

中华人民共和国农业行业标准

NY / T 2016—2011

水果及其制品中果胶含量的测定 分光光度法

Determination of pectin content in fruit and derived product—
Spectrophotometry method

2011-09-01 发布

2011-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB / T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出。

本标准由全国果品标准化技术委员会(SAC / TC 510)归口。

本标准起草单位：农业部果品及苗木质量监督检验测试中心（郑州）、中国农业科学院郑州果树研究所。

本标准主要起草人：方金豹、庞荣丽、何为华、李君、吴斯洋、郭琳琳、俞宏。



水果及其制品中果胶含量的测定 分光光度法

1 范围

本标准规定了用分光光度法测定水果及其制品中果胶含量的方法。

本标准适用于水果及其制品中果胶含量的测定。

本标准方法线性范围为 $1 \text{ mg/L} \sim 100 \text{ mg/L}$ ，检出限为 0.02 g/kg 。

2 规范性引用文件

下列文件对本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 原理

用无水乙醇沉淀试样中的果胶，果胶经水解后生成半乳糖醛酸，在硫酸中与咪唑试剂发生缩合反应，生成紫红色化合物，该化合物在 525 nm 处有最大吸收，其吸收值与果胶含量成正比，以半乳糖醛酸为标准物质，标准曲线法定量。

4 试剂

除非另有说明，所用水应达到 GB / T 6682 规定的三级水要求，所用试剂均为分析纯试剂。

4.1 无水乙醇($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$)。

4.2 硫酸(H_2SO_4 ，优级纯)。

4.3 咪唑($\text{C}_4\text{H}_5\text{N}$)。

4.4 67%乙醇溶液：无水乙醇+水=2+1。

4.5 pH0.5的硫酸溶液：用硫酸调节水的pH至0.5。

4.6 40 g / L 氢氧化钠溶液：称取 4.0g 氢氧化钠，用水溶解并定容至 100 mL。

4.7 1 g / L 咪唑乙醇溶液：称取 0.100 0 g 咪唑，用无水乙醇溶解并定容至 100 mL。作空白实验检测，即 1 mL 水、0.25 mL 咪唑乙醇溶液和 5 mL 硫酸混合后应清澈、透明、无色。

4.8 半乳糖醛酸标准储备液：准确称取无水半乳糖醛酸 0.100 0 g，用少量水溶解，加入 0.5 mL 氢氧化钠溶液(4.6)，定容至 100 mL，混匀。此溶液中半乳糖醛酸质量浓度为 1000 mg/L 。

4.9 半乳糖醛酸标准使用液：分别吸取 0.0 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL 半乳糖醛酸标准储备液(4.8)于 50 mL 容量瓶中，定容，溶液质量浓度分别为 0.0 mg/L 、 20.0 mg/L 、 40.0 mg/L 、 60.0 mg/L 、 80.0 mg/L 、 100.0 mg/L 。

5 仪器

5.1 分光光度计。

5.2 组织捣碎机。

5.3 分析天平，感量为 0.0001 g 。

5.4 恒温水浴振荡器。

5.5 离心机： 4000 r/min 。

6 分析步骤

6.1 试样制备

果酱及果汁类制品将样品搅拌均匀即可。新鲜水果，取水果样品的可食部分，用自来水和去离子水依次清洗后，用干净纱布轻轻擦去其表面水分。苹果、桃等个体较大的样品采用对角线分割法，取对角可食部分，将其切碎，充分混匀；山楂、葡萄等个体较小的样品可随机取若干个体切碎混匀。用四分法取样或直接放入组织捣碎机中制成匀浆。少汁样品可按一定质量比例加入等量去离子水。将匀浆后的试样冷冻保存。

6.2 预处理

称取 1.0 g~5.0 g（精确至 0.001 g）试样于 50 mL 刻度离心管中，加入少量滤纸屑，再加入 35 mL 约 75℃ 的无水乙醇，在 85℃ 水浴中加热 10 min，充分振荡。冷却，再加无水乙醇使总体积接近 50 mL，在 4 000 r/min 的条件下离心 15 min，弃去上清液。在 85℃ 水浴中用乙醇溶液 (4.4) 洗涤沉淀，离心分离，弃去上清液，此步骤反复操作，直至上清液中不再产生糖的穆立虚反应为止（检验方法：取上清液 0.5 mL 注入小试管中，加入 5%α-萘酚的乙醇溶液 2 滴~3 滴，充分混匀，此时溶液稍有白色浑浊，然后使试管轻微倾斜，沿管壁慢慢加入 1 mL 硫酸(4.2)，若在两液层的界面不产生紫红色色环，则证明上清液中不含有糖分），保留沉淀 A。同时做试剂空白试验。

6.3 果胶提取液的制备

6.3.1 酸提取方式

将上述制备出的沉淀 A(6.2)，用 pH0.5 的硫酸溶液(4.5)全部洗入三角瓶中，混匀，在 85℃ 水浴中加热 60 min，期间应不时摇荡，冷却后移入 100 mL 容量瓶中，用 pH0.5 的硫酸溶液(4.5)定容，过滤，保留滤液 B 供测定用。

6.3.2 碱提取方式

对于香蕉等淀粉含量高的样品宜采用碱提取方式。将上述制备出的沉淀 A(6.2)，用水全部洗入 100 mL 容量瓶中，加入 5 mL 氢氧化钠溶液(4.6)，定容，混匀。至少放置 15 min，期间应不时摇荡。过滤，保留滤液 C 供测定用。

6.4 标准曲线的绘制

吸取 0.0 mg/L、20.0 mg/L、40.0 mg/L、60.0 mg/L、80.0 mg/L、100.0 mg/L 半乳糖醛酸标准使用溶液(4.9) 各 1.0 mL 于 25 mL 玻璃试管中，分别加入 0.25 mL 咪唑乙醇溶液(4.7)，产生白色絮状沉淀，不断摇动试管，再快速加入 5.0 mL 硫酸(4.2)，摇匀。立刻将试管放入 85℃ 水浴振荡器内水浴 20 min，取出后放入冷水中迅速冷却。在 1.5 h 的时间内，用分光光度计在波长 525 nm 处测定标准溶液的吸光度，以半乳糖醛酸浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

6.5 样品的测定

吸取 1.0 mL 滤液 B(6.3.1)或滤液 C (6.3.2) 于 25 mL 玻璃试管中，加入 0.25 mL 咪唑乙醇溶液(4.7)，同标准溶液显色方法进行显色，在 1.5 h 的时间内，用分光光度计在波长 525 nm 处测定其吸光度，根据标准曲线计算出滤液 B 或滤液 C 中果胶含量，以半乳糖醛酸计。按上述方法同时做空白试验，用空白调零。如果吸光度超过 100 mg/L 半乳糖醛酸的吸光度时，将滤液 B 或滤液 C 稀释后重新测定。

7 结果计算

样品中果胶含量以半乳糖醛酸质量分数 w 计，单位为克每千克(g/kg)，按式(1)进行计算：

$$w = \frac{\rho \times V}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

ρ ——滤液 B 或滤液 C 中半乳糖醛酸质量浓度，单位为毫克每升(mg / L)；

V ——果胶沉淀 A 定容体积，单位为毫升(mL)；

m ——试样质量，单位为克(g)。

计算结果保留三位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过这两次测定算术平均值的 10%。

