

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 802—2004

乳与乳制品中淀粉的测定 酶—比色法

Method for determination of starch in raw milk and
dairy food Enzyme—colorimetric method

2004-04-16 发布

2004-06-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准起草单位：农业部乳品质量监督检验测试中心、农业部食品质量监督检验测试中心(上海)、农业部食品质量监督检验测试中心(佳木斯)和农业部食品质量监督检验测试中心(石河子)。

本标准主要起草人：王金华、张宗城、刘宁、薛刚、钱莉、王南云、罗小玲、朱建新、牛兆红。



乳与乳制品中淀粉的测定
酶—比色法

1 范围

本标准规定了用酶—比色法测定乳与乳制品中淀粉的方法。
本标准适用于乳与乳制品中淀粉的测定。
本标准方法检出限为 0.1 μg。

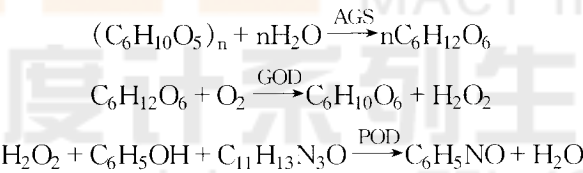
2 规范性引用文件

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

淀粉在淀粉葡萄糖苷酶(AGS)催化下,水解为葡萄糖。葡萄糖氧化酶(GOD)在有氧条件下,催化氧化葡萄糖,生成葡萄糖酸和过氧化氢。受过氧化物酶(POD)催化,过氧化氢与 4-氨基安替吡啉和苯酚生成红色醌亚胺。在 505 nm 波长测定醌亚胺的吸光度与标准系列比较定量。



4 试剂

以下酶制剂为生化纯,化学试剂为分析纯,用水应符合 GB 6682 中一级水的规格或相当纯度的水。

4.1 淀粉葡萄糖苷酶(amyloglucosidase)溶液

称取 1.920 g 一水柠檬酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、7.415 g 二水柠檬酸三钠($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)和相当于 100 u(活力单位)质量的淀粉葡萄糖苷酶,加水溶于 100 mL 容量瓶中,定容,pH 4.6。在 4℃ 左右保存,有效期 1 个月。

4.2 葡萄糖氧化酶(glucose oxidase)—过氧化物酶(辣根,peroxidase)溶液

称取 1.300 g 无水磷酸二氢钾(KH_2PO_4)、4.739 g 十二水磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)、相当 400 u(活力单位)质量的葡萄糖氧化酶和 1 000 u(活力单位)质量的过氧化物酶,加水溶于 100 mL 容量瓶中定容,pH 7.0,在 4℃ 左右保存,有效期 1 个月。

4.3 0.001 54 mol/L 4-氨基安替吡啉溶液

称取 0.031 3 g 4-氨基安替吡啉($\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$)溶于 100 mL 水中。

4.4 0.022 mol/L 苯酚溶液

称取 0.020 7 g 苯酚($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$)溶于 100 mL 水中。

4.5 二甲基亚砷[(CH_3)₂SO]

4.6 6 mol/L 盐酸溶液

将 12 mol/L 盐酸(HCl)与等体积水混合,摇匀。

4.7 6 mol/L 氢氧化钠溶液

称取 24 g 氢氧化钠(NaOH),溶于 100 mL 水中,摇匀。

4.8 淀粉标准溶液

称取经 100 ℃ ± 2 ℃ 干燥 2 h 的可溶性淀粉[(C₆H₁₀O₅)_x] 0.200 g,精确至 0.000 1 g,溶于少量 60 ℃ 水中,冷却后定容至 100 mL,摇匀。将此溶液用水稀释 V_{10.00}→V_{100.0},即 200 μg/mL 淀粉标准溶液。

5 仪器

5.1 恒温水浴锅

精确至 1 ℃。

5.2 可见光分光光度计

505 nm。

5.3 酸度计

5.4 微量移液器

精度 0.01 mL。

6 试料的制备

用 100 mL 三角瓶称取样品 0.5 g~1.5 g,精确至 0.000 1 g,加入 20 mL 二甲基亚砷和 6 mol/L 盐酸溶液 5 mL,于 60 ℃ ± 1 ℃ 恒温水浴锅恒温 30 min(每隔 5 min 摇动一次)。冷却至室温后,用 6 mol/L 氢氧化钠溶液和酸度计调整 pH 至 4.6。将溶液转移到 250 mL 容量瓶中,用水定容,摇匀后用快速滤纸过滤。弃去最初滤液 30 mL,即为试料。

试料中淀粉含量高于 1 000 μg/mL 时,可适当增加定容体积。

7 分析步骤

7.1 标准曲线的绘制

用微量移液器吸取 0.00 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL、1.00 mL 淀粉标准溶液,分别置于 10 mL 容量瓶中,各加入 1 mL 淀粉葡萄糖苷酶溶液,摇匀,于 60 ℃ ± 1 ℃ 恒温水浴锅中恒温 20 min;冷却至室温,加入 1.5 mL 葡萄糖氧化酶—过氧化物酶溶液、1.5 mL 4-氨基安替吡啉溶液和 1.5 mL 苯酚溶液,摇匀,在 36 ℃ ± 1 ℃ 恒温水浴锅中恒温 40 min;冷却至室温,用水定容,摇匀。用 1 cm 比色皿,以淀粉标准溶液含量为 0.00 mL 的试剂溶液调整分光光度计的零点,在波长 505 nm 处测定各容量瓶中溶液的吸光度。以淀粉含量为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。

7.2 试料的测定

用微量移液器吸取 0.20 mL~2.00 mL 试料(依试料中淀粉的含量而定),置于 10 mL 容量瓶中以下按 7.1 从“各加入 1 mL 淀粉葡萄糖苷酶溶液,……用 1 cm 比色皿”步骤操作;但须用等量试料调整分光光度计的零点。测出试料吸光度后,在标准曲线上查出对应的淀粉含量。

8 结果计算

样品中淀粉的含量按式(1)计算。

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

式中:

X——样品中淀粉的含量,单位为百分率(%);

C ——标准曲线上查出的试液中淀粉含量,单位为微克(μg);

m ——样品的质量,单位为克(g);

V_1 ——试料的定容体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——测定时吸取试料的体积,单位为毫升(mL)。

计算结果精确至小数点后两位。

9 允许差

相对相差 $\leq 5\%$ 。

 美析仪器
MACY INSTRUMENT
专业光度计系列生产厂家
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686

M **MACY** **美析仪器**
MACY INSTRUMENT
专业光度计系列生产厂家
HTTP://www.macylab.com TEL: 400-616-4686

中 华 人 民 共 和 国
农 业 行 业 标 准
乳与乳制品中淀粉的测定 酶一比色法
NY/T 802—2004

* * *

中 国 农 业 出 版 社 出 版
(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)
(邮政编码: 100026 网址: www.ccap.com.cn)

中 国 农 业 出 版 社 印 刷 厂 印 刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

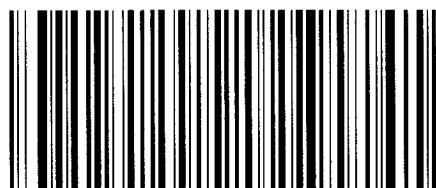
* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.5 字数 5 千字

2004 年 7 月第 1 版 2004 年 7 月北京第 1 次印刷

书号: 15109·350 印数: 1~2 册

定价: 6.00 元



NY/T 802-2004

版权专有 侵权必究
举报电话: 010-65105394