

# 天然胶乳中蔗糖的快速检测方法

杨映华, 魏用林, 刀建华, 郑向前, 毕学瑞, 曾 涛

(西双版纳州质量技术监督综合检测中心, 云南 景洪 666100)

**摘要:**建立3种天然胶乳中蔗糖的快速检测方法,并确定最佳试验条件。蒽酮-硫酸显色法:显色剂中蒽酮质量浓度为 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,介质 硫酸/水体积比为3:1的硫酸溶液、用量为3 mL;麝香草酚显色法:显色剂 质量浓度为 $50\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的麝香草酚-乙醇溶液,反应时间 2 min;间苯二酚显色法:显色剂 质量浓度为 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的间苯二酚-盐酸溶液,沸水浴中加热反应3 min。3种方法检测下限分别为0.2、0.2和 $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,氨、甲酸、淀粉、纤维素和肌醇对显色反应基本无干扰,适用于天然胶乳中蔗糖的实时检测。

**关键词:**天然胶乳;蔗糖;快速检测;蒽酮;间苯二酚;麝香草酚

**中图分类号:**TQ331.2;O656.22 **文献标志码:**B **文章编号:**1000-890X(2016)08-0498-04

干胶含量是天然胶乳重要的质量指标。近年来云南、广东等产胶区出现了在胶乳中掺入蔗糖、尿素、淀粉、腻子粉和滑石粉等物质的现象,其目的是提高干胶含量测定值,从中谋取暴利。

蔗糖是由一分子葡萄糖和一分子果糖结合而成的二糖,是基本的食品添加剂之一。蔗糖溶解度大、价格便宜,是最常见的胶乳掺杂物质之一,危害性较大。在生物凝固天然胶乳工艺中,加入一定量蔗糖,可为微生物提供碳源并参与反应生成有机酸<sup>[1-3]</sup>。但对其他生产工艺而言,掺加蔗糖对胶乳保存和加工是不利的。为降低成本,掺假者通常掺加杂质含量较大的工业糖或糖蜜,以掺杂胶乳加工而得的天然橡胶可能出现夹生、发胀、发粘、杂质和灰分含量高、塑性值和塑性保持率偏低以及机械强度差等问题,给生产企业造成巨大的经济损失,严重影响下游橡胶制品的质量、增大加工难度。因此有必要建立针对鲜胶乳或氨保存胶乳中蔗糖的快速检测方法,在胶乳验收环节有效识别掺杂胶乳。

蔗糖的快速检测主要为显色法,包括蒽酮-硫酸法、苯酚法、Molisch法( $\alpha$ -萘酚法)、Seliwanoff

法(间苯二酚法)等<sup>[4-6]</sup>,这些方法基于蔗糖在浓无机酸催化下生成的糠醛类物质与蒽酮或酚类缩合,生成有色物质。由于苯酚和 $\alpha$ -萘酚易被氧化为醌类物质,因此使用前须重蒸或重结晶,操作繁琐。

本工作以较稳定的蒽酮、麝香草酚、间苯二酚为显色剂,对3种显色方法的影响因素进行考察,优选操作条件,以建立简便、灵敏的天然胶乳中蔗糖的快速检测方法。

## 1 实验

### 1.1 原料及试剂

鲜胶乳及测试样品由橡胶加工企业提供;蔗糖、蒽酮、麝香草酚、间苯二酚、肌醇、硫酸、盐酸、层析用纤维素粉和可溶性淀粉均为分析纯,市售;试验用水为去离子水。

**蒽酮-硫酸试剂:**称取0.1 g蒽酮,用硫酸溶液(硫酸/水体积比为3:1)溶解并定容至100 mL,蒽酮质量浓度为 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**麝香草酚试剂:**称取麝香草酚5 g,用质量分数为0.95的乙醇溶解并定容至100 mL,麝香草酚质量浓度为 $50\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,置于棕色瓶中。

**间苯二酚试剂:**称取间苯二酚50 mg,溶于100 mL盐酸溶液(盐酸/水体积比为1:2)中,间苯二酚质量浓度为 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

### 1.2 原理

蔗糖在酸性条件下水解生成葡萄糖和果糖,两者进一步脱水生成5-羟甲基糠醛<sup>[7]</sup>;5-羟甲基糠

**基金项目:**云南省质量技术监督局科技计划项目(2013ynzjkj20);国家质量监督检验检疫总局科技计划(质量监督领域)项目(2013QK075)

**作者简介:**杨映华(1985—),男,云南永平人,西双版纳州质量技术监督综合检测中心工程师,硕士,主要从事橡胶及橡胶制品检测技术开发工作。

醛与蒽酮反应生成蓝色物质,与麝香草酚或间苯二酚反应生成红色或紫色物质。以空白胶乳为参照,根据胶乳样品的变色情况,判定是否掺加蔗糖。

### 1.3 测定方法

#### 1.3.1 样品预处理

取待检测胶乳样品和正常胶乳各10 mL,滴加适量硫酸溶液(硫酸/水体积比为1:4)至胶乳完全凝固,待略澄清,移出乳清层供测试用。

#### 1.3.2 显色方法

(1) 蒽酮-硫酸显色法:移取乳清1 mL于试管中,加入蒽酮-硫酸试剂3 mL,充分振摇,观察显色情况。

(2) 麝香草酚显色法(紫环反应法):移取乳清1 mL于试管中,滴加麝香草酚试剂2滴,摇匀,倾斜试管,沿管壁缓慢加入浓硫酸1.5 mL,切勿振摇,观察乳清层与硫酸层交界处有无紫环出现。

(3) 间苯二酚显色法:移取乳清1 mL于试管中,加入间苯二酚试剂3 mL,摇匀,置于沸水浴中加热3 min,观察颜色变化。

#### 1.3.3 检测下限测定

制备蔗糖质量浓度为0.1~1 g·L<sup>-1</sup>的一系列胶乳,按试验方法进行显色,以出现阳性现象的最小质量浓度作为方法的检测下限。

#### 1.3.4 其他物质的干扰

以加氨胶乳及掺加肌醇、可溶性淀粉、纤维素粉和甲酸的乳清为试验对象,分别按试验方法显色,并与空白乳清和掺加蔗糖的乳清进行对比。

## 2 结果与讨论

### 2.1 蒽酮-硫酸显色法

#### 2.1.1 蒽酮-硫酸试剂配比对显色的影响

取蔗糖质量浓度为10 g·L<sup>-1</sup>的胶乳清液各1 mL于5支试管中,分别加入蒽酮质量浓度为1 g·L<sup>-1</sup>、溶剂为硫酸溶液的显色剂3 mL,硫酸溶液中硫酸/水体积比分别为2:3,3:2,3:1,4:1和5:0,考察硫酸溶液浓度对显色的影响。结果显示后3种混合液均瞬间显蓝色,且颜色无明显差别,前两种显色较慢,颜色为蓝绿色,颜色稍浅。因此选择硫酸/水体积比为3:1的硫酸溶液为显色剂溶剂。

以硫酸/水体积比为3:1的硫酸溶液为显色剂的溶剂,考察蒽酮质量浓度为0.2,0.5,1.0,2.0

和3.0 g·L<sup>-1</sup>的显色剂对空白乳清及含蔗糖乳清(质量浓度为10 g·L<sup>-1</sup>)的显色情况。由于蒽酮显色剂本身显浅黄色,加至空白乳清后混合液均显浅黄色,蒽酮质量浓度达2.0 g·L<sup>-1</sup>的显色剂滴加后有部分蒽酮析出,使混合液出现浑浊。含蔗糖乳清均显蓝色,质量浓度为0.2和0.5 g·L<sup>-1</sup>的乳清颜色浅于其他3个质量浓度的乳清。

高浓度硫酸有利于糖的水解和糠醛化化合物的形成,硫酸与水混溶时可使混合液温度升高,也有利于反应快速进行。传统的蒽酮-硫酸法常直接用浓硫酸作溶剂,由于浓硫酸具有强氧化性和脱水性,蒽酮易被炭化,蒽酮-硫酸试剂不能长期贮存,须使用时临时配制,适当降低硫酸浓度可延长保存期。综合考虑显色剂背景颜色、蒽酮在混合液中溶解度和对含蔗糖样品的显色情况,选择适合的显色剂为:以硫酸/水体积比为3:1的硫酸溶液为溶剂,蒽酮质量浓度为1.0 g·L<sup>-1</sup>,此溶液两周内可正常使用。

#### 2.1.2 蒽酮-硫酸试剂用量

取蔗糖质量浓度为10 g·L<sup>-1</sup>的胶乳清液各1 mL于6支试管中,分别加入0.5,1,2,3,4和5 mL蒽酮-硫酸试剂。前两管显色缓慢,颜色较其他4管浅;前3管出现蒽酮析出的现象。因此确定蒽酮-硫酸试剂用量为3 mL。

#### 2.1.3 检测下限

以空白乳清和蔗糖质量浓度为0.1,0.2,0.5,0.8和1.0 g·L<sup>-1</sup>的乳清为试验对象进行显色,质量浓度为0.2 g·L<sup>-1</sup>的含蔗糖胶乳呈现可区别于空白乳清的阳性现象,因此确定蔗糖质量浓度0.2 g·L<sup>-1</sup>为方法检测下限。

#### 2.1.4 干扰物质的影响

##### 2.1.4.1 氨

胶乳采收后为防止自然凝固,通常需加氨保鲜。以氨质量分数为0,0.001,0.002,0.005,0.008,0.01和0.015的空白胶乳和掺蔗糖胶乳(蔗糖质量浓度为1和10 g·L<sup>-1</sup>)为试验对象,考察胶乳氨含量对显色的影响。结果表明,氨质量分数为0~0.015时空白胶乳未显色,掺蔗糖胶乳正常显色。

##### 2.1.4.2 甲酸

甲酸是使用最广泛的橡胶凝固剂,甲酸分子

中存在活泼醛基,可能与显色剂发生类似糠醛的反应。以甲酸含量(体积分数)为0,0.02,0.05,0.1和0.15的空白胶乳和掺蔗糖胶乳(蔗糖质量浓度为1和10 g·L<sup>-1</sup>)为试验对象,考察甲酸含量对显色的影响。结果显示,甲酸体积分数在0.15以下时对显色试验无干扰。

#### 2.1.4.3 淀粉

淀粉是常见的胶乳掺杂物质之一。淀粉是由葡萄糖缩合成的链状大分子多糖,在一定条件下可发生水解断链,生成多元糖和寡糖,甚至完全水解为葡萄糖,可能干扰本研究的显色。取淀粉质量浓度为10和40 g·L<sup>-1</sup>的掺淀粉乳清进行试验,结果均未显色,表明淀粉对显色试验无干扰。

#### 2.1.4.4 纤维素

一些掺杂胶乳中掺入含有纤维素粉和纤维素衍生物的腻子粉,纤维素是由葡萄糖缩合成的多糖,一定条件下纤维素亦可发生水解。考察乳清中纤维素粉质量分数为0.05时对显色的影响,结果表明纤维素对显色试验无干扰。

#### 2.1.4.5 肌醇

肌醇类物质是天然橡胶乳清中含量最多的碳水化合物,其中白坚木皮醇含量最高,其在胶乳中的质量分数为0.01~0.015<sup>[8-9]</sup>。肌醇是一种多羟基环醇,结构与单糖相似。配制肌醇溶液和一系列肌醇-蔗糖混合溶液,其中肌醇质量浓度均为20 g·L<sup>-1</sup>,蔗糖质量浓度分别为0,0.5,1,5,10和20 g·L<sup>-1</sup>。结果显示含蔗糖混合溶液均正常显色,肌醇溶液未显色,表明肌醇对显色试验无干扰。

### 2.2 麝香草酚显色法

#### 2.2.1 显色剂的选择

麝香草酚显色法通常加入Molisch试剂。由于 $\alpha$ -萘酚容易被氧化,须在苯中重结晶后才能使用,试剂须使用前临时配制,操作繁琐。因此本研究采用麝香草酚的乙醇溶液替代Molisch试剂,麝香草酚质量浓度为50 g·L<sup>-1</sup>、硫酸用量为1.5 mL时显色效果良好。

#### 2.2.2 反应时间

取空白乳清及蔗糖质量浓度为0.5,1,5,10,20,50和100 g·L<sup>-1</sup>的橡胶乳清各1 mL盛于8支试管中,进行麝香草酚显色反应试验,加入硫酸后开始计时。结果表明:后5管在数秒内即出现色环;

2 min时所有含蔗糖管均出现色环,随蔗糖浓度增大,色环由浅红加深至红褐色;至10 min时含蔗糖管色环颜色继续加深,空白乳清未出现色环。因此认为适宜观察时间为加入硫酸2 min后。

#### 2.2.3 检测下限

以空白乳清和蔗糖质量浓度为0.1,0.2,0.5,0.8和1.0 g·L<sup>-1</sup>的乳清为试验对象进行显色,质量浓度为0.2 g·L<sup>-1</sup>的含蔗糖胶乳均呈现可区别于空白乳清的阳性现象,因此确定蔗糖质量浓度0.2 g·L<sup>-1</sup>为方法检测下限。

#### 2.2.4 干扰物质的影响

参照2.1.4进行干扰物质的影响试验,考察氨、甲酸、淀粉、纤维素和肌醇对显色反应的影响。试验结果如下。

(1)氨、纤维素和肌醇对显色试验无干扰。

(2)含淀粉胶乳出现浅黄色环,颜色与蔗糖质量浓度为0.5 g·L<sup>-1</sup>的乳清形成的色环接近,表明淀粉对低浓度蔗糖(质量浓度低于0.5 g·L<sup>-1</sup>)的检测构成干扰,对较高浓度蔗糖(质量浓度高于0.5 g·L<sup>-1</sup>)则干扰不明显。

(3)含甲酸样品加入硫酸后,两相交界处产生大量气泡,会使含蔗糖的样品色环变宽,不含蔗糖的样品不出现色环,可认为甲酸对显色试验无干扰。

### 2.3 间苯二酚显色法

#### 2.3.1 显色条件确定

取空白乳清及蔗糖质量浓度为0.5,1,5,10,20,50和100 g·L<sup>-1</sup>的乳清各1 mL盛于8支试管中,进行间苯二酚显色法试验,置沸水浴中开始计时,考察反应时间对显色情况的影响。结果表明:加热2 min后含蔗糖管均显色,随蔗糖浓度增大颜色由浅橙红色加深至深红色;加热3 min后含蔗糖管颜色继续加深(橙红色到深红褐色),空白管为淡黄色;3~10 min含糖管颜色仍有所加深,空白管仍为淡黄色。因此确定沸水浴反应时间至少为3 min。

#### 2.3.2 检测下限

以空白乳清和蔗糖质量浓度为0.1,0.2,0.5,0.8和1.0 g·L<sup>-1</sup>的乳清为试验对象进行显色,蔗糖质量浓度为0.1 g·L<sup>-1</sup>的胶乳均呈现可区别于空白乳清的阳性现象,因此确定蔗糖质量浓度0.1 g·L<sup>-1</sup>为方法检测下限。



### 2.3.3 干扰物质的影响

参照2.1.4进行干扰物质的影响试验,考察氨、甲酸、淀粉、纤维素和肌醇对显色反应的影响。试验结果如下。

(1)氨、纤维素、肌醇和甲酸对显色试验没有干扰。

(2)含淀粉乳清显浅黄色,颜色明显浅于蔗糖质量浓度 $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乳清样品,表明含淀粉样品虽能出现显色反应,但颜色较浅,对蔗糖检验干扰不明显。

### 2.4 方法实用性试验

#### 2.4.1 错检率及漏检率

分别以3种显色方法测试不同品系、不同采收时期的空白鲜胶乳样品和蔗糖质量分数为 $0.005\sim 0.15$ 的胶乳样品。结果显示:50个空白胶乳样品均未出现阳性现象,无错检;50个添加蔗糖胶乳样品均出现阳性现象,该浓度水平的蔗糖无漏检。

#### 2.4.2 样品检测

取83个样品分别用3种显色方法测试,样品均来自西双版纳和红河地区,包括46个鲜胶乳样品(氨质量分数低于 $0.0015$ )、7个浓缩天然胶乳样品、24个凝固过程产生的乳清样品、6个压滤脱出乳清样品。其中33个样品检出蔗糖,3种方法测试结果一致。

### 2.5 方法改进

基于相同的试验原理,使用点滴板替代试管进行显色可加快操作速度、减少试剂消耗,适于大批量样品的快速检测。因点滴板无法加热,故在间苯二酚显色法中引入硫酸,以使蔗糖能快速水解和糠醛化。对试剂用量、试剂加入次序、反应时间等因素进行考察,优选出下列操作条件。

(1)蒽酮-硫酸法:于白色陶瓷点滴板中加入蒽酮-硫酸试液5滴,滴加胶乳乳清1滴,同时以空白胶乳乳清作对照,观察显色情况。

(2)麝香草酚法:吸取空白胶乳乳清和样品胶乳乳清各1滴于白色陶瓷点滴板中,分别加入浓硫酸3滴,30 s后滴加麝香草酚试剂1滴,观察显色情况。

(3)间苯二酚法:于白色陶瓷点滴板中加入浓

硫酸2滴,滴加胶乳乳清1滴,1 min后滴加间苯二酚试剂3滴,以空白胶乳乳清作对照,3 min后观察显色情况。

### 3 结论

(1)建立了3种胶乳中蔗糖的快速检测方法,并优选操作条件。蒽酮-硫酸显色法:显色剂蒽酮质量浓度 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,介质硫酸/水体积比为3:1的硫酸溶液、用量为3 mL,检测下限 $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;麝香草酚显色法:显色剂质量浓度为 $50\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的麝香草酚-乙醇溶液,反应时间2 min,检测下限 $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;间苯二酚显色法:显色剂质量浓度为 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的间二苯酚-盐酸溶液,沸水浴中加热反应3 min,检测下限 $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

(2)考察了氨、甲酸、淀粉、纤维素和肌醇对显色反应的影响,其中淀粉对麝香草酚显色法、间苯二酚显色法呈弱阳性反应,其余物质对检测均无干扰。可通过碘显色法确认样品中是否含淀粉。

(3)3种方法具有灵敏度高、检测下限低、速度快和操作简便等特点,可应用于胶乳验收及加工过程中掺加蔗糖的快速检测和实时监控。

### 参考文献:

- [1] 廖小雪,张绍芬. 生物凝固胶的制备及其性能研究[J]. 华南热带农业大学学报,2001,7(3):31-34.
- [2] 张桂梅,邹建云,姜士宽,等. 鲜胶乳生物凝固液的制备工艺研究[J]. 热带作物学报,2011,32(4):772-775.
- [3] 邹建云,林文光. 菠萝酶对天然胶乳的生物凝固和脱蛋白研究[J]. 云南热带科技,1997,20(4):27-30.
- [4] 李利军,孔红星,陆丹梅. 蒽酮-硫酸法快速测定蔗糖的研究及应用[J]. 食品工业科技,2003,24(10):145-149.
- [5] 张世仙,刘焱,朱彬,等.  $\alpha$ -萘酚-硫酸法测定酒糟多糖含量[J]. 食品科学,2013,34(18):245-248.
- [6] 张祥胜,张玉辉,戴翠娥,等. 基于糖显色法测定鼠李糖含量的方法研究[J]. 河南科技学院学报(自然科学版),2012,40(5):1-4.
- [7] 张惟杰. 复合多糖生化研究技术[M]. 上海:上海科学技术出版社,1987:3-4.
- [8] 邓瑶筠,敖宁建. 保存剂对天然胶乳中白坚木皮醇含量的影响(英文)[J]. 云南农业大学学报,2005,20(3):326-330.
- [9] Jan V A. Quebrachitol: Cyclic Polyalcohol from Natural Rubber Latex [J]. Industrial and Engineering Chemistry, 1951, 43(1): 141-145.

收稿日期:2016-02-10