



中华人民共和国国家标准

GB/T 16286—1996

食品中蔗糖的测定方法 酶-比色法

Method for determination of sucrose in food—
Enzyme-colorimetric method

国家技术监督局 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
食品中蔗糖的测定方法
酶-比色法

GB/T 16286—1996

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045
电 话:68522112

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售
版权专有 不得翻印

*

开本 880×1230 1/16 印张 3/4 字数 10 千字
1996 年 10 月第一版 1996 年 10 月第一次印刷
印数 1—2 000

*

书号: 155066 • 1-12953 定价 6.00 元

*

标 目 296—15

前 言

食品中蔗糖的测定方法,一般采用盐酸水解法。由于盐酸水解蔗糖过程中,还有其他糖类被水解为还原糖,导致测定结果偏高。本标准采用的酶-比色法是在检索了近 20 年 148 篇国外文献的基础上,经过反复实验、验证而制定的。由于酶法具有高度的专一性(β -果糖苷酶只能催化蔗糖转化为葡萄糖和果糖),灵敏度高,操作简便,因此测定结果准确。

蔗糖酶解后的产物——葡萄糖的测定方法,与 GB/T 16285—1996 保持一致。

本标准的附录 A 是标准的附录。

本标准由全国食品工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位:中国农垦北方食品监测中心。

本标准经全国食品工业标准化技术委员会秘书处审核。

本标准主要起草人:张宗城、刘宁、郝煜。

目 次

前言	Ⅲ
1 范围	1
2 原理	1
3 试剂	1
4 仪器和设备	2
5 试样的制备	2
6 试液的制备	2
7 分析步骤	3
8 分析结果的表述	3
9 允许差	3
附录 A(标准的附录) β -果糖苷酶、葡萄糖氧化酶、过氧化物酶的技术要求、试验方法及 判定规则	4

中华人民共和国国家标准

食品中蔗糖的测定方法 酶-比色法

GB/T 16286—1996

Method for determination of sucrose in food—
Enzyme-colorimetric method

1 范围

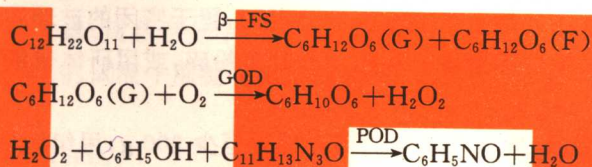
本标准规定了用酶-比色法测定食品中蔗糖的方法。

本标准适用于各类食品中蔗糖的测定。

本标准最低检出限量为 0.04 μg(蔗糖)/mL(试液)。

2 原理

在 β-果糖苷酶(β-FS)催化下,蔗糖被酶解为葡萄糖和果糖。葡萄糖氧化酶(GOD)在有氧条件下,催化 β-D-葡萄糖(葡萄糖水溶液状态)氧化,生成 D-葡萄糖酸-δ-内酯和过氧化氢。受过氧化物酶(POD)催化,过氧化氢与 4-氨基安替比林和苯酚生成红色醌亚胺。在波长 505 nm 处测定醌亚胺的吸光度,计算食品中蔗糖的含量。



3 试剂

3.1 组合试剂盒

1 号瓶:内含 β-果糖苷酶(fructosidase)400 U(活力单位)、柠檬酸、柠檬酸三钠;

2 号瓶:内含 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH=7.6)200 mL,其中含 4-氨基安替比林 0.001 54 mol/L;

3 号瓶:内含 0.022 mol/L 苯酚溶液 200 mL;

4 号瓶:内含葡萄糖氧化酶(glucose oxidase)800 U(活力单位)、过氧化物酶(辣根,peroxidase)2 000 U(活力单位)。

1、2、3、4 号瓶须在 4℃ 左右保存。

3.2 酶试剂溶液

3.2.1 将 1 号瓶中的物质用重蒸馏水溶解,使其体积为 66 mL,轻轻摇动(勿剧烈摇动),使酶完全溶解。此溶液即为 β-果糖苷酶试剂,其中柠檬酸(缓冲溶液)浓度为 0.1 mol/L, pH=4.6。在 4℃ 左右保存,有效期一个月。

3.2.2 将 2 号瓶与 3 号瓶中的溶液充分混合。

3.2.3 将 4 号瓶中的酶溶解在 3.2.2 混合液中,轻轻摇动(勿剧烈摇动),使酶完全溶解,即为葡萄糖氧化酶-过氧化物酶试剂溶液。在 4℃ 左右保存,有效期一个月。

国家技术监督局 1996-04-10 批准

1996-12-01 实施

3.3 0.085 mol/L 亚铁氰化钾溶液

称取 3.7 g 亚铁氰化钾 $[\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$, GB 1273, 分析纯], 溶于 100 mL 重蒸馏水中, 摇匀。

3.4 0.25 mol/L 硫酸锌溶液

称取 7.7 g 硫酸锌 $(\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$, GB 666, 分析纯], 溶于 100 mL 重蒸馏水中, 摇匀。

3.5 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液

称取 0.4 g 氢氧化钠(GB 629, 分析纯), 溶于 100 mL 重蒸馏水中, 摇匀。

3.6 蔗糖标准溶液

称取经 $100 \pm 2^\circ\text{C}$ 烘烤 2 h 的蔗糖(HG 3—1001, 分析纯) 0.400 0 g, 溶于重蒸馏水中, 定容至 100 mL, 摇匀。将此溶液用重蒸馏水稀释 $V_{10.00} \rightarrow V_{100}$, 即为 $400 \mu\text{g/mL}$ 蔗糖标准溶液。

4 仪器和设备

实验室常规仪器及下列各项:

- 4.1 研钵或粉碎机。
- 4.2 分析筛。
- 4.3 组织捣碎机。
- 4.4 恒温水浴锅。
- 4.5 可见光分光光度计。
- 4.6 微量移液管: 1.00 mL, 精度 0.01 mL。

5 试样的制备

5.1 固体样品

粉末状样品: 取有代表性的样品至少 200 g, 充分混匀, 置于密闭的玻璃容器内。

颗粒状样品: 取有代表性的样品至少 200 g, 用粉碎机粉碎, 或用研钵研细, 通过 100 目分析筛, 置于密闭的玻璃容器内。

新鲜水果、蔬菜等固体样品: 取有代表性的可食部分至少 200 g, 用组织捣碎机捣碎, 置于密闭的玻璃容器内。

5.2 糊状样品

取有代表性的样品至少 200 g, 充分混匀, 置于密闭的玻璃容器内。

5.3 固液体样品

取有代表性的样品至少 200 g, 用组织捣碎机捣碎, 置于密闭的玻璃容器内。

5.4 液体样品

取有代表性的样品至少 200 g, 充分混匀, 置于密闭的玻璃容器内。

6 试液的制备

6.1 不含蛋白质的试样

用 100 mL 烧杯称取试样(5.1~5.4) 0.5~10 g(精确至 0.000 1 g), 加少量重蒸馏水, 转移到 250 mL 容量瓶中, 用重蒸馏水定容至刻度。摇匀后用快速滤纸过滤。弃去最初的滤液 30 mL, 即为试液。

试液中蔗糖含量大于 $2\,000 \mu\text{g/mL}$ 时, 应适当增加定容体积。

6.2 含蛋白质的试样

用 100 mL 烧杯称取试样(5.1~5.4) 0.5~10 g(精确至 0.000 1 g), 加少量重蒸馏水, 转移到 250 mL 容量瓶中, 加入 0.085 mol/L 亚铁氰化钾溶液(3.3) 5 mL、0.25 mol/L 硫酸锌溶液(3.4) 5 mL 和 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液(3.5) 10 mL, 使蛋白质沉淀。用重蒸馏水定容至刻度, 摇匀后用快速滤纸过滤。弃去最初滤液 30 mL, 即为试液。

试液中蔗糖含量大于 2 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,应适当增加定容体积。

7 分析步骤

7.1 标准曲线的绘制

用微量移液管取 0.00, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00 mL 蔗糖标准溶液(3.6), 分别置于 10 mL 比色管中, 各加入 1.0 mL β -果糖苷酶试剂溶液(3.2.1), 摇匀, 在 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴锅中恒温 20 min。取出后加入 3 mL 葡萄糖氧化酶-过氧化物酶试剂溶液(3.2.3), 在 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴锅中恒温 40 min。冷却至室温, 用重蒸馏水定容至 10 mL。用 1 cm 比色皿, 以蔗糖标准溶液含量为 0.00 的试剂溶液调整分光光度计的零点, 在波长 505 nm 处测定各比色管内溶液的吸光度。

以蔗糖含量为纵坐标, 吸光度为横坐标, 绘制标准曲线。

7.2 试液吸光度的测定

用微量移液管取 0.20~5.00 mL(依试液中蔗糖的含量而定)试液(6.1~6.2), 置于 10 mL 比色管中。以下按 7.1 步骤操作; 但须用等量试液(6.1~6.2)调整分光光度计零点。

测出试液吸光度后, 在标准曲线上查出对应的蔗糖含量。

8 分析结果的表述

食品中蔗糖的含量以质量百分率表示, 按式(1)计算:

$$X = \frac{C}{m \times \frac{V_2}{V_1}} \times \frac{1}{1\,000 \times 1\,000} \times 100 = \frac{C}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times 10\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中: X ——样品中蔗糖的含量, 质量百分率, %;

C ——标准曲线上查出的试液中蔗糖含量, μg ;

m ——试样的质量, g;

V_1 ——试液的定容体积, mL;

V_2 ——测定时吸取试液的体积, mL。

计算结果精确至小数点后第二位。

9 允许差

同一样品的两次测定值之差, 不得超过两次测定平均值的 5.0%。

附录 A

(标准的附录)

β-果糖苷酶、葡萄糖氧化酶、过氧化物酶的技术要求、试验方法及判定规则

A1 技术指标

A1.1 酶活力

β-果糖苷酶酶活力(U/mg): ≥100;
葡萄糖氧化酶酶活力(U/mg): ≥20;
过氧化物酶酶活力(U/mg): ≥50。

A1.2 干扰酶

β-果糖苷酶、葡萄糖氧化酶、过氧化物酶都不得含有纤维素酶、淀粉葡萄糖苷酶、半乳糖苷酶和过氧化氢酶。

A2 试验方法

用微量移液管吸取 0.50 mL 蔗糖标准溶液(3.6),置于 10 mL 比色管中,加入 100 μg 乳糖(HG 3—1 000,分析纯)、100 μg 可溶性淀粉(HGB 3095,分析纯)和 100 μg 纤维二糖(生化纯),再加入 1.0 mL β-果糖苷酶试剂溶液(3.2.1)。以下按 7.1 步骤操作。测定吸光度后,在标准曲线(7.1)上查出对应的蔗糖含量,按式(A1)计算蔗糖的回收率:

$$R = \frac{C}{0.5 \times 400} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A1)$$

式中: R——蔗糖的回收率, %;

C——蔗糖的实测值, μg。

A3 判定规则

测得蔗糖的回收率,如在 95%~105%范围内,则判定 β-果糖苷酶、葡萄糖氧化酶和过氧化物酶符合技术要求。