



中华人民共和国国家标准

GB/T 16287—1996

食品中淀粉的测定方法 酶 - 比 色 法

Method for determination of starch 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 淀 粉 的 测 定 方 法
酶 - 比 色 法

GB/T 16287—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: 155066·1-12952 定价 6.00 元

*

标 目 296—16

前 言

食品中淀粉测定方法,一般采用化学方法——酸水解法。由于酸水解淀粉时,样品中的其他糖类被分解为还原糖(单糖),造成淀粉的测定结果偏高。本标准采用酶-比色法是在检索了近 20 年 74 篇国外文献的基础上,经过反复实验、验证而制定的。要使食品中的淀粉含量测定准确,必须使淀粉完全溶解。本标准吸取了法国 Cuher. J. C 1982 年总结的有效溶解方法,即二甲基亚砷法,达到了使淀粉完全溶解的目的。

淀粉酶解后的产物——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	2
8 分析结果的表述	3
9 允许差	3
附录 A(标准的附录) 淀粉葡萄糖苷酶、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

食品中淀粉的测定方法 酶 - 比 色 法

GB/T 16287—1996

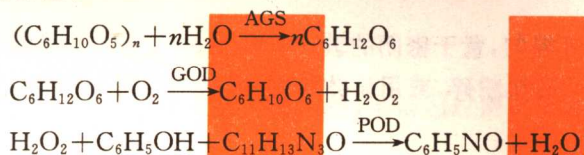
Method for determination of starch in food—
Enzyme-colorimetric method

1 范围

本标准规定了用酶-比色法测定食品中淀粉的方法。
本标准适用于各类食品中淀粉的测定。
本标准最低检出限量为 0.09 μg(淀粉)/mL(试液)。

2 原理

淀粉在淀粉葡萄糖苷酶(AGS)催化下,最终水解为葡萄糖。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)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505 nm波长处测醌亚胺的吸光度,计算食品中淀粉的含量。



3 试剂

3.1 组合试剂盒

- 1号瓶:内含淀粉葡萄糖苷酶(amyloglucosidase)200U(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=7.0)200 mL,其中含4-氨基安替比林为0.00154 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)2000 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。此溶液即为淀粉葡萄糖苷酶试剂溶液,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1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,即葡萄糖氧化

国家技术监督局1996-04-10批准

1996-12-01实施

酶-过氧化物酶试剂溶液。在 4℃ 左右保存,有效期 1 个月。

3.3 二甲基亚砷(分析纯)。

3.4 6 mol/L 盐酸溶液

将 12 mol/L 盐酸(GB 622,分析纯)与等体积重蒸馏水混合,摇匀。

3.5 6 mol/L 氢氧化钠溶液

称取 24 g 氢氧化钠(GB 629,分析纯),溶于 1 000 mL 重蒸馏水中,摇匀。

3.6 淀粉标准溶液

称取经 100±2℃ 干燥 2 h 的可溶性淀粉(HGB 3095,分析纯)0.200 0 g,溶于少量 60℃ 重蒸馏水中,冷却后定容至 100 mL,摇匀。将此溶液用重蒸馏水稀释 $V_{10.00} \rightarrow V_{100}$,即 200 μg/mL 淀粉标准溶液。

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 酸度计或 pH 计。

4.7 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。

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

用 100 mL 三角瓶称取试样(5.1~5.4)0.2~2 g(精确至 0.000 1 g),加入 20 mL 二甲基亚砷(3.3)和 6 mol/L 盐酸溶液(3.4)5 mL,于 60±1℃ 水浴锅中加热 30 min(每隔 5 min 摇动一次)。冷却至室温后,用 6 mol/L 氢氧化钠溶液(3.5)和酸度计调整 pH 值至 4.6 左右。将溶液转移到 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。弃去最初滤液 30 mL,即为试液。

试液中淀粉含量高于 1 000 μg/mL 时,可以适当增加定容体积。

7 分析步骤

7.1 标准曲线的绘制

用微量移液管吸取 0.00,0.20,0.40,0.60,0.80,1.00 mL 淀粉标准溶液(3.6),分别置于 10 mL 比色管中,各加入 1 mL 淀粉葡萄糖苷酶试剂溶液(3.2.1),摇匀,于 58±2℃ 水浴锅中恒温 20 min。冷却至

室温,加入 3 mL 葡萄糖氧化酶-过氧化物酶试剂溶液(3.2.3),摇匀,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,摇匀。用 1 cm 比色皿,以淀粉标准溶液含量为 0.00 的试剂溶液调整分光光度计的零点,在波长 505 nm 处测定各比色管中溶液的吸光度。

以淀粉含量为纵坐标,吸光度为横坐标,绘制标准曲线。

7.2 试液吸光度的测定

用微量移液管吸取 0.20~2.00 mL 试液(6)(依试液中淀粉的含量而定),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)调整分光光度计的零点。测出试液吸光度后,在标准曲线上查出对应的淀粉含量。

8 分析结果的表述

食品中淀粉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——样品中淀粉的含量,质量百分率,%;

C——标准曲线上查出的试液中淀粉含量,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)

淀粉葡萄糖苷酶、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 技术要求

A1.1 酶活力

淀粉葡萄糖苷酶酶活力(U/mg): ≥ 2 ;

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

淀粉葡萄糖苷酶、葡萄糖氧化酶、过氧化物酶都不得含有纤维素酶、 β -果糖苷酶、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 淀粉标准溶液(3.6),置于 10 mL 比色管中,加入 100 μ g 乳糖(HG 3—1000,分析纯)、100 μ g 蔗糖(HG 3—1001,分析纯)和 100 μ g 纤维二糖(生化纯),再加入 1 mL 淀粉葡萄糖苷酶试剂溶液(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)上查出对应的淀粉含量,按式(A1)计算淀粉的回收率:

$$R = \frac{C}{0.5 \times 200} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A1)$$

式中: R ——淀粉的回收率, %;

C ——淀粉的实测值, μ g。

A3 判定规则

测得淀粉的回收率,如在 95%~105% 范围内,则判定淀粉葡萄糖苷酶、葡萄糖氧化酶和过氧化物酶符合技术要求。