

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4358—2023

## 植物源性食品中抗性淀粉的测定 分光光度法

Determination of resistant starch in foods of plant origin by  
spectrophotometry method

2023-04-11 发布

中华人民共和国农业农村部 发布





## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部农产品质量安全监管司提出。

本文件由农业农村部农产品营养标准专家委员会归口。

本文件起草单位：北京市营养源研究所有限公司、农业农村部食物与营养发展研究所、内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司、北京东方倍力营养科技有限公司、中国合格评定国家认可委员会、北京工商大学、北京市农林科学院农产品加工与食品营养研究所、大连工业大学、北京林业大学、安徽燕之坊食品有限公司、南京西麦大健康科技有限公司、华南理工大学、荃银祥玉(北京)生物科技有限公司、北京植本乐食品科技有限公司。

本文件主要起草人：崔亚娟、朱大洲、赵笑、孔凡华、杨春雪、白沙沙、刘玉峰、马利军、张慧萍、贺月恩、蒋峰、蒋彤、李宏、李赫、刘光敏、杜明、杨清、孟冬、安琪、刘井山、李璐、司琳媛、刘锐、张斌、李建华、王姝媛。





# 植物源性食品中抗性淀粉的测定 分光光度法

## 1 范围

本文件规定了植物源性食品中抗性淀粉的分光光度测定方法。

本文件适用于植物源性食品中抗性淀粉含量(1 g/100 g~70 g/100 g)的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 原理

猪胰腺  $\alpha$ -淀粉酶和淀粉葡萄糖苷酶将试样中非抗性淀粉酶解为葡萄糖,经乙醇洗涤,离心后得到粗抗性淀粉,氢氧化钾溶液将其溶解,加入淀粉葡萄糖苷酶将粗抗性淀粉酶解为葡萄糖,与葡萄糖氧化酶-过氧化物缩合生成红色醌类化合物,在 510 nm 处测其吸光度;吸光度值与抗性淀粉含量成正比。

## 5 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

### 5.1 试剂

5.1.1 氢氧化钠(NaOH)。

5.1.2 氢氧化钾(KOH)。

5.1.3 二水合氯化钙( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )。

5.1.4 磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )。

5.1.5 盐酸(HCl)。

5.1.6 马来酸( $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$ )。

5.1.7 4-氨基安替比林( $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$ )。

5.1.8 对羟基苯甲酸( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ )。

5.1.9 无水乙醇( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ )。

5.1.10 冰乙酸( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )。

5.1.11 猪胰腺  $\alpha$ -淀粉酶:CAS 9000-90-2, $\geq 5$  U/mg,2~8 °C 冰箱储存。

5.1.12 淀粉葡萄糖苷酶:CAS 9032-08-0,3260 U/mL,4 °C 储存。

5.1.13 葡萄糖氧化酶:CAS 9001-37-0,238 U/mg,-20 °C 储存。

5.1.14 过氧化物酶:CAS 9003-99-0, $\geq 300$  U/mg,-20 °C 储存。

### 5.2 试剂配制

5.2.1 4.0 mol/L 氢氧化钠溶液:称取氢氧化钠(5.1.1)16 g,缓慢加入 60 mL 水,溶解后加水稀释至

100 mL,混匀。

5.2.2 2.0 mol/L 氢氧化钠溶液:称取氢氧化钠(5.1.1)8 g,缓慢加入 60 mL 水,溶解后加水稀释至 100 mL,混匀。

5.2.3 2.0 mol/L 氢氧化钾溶液:称取氢氧化钾(5.1.2)11.22 g,缓慢加入 60 mL 水,溶解后加水稀释至 100 mL,混匀。

5.2.4 2.0 mol/L 盐酸溶液:量取盐酸(5.1.5)18 mL,缓慢加入 60 mL 水中,混合均匀后加水稀释至 100 mL。

5.2.5 100 mmol/L 马来酸钠缓冲液:称取马来酸(5.1.6)23.2 g 溶于 1 600 mL 水中,用 4 mol/L 氢氧化钠溶液(5.2.1)调至 pH=6.0,再加入二水合氯化钙(5.1.3)0.6 g,加水稀释至 2 000 mL。

5.2.6 1.2 mol/L 乙酸钠缓冲液:量取冰乙酸(5.1.10)70 mL 至 800 mL 水中,用 4 mol/L 氢氧化钠溶液(5.2.1)调至 pH=3.8,加入稀释定容至 1 000 mL。

5.2.7 100 mmol/L 乙酸钠缓冲液:吸取冰乙酸(5.1.10)580  $\mu$ L 至 90 mL 水中,用 4 mol/L 氢氧化钠溶液(5.2.1)调至 pH=4.5,加入稀释定容至 100 mL。

5.2.8 50%乙醇溶液:量取无水乙醇(5.1.9)250 mL,用水稀释并定容至 500 mL,混匀。

5.2.9 300 U/mL 淀粉葡萄糖苷酶储备液:吸取淀粉葡萄糖苷酶(5.1.12)2.0 mL 用马来酸钠缓冲液(5.2.5)稀释至 22 mL,分装于聚丙烯塑料管,放于-20  $^{\circ}$ C 保存。

5.2.10 混合酶溶液[猪胰腺  $\alpha$ -淀粉酶(30 U/mL)+淀粉葡萄糖苷酶(3 U/mL)]:称取猪胰腺  $\alpha$ -淀粉酶(5.1.11)1.0 g 溶于 100 mL 马来酸钠缓冲液(5.2.5)中,搅拌 5 min。加入淀粉葡萄糖苷酶 1.0 mL 使用液(5.2.9),混匀后,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液。现用现配。

5.2.11 GOPOD-氨基安替比林储备液:称取磷酸二氢钾(5.1.4)13.60 g、氢氧化钠(5.1.1)4.2 g 和对羟基苯甲酸 3.0 g(5.1.8)至 90 mL 水中溶解,混匀,用盐酸溶液(5.2.4)或 2 mol/L 氢氧化钠(5.2.2)溶液调节溶液至 pH=7.4,加水稀释定容至 100 mL。

5.2.12 GOPOD-氨基安替比林混合液:量取 GOPOD-氨基安替比林储备液(5.2.11)50 mL,加入 800 mL 水混匀,加入葡萄糖氧化酶(5.1.13)505 mg、过氧化物酶(5.1.14)2.2 mg 和 4-氨基安替比林(5.1.7)81.3 mg,混匀,加水稀释定容至 1 000 mL,-20  $^{\circ}$ C 避光保存。

### 5.3 标准品

D-葡萄糖( $C_6H_{12}O_6$ ,CAS 号:50-99-7),纯度 $\geq 99.5\%$ (GC)或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

### 5.4 标准溶液配制

D-葡萄糖标准工作液(1.0 mg/mL):称取 D-葡萄糖标准品 10.00 mg(精确至 0.01 mg),用水溶解后转移至 10 mL 容量瓶中,定容,现用现配。

## 6 仪器与设备

6.1 紫外可见分光光度计。

6.2 分析天平:感量 0.000 1 g 和 0.000 01 g。

6.3 离心机,转速  $\geq 3\ 000$  r/min。

6.4 pH 计。

6.5 匀浆机。

6.6 涡旋振荡器。

6.7 磨粉机。

6.8 水浴锅:控温范围在 30  $^{\circ}$ C~100  $^{\circ}$ C,温度波动 $\pm 1$   $^{\circ}$ C。

6.9 恒温水浴摇床:可设定为 100 次/min 直线运动,控温范围在室温 5  $^{\circ}$ C~100  $^{\circ}$ C,温度波动 $\pm 1$   $^{\circ}$ C。

## 7 分析步骤

### 7.1 试样制备

固体试样经粉碎、碾磨,过 1 mm 筛(16 目),混匀后备用;其余试样经匀浆机匀浆混匀后备用。

### 7.2 试样处理

#### 7.2.1 称样

称取固体试样 100 mg(精确至 0.000 1g),其余试样称取 500 mg(精确至 0.000 1g),两份试样质量差 $\leq 5$  mg。

#### 7.2.2 去除非抗性淀粉

将试样转置离心管(带有螺旋帽)中,加入 4.0 mL 混合酶溶液(5.2.10),旋紧盖子,振荡器混匀。将离心管卧式放入恒温水浴摇床,37℃振荡,孵育 16 h。取出,离心管中加入 4.0 mL 无水乙醇(5.1.9),涡旋振荡 1 min,3 000 r/m 离心 5 min。弃上清液,加入 8.0 mL 乙醇溶液(5.2.8),涡旋振荡混匀,3 000 r/m 离心 5 min。弃上清液,重复上述重悬浮和离心步骤 2 次,离心管中沉淀物为粗抗性淀粉。

#### 7.2.3 抗性淀粉的水解

离心管中加入 2.0 mL 氢氧化钾溶液(5.2.3),涡旋混匀,冰水浴 20 min,期间搅拌 4 次。迅速向离心管中加入 8.0 mL 乙酸钠缓冲液(5.2.6),涡旋混匀;加入 0.1 mL 淀粉葡萄糖苷酶(5.1.12),旋紧盖子,涡旋混匀。将离心管放置 50℃水浴锅孵育 30 min。取出离心管放置室温。对于抗性淀粉含量 $<10\%$ 的待测液于 3 000 r/m 离心 5 min。对于抗性淀粉含量 $\geq 10\%$ 待测液全部转移至 100 mL 容量瓶,定容,定性滤纸过滤到 50 mL 离心管中。

#### 7.2.4 测定

分别吸取 0.10 mL 试样上清液、D-葡萄糖标准工作液和乙酸钠缓冲液(5.2.7)于 10 mL 玻璃试管中,加入 3.0 mL GOPOD-氨基安替比林混合液(5.2.12),混匀,50℃孵育 20 min 后取出,以乙酸钠缓冲溶液作为空白溶液进行调零点,在 510 nm 处测定试样和 D-葡萄糖标准比色液相对于空白溶液的吸光度值。在 GOPOD 反应中 100  $\mu$ g D-葡萄糖的吸光度值是确定的。

## 8 结果计算

试样中抗性淀粉含量 $\geq 10$  g/100 g 按公式(1)计算;试样中抗性淀粉含量 $<10$  g/100g 按公式(2)计算。

$$\omega = \frac{\Delta E \times F \times 100 \times 100 \times 162}{0.1 \times m \times 1000 \times 180} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- $\omega$  —— 试样中抗性淀粉含量的数值,单位为克每百克(g/100g);
- $\Delta E$  —— 空白溶液的吸光度值;
- $F$  —— 从吸光度值转换到质量的系数数值,单位为微克( $\mu$ g);
- 100 —— 样品的定容体积的数值,单位为毫升(mL);
- 100 —— 单位转换系数;
- 0.1 —— 测定的取样体积的数值,单位为毫升(mL);
- $m$  —— 试样的质量的数值,单位为毫克(mg);
- 1000 —— 单位转换系数;
- 162/180 —— 游离 D-葡萄糖转换到淀粉中存在的无结晶水-D-葡萄糖的换算系数。

$$\omega = \frac{\Delta E \times F \times 10.3 \times 100 \times 162}{0.1 \times m \times 1000 \times 180} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

10.3——样品测定的最终体积的数值,单位为毫升(mL)。

计算结果保留 3 位有效数字。

## 9 精密度

当样品中抗性淀粉含量 $\geq 2.00$  g/100 g时,重复性条件下获得的2次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的5%。

当样品中抗性淀粉含量 $< 2.00$  g/100 g时,重复性条件下获得的2次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

## 10 检出限和定量限

样品中抗性淀粉的检出限为0.6 g/100 g;样品中抗性淀粉的定量限为1.0 g/100 g。

---