



中华人民共和国国家标准

GB 5009.8—2016

食品安全国家标准

食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、 乳糖的测定

2016-12-23 发布

2017-06-23 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会
国家食品药品监督管理总局 发布

前 言

本标准代替 GB/T 5009.8—2008《食品中蔗糖的测定》、GB/T 18932.22—2003《蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖含量的测定方法 液相色谱示差折光检测法》、GB/T 22221—2008《食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定 高效液相色谱法》。

本标准与 GB/T 5009.8—2008 相比,主要变化如下:

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定”;
- 增加了部分样品前处理。

食品安全国家标准

食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定

1 范围

本标准规定了食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定方法。

本标准第一法适用于食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定,第二法适用于食品中蔗糖的测定。

“第一法”高效液相色谱法,本法适用于谷物类、乳制品、果蔬制品、蜂蜜、糖浆、饮料等食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和乳糖的测定。

“第二法”酸水解-莱因-埃农氏法,本法适用于食品中蔗糖的测定。

第一法 高效液相色谱法

2 原理

试样中的果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和乳糖经提取后,利用高效液相色谱柱分离,用示差折光检测器或蒸发光散射检测器检测,外标法进行定量。

3 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。

3.1 试剂

3.1.1 乙腈:色谱纯。

3.1.2 乙酸锌 $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ 。

3.1.3 亚铁氰化钾 $\{\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}$ 。

3.1.4 石油醚:沸程 $30\text{ }^\circ\text{C} \sim 60\text{ }^\circ\text{C}$ 。

3.2 试剂配制

3.2.1 乙酸锌溶液:称取乙酸锌 21.9 g,加冰乙酸 3 mL,加水溶解并稀释至 100 mL。

3.2.2 亚铁氰化钾溶液:称取亚铁氰化钾 10.6 g,加水溶解并稀释至 100 mL。

3.3 标准品

3.3.1 果糖($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$,CAS 号:57-48-7)纯度为 99%,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3.2 葡萄糖($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$,CAS 号:50-99-7)纯度为 99%,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3.3 蔗糖($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$,CAS 号:57-50-1)纯度为 99%,或经国家认证并授予标准物质证书的标准

物质。

3.3.4 麦芽糖($C_{12}H_{22}O_{11}$, CAS号:69-79-4)纯度为99%,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3.5 乳糖($C_6H_{12}O_6$, CAS号:63-42-3)纯度为99%,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 糖标准贮备液(20 mg/mL):分别称取上述经过 $96\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥2 h的果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和乳糖各1 g,加水定容于50 mL,置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 密封可贮藏一个月。

3.4.2 糖标准使用液:分别吸取糖标准贮备液1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、5.00 mL于10 mL容量瓶、加水定容,分别相当于2.0 mg/mL、4.0 mg/mL、6.0 mg/mL、10.0 mg/mL浓度标准溶液。

4 仪器和设备

4.1 天平:感量为0.1 mg。

4.2 超声波振荡器。

4.3 磁力搅拌器。

4.4 离心机:转速 $\geq 4\ 000\text{ r/min}$ 。

4.5 高效液相色谱仪,带示差折光检测器或蒸发光散射检测器。

4.6 液相色谱柱:氨基色谱柱,柱长250 mm,内径4.6 mm,膜厚 $5\ \mu\text{m}$,或具有同等性能的色谱柱。

5 试样的制备和保存

5.1 试样的制备

5.1.1 固体样品

取有代表性样品至少200 g,用粉碎机粉碎,并通过2.0 mm圆孔筛,混匀,装入洁净容器,密封,标明标记。

5.1.2 半固体和液体样品(除蜂蜜样品外)

取有代表性样品至少200 g(mL),充分混匀,装入洁净容器,密封,标明标记。

5.1.3 蜂蜜样品

未结晶的样品将其用力搅拌均匀;有结晶析出的样品,可将样品瓶盖塞紧后置于不超过 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的水浴中温热,待样品全部溶化后,搅匀,迅速冷却至室温以备检验用。在融化时应注意防止水分侵入。

5.2 保存

蜂蜜等易变质试样置于 $0\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

6 分析步骤

6.1 样品处理

6.1.1 脂肪小于10%的食品

称取粉碎或混匀后的试样0.5 g~10 g(含糖量 $\leq 5\%$ 时称取10 g;含糖量 $5\%\sim 10\%$ 时称取5 g;含

糖量 10%~40% 时称取 2 g;含糖量 $\geq 40\%$ 时称取 0.5 g)(精确到 0.001 g)于 100 mL 容量瓶中,加水约 50 mL 溶解,缓慢加入乙酸锌溶液和亚铁氰化钾溶液各 5 mL,加水定容至刻度,磁力搅拌或超声 30 min,用干燥滤纸过滤,弃去初滤液,后续滤液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤或离心获取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜至样品瓶,供液相色谱分析。

6.1.2 糖浆、蜂蜜类

称取混匀后的试样 1 g~2 g(精确到 0.001 g)于 50 mL 容量瓶,加水定容至 50 mL,充分摇匀,用干燥滤纸过滤,弃去初滤液,后续滤液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤或离心获取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜至样品瓶,供液相色谱分析。

6.1.3 含二氧化碳的饮料

吸取混匀后的试样于蒸发皿中,在水浴上微热搅拌去除二氧化碳,吸取 50.0 mL 移入 100 mL 容量瓶中,缓慢加入乙酸锌溶液和亚铁氰化钾溶液各 5 mL,用水定容至刻度,摇匀,静置 30 min,用干燥滤纸过滤,弃去初滤液,后续滤液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤或离心获取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜至样品瓶,供液相色谱分析。

6.1.4 脂肪大于 10% 的食品

称取粉碎或混匀后的试样 5 g~10 g(精确到 0.001 g)置于 100 mL 具塞离心管中,加入 50 mL 石油醚,混匀,放气,振摇 2 min,1 800 r/min 离心 15 min,去除石油醚后重复以上步骤至去除大部分脂肪。蒸发残留的石油醚,用玻璃棒将样品捣碎并转移至 100 mL 容量瓶中,用 50 mL 水分两次冲洗离心管,洗液并入 100 mL 容量瓶中,缓慢加入乙酸锌溶液和亚铁氰化钾溶液各 5 mL,加水定容至刻度,磁力搅拌或超声 30 min,用干燥滤纸过滤,弃去初滤液,后续滤液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤或离心获取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜至样品瓶,供液相色谱分析。

6.2 色谱参考条件

色谱条件应当满足果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和乳糖之间的分离度大于 1.5。色谱图参见附录 A 中图 A.1 和图 A.2。

- a) 流动相:乙腈+水 = 70+30(体积比);
- b) 流动相流速:1.0 mL/min;
- c) 柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;
- d) 进样量:20 μL ;
- e) 示差折光检测器条件:温度 40 $^{\circ}\text{C}$;
- f) 蒸发光散射检测器条件:漂移管温度:80 $^{\circ}\text{C}$ ~90 $^{\circ}\text{C}$;氮气压力:350 kPa;撞击器:关。

6.3 标准曲线的制作

将糖标准使用液标准依次按上述推荐色谱条件上机测定,记录色谱图峰面积或峰高,以峰面积或峰高为纵坐标,以标准工作液的浓度为横坐标,示差折光检测器采用线性方程;蒸发光散射检测器采用幂函数方程绘制标准曲线。

6.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入高效液相色谱仪中,记录峰面积或峰高,从标准曲线中查得试样溶液中糖的浓度。可根据具体试样进行稀释(n)。

6.5 空白试验

除不加试样外,均按上述步骤进行。

7 分析结果的表述

试样中目标物的含量按式(1)计算,计算结果需扣除空白值:

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times n}{m \times 1\,000} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X —— 试样中糖(果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和乳糖)的含量,单位为克每百克(g/100 g);

ρ —— 样液中糖的浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

ρ_0 —— 空白中糖的浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

V —— 样液定容体积,单位为毫升(mL);

n —— 稀释倍数;

m —— 试样的质量,单位为克(g)或毫升(mL);

1 000 —— 换算系数;

100 —— 换算系数。

糖的含量 ≥ 10 g/100 g时,结果保留三位有效数字,糖的含量 < 10 g/100 g时,结果保留两位有效数字。

8 精密度

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%。

9 其他

当称样量为10 g时,果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和乳糖检出限为0.2 g/100 g。

第二法 酸水解-莱因-埃农氏法

10 原理

本法适用于各类食品中蔗糖的测定:试样经除去蛋白质后,其中蔗糖经盐酸水解转化为还原糖,按还原糖测定。水解前后的差值乘以相应的系数即为蔗糖含量。

11 试剂和溶液

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为GB/T 6682规定的三级水。

11.1 试剂

11.1.1 乙酸锌 $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ 。

11.1.2 亚铁氰化钾 $\{\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}$ 。

- 11.1.3 盐酸(HCl)。
- 11.1.4 氢氧化钠(NaOH)。
- 11.1.5 甲基红($C_{15}H_{15}N_3O_2$):指示剂。
- 11.1.6 亚甲蓝($C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3H_2O$):指示剂。
- 11.1.7 硫酸铜($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)。
- 11.1.8 酒石酸钾钠($C_4H_4O_6KNa \cdot 4H_2O$)。

11.2 试剂配制

- 11.2.1 乙酸锌溶液:称取乙酸锌 21.9 g,加冰乙酸 3 mL,加水溶解并定容于 100 mL。
- 11.2.2 亚铁氰化钾溶液:称取亚铁氰化钾 10.6 g,加水溶解并定容至 100 mL。
- 11.2.3 盐酸溶液(1+1):量取盐酸 50 mL,缓慢加入 50 mL 水中,冷却后混匀。
- 11.2.4 氢氧化钠(40 g/L):称取氢氧化钠 4 g,加水溶解后,放冷,加水定容至 100 mL。
- 11.2.5 甲基红指示液(1 g/L):称取甲基红盐酸盐 0.1 g,用 95%乙醇溶解并定容至 100 mL。
- 11.2.6 氢氧化钠溶液(200 g/L):称取氢氧化钠 20 g,加水溶解后,放冷,加水并定容至 100 mL。
- 11.2.7 碱性酒石酸铜甲液:称取硫酸铜 15 g 和亚甲蓝 0.05 g,溶于水中,加水定容至 1 000 mL。
- 11.2.8 碱性酒石酸铜乙液:称取酒石酸钾钠 50 g 和氢氧化钠 75 g,溶解于水中,再加入亚铁氰化钾 4 g,完全溶解后,用水定容至 1 000 mL,贮存于橡胶塞玻璃瓶中。

11.3 标准品

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

11.4 标准溶液配制

葡萄糖标准溶液(1.0 mg/mL):称取经过 98 °C~100 °C烘箱中干燥 2 h 后的葡萄糖 1 g(精确到 0.001 g),加水溶解后加入盐酸 5 mL,并用水定容至 1 000 mL。此溶液每毫升相当于 1.0 mg 葡萄糖。

12 仪器和设备

- 12.1 天平:感量为 0.1 mg。
- 12.2 水浴锅。
- 12.3 可调温电炉。
- 12.4 酸式滴定管:25 mL。

13 试样的制备和保存

13.1 试样的制备

13.1.1 固体样品

取有代表性样品至少 200 g,用粉碎机粉碎,混匀,装入洁净容器,密封,标明标记。

13.1.2 半固体和液体样品

取有代表性样品至少 200 g(mL),充分混匀,装入洁净容器,密封,标明标记。

13.2 保存

蜂蜜等易变质试样于 0℃~4℃ 保存。

14 分析步骤

14.1 试样处理

14.1.1 含蛋白质食品

称取粉碎或混匀后的固体试样 2.5 g~5 g(精确到 0.001 g)或液体试样 5 g~25 g(精确到 0.001 g),置 250 mL 容量瓶中,加水 50 mL,缓慢加入乙酸锌溶液 5 mL 和亚铁氰化钾溶液 5 mL,加水至刻度,混匀,静置 30 min,用干燥滤纸过滤,弃去初滤液,取后续滤液备用。

14.1.2 含大量淀粉的食品

称取粉碎或混匀后的试样 10 g~20 g(精确到 0.001 g),置 250 mL 容量瓶中,加水 200 mL,在 45℃ 水浴中加热 1 h,并时时振摇,冷却后加水至刻度,混匀,静置,沉淀。吸取 200 mL 上清液于另一 250 mL 容量瓶中,缓慢加入乙酸锌溶液 5 mL 和亚铁氰化钾溶液 5 mL,加水至刻度,混匀,静置 30 min,用干燥滤纸过滤,弃去初滤液,取后续滤液备用。

14.1.3 酒精饮料

称取混匀后的试样 100 g(精确到 0.01 g),置于蒸发皿中,用(40 g/L)氢氧化钠溶液中和至中性,在水浴上蒸发至原体积的 $\frac{1}{4}$ 后,移入 250 mL 容量瓶中,缓慢加入乙酸锌溶液 5 mL 和亚铁氰化钾溶液 5 mL,加水至刻度,混匀,静置 30 min,用干燥滤纸过滤,弃去初滤液,取后续滤液备用。

14.1.4 碳酸饮料

称取混匀后的试样 100 g(精确到 0.01 g)于蒸发皿中,在水浴上微热搅拌除去二氧化碳后,移入 250 mL 容量瓶中,用水洗蒸发皿,洗液并入容量瓶,加水至刻度,混匀后备用。

14.2 酸水解

14.2.1 吸取 2 份试样各 50.0 mL,分别置于 100 mL 容量瓶中。

14.2.1.1 转化前:一份用水稀释至 100 mL。

14.2.1.2 转化后:另一份加(1+1)盐酸 5 mL,在 68℃~70℃ 水浴中加热 15 min,冷却后加甲基红指示液 2 滴,用 200 g/L 氢氧化钠溶液中和至中性,加水至刻度。

14.3 标定碱性酒石酸铜溶液

吸取碱性酒石酸铜甲液 5.0 mL 和碱性酒石酸铜乙液 5.0 mL 于 150 mL 锥形瓶中,加水 10 mL,加入 2 粒~4 粒玻璃珠,从滴定管中加葡萄糖标准溶液约 9 mL,控制在 2 min 中内加热至沸,趁热以每两秒一滴的速度滴加葡萄糖,直至溶液颜色刚好褪去,记录消耗葡萄糖总体积,同时平行操作三份,取其平均值,计算每 10 mL(碱性酒石酸甲、乙液各 5 mL)碱性酒石酸铜溶液相当于葡萄糖的质量(mg)。

注:也可以按上述方法标定 4 mL~20 mL 碱性酒石酸铜溶液(甲、乙液各半)来适应试样中还原糖的浓度变化。

14.4 试样溶液的测定

14.4.1 预测滴定:吸取碱性酒石酸铜甲液 5.0 mL 和碱性酒石酸铜乙液 5.0 mL 于同一 150 mL 锥形瓶中,加入蒸馏水 10 mL,放入 2 粒~4 粒玻璃珠,置于电炉上加热,使其在 2 min 内沸腾,保持沸腾状态 15 s,滴入样液至溶液蓝色完全褪尽为止,读取所用样液的体积。

14.4.2 精确滴定:吸取碱性酒石酸铜甲液 5.0 mL 和碱性酒石酸铜乙液 5.0 mL 于同一 150 mL 锥形瓶中,加入蒸馏水 10 mL,放入几粒玻璃珠,从滴定管中放出的(转化前样液 14.2.1.1 或转化后样液 14.2.1.2)样液(比预测滴定 14.4.1 预测的体积少 1 mL),置于电炉上,使其在 2 min 内沸腾,维持沸腾状态 2 min,以每两秒一滴的速度徐徐滴入样液,溶液蓝色完全褪尽即为终点,分别记录转化前样液(14.2.1.1)和转化后样液(14.2.1.2)消耗的体积(V)。

注:对于蔗糖含量在 0.x%水平的样品,可以采用反滴定的方式进行测定。

15 分析结果的表述

15.1 转化糖的含量

试样中转化糖的含量(以葡萄糖计)按式(2)进行计算:

$$R = \frac{A}{m \times \frac{50}{250} \times \frac{V}{100} \times 1\,000} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

- R —— 试样中转化糖的质量分数,单位为克每百克(g/100 g);
- A —— 碱性酒石酸铜溶液(甲、乙液各半)相当于葡萄糖的质量,单位为毫克(mg);
- m —— 样品的质量,单位为克(g);
- 50 —— 酸水解(14.2)中吸取样液体积,单位为毫升(mL);
- 250 —— 试样处理(14.1)中样品定容体积,单位为毫升(mL);
- V —— 滴定时平均消耗试样溶液体积,单位为毫升(mL);
- 100 —— 酸水解(14.2)中定容体积,单位为毫升(mL);
- 1 000 —— 换算系数;
- 100 —— 换算系数。

注:样液(14.2.1.1)的计算值为转化前转化糖的质量分数 R_1 ,样液(14.2.1.2)的计算值为转化后转化糖的质量分数 R_2 。

15.2 蔗糖的含量

试样中蔗糖的含量 X 按式(3)计算:

$$X = (R_2 - R_1) \times 0.95 \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中:

- X —— 试样中蔗糖的质量分数,单位为克每百克(g/100 g);
- R_2 —— 转化后转化糖的质量分数,单位为克每百克(g/100 g);
- R_1 —— 转化前转化糖的质量分数,单位为克每百克(g/100 g);
- 0.95 —— 转化糖(以葡萄糖计)换算为蔗糖的系数。

蔗糖含量 ≥ 10 g/100 g 时,结果保留三位有效数字,蔗糖含量 < 10 g/100 g 时,结果保留两位有效

数字。

16 精密度

在重复性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%。

17 其他

当称样量为 5 g 时,定量限为 0.24 g/100 g。

附录 A 色 谱 图

果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和乳糖标准物质的蒸发光散射检测色谱图见图 A.1。

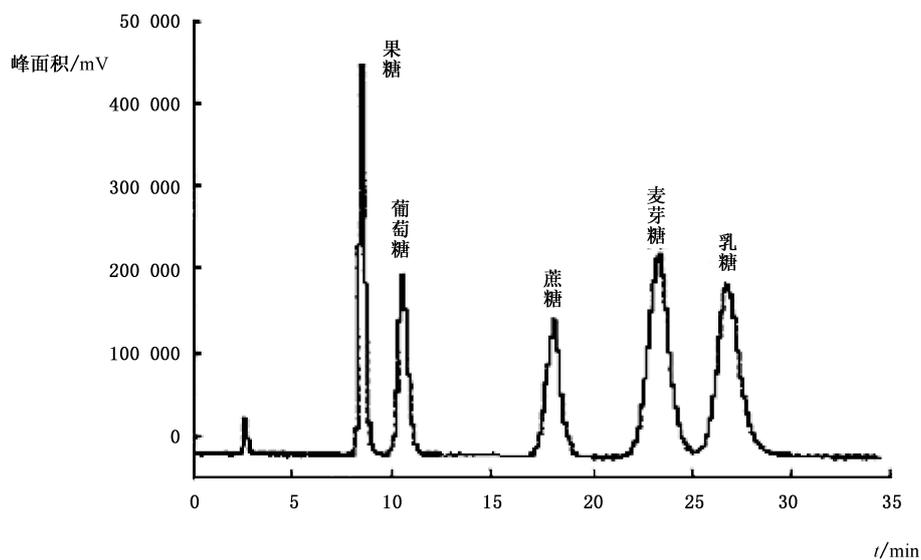


图 A.1 果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和乳糖标准物质的蒸发光散射检测色谱图

果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和乳糖标准物质的示差折光检测色谱图见图 A.2。

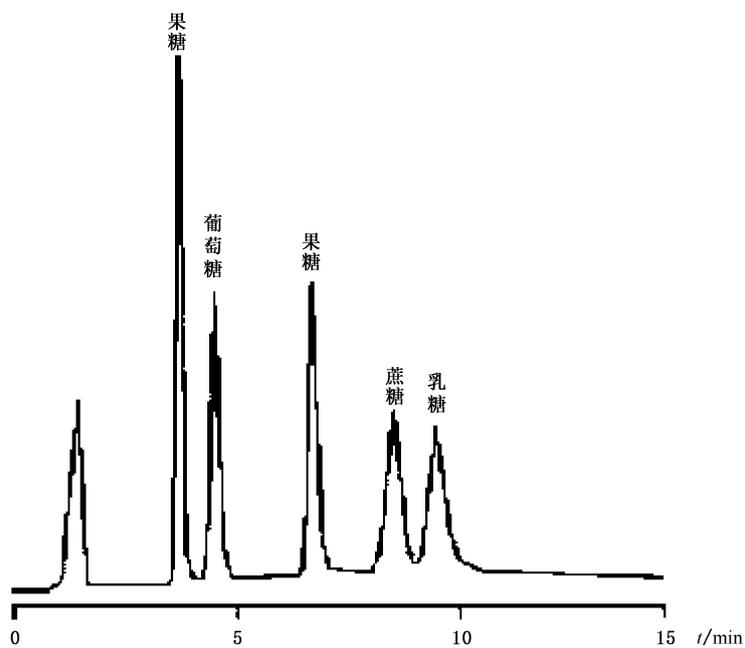


图 A.2 果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和乳糖标准物质的示差折光检测色谱图