 离心管及残渣经真空干燥后, 置于干燥器中, 冷却至室温后称重。按式 (1-1) 计算样品中粗多糖的含量。

5. 结果计算

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m} \quad (1-1)$$

式中 W ——样品中粗多糖的含量 (以葡聚糖计), mg/g;
 m_1 ——50mL 离心管及残渣经真空干燥后的质量, mg;
 m_2 ——50mL 离心管经真空干燥后的质量, mg;
 m ——样品质量, g。

二、粗多糖含量的葡聚糖表示法

1. 原理

相对分子质量大于 10000 的高分子物质经 80%乙醇沉淀后, 与水溶性单糖和低聚糖分离, 加入碱性铜试剂, 选择性地从这些高分子物质中沉淀出葡聚糖。沉淀部分与苯酚-硫酸发生显色反应, 生成橙红色物质, 在 485nm 条件下, 该物质的吸光度值与葡聚糖浓度成正比, 以此计算样品中粗多糖的含量。

2. 仪器

- (1) 分光光度计;
- (2) 离心机;
- (3) 旋转混匀器;