

# 3种测定广式酱油中总糖含量的方法比较

黄华丹<sup>1</sup>, 阚启鑫<sup>1</sup>, 张乐宜<sup>1</sup>, 袁铭<sup>1</sup>, 邓广牒<sup>2</sup>, 曹庸<sup>1</sup>, 张灵芬<sup>3</sup>, 董修涛<sup>3</sup>, 贺丽苹<sup>1,4\*</sup>

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642) (2. 广东省储备粮管理总公司顺德直属库, 广东佛山 528309)  
(3. 广东厨邦食品有限公司, 广东中山 529800) (4. 华南农业大学测试中心, 广东广州 510642)

**摘要:** 该研究通过比较直接滴定法、苯酚硫酸法、蒽酮硫酸法 3 种方法测定广式酱油总糖含量的差异, 并对这 3 种方法进行方法学验证, 以期筛选出一种适合广式酱油总糖含量测定的方法。结果显示, 直接滴定法、苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法分别在 0.50~8.00、0.00~0.08 和 0.00~0.08 mg/mL 范围内线性关系良好。直接滴定法、苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法的精密度试验的 RSD 值分别为 1.07%、0.05%、0.05%, 重现性试验的 RSD 值分别为 0.88%、3.93%、3.24%, 直接滴定法在 24 h 内显色稳定, 苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法在 1 h 内显色稳定。而在加标回收率试验中, 蒽酮硫酸法的平均加标回收率较高, 为 168.04%, RSD 值为 2.97%, 直接滴定法的平均加标回收率为 104.67%, RSD 值为 2.07%, 苯酚硫酸法的平均加标回收率为 103.85%, 但其 RSD 值为 8.04%, 蒽酮硫酸法测定酱油总糖含量的准确度低于其他两种方法。因此, 直接滴定法和苯酚硫酸法的精密度、重现性、稳定性良好, 理论上均具有可行性, 蒽酮硫酸法不适合用于广式酱油总糖含量的测定。酱油中总糖含量是反映酱油品质的基本指标之一, 筛选出适合酱油总糖含量的检测方法, 对实际酱油生产监控和产品加工过程的品质控制都有重要意义, 同时也为酱油总糖含量测定方法标准的制定提供一定的实验参考。

**关键词:** 酱油; 总糖; 直接滴定法; 苯酚硫酸法; 蒽酮硫酸法

文章编号: 1673-9078(2024)07-296-304

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.7.0717

## Comparison of Three Methods for the Determination of Total Sugar Content in Cantonese Soy Sauce

HUANG Huadan<sup>1</sup>, KAN Qixin<sup>1</sup>, ZHANG Leyi<sup>1</sup>, YUAN Ming<sup>1</sup>, DENG Guangdie<sup>2</sup>,

CAO Yong<sup>1</sup>, ZHANG Lingfen<sup>3</sup>, DONG Xiutao<sup>3</sup>, HE Liping<sup>1,4\*</sup>

(1.College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

(2.Guangdong Provincial Grain Reserve Management Corporation Shunde Directly Subordinated Warehouse,

Foshan 528309, China) (3.Guangdong Chubang Foods Co. Ltd., Zhongshan 529800, China)

(4.Instrumental Analysis & Research Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** In this study, the differences in the total sugar content of Cantonese soy sauce determined by three methods, the direct titration method, phenol-sulfuric method and anthrone-sulfuric acid method were compared, and the three methods were

引文格式:

黄华丹, 阚启鑫, 张乐宜, 等. 3种测定广式酱油中总糖含量的方法比较[J]. 现代食品科技, 2024, 40(7): 296-304.

HUANG Huadan, KAN Qixin, ZHANG Leyi, et al. Comparison of three methods for the determination of total sugar content in cantonese soy sauce [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(7): 296-304.

收稿日期: 2023-06-13

基金项目: 广东省功能食品活性物重点实验室资助项目 (2018B030322010)

作者简介: 黄华丹 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品检测分析, E-mail: 2021ddd@stu.scau.edu.cn

通讯作者: 贺丽苹 (1965-), 女, 博士, 正高级实验师, 研究方向: 食品质量与安全、环境与生物分析化学、分析检测技术, E-mail: heliping@scau.edu.cn

verified by the methodological approach, in order to screen out a suitable method for the determination of the total sugar content in the Cantonese soy sauce. The results showed that the direct titration method, phenol-sulfuric acid method and anthrone-sulfuric acid method had good linearity in the concentration range of 0.50~8.00 mg/mL, 0.00~0.08 mg/mL and 0.00~0.08 mg/mL, respectively, with their RSD values of the precision test being 1.07%, 0.05% and 0.05%, respectively, and their RSD values of the reproducibility test being 0.88%, 3.93% and 3.24%, respectively. The color developed was stable within 24 h for the direct titration, and within 1 h for both the phenol-sulfuric acid and anthrone-sulfuric acid methods. In the spike-recovery experiments, the anthrone-sulfuric acid method led to an average recovery of 168.04% with an RSD value of 2.97%, whilst The direct titration method resulted in an average recovery of 104.67% with an RSD value of 2.07%. The phenol-sulfuric acid method showed an average recovery of 103.85% but had a higher RSD value of 8.04%. The accuracy of the anthrone-sulfuric acid method was lower than the other two methods. Therefore, the direct titration method and the phenol-sulfuric acid method have good precision, reproducibility and stability, thus, both are theoretically feasible. The anthrone-sulfuric acid method is not suitable for the determination of total sugar content in Cantonese soy sauce. The total sugar content in soy sauce is one of the basic indicators to reflect the quality of soy sauce. Selecting a suitable detection method for the total sugar content in soy sauce is of great significance for the actual soy sauce production monitoring and product quality control during processing, and also provides a certain experimental reference for the development of the determination method standard for the total sugar content in soy sauce.

**Key words:** soy sauce; total sugar; direct titration method; phenol-sulfuric acid method; anthrone-sulfuric acid method

广式酱油是中国传统酿造酱油的一个重要流派,其生产原料主要包括淀粉质原料、蛋白质原料、种曲、食盐、水以及其他调配辅料,常见发酵工艺为高盐稀态发酵法<sup>[1,2]</sup>。在酱油发酵过程中,通过微生物和酶的作用下,将原料中的大分子物质转化为小分子成分,其中蛋白质主要分解为氨基酸和小分子肽,淀粉质经酶促作用下分解成糊精类、单糖类、双糖类等糖类物质<sup>[3,4]</sup>。糖类物质是酱油甜味的重要来源,还原糖与氨基酸发生美拉德反应产生风味物质和焦糖色素,还参与酒精发酵、乳酸发酵生成酱油中醇类、酸类、酯类等香气成分,这说明糖类物质对酱油色香味体的形成有重要作用,因此,酱油中总糖含量是反映酱油品质的基本指标之一<sup>[5,6]</sup>。

广式酱油的糖类物质组成比较复杂,与其生产原料和发酵方式有关。许瑜<sup>[7]</sup>采用高效液相色谱法对酱油中糖组成及含量进行分析,共检测出包括阿拉伯糖、核糖、麦芽糖、棉子糖、木糖、半乳糖、甘露糖、葡萄糖和乳糖 9 种糖,其中木糖、半乳糖、甘露糖和葡萄糖含量相对较高。李仁勇等<sup>[8]</sup>采用离子色谱-脉冲安培法测定酱油中糖组成,结果显示,酱油中蔗糖、葡萄糖含量最高。朱松等<sup>[9]</sup>采用高效阴离子交换色谱法检测酱油中单糖及双糖的组成,结果显示酱油中糖组成主要包括阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、蔗糖、木糖、甘露糖和果糖。酱油的总糖测定既包含了葡萄糖等还原糖,也包含了蔗糖等非还原糖。

总糖有很多测定方法,包括比色法、滴定法、质谱法等<sup>[10-12]</sup>,不同测定方法的原理和适用范围各不相同。比色法具有简单易行、成本低等特点,常用的方法为苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法。苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法的原理相似,均是利用多糖和浓硫酸反应生成有色化合物,再用比色法进行测定,广泛应用于食品、药品、植物等多糖含量的测定<sup>[13,14]</sup>。方杰等<sup>[15]</sup>通过比较苯酚硫酸法、蒽酮硫酸法和 DNS 法这三种方法测定红曲茯苓片的多糖含量的差异,结果显示苯酚硫酸法显色稳定,重现性好,回收率高,更适用于其多糖含量测定。滴定法多用于样品中还原糖含量的测定,也可测定样品总糖,一般通过酸水解法使样品中的非还原性的双糖和多糖水解成还原性单糖,然后测定还原糖的含量,以此作为样品总糖的含量<sup>[16,17]</sup>。滴定法适用于各种加工制成食品中多糖含量的检测,如肉制品、果脯蜜饯、酒类等中的总糖含量<sup>[18-20]</sup>。杨菊芬<sup>[21]</sup>采用直接滴定法结合酸水解测定葡萄酒的总糖含量,测定结果精密度相对高,重现性好。质谱法更适用于对单糖的具体含量进行测定及多糖分子量分布,多用于糖类的定性和定量分析,但仪器价格昂贵、操作较为繁琐,不适用粗多糖含量快速测定<sup>[12,22]</sup>。

当前文献报道酱油总糖含量测定方法主要有蒽酮硫酸法<sup>[23]</sup>、苯酚硫酸法<sup>[7,24,25]</sup>以及直接滴定法<sup>[26,27]</sup>,但由于酱油中糖组成较为复杂,目前尚无统一的酱油总糖测定标准方法,鉴于此,本研究以广式酱油为研究对象,采用直接滴定法、苯酚硫酸法和蒽酮

硫酸法 3 种方法测定酱油中的总糖含量, 明确其方法精准检测的线性范围, 精密度、重现性、稳定性, 筛选出适合酱油中总糖检测方法, 对实际酱油生产监控和产品加工中品质控制都有重要意义。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

酱油, 广东厨邦食品有限公司; 无水葡萄糖、亚铁氰化钾(分析纯), 天津市福晨化学试剂厂; 亚甲基蓝、酒石酸钾钠、氢氧化钠、乙酸锌、甲基红(分析纯), 天津市大茂化学试剂厂; 盐酸、硫酸(分析纯), 广州化学试剂厂; 硫酸铜(分析纯), 天津市百世化工有限公司; 苯酚、冰乙酸(分析纯), 天津市嘉宇精细化工有限公司; 蒽酮(分析纯), 上海麦克林生化科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

ME204 电子分析天平, 梅特勒托利多仪器有限公司; 电热恒温干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; UV-1750 型紫外可见分光光度计, 岛津仪器有限公司; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市予华仪器有限责任公司; 酸式滴定管, 博美(永清)玻璃有限公司; 九阳 H22-X3 电陶炉, 九阳股份有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 直接滴定法测定酱油总糖含量

##### 1.3.1.1 试剂配制

参照《GB 5009.7-2016 食品安全国家标准 食品中还原糖的测定》<sup>[28]</sup> 配制所需试剂: 1.0 mg/mL 葡萄糖标准溶液、6 mol/L 盐酸溶液、碱性酒石酸铜甲液: 称取硫酸铜 15 g 和亚甲蓝 0.05 g, 溶于水中并稀释至 1 000 mL、碱性酒石酸铜乙液: 称取酒石酸钾钠 50 g 和氢氧化钠 75 g, 溶于水中, 再加入亚铁氰化钾 4 g, 用水定容至 1 000 mL、219.0 g/L 乙酸锌溶液、106.0 g/L 亚铁氰化钾溶液、200.0 g/L 氢氧化钠溶液、1.0 g/L 甲基红指示液。

##### 1.3.1.2 试样制备

准确称取一定质量的酱油样品置于 50 mL 容量瓶中, 加入 5.0 mL 6 mol/L 的盐酸溶液, 在 68~70 °C 水浴中加热 15 min 对样品进行酸水解, 冷却后用 200 g/L 氢氧化钠溶液中和至中性, 加水至刻度, 即得样品处理液。然后取适量的样品处理液于 100 mL

容量瓶, 分别加入 5 mL 106.0 g/L 亚铁氰化钾和 5 mL 219.0 g/L 乙酸锌溶液, 加水至刻度, 混匀后静置 30 min, 过滤后取滤液备用。

##### 1.3.1.3 标定碱性酒石酸铜溶液

先吸取碱性酒石酸铜甲液和碱性酒石酸铜乙液各 5.0 mL 及 10.0 mL 水于锥形瓶中, 然后从滴定管中加约 9.0 mL 1.0 mg/mL 葡萄糖标准溶液, 在 2 min 内使碱性酒石酸铜溶液沸腾, 趁热于锥形瓶中滴加葡萄糖标准溶液, 直至溶液蓝色刚好褪去, 记录消耗葡萄糖总体积, 计算每 10.0 mL 碱性酒石酸铜溶液相当于葡萄糖的质量。

##### 1.3.1.4 线性关系考察

制备 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/mL 葡萄糖标准溶液。按“1.3.1.3”项下方法进行测定, 以待测葡萄糖标准溶液质量浓度(mg/mL)为横坐标, 以消耗的溶液体积的倒数为纵坐标, 绘制标准曲线。

##### 1.3.1.5 试样溶液测定

按“1.3.1.3”项下方法对样液进行测定, 记录样品溶液消耗体积。

##### 1.3.1.6 结果计算

酱油样品中总糖含量(以葡萄糖计)计算公式如下:

$$X = \frac{m_1}{m \times \frac{V}{250}} \times 100 \quad (1)$$

式中:

$X$ ——试样中总糖的含量(以葡萄糖计), g/100 g;

$m_1$ ——碱性酒石酸铜溶液(甲、乙液各半)相当于葡萄糖的质量, mg;

$m$ ——试样质量, g;

$V$ ——测定时平均消耗试样溶液体积, mL;

250——定容体积, mL;

1 000——换算系数。

#### 1.3.2 苯酚硫酸法测定酱油总糖含量

##### 1.3.2.1 试剂配制

参照《GB/T 15672-2009 食用菌中总糖含量的测定》<sup>[29]</sup> 配制所需试剂: 50.0 g/L 苯酚溶液、1.0 mg/mL 葡萄糖标准溶液。

##### 1.3.2.2 最大吸收波长确定

取葡萄糖标准溶液和酱油样品稀释液各 1.0 mL 置于 10.0 mL 比色管中, 加入 1.0 mL 50.0 g/L 苯酚溶液, 然后快速加入 5.0 mL 浓硫酸, 静置 10 min。

再将比色管置于 85 °C 水浴中反应 20 min。以等量蒸馏水按以上步骤操作，作为试剂空白。显色后，以试剂空白为参比，分别将葡萄糖标准溶液和酱油样品稀释液于 400~800 nm 范围内扫描，确定其最大吸收波长。

### 1.3.2.3 线性关系考察

分别吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8 mL 的葡萄糖标准溶液至比色管中，用蒸馏水补至 1.0 mL。按“1.3.2.2”项下方法进行测定。然后以葡萄糖质量浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，制定标准曲线。

### 1.3.2.4 样品含量测定

取适当倍数稀释后的酱油样品溶液 1.0 mL 置于 10.0 mL 比色管中，按“1.3.2.2”项下方法测定，再由稀释倍数换算出酱油样品的总糖含量。

## 1.3.3 蒽酮硫酸法测定酱油总糖含量

### 1.3.3.1 试剂配制

参考文献<sup>[30]</sup>中方法配制所需试剂：0.2 mg/mL 蒽酮硫酸溶液、1.0 mg/mL 葡萄糖标准溶液。

### 1.3.3.2 最大吸收波长确定

取葡萄糖标准溶液和酱油样品稀释液各 1.0 mL 置于比色管中，加入 5.0 mL 0.2 mg/mL 蒽酮硫酸溶液，混匀后于 90 °C 水浴中加热 15 min 后冷却 10 min。以等量蒸馏水按以上步骤操作，作为试剂空白。显色后，以试剂空白为参比，分别将葡萄糖标准溶液和酱油样品稀释液于 500~900 nm 范围内扫描，确定其最大吸收波长。

### 1.3.3.3 线性关系考察

分别吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8 mL 的葡萄糖标准溶液至比色管中，用蒸馏水补至 1.0 mL。按“1.3.3.2”项下方法进行测定。然后以葡萄糖质量浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，制定标准曲线。

### 1.3.3.4 样品含量测定

取适当倍数稀释后的酱油样品溶液 1 mL 置于比色管中，按“1.3.3.2”项下方法测定，再由稀释倍数换算出酱油样品的总糖含量。

## 1.3.4 方法学考察

取酱油样品稀释液，按照上述各总糖测定方法，分别依次进行各方法的精密度、稳定性、重现性以及加样回收率考察。

## 1.4 数据处理与分析

表格采用 Excel 2019 绘制，绘图采用 Origin 2021 软件，数据处理采用 SPSS 26.0 软件包。

## 2 结果与分析

### 2.1 苯酚硫酸法与蒽酮硫酸法最大吸收波长确定

#### 2.1.1 苯酚硫酸法

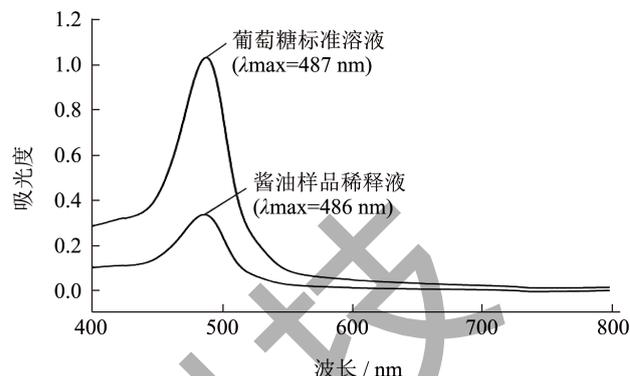


图 1 苯酚硫酸法测定葡萄糖标准溶液和酱油样品稀释液的吸收曲线

Fig.1 Determination of absorption curves of glucose standard solution and soy sauce sample diluent by phenol-sulfuric acid method

葡萄糖标准溶液和酱油样品稀释液经苯酚硫酸法显色后，于 400~800 nm 范围内扫描，紫外扫描图谱如图 1 所示。扫描结果显示，葡萄糖标准溶液在 487 nm 处有最大吸收，酱油样品稀释液在 486 nm 处有最大吸收，本实验中选择 486 nm 为测定波长。

#### 2.1.2 蒽酮硫酸法

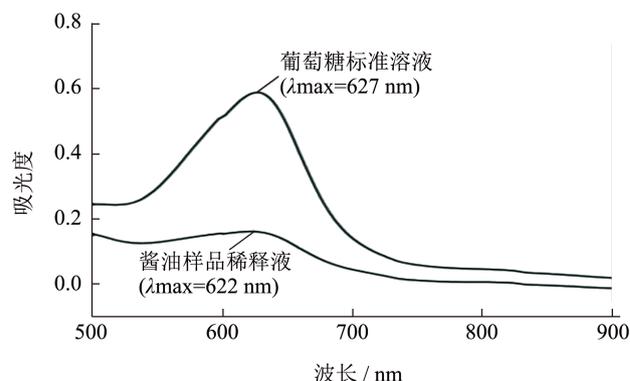


图 2 蒽酮硫酸法测定葡萄糖标准溶液和酱油样品稀释液的吸收曲线

Fig.2 Determination of absorption curves of glucose standard solution and soy sauce sample diluent by anthrone-sulfuric acid method

葡萄糖标准溶液和酱油样品稀释液经蒽酮硫酸法显色后，于 500~900 nm 范围内扫描，紫外扫描

图谱如图 2 所示。扫描结果显示,葡萄糖标准溶液在 627 nm 处有最大吸收,酱油样品稀释液在 622 nm 处有最大吸收,本实验中选择 622 nm 为测定波长。

## 2.2 线性关系考察

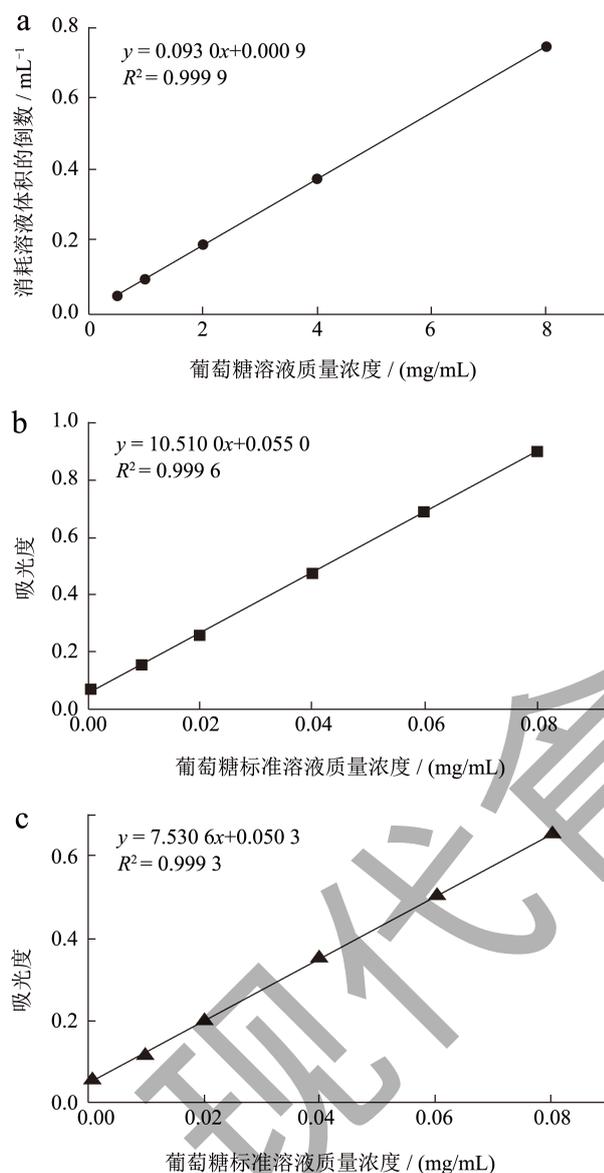


图 3 3 种方法的标准曲线

Fig.3 Standard curves for the three methods

注:(a)直接滴定法;(b)苯酚硫酸法;(c)蒽酮硫酸法。

直接滴定法、苯酚硫酸法、蒽酮硫酸法 3 种方法的标准曲线如图 3 所示。结果显示,直接滴定法、苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法分别在 0.50~8.00、0.00~0.08 和 0.00~0.08 mg/mL 质量浓度范围内线性关系良好,其中直接滴定法的线性回归方程为

$y=0.0930x+0.0009$ , 相关系数  $R^2$  为 0.9999; 苯酚硫酸法的线性回归方程为  $y=10.510x+0.0550$ , 相关系数  $R^2$  为 0.9996; 蒽酮硫酸法的线性回归方程为  $y=7.5306x+0.0503$ , 相关系数  $R^2$  为 0.9993。

## 2.3 精密度考察

吸取 6 份同一酱油样品处理液或稀释液,按照上述的 3 种方法测定,计算酱油总糖含量及相对标准偏差 RSD 值,实验结果见表 1。结果表明,直接滴定法、苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法的 RSD 分别为 1.07%、0.05%、0.05%,直接滴定法的 RSD 值略大于苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法的 RSD 值,RSD 均小于 5.0%,说明这 3 种方法的精密度良好,苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法的精密度略优于直接滴定法。

表 1 精密度试验结果

Table 1 The results of precision experiments ( $n=6$ )

方法	酱油总糖含量/(g/100 g)						平均值 (g/100 g)	RSD /%
	1	2	3	4	5	6		
直接滴定法	2.46	2.51	2.48	2.46	2.48	2.43	2.47	1.07
苯酚硫酸法	1.92	1.92	1.92	1.92	1.92	1.92	1.92	0.05
蒽酮硫酸法	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	0.05

## 2.4 重现性考察

精确称取酱油样品 6 份,按照上述 3 种方法进行处理,测定酱油的总糖含量,计算其相对标准偏差 RSD 值,实验结果见表 2。结果表明,直接滴定法、苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法的 RSD 分别为 0.88%、3.93%、3.24%,直接滴定法的 RSD 值略小于苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法的 RSD 值,RSD 均小于 5.0%,说明这 3 种方法的重现性良好,直接滴定法的重现性优于苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法。

表 2 重现性试验结果

Table 2 The results of reproducibility experiments ( $n=6$ )

方法	酱油总糖含量/(g/100 g)						平均值 (g/100 g)	RSD /%
	1	2	3	4	5	6		
直接滴定法	2.48	2.51	2.48	2.53	2.53	2.50	2.50	0.88
苯酚硫酸法	1.91	1.92	1.96	1.78	1.99	1.98	1.92	3.93
蒽酮硫酸法	1.52	1.66	1.54	1.59	1.54	1.54	1.57	3.24

## 2.5 稳定性考察

吸取适量酱油样品处理液,直接滴定法分别于 0、2、6、10、20、24 h 测定酱油样品的总糖含量,并计算其相对标准偏差 RSD 值;吸取酱油样品稀释

液, 分别于 0、10、20、30、40、60 min 测定其吸光度, 计算苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法测得的酱油总糖含量, 并计算相对标准偏差 RSD 值, 实验结果见表 3。结果表明, 直接滴定法、苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法的 RSD 分别为 0.51%、1.93%、0.99%, 苯酚硫酸法的 RSD 值略大于直接滴定法和蒽酮硫酸法的 RSD 值, RSD 均小于 5.0%, 说明直接滴定法在 24 h 内显色稳定, 苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法在 1 h 内显色稳定。

表 3 稳定性试验结果

Table 3 The results of stability experiments (n=6)

方法	酱油总糖含量/(g/100 g)						平均值 (g/100 g)	RSD /%
	1	2	3	4	5	6		
直接滴定法	2.48	2.48	2.50	2.47	2.50	2.50	2.49	0.51
苯酚硫酸法	1.93	1.94	1.90	2.00	1.98	1.96	1.95	1.93
蒽酮硫酸法	1.54	1.54	1.53	1.53	1.56	1.57	1.54	0.99

## 2.6 加标回收率考察

考察直接滴定法、苯酚硫酸法、蒽酮硫酸法的加标回收率, 分别计算葡萄糖标准品的平均回收率和 RSD 值, 结果见表 4。结果表明, 3 种方法加标后均在各自的线性范围内, 直接滴定法的加标回收率为 102.03%~107.83%, 平均加标回收率为 104.67%, RSD 值为 2.07%; 苯酚硫酸法的加标回收率为 96.12%~114.28%, 平均加标回收率为 103.85%, RSD 值为 8.04%, 其 RSD 值高于直接滴定法, 说明直接滴定法测定酱油总糖含量精确度更高。按照相关标准, 加标回收率的合适范围为 80%~120%<sup>[31]</sup>, 而蒽酮硫酸法的加标回收率为 161.96%~174.94%, 平均加标回收率为 168.04%, RSD 值为 2.97%, 其加标回收率高于相关标准, 故不适用于酱油总糖含量的测定。

根据文献报道, 苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法是现在普遍用来测定多糖含量的方法, 其原理相似, 均是利用多糖在强酸条件下脱水生成糠醛或糠醛衍生物, 再与酚类或胺类化合物缩合生成有色物质, 从而通过比色法测定<sup>[32]</sup>。苯酚硫酸法多用于样品中甲基化的糖、戊糖和多聚糖的测定, 基本不受蛋白质的影响; 蒽酮硫酸法几乎可以测定所有可溶性碳水化合物含量, 但其显色易受干扰, 稳定性较差, 蒽酮硫酸法在测定己糖时呈现蓝色, 测定其他糖时呈绿色<sup>[33,34]</sup>。孙晓燕等<sup>[35]</sup>采用苯酚硫酸法、蒽酮硫酸法、DNS 法以及以葡萄糖、半乳糖、木糖三种标

准品为对照对同一植物多糖的含量进行测定, 结果发现使用苯酚硫酸法测定的对照品溶液和样品溶液的吸收峰较尖锐, 特征性强, 戊糖和己糖之间的最大吸收峰相一致, 而使用蒽酮硫酸法测定半乳糖、葡萄糖这些己糖时有两个吸收峰, 最大吸收峰在 622 nm 附近, 而测定木糖时只有一个吸收峰, 最大吸收峰在 480 nm 附近, 与测定己糖其次吸收峰相近。张媛媛等<sup>[14]</sup>采用苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法测定绿茶茶多糖时也出现了同样的情况, 在采用苯酚硫酸法测定时茶多糖与葡萄糖的最大吸收峰基本一致, 其余波段无干扰峰的存在, 而采用蒽酮硫酸法测定葡萄糖和茶多糖时, 葡萄糖在 460 和 600 nm 波长附近出现较高的吸收峰, 茶多糖在 460 nm 波长处出现最大吸收峰, 而且干扰峰较多, 测定方法准确性不佳。因此, 推测蒽酮硫酸法测定酱油总糖含量准确度低是因为酱油本身糖组成比较复杂, 即存在己糖, 也存在戊糖, 使用葡萄糖作为单一对照品与样品的组成相差太大。

表 4 加标回收率试验结果

Table 4 The results of recovery experiments (n=6)

方法	序号	样品中 总糖 含量/mg	葡萄糖 加入量 /mg	实测 含量 /mg	回收 率/%	平均 回收 率/%	RSD /%
直接滴 定法	1	325.25	163.40	501.54	103.96	104.67	2.07
	2	326.05	163.40	506.23	105.15		
	3	326.53	325.00	677.08	107.83		
	4	326.28	325.00	660.57	102.85		
	5	325.11	488.00	833.33	106.22		
	6	326.30	487.80	820.71	102.03		
苯酚硫 酸法	1	0.023 4	0.011 6	0.035 3	101.16	103.85	8.04
	2	0.023 4	0.011 6	0.035 3	101.20		
	3	0.023 4	0.023 3	0.050 0	114.28		
	4	0.023 4	0.023 3	0.050 0	114.19		
	5	0.023 4	0.034 6	0.057 0	96.12		
	6	0.023 4	0.034 6	0.057 1	96.16		
蒽酮硫 酸法	1	0.019 1	0.009 6	0.041 1	165.24	168.04	2.97
	2	0.019 1	0.009 6	0.041 8	169.14		
	3	0.019 1	0.019 3	0.050 2	161.96		
	4	0.019 1	0.019 3	0.050 7	164.60		
	5	0.019 1	0.028 6	0.062 0	174.94		
	6	0.019 1	0.028 6	0.061 5	172.37		

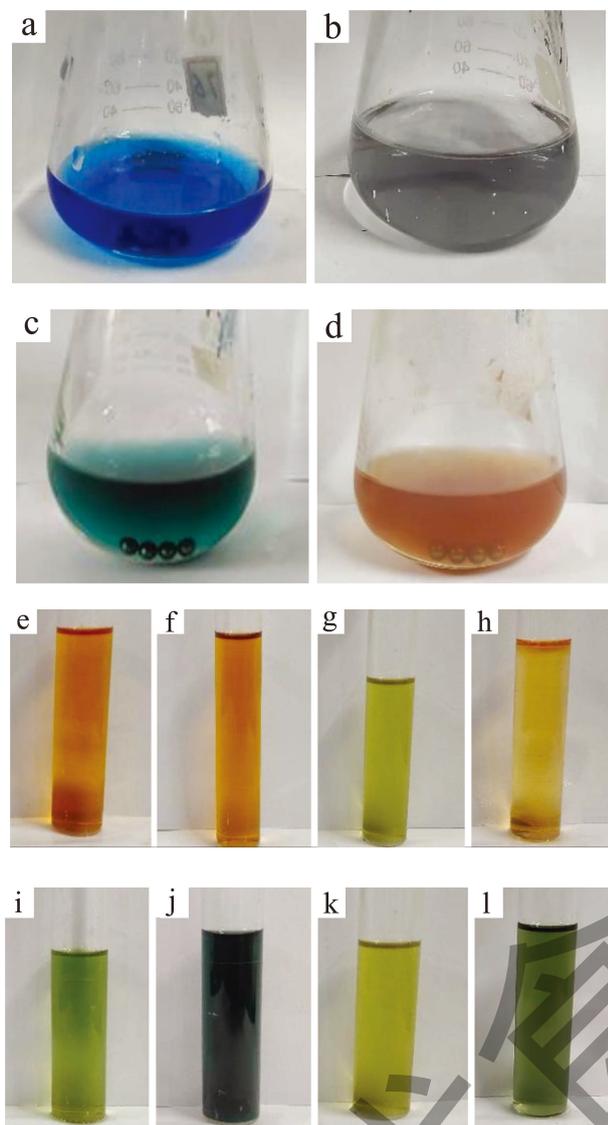


图4 3种方法测定葡萄糖标准溶液和酱油稀释液时反应前后现象

Fig.4 Phenomena before and after the reaction in the determination of glucose standard solution and soy sauce diluent by three methods

注: a、b、c、d分别为直接滴定法测定葡萄糖标准溶液和酱油稀释液的滴定开始及滴定终点; e、f、g、h分别为苯酚硫酸法测定葡萄糖标准溶液和酱油稀释液的显色前及显色后现象; i、j、k、l为蒽酮硫酸法测定葡萄糖标准溶液和酱油稀释液的显色前及显色后现象。

除了酱油的糖组成比较复杂外, 酱油本身的红棕色也可能会干扰各方法的测定结果。图4为3种方法测定葡萄糖标准溶液和酱油稀释液时反应前后的现象。由图4可知, 酱油稀释液经苯酚硫酸法显

色后, 生成的络合衍生物为橙黄色, 与酱油本身颜色差异不大。而经蒽酮硫酸法显色后, 生成的络合衍生物呈黄绿色, 这与酱油的糖组成有关, 其颜色可能会对其测定结果产生一定的干扰。使用直接滴定法测定总糖含量时, 当用葡萄糖标准溶液滴定时, 滴定终点由蓝色变为无色, 而当用酱油处理液滴定时, 滴定终点由蓝绿色变为棕红色, 酱油本身颜色会直接干扰滴定终点的判断, 从而导致测定结果出现一定误差。张敏等<sup>[36]</sup>采用直接滴定法对葡萄酒、蓝莓酒、等果酒的总糖含量进行测定, 并优化对亚铁氰化钾的添加量、次甲基蓝添加时机和浓度等条件, 解决了果酒样品中色素造成的滴定终点判定干扰问题, 从而可知, 直接滴定法测定有色溶液时会干扰滴定终点的判定。

## 2.7 广式酱油总糖含量测定结果

选取3批不同批次广式酱油样品, 采用直接滴定法和苯酚硫酸法测定其总糖含量, 并进行独立样本 *t* 检验, 结果如表5、表6所示。结果显示,  $t=4.976$ ,  $P=0.00 < 0.01$ , 表明两种方法测定酱油总糖含量的结果存在极显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 直接滴定法测定结果偏高。其原因推测是直接滴定法在滴定时, 在酱油处理液加入碱性酒石酸铜溶液后, 溶液体系呈现蓝绿色, 而滴定终点是蓝色刚好褪去, 此时溶液呈现微棕红色状态, 滴定终点判断较难明晰, 从而导致测定结果出现一定误差。采用直接滴定法的测定酱油总糖含量时, 对操作条件要求较高, 在滴定时必须在2 min内使碱性酒石酸铜溶液沸腾, 而且锥形瓶规格、滴定速度、预加入大致体积及终点确定方法等条件都会对滴定结果产生影响, 酱油本身红棕色的颜色也会干扰对滴定终点的判断, 因此, 采用直接滴定法的测定结果可能会因不同操作人员、操作环境检测而造成人为误差。

表5 广式酱油样品总糖含量测定结果

Table 5 Results of determination of total sugar content in Cantonese soy sauce

方法	广式酱油总糖含量/(g/100 g)	
	直接滴定法	苯酚硫酸法
1	$2.89 \pm 0.02^a$	$2.46 \pm 0.04^b$
2	$2.87 \pm 0.03^a$	$2.19 \pm 0.06^b$
3	$2.52 \pm 0.01^a$	$2.32 \pm 0.08^b$

表 6 独立样本 *t* 检验结果Table 6 Independent sample *t*-test results

总糖含量	方差方程的 Levene 检验				均值方程的 <i>t</i> 检验				
	<i>F</i>	sig	<i>t</i>	df	sig (双侧)	均值差值	标准误 差值	差分的 95% 置信区间	
								下限	上限
假设方差相等	1.724	0.212	4.98	13	0	0.45	0.09	0.25	0.62
假设方差不相等			5.24	13	0	0.45	0.08	0.26	0.62

### 3 结论

直接滴定法、苯酚硫酸法和蒽酮硫酸法为总糖含量测定的常用方法，本研究采用这三种方法测定广式酱油总糖的含量，通过方法学考察结果筛选出适合广式酱油总糖含量的测定方法。从方法学考察结果看，直接滴定法和苯酚硫酸法的精密度、重现性、稳定性良好，理论上均具有可行性，而蒽酮硫酸法在测定酱油总糖含量时，所得的平均加标回收率较大（168.04%），可能是由于酱油中糖类物质组成复杂引起的，不适用于酱油总糖含量的测定，更适用于糖类物质组成均一的样品。

对比直接滴定法和苯酚硫酸法这两种方法的方法学考察结果，直接滴定法的稳定性、重现性、加标回收率均优于苯酚硫酸法，精密度略低于苯酚硫酸法，并采用这两种方法测定不同批次广式酱油的总糖含量，结果显示，这两种方法测定酱油总糖含量的结果存在极显著性差异（ $P < 0.01$ ），直接滴定法测定结果偏高。直接滴定法虽然结果较为准确，但操作繁琐，易受操作人员、操作环境等因素的影响，比较适用于样品量少时的测定。而苯酚硫酸法操作简单、快速，条件易于掌握，显色稳定，测定结果的准确度符合要求，比较适用于工业化生产时大规模的测定。鉴于此，直接滴定法和苯酚硫酸法这两种方法都可用于广式酱油总糖含量测定。

糖类物质是酱油甜味的重要来源，对酱油色香味体的形成具有重要作用，酱油中总糖含量是反映酱油品质的基本指标之一。因此，筛选出适合酱油总糖含量的检测方法，对实际酱油生产监控和产品加工过程的品质控制都有重要意义。

### 参考文献

[1] DEVANTHI P V P, GKATZIONIS K. Soy sauce fermentation: Microorganisms, aroma formation, and process modification [J]. Food Research International, 2019, 120: 364-374.

[2] KUANG X X, SU H T, LI W X, et al. Effects of microbial community structure and its co-occurrence on the dynamic changes of physicochemical properties and free amino acids in the Cantonese soy sauce fermentation process [J]. Food Research International, 2022, 156: 111347.

[3] 邓岳, 杨阳, 梁丽静, 等. 传统工艺酿造酱油微生物多样性与风味研究[J]. 中国调味品, 2021, 46(3): 104-108.

[4] 路怀金. 米曲霉的酶系特性及其对酱油风味品质影响研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.

[5] ZHAO G Z, GAO Q D, WANG Y F, et al. Characterisation of sugars as the typical taste compounds in soy sauce by silane derivatisation coupled with gas chromatography-mass spectrometry and electronic tongue [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2020, 55(6): 2599-2607.

[6] ZHOU T, FENG Y Z, CHEN Y M, et al. Quantitative studies, taste recombination, and omission experiments on the key taste compounds in Chinese and Japanese soy sauce [J]. Food Chemistry, 2023, 403: 134215.

[7] 许瑜. 外加糖源对高盐稀态酱油风味品质影响的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.

[8] 李仁勇, 梁立娜, 牟世芬, 等. 离子色谱-脉冲安培检测法测定酱油中的糖[J]. 中国调味品, 2009, 34(7): 95-98.

[9] 朱松, 戴军, 陈尚卫, 等. 高效阴离子交换色谱法检测酱油中的单糖及双糖[J]. 分析测试学报, 2012, 31(11): 1411-1415.

[10] 蓝尉冰, 李游, 陈美花, 等. 多糖定性定量检测方法的研究[J]. 广西糖业, 2018, 1: 25-28.

[11] 赵春霞, 余河水, 王春华, 等. 中药中糖类定性及定量研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(9): 2184-2192.

[12] LI L F, ZHANG Q W, HAN Q B. Recent advances in qualitative and quantitative analysis of polysaccharides in natural medicines: A critical review [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2022, 220(25): 115016.

[13] 张杰, 李春艳, 李劲平, 等. 蒽酮硫酸法与苯酚硫酸法测定竹节参多糖含量的比较研究[J]. 中南药学, 2012, 10(6): 421-424.

[14] 张媛媛, 张彬. 苯酚-硫酸法与蒽酮-硫酸法测定绿茶茶多糖的比较研究[J]. 食品科学, 2016, 37(4): 158-163.

[15] 方杰, 王成祥, 王莉婷, 等. 红曲茯苓片中多糖含量测定方法的比较研究[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(11): 2672-2676.

- [16] 杨世林,热娜·卡斯木.天然药物化学[M].北京:科学出版社,2010.
- [17] 郭元亨,张利军,曹丽丽,等.植物多糖中单糖组成分析技术的研究进展[J].食品科学,2018,39(1):326-332.
- [18] GB/T 9695.31-2008,肉制品 总糖含量测定[S].
- [19] GB/T 15038-2006,葡萄酒、果酒通用分析方法[S].
- [20] GB/T 13662-2018,黄酒[S].
- [21] 杨菊芬.探讨葡萄酒中总糖的测定[J].食品安全导刊,2021,12:123-124.
- [22] HU M B, GAO K X, WANG Y, et al. Characterization of polysaccharides from the pericarp of *Zanthoxylum bungeanum* maxim by saccharide mapping and their neuroprotective effects [J]. *Molecules*, 2023, 28(4): 1813.
- [23] 付晓,梁强,尹忠平,等.芡实酒糟生产酱油后熟过程中的理化变化及风味形成[J].食品工业,2018,12:70-76.
- [24] 赵娜,舒丹阳,崔春.pH值对成熟期小麦酱油理化指标的影响[J].中国调味品,2018,43(12):83-88.
- [25] 冯拓,单培,林虹,等.高盐稀态酱油二次沉淀预测模型的构建和验证[J].现代食品科技,2022,38(4):129-139.
- [26] 冯拓,单培,盛明健,等.5种不同酱油抗氧化活性的对比分析[J].现代食品科技,2022,38(3):159-167,313.
- [27] 束文举,何林霞,蒋双双,等.甜油滋味物质及滋味特征研究[J].食品工业科技,2015,36(11):54-58.
- [28] GB 5009.7-2016,食品中还原糖的测定[S].
- [29] GB/T 15672-2009,食用菌中总糖含量的测定[S].
- [30] 杨勤,谷文超,周浓,等.苯酚-硫酸法与蒽酮-硫酸法测定地参多糖的比较研究[J].食品科技,2020,45(1):343-350.
- [31] 国家食品药品监督管理局药品审评中心.药品技术评价文集.第2辑[M].北京:中国医药科技出版社,2007.
- [32] 王文洁,唐炜,俞玲娜,等.蒽酮-硫酸法与苯酚-硫酸法测定凉粉草多糖的比较[J].食品科技,2017,42(9):274-279.
- [33] 曹九零.20种海洋贝类中多糖成分的分析[D].大连:大连工业大学,2015.
- [34] 李艳玲,张显忠,苗苗,等.蒽酮-硫酸法测定海藻糖含量显色条件的改进[J].食品工业科技,2009,2:296-298.
- [35] 孙晓燕,蔡昌利,徐丽莉,等.多糖含量测定方法的比较[J].现代中药研究与实践,2015,29(3):58-62.
- [36] 张敏,刘冰,王凡,等.葡萄酒等果酒中总糖含量检测方法的优化研究[J].酿酒科技,2023,7:111-115.