

中华人民共和国国家标准

GB/T 22224—2008

食品中膳食纤维的测定 酶重量法和酶重量法-液相色谱法

Determination of dietary fiber in foods—
Enzymatic gravimetric method and enzymatic gravimetric method-liquid
chromatography

2008-05-16 发布

2008-10-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的第一法为“食品中总、可溶性和不溶性膳食纤维的测定 酶重量法”，等同采用国际分析化学家协会方法 AOAC 991.43(2000 年第 17 版)《食品中总、可溶性和不溶性膳食纤维的酶-重量法，MES-TRIS 缓冲液》(Total, soluble and insoluble dietary fiber in foods—Enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer)，可测定食品中总、可溶性和不溶性膳食纤维，但不含低分子质量的抗性麦芽糊精、寡果糖、低聚半乳糖、多聚葡萄糖和抗性淀粉等。

本标准的第二法为“含抗性麦芽糊精食品中总膳食纤维的测定 酶重量法-液相色谱法”，修改采用了国际分析化学家协会方法 AOAC 2001.03(2004 年第 18 版)《含有抗性麦芽糊精食物中的总膳食纤维的酶-重量法和液相色谱法测定》(Total dietary fiber in foods containing resistant maltodextrin enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography determination)，主要修改了酶解用缓冲液，降低了酶用量，并简化了用于液相色谱法测定的试样的处理步骤，可测定食品中含低分子质量抗性麦芽糊精的总膳食纤维。

本标准由中国计量科学研究院提出。

本标准由全国食品工业标准化技术委员会归口。

本标准的第一法起草单位：中国疾病预防控制中心营养与食品安全所、北京市营养源研究所、中国计量科学研究院、四川大学华西公共卫生学院。

本标准的第一法主要起草人：杨月欣、王晶、唐华澄、杨晓莉、阴文姬。

本标准的第二法起草单位：中国计量科学研究院、北京市营养源研究所、北京市锦绣大地检测中心、四川大学华西公共卫生学院、北京市疾病预防控制中心。

本标准的第二法主要起草人：王晶、傅博强、唐华澄、刘玉峰、阴文姬、尚燕芬、王莉莉、吴国华、李燕。

食品中膳食纤维的测定

酶重量法和酶重量法-液相色谱法

1 第一法 酶重量法

1.1 范围

本标准的第一法规定了酶重量法测定食品中总、可溶性和不溶性膳食纤维的条件和详细分析步骤。

本标准的第一法适用于谷类、蔬菜和水果及其制品中总、可溶性和不溶性膳食纤维的测定,但不适用于含低分子质量的抗性麦芽糊精、寡果糖、低聚半乳糖、多聚葡萄糖和抗性淀粉等食品的膳食纤维的测定。

1.2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 5009.3—2003 食品中水分的测定

GB/T 5009.4—2003 食品中灰分的测定

GB/T 5009.5—2003 食品中蛋白质的测定

1.3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准的第一法。

1.3.1

膳食纤维 dietary fiber

具有抗消化特性,即不能被人体小肠消化吸收、而在结肠能部分或全部发酵的碳水化合物及其类似物的总和。

1.3.2

总膳食纤维 total dietary fiber; TDF

包括不溶性膳食纤维(insoluble dietary fiber, IDF)和高分子质量在乙醇中沉淀的可溶性膳食纤维(soluble dietary fiber, SDF)。

1.4 方法提要

干燥后的试样经热稳定 α -淀粉酶、蛋白酶和淀粉葡萄糖苷酶酶解消化,酶解液通过乙醇沉淀、过滤、乙醇和丙酮洗涤残渣后干燥、称重,得到总膳食纤维(TDF)残渣;酶解液通过直接过滤、热水洗涤残渣、干燥后称重,得到不溶性膳食纤维(IDF)残渣,滤液用乙醇沉淀,过滤、干燥、称重,得到可溶性膳食纤维(SDF)残渣。TDF、IDF和SDF的残渣扣除蛋白质、灰分和空白即得TDF、IDF和SDF含量。

1.5 试剂和溶液

除非另有说明,在分析中应使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。

1.5.1 95%乙醇。

1.5.1.1 85%乙醇溶液:取895 mL 95%乙醇置1 L容量瓶中,用水稀释至刻度,混匀。

1.5.1.2 78%乙醇溶液:取821 mL 95%乙醇置1 L容量瓶中,用水稀释至刻度,混匀。

1.5.2 热稳定 α -淀粉酶溶液:CAS 9000-85-5, IUB 3.2.1.1,不能含丙三醇做稳定剂,0℃~5℃冰箱储存。

1.5.2.1 酶活力表示 1:淀粉为底物,以 *Nelson/Somogyi* 还原糖表示——10 000 单位/mL+1 000 单位/mL (1 酶活力单位定义为:40℃,pH6.5 时,每分钟释放 1 μmol 还原糖所需要的酶量)。

1.5.2.2 酶活力表示 2:对硝基苯基麦芽糖为底物:3 000 Ceralpha 单位/mL+300 Ceralpha 单位/mL (1 个酶活力单位定义为:40℃,pH 6.5 时,每分钟释放 1 μmol 对硝基苯基所需要的酶量)。

1.5.3 蛋白酶:CAS 9014-01-1,IUB 3.4.21.14,不含丙三醇稳定剂,用 MES-TRIS 缓冲液配成浓度为 50 mg/mL 的蛋白酶溶液,现用现配,0℃~5℃储存。

1.5.3.1 酶活力表示 1:酪蛋白测试,300 单位/mL~400 单位/mL,或 7 单位/mg~15 单位/mg。

注:1 个酶活力单位定义为:40℃,pH8.0 时,每分钟从可溶性酪蛋白中水解出(并溶于三氯乙酸)1 μmol 酪氨酸所需要的酶量;

或定义为:37℃,pH7.5 时,每分钟从酪蛋白中水解得到一定量的酪氨酸(相当于 1.0 μmol 酪氨酸在显色反应中所引起的颜色变化,显色用 Folin-Ciocalteu 试剂)时所需要的酶量。

1.5.3.2 酶活力表示方法 2:偶氮-酪蛋白测试,300 单位/mL~400 单位/mL。

注:1 个内肽酶活力单位定义为:40℃,pH8.0 时,每分钟从可溶性酪蛋白中水解出(并溶于三氯乙酸)1 μmol 酪氨酸所需要的酶量。

1.5.4 淀粉葡萄糖苷酶溶液:不能含丙三醇做稳定剂,CAS 9032-08-0,IUB 3.2.1.3,0℃~5℃储存。

1.5.4.1 酶活力表示方法 1:淀粉/葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法,2 000 单位/mL~3 300 单位/mL。

注:1 个酶活力单位定义为:40℃,pH4.5 时,每分钟释放 1 μmol 葡萄糖所需要的酶量。

1.5.4.2 酶活力表示方法 2:对-硝基苯基-β-麦芽糖苷(PNPBM)法,130 单位/mL~200 单位/mL。

注:1 酶活力单位定义(1 PNP 单位)为:40℃时,有过量的 β-葡萄糖苷酶存在下,每分钟从对-硝基苯基-β-麦芽糖苷释放 1 μmol 对-硝基苯基所需要的酶量。

1.5.5 酸洗硅藻土,CAS 68855-54-9,取 200 g 硅藻土于 600 mL 的盐酸中(HCl:H₂O=1:4,体积比),浸泡过夜,过滤,用蒸馏水洗至滤液为中性,置于 525℃±5℃马福炉中灼烧灰分后备用。

1.5.6 2-(N-吗啉代)-磺酸基乙烷(MES):CAS 4432-31-9,纯度>99.5%。

1.5.7 三羟甲基氨基甲烷(TRIS):CAS 77-86-1,纯度>99%。

1.5.8 MES-TRIS 缓冲液(0.05 mol/L):称取 19.52 g MES 和 12.2 g TRIS,用 1.7 L 蒸馏水溶解,用 6 mol/L 氢氧化钠调 pH 至 8.2±0.1,加水稀释至 2 L(注意:24℃时 pH 为 8.2;20℃时 pH 为 8.3;28℃时 pH 为 8.1。一定要根据温度调 pH,20℃和 28℃之间的偏差,用内插法校正)。

1.5.9 盐酸溶液(0.561 mol/L):取 93.5 mL 6 mol/L 盐酸,加入 700 mL 水,混匀后用水定容到 1 L。

1.5.10 石油醚:沸程 30℃~60℃。

1.5.11 丙酮。

1.5.12 氢氧化钠。

1.6 仪器和设备

1.6.1 高型无导流口烧杯:400 mL 或 600 mL。

1.6.2 坩埚:具粗面烧结玻璃板,孔径 40 μm~60 μm。清洗后的坩埚在马福炉中 525℃灰化 6 h,炉温降至 130℃以下取出,于重铬酸钾洗液中浸泡 2 h,分别用水和蒸馏水冲洗干净,最后用 15 mL 丙酮冲洗后风干。

1.6.3 真空溶剂过滤装置:真空泵或有调节装置的抽吸器。1 L 的抽滤瓶,侧壁有抽滤口,以及与抽滤瓶配套的橡胶塞。用于酶解液的抽滤。

1.6.4 恒温振荡水浴:95℃~100℃。

1.6.5 分析天平:感量 0.1 mg。

1.6.6 天平(台秤):4 000 g 量程,感量 0.1 g。

1.6.7 马福炉:525℃±5℃。

1.6.8 烘箱:105℃,130℃±3℃。

1.6.9 真空干燥箱。

1.6.10 干燥器:二氧化硅或同等的干燥剂。

1.6.11 pH计:具有温度补偿功能,精度 ± 0.1 。

1.6.12 微量凯氏定氮仪。

1.6.13 移液器:100 μL , 5 mL;一次性移液器吸头。

1.7 试样制备

1.7.1 脂肪含量小于10%的食品

取混匀后的样品于70℃真空干燥过夜,置干燥器中冷却,干样粉碎后过0.3 mm~0.5 mm筛。若试样不能加热,则冷冻干燥后再粉碎过筛。粉碎过筛后的干燥试样存放于干燥器中待用。

1.7.2 脂肪含量大于10%的食品

取适量高温干燥或冷冻干燥的样品经石油醚分别25 mL脱脂3次,混匀后于70℃真空干燥过夜,置干燥器中冷却,干燥后要记录由石油醚造成的试样损失,最后计算膳食纤维含量时进行校正。粉碎过筛后的干燥试样存放于干燥器中待用。

1.7.3 含糖量高的食品

取适量样品每克试样加10 mL 85%乙醇处理样品2次~3次进行脱糖处理,40℃下干燥过夜,粉碎过筛后的干样存放于干燥器中待用。

1.8 分析步骤

1.8.1 水分含量测定

按GB/T 5009.3—2003测定试样中水分含量,用于结果计算。

1.8.2 酶解

1.8.2.1 准确称取双份试样(m_{S1} 和 m_{S2})各1 g,两份质量差 ≤ 0.005 g,精确至0.1 mg,置于400 mL或600 mL高型烧杯(1.6.1)中,同时制备双份空白样,在每个烧杯中加入40 mL pH8.2的MES-TRIS缓冲液,磁力搅拌,直至试样完全分散在缓冲液中。

1.8.2.2 热稳定 α -淀粉酶酶解:加50 μL 热稳定 α -淀粉酶溶液(1.5.2),加盖铝箔,置于95℃恒温振荡水浴中持续振摇,当烧杯内温度升至95℃开始计时,反应30 min。

1.8.2.3 冷却:将烧杯取出,冷却至60℃。用刮勺将烧杯内壁的环状物以及烧杯底部的胶状物刮下,用10 mL蒸馏水冲洗烧杯壁和刮勺。

1.8.2.4 蛋白酶酶解:在每个烧杯中各加入100 μL (50 mg/mL)蛋白酶溶液(1.5.3),加盖铝箔,置于60℃恒温振荡水浴中,当烧杯内温度达60℃时开始计时,持续振摇反应30 min。

1.8.2.5 pH值调节:反应30 min后,边搅拌边加入5 mL 0.561 mol/L盐酸。严格控制60℃,用1 mol/L氢氧化钠溶液或1 mol/L盐酸溶液调pH至 4.5 ± 0.2 。

1.8.2.6 淀粉葡萄糖苷酶酶解:在上述溶液中边搅拌边加入100 μL 淀粉葡萄糖苷酶溶液,加盖铝箔,持续振摇,当烧杯内温度达到60℃时开始计时,反应30 min。

1.8.3 测定

1.8.3.1 总膳食纤维测定

1.8.3.1.1 沉淀:在每份试样中,加入预热至60℃的95%乙醇225 mL(预热以后的体积),乙醇与样液的体积比为4:1,取出烧杯,盖上铝箔,室温下沉淀1 h。建议改为:称量酶解液的质量,用天平(1.6.6)加入4倍质量的预热至60℃的95%乙醇,4℃冰箱中沉淀过夜。

1.8.3.1.2 过滤:在干燥的坩埚(1.6.2)中加1 g硅藻土,70℃真空干燥至恒重。记录坩埚加硅藻土的质量(精确至0.1 mg)。用15 mL 78%乙醇将硅藻土润湿并用真空溶剂过滤装置(1.6.3)在抽真空条件下使硅藻土平铺于坩埚中。将样品酶解液缓慢转移至对应的坩埚中,抽滤。用刮勺和78%乙醇将所有残渣转至坩埚中。

1.8.3.1.3 洗涤:分别用15 mL 78%乙醇、15 mL 95%乙醇和15 mL丙酮洗涤残渣各两次,抽滤去除洗涤液后,将坩埚连同残渣在105℃烘干过夜。将坩埚置干燥器中冷却1 h,称重(包括坩埚、膳食纤维

残渣和硅藻土),精确至 0.1 mg。减去坩埚和硅藻土的干重(1.8.3.1.2),计算残渣质量。

1.8.3.1.4 蛋白质和灰分的测定:称完质量的残渣和硅藻土的混合物,一份用 GB/T 5009.5—2003 测定氮(N)含量,以 $N \times 6.25$ 为换算系数,计算蛋白质质量;另一份试样按 GB/T 5009.4—2003 测定灰分,即在 525℃灰化 5 h,于干燥器中冷却,精确称量坩埚总重(精确至 0.1 mg),减去坩埚和硅藻土的干重(1.8.3.1.2),计算灰分质量。

1.8.3.2 不溶性膳食纤维测定

1.8.3.2.1 称试样的质量按 1.8.2.1 进行,酶解按 1.8.2.2~1.8.2.6 进行。

1.8.3.2.2 过滤洗涤:试样酶解液全部转移至坩埚中过滤,残渣用 10 mL 70℃热蒸馏水洗涤两次,合并滤液,转移至另一 600 mL 高脚烧杯中,备测可溶性膳食纤维(按 1.8.3.3)。残渣分别用 15 mL 78%乙醇、15 mL 95%乙醇和 15 mL 丙酮各洗涤两次,抽滤去除洗涤液,并按 1.8.3.1.3 洗涤、干燥、称重,记录残渣质量。

1.8.3.2.3 按 1.8.3.1.4 测定蛋白质和灰分。

1.8.3.3 可溶性膳食纤维测定

1.8.3.3.1 计算滤液体积:将不溶性膳食纤维过滤后的滤液收集到 600 mL 高型烧杯中。通过称“烧杯+滤液”总重,扣除烧杯质量的方法估算滤液的体积。

1.8.3.3.2 沉淀:滤液加入 4 倍体积预热至 60℃的 95%乙醇,室温下沉淀 1 h。以下测定按总膳食纤维步骤 1.8.3.1.2~1.8.3.1.4 进行。

1.9 结果计算

样品中膳食纤维含量(DF)以质量分数计,以%表示,TDF、IDF、SDF 均按式(1)、式(2)计算:

$$DF = \frac{\frac{m_{R1} + m_{R2}}{2} - m_P - m_A - m_B}{\frac{m_{S1} + m_{S2}}{2}} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

$$m_B = \frac{m_{BR1} + m_{BR2}}{2} - m_{PB} - m_{AB} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

DF——样品中膳食纤维含量(TDF、IDF、SDF), %;

m_{R1} 和 m_{R2} ——双份试样残渣的质量,单位为毫克(mg);

m_P 和 m_A ——分别为试样残渣中蛋白质和灰分的质量,单位为毫克(mg);

m_B ——空白的质量,单位为毫克(mg);

m_{S1} 和 m_{S2} ——试样的质量,单位为毫克(mg);

m_{BR1} 和 m_{BR2} ——双份空白测定的残渣质量,单位为毫克(mg);

m_{PB} ——残渣中蛋白质质量,单位为毫克(mg);

m_{AB} ——残渣中灰分质量,单位为毫克(mg)。

平行测定结果用算术平均值表示,保留一位小数。

1.10 允许差

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

2 第二法 酶重量法-液相色谱法

2.1 范围

本标准的第二法规定了酶重量法-液相色谱法测定食品中含低分子质量抗性麦芽糊精的总膳食纤维的条件和详细分析步骤。

本标准的第二法适用于含有抗性麦芽糊精的糖果蜜饯(含巧克力及制品)、粮食及制品、糕点、饮料、乳制品、肉制品和保健食品等食品中总膳食纤维的测定。

2.2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 5009.3—2003 食品中水分的测定

GB/T 5009.4—2003 食品中灰分的测定

GB/T 5009.5—2003 食品中蛋白质的测定

2.3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准的第二法。

2.3.1

总膳食纤维 total dietary fiber; TDF

包括不溶性膳食纤维(insoluble dietary fiber, IDF)、高分子质量在乙醇中沉淀的可溶性膳食纤维(soluble dietary fiber, SDF)和低分子质量可溶于乙醇的可溶性抗性麦芽糊精(resistant maltodextrin, RMD)。

2.3.2

抗性麦芽糊精 resistant maltodextrin; RMD

葡萄糖聚合物的聚集体,分子质量分布为 504(DP-3)到大于 10 000(DP-62),平均分子质量为 2 000。

2.4 方法提要

取试样两份,在热稳定 α -淀粉酶、蛋白酶和淀粉葡萄糖苷酶的依次作用下将试样中的淀粉、蛋白质等酶解为溶解态的小分子。酶解液经乙醇沉淀、抽滤,用乙醇和丙酮洗涤残渣,干燥后称重,减去由两份残渣分别测定得到的蛋白质和灰分的质量,计算出不溶性膳食纤维和在乙醇中沉淀的高分子质量可溶性膳食纤维的总量(IDF+SDF)。抽滤液经脱盐,高效液相色谱内标法定量洗脱液中的低分子质量可溶于乙醇的抗性麦芽糊精(RMD)。将两部分的值相加,即得到样品中的总膳食纤维(TDF)。

2.5 试剂和溶液

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。

2.5.1~2.5.12 同第一法 1.5.1~1.5.12。

2.5.13 右旋葡萄糖;CAS 50-99-7,纯度>99.5%。

2.5.14 丙三醇;CAS 56-81-5,纯度>99.5%。

2.5.15 麦芽糊精;纯度>95%。

2.5.16 多氨基弱碱性离子交换树脂(OH-型):在去离子水中溶胀 1 周后备用。

2.5.17 大孔强酸性苯乙烯型阳离子交换树脂(Na-型):采用以下方法转化为 H-型进行活化。取 500 g 树脂在水中溶胀 1 周,水漂洗后加 1 200 mL 水和 400 mL 37%的盐酸,不时搅拌 4 h。水漂洗后加 2 L 水浸泡 2 h,重复一次,漂洗后备用。

2.5.18 1%丙三醇标准溶液:称取丙三醇(2.5.14)1 g,精确到 0.1 mg,加去离子水定容到 100 mL。

2.5.19 右旋葡萄糖和丙三醇标准溶液:分别称量 10.0 mg、20.0 mg、50.0 mg 右旋葡萄糖标准(2.5.13),精确到 0.1 mg,各加入 4 mL 1%的丙三醇标准溶液,用去离子水定容到 25 mL。

2.5.20 1%麦芽糊精溶液:称取麦芽糊精(2.5.15)1 g,精确到 0.1 mg,加去离子水定容到 100 mL。

2.6 仪器和设备

实验室常规仪器和以下各项。

2.6.1~2.6.13 同第一法的 1.6.1~1.6.13。

2.6.14 玻璃柱:75 cm 长,15 mm 内径,下端带 1 号砂芯,具聚四氟旋塞。

2.6.15 旋转蒸发仪。

2.6.16 高效液相色谱仪:具有示差检测器(RID)。

2.6.17 凝胶保护柱:6.0 mm×40 mm,6 μm。

2.6.18 凝胶色谱柱:7.8 mm×300 mm,6 μm,两根。

2.7 试样制备

2.7.1 同第一法的 1.7.1。

2.7.2 同第一法的 1.7.2,但对含糖量高的食品不必进行脱糖。

2.8 分析步骤

2.8.1 水分含量测定

同第一法的 1.8.1。

2.8.2 酶解

2.8.2.1 同第一法的 1.8.2.1。

2.8.2.2 同第一法的 1.8.2.2。热稳定 α-淀粉酶的用量为 100 μL。

2.8.2.3 同第一法的 1.8.2.3。

2.8.2.4 同第一法的 1.8.2.4。

2.8.2.5 同第一法的 1.8.2.5。

2.8.2.6 同第一法的 1.8.2.6。淀粉葡萄糖苷酶用量为 300 μL。

2.8.3 酶重量法

测定不溶性膳食纤维(IDF)和高分子质量可溶性膳食纤维(SDF)的总含量。

2.8.3.1 沉淀:同第一法的 1.8.3.1.1。

2.8.3.2 过滤:同第一法的 1.8.3.1.2。

2.8.3.3 洗涤:用 20 mL 78%乙醇洗高型烧杯 3 次。在抽真空条件下洗坩埚中残渣,依次用洗烧杯后的 20 mL 78%乙醇洗 3 次,10 mL 95%乙醇洗两次,10 mL 丙酮冲洗两次。向滤液中加入 10 mL 内标溶液(2.5.18),然后用 78%的乙醇溶液定容至 500 mL,混匀。

2.8.3.4 浓缩:取 200 mL 滤液在 50℃旋转蒸发至近干,用蒸馏水定容至 50 mL。

2.8.3.5 称量:将坩埚在 70℃真空干燥过夜。称量坩埚、膳食纤维残渣和硅藻土的质量,精确到 0.1 mg。减去 2.8.3.2 中坩埚和硅藻土的质量,计算包含不溶性的膳食纤维(IDF)和高分子质量在乙醇中沉淀的可溶性膳食纤维(SDF)的残渣的质量。

2.8.3.6 灰分的测定:取双份试样中的一份残渣,按 GB/T 5009.4—2003 测定试样中的灰分。

2.8.3.7 蛋白质的测定:取双份试样中的另一份残渣,按 GB/T 5009.5—2003 方法测定试样中的蛋白质含量。

2.8.4 液相色谱法

用高效液相色谱法测定试样中的低分子质量抗性麦芽糊精的含量。

2.8.4.1 脱盐

在玻璃柱(2.6.14)中加入溶胀好并充分混合的 10 g OH-型多胺基弱碱性离子交换树脂(2.5.16)和 10 g 转化为 H-型的 Na-型大孔强酸性苯乙烯型阳离子交换树脂(2.5.17)。先用 100 mL 的水清洗。然后把 2.8.3.4 中的 50 mL 溶液加入到柱子中,用 100 mL 的水洗脱,流速 0.8 mL/min,收集 150 mL 洗脱液,在 50℃旋转蒸发至近干,加少量水转移出,定容至 25 mL。溶液经 0.45 μm 水相滤膜过滤,待液相色谱分析用。

2.8.4.2 测定

2.8.4.2.1 色谱参考条件

色谱柱:凝胶保护柱(6.0 mm×40 mm,6 μm);两个串联的凝胶色谱柱(7.8 mm×300 mm,6 μm)。

流动相:超纯水,超声脱气 30 min。

流速:0.5 mL/min。

柱温: $80^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

进样量: $50\ \mu\text{L}$ 和 $100\ \mu\text{L}$ 。

检测器: 内部温度设为 $50^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

2.8.4.2.2 样品中抗性麦芽糊精的测定

取 $100\ \mu\text{L}$ 右旋葡萄糖和丙三醇的溶液(2.5.19)注入液相色谱仪,在上述色谱条件下测定三个不同浓度的右旋葡萄糖和丙三醇的峰面积值。右旋葡萄糖和丙三醇内标的标准参考图谱见图 1。

通过计算右旋葡萄糖峰面积与丙三醇峰面积的比值(y 轴)与右旋葡萄糖质量/丙三醇质量的比率(x 轴)所得曲线的斜率的倒数得到右旋葡萄糖“响应因子”(RF)。

取 $50\ \mu\text{L}$ 的 1% 麦芽糊精(2.5.20)、溶液注入液相色谱仪,在上述色谱条件下测定,确定色谱图中 $\text{DP} \geq 3$ 的葡萄糖聚合物的保留时间。麦芽糊精标准参考色谱图见图 2。

取 $100\ \mu\text{L}$ 样液注入液相色谱仪,在上述色谱条件下测定试样中 $\text{DP} \geq 3$ 的葡萄糖聚合物响应值(峰面积)。利用试样中 $\text{DP} \geq 3$ 的葡萄糖聚合物峰面积与丙三醇峰面积的比值和试样中加入的丙三醇的量得到抗性麦芽糊精的含量。

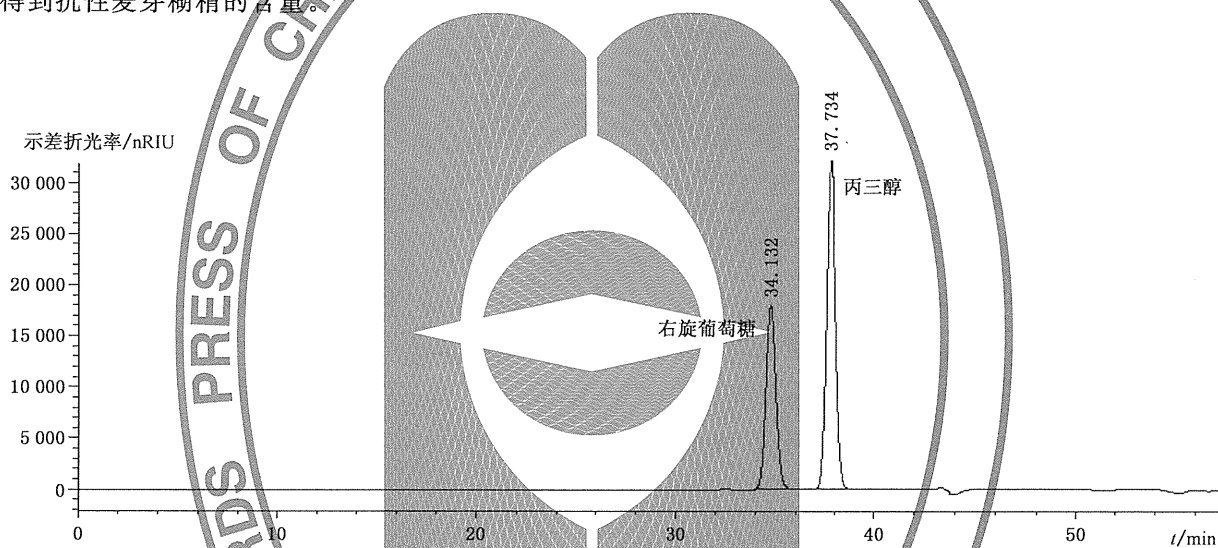


图 1 右旋葡萄糖和丙三醇标准的液相色谱图

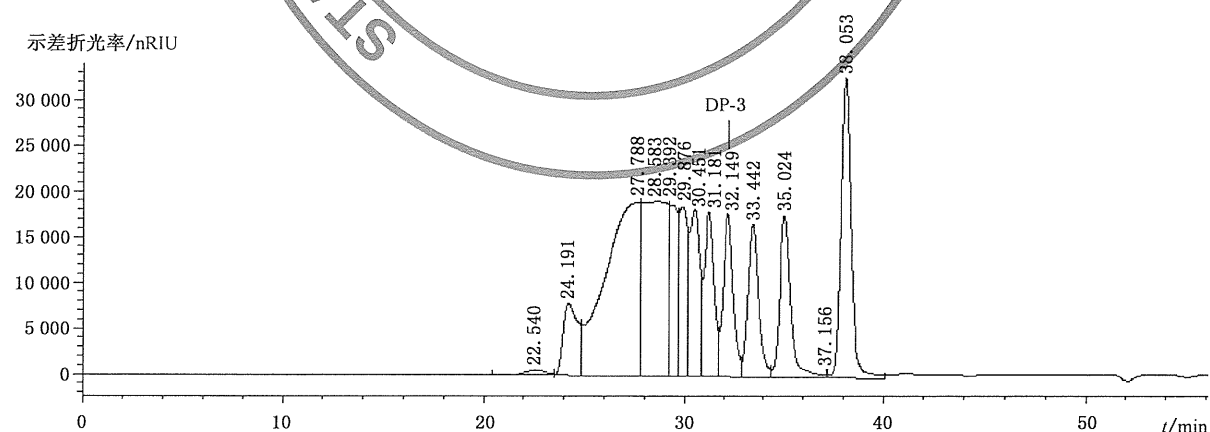


图 2 麦芽糊精保留时间液相色谱图

2.9 结果计算

样品中 TDF、IDF、SDF、RMD 含量以质量分数(%)表示,按式(3)~式(7)计算:

2.9.1 IDF+SDF 的计算

$$\text{IDF} + \text{SDF} = \frac{\frac{m_{\text{SR1}} + m_{\text{SR2}}}{2} - m_{\text{PS}} - m_{\text{AS}} - m_{\text{BR}}}{\frac{m_{\text{S1}} + m_{\text{S2}}}{2}} \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

IDF+SDF——试样中不溶性膳食纤维(IDF)和高分子质量在乙醇中沉淀的可溶性膳食纤维(SDF)的总含量的百分含量(以质量分数计), %;

m_{SR1} 和 m_{SR2} ——双份试样 1 和 2 的坩埚中残渣的质量,单位为毫克(mg);

m_{PS} ——残渣中蛋白质的质量,单位为毫克(mg);

m_{AS} ——残渣中灰分的质量,单位为毫克(mg);

m_{BR} ——空白的坩埚中残渣的质量,单位为毫克(mg);

m_{S1} 和 m_{S2} ——双份试样 1 和 2 的质量,单位为毫克(mg)。

$$m_{\text{BR}} = \frac{m_{\text{BR1}} + m_{\text{BR2}}}{2} - m_{\text{Pb}} - m_{\text{Ab}} \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中:

m_{BR1} 和 m_{BR2} ——双份空白 1 和 2 的坩埚中残渣的质量,单位为毫克(mg);

m_{Pb} ——空白中蛋白质的质量,单位为毫克(mg);

m_{Ab} ——空白中灰分的质量,单位为毫克(mg)。

2.9.2 RMD 的计算

$$\text{RMD} = \frac{\frac{m_{\text{RMD1}} + m_{\text{RMD2}}}{2}}{\frac{m_{\text{S1}} + m_{\text{S2}}}{2}} \times 100 \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中:

RMD——试样中低分子质量可溶于乙醇的抗性麦芽糊精的百分含量(以质量分数计), %;

m_{RMD1} 和 m_{RMD2} ——双份试样 1 和 2 中 $\text{DP} \geq 3$ 的低分子质量可溶于乙醇的抗性麦芽糊精的质量,单位为毫克(mg);

m_{S1} 和 m_{S2} ——双份试样 1 和 2 的质量,单位为毫克(mg)。

$$m_{\text{RMD}} = \frac{PA_{\text{RMD}}}{PA_{\text{glyIS}}} \times m_{\text{glyIS}} \times \text{RF} \quad \dots\dots\dots (6)$$

式中:

PA_{RMD} —— $\text{DP} \geq 3$ 的低分子质量可溶于乙醇的抗性麦芽糊精的色谱峰面积;

PA_{glyIS} ——丙三醇内标的色谱峰面积;

m_{glyIS} ——抽滤液中加入的丙三醇内标的质量,单位为毫克(mg);

RF——右旋葡萄糖的响应因子。

2.9.3 TDF 的计算

$$\text{TDF} = (\text{IDF} + \text{SDF}) + \text{RMD} \quad \dots\dots\dots (7)$$

式中:

TDF——试样中总膳食纤维的百分含量, %。

计算结果应表示到小数点后两位。

2.10 允许差

同一样品两次平行测定结果之差不得超过算术平均值的 10%。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
食品中膳食纤维的测定
酶重量法和酶重量法-液相色谱法
GB/T 22224—2008

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 19 千字
2008年8月第一版 2008年8月第一次印刷

*

书号: 155066·1-33229

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



GB/T 22224-2008