

DF06 膳食纤维测定仪测定乳粉中的膳食纤维含量（TDF、IDF、SDFP 和 SDFS）

一、前言

乳粉作为重要的营养配方基料，其膳食纤维含量与组成对产品品质及健康声称具有重要意义。然而，乳粉基质中常含有较高含量的脂肪与蛋白质，在酶解过程中易形成复合残留物，可能干扰膳食纤维的准确分离与测定。在实际检测中，酶解后的残渣若不经适当脱脂处理，残留脂类可能包裹纤维或增加残渣重量，导致 IDF 及 TDF 结果偏离真实值。

为此，本方案参考《GB 5009.88-2023 食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定》，使用 DF06 膳食纤维含量测定仪对乳粉样品进行总膳食纤维（TDF）、不溶性膳食纤维（IDF）、可沉淀的可溶性膳食纤维（SDFP）和不可沉淀的可溶性膳食纤维（SDFS）进行测试，设计了丙酮脱脂与未脱脂处理的对比实验，系统考察脱脂步骤对测定结果的影响，同时对于乳粉类膳食纤维含量测试的实验细节进行优化，为乳制品及相关领域实验室提供有力的技术依据与操作参考。

二、仪器与试剂

2.1 仪器

DF06 膳食纤维测定仪、K1160 全自动凯氏定氮仪、SH420F 石墨消解仪、马弗炉、悟空 K2025 高效液相色谱仪、水浴锅、分析天平等。

2.2 试剂

热稳定 α -淀粉酶溶液、蛋白酶溶液、淀粉葡萄糖苷酶溶液、顺丁烯二酸、甲基红、溴甲酚绿、硼酸、氢氧化钠、石油醚、丙酮、顺丁烯二酸、冰乙酸、浓硫酸、弱碱性丙烯酸系阴离子交换树脂（OH⁻）、强酸性氢离子交换树脂（H⁺）、二水合氯化钙、95%乙醇、二甘醇。

2.3 样品

乳粉。

三、实验方案

3.1 试剂配制

(1) 78%乙醇溶液：取 821mL 95%乙醇，用水稀释并定容至 1L，混匀。

(2) 氢氧化钠溶液 (4mol/L)：称取 16g 氢氧化钠，缓慢加入 60mL 水、溶解后加水稀释至 100mL，混匀。

(3) 顺丁烯二酸缓冲液 (50mmol/L)：称取 11.6g 顺丁烯二酸溶于 1600mL 水中，用 4mol/L 氢氧化钠溶液调至 pH=6.0，再加入 0.6g 二水合氯化钙，加水稀释至 2L。

(4) 乙酸溶液：量取 115mL 冰乙酸，加水稀释至 1L。

3.2 仪器准备

a 将滤膜编号，于 105°C 烘箱中烘干至恒重并称重为 M_G 后，安装于过滤漏斗中，并安装至仪器相应位置处。

b 移取 350 μ L 的热稳定 α -淀粉酶溶液，溶于盛有 50mL 的顺丁烯二酸缓冲溶液的酶瓶中，然后将酶瓶安装至仪器相应位置处；700 μ L 的 25mg/mL 蛋白酶溶液，溶于盛有 50mL 的顺丁烯二酸缓冲液的酶瓶中，然后将酶瓶安装至仪器相应位置处；移取 700 μ L 的淀粉葡萄糖苷酶溶液，溶于盛有 50mL 的顺丁烯二酸缓冲液的酶瓶中，然后将酶瓶安装至仪器相应位置处。

c 确保 95%乙醇、纯水、顺丁烯二酸缓冲液、醋酸溶液的对应试剂桶中试剂充足，然后将其与对应接头连接。

3.3 样品前处理及称量

以石油醚作为抽提试剂，使用海能 SOX606 索氏提取仪对乳粉样品进行脱脂处理，抽提结束后将样品于 105°C 烘干至恒重并记录其损失因子。随后准确称取脱脂后样品 1.0g (精确至 0.1mg)，使用称量纸盛放，注意避免气流吹拂样品导致质量损失。

3.4 IDF 与 SDFP 的测定

设定酶解程序如下表：

表一 酶解程序

热稳定 α -淀粉酶反应时间/min	40	H ₂ O（洗涤）/mL	10
淀粉葡萄糖苷酶反应时间/min	30	抽滤时间/min	10
蛋白酶反应时间/min	45	95%乙醇沉淀用量/mL	330
乙酸加液量/mL	2.0	沉淀时间/min	60
不可溶抽滤方式	低	不可溶抽滤时间/min	10
可溶抽滤方式	低	可溶抽滤时间/min	10

在运行-第一法中选定设定酶解程序，开始运行，并按照步骤将酶解袋安装至仪器对应位置处，然后按照步骤提示将样品倒入酶解袋中。（注意避免样品粘在酶解袋内壁高于上压条，否则应用带针头的注射器吸取缓冲液将样品冲入酶解袋，冲洗体积不超过两毫升）。

仪器自动进行酶解、乙酸溶液添加。然后根据弹窗提示测定（或需添加 1mol/L 氢氧化钠溶液或乙酸溶液调整）空白、样品的 pH 值为 4.3 ± 0.2 ，然后点击下一步。按照提示加入 200mg 二甘醇作为内标物，以备进行后续的液相法测试。

仪器自动进行抽滤，得到滤液与 ISDF 的残渣，将附有残渣的滤膜放置于新的抽滤瓶上，向含有残渣的漏斗中加入约 15mL 丙酮静置 10min 使其自然滤过，重复上次操作 2 次后。按照十字折叠后放置于样品架上，在 105℃烘箱中烘干至恒重并称重为 M_{GR} 。



图一 不可溶性膳食纤维抽滤后滤液状态图



图二 不可溶性膳食纤维含残渣滤膜脱脂后状态图

将过滤漏斗的外斗装回仪器对应位置，点击下一步，仪器自动加入 95%乙醇进行沉淀。



图三 滤液沉淀后状态图（可沉淀的可溶性膳食纤维部分）

沉淀完成后，在仪器上换装另一套装有恒重好的滤膜的漏斗及抽滤瓶，将沉淀好的溶液摇匀并倒入新的漏斗中抽滤，在抽滤初期，可不连接抽滤泵，使滤液自由流动，待滤液约 200mL 后，将其分装至干净瓶中以备后续液相使用。随后，可在设置-调试界面手动抽滤至滤液全部流至抽滤瓶中。将含有残渣的滤膜放置于新的抽滤瓶上，向含有残渣的漏斗中加入约 15mL 丙酮静置 10min，随后可使用手动抽滤模式进行抽滤，重复上次操作 2 次后。实验完成后，按照十字折叠后放置于样品架上，在 105℃烘箱中烘干至恒重（至少需 4 小时）并称重为 M_{GR0} 。



图四 沉淀后滤液自由过滤状态图



图五 可溶可沉降部分滤膜脱脂后状态图（丙酮脱脂）

3.5 残渣处理方式

每两份残渣中，一份按照国标《GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》第一法进行消解（推荐试剂量为硫酸铜 0.4g、硫酸钾 6g、硫酸 20mL，420℃下保温时间 3 小时），蒸馏、滴定，计算蛋白质质量 M_P ；另一份置于马弗炉中，于 550℃下灰化 3h 测定灰分，计算灰分质量 M_A 。用于液相测试部分的滤液则按照国标要求进浓缩、脱盐和复溶处理，随后使用液相色谱仪进行测试。

3.6 结果计算

试剂空白按下公式计算：

$$M_B = \overline{M_{BR}} - M_{BP} - M_{BA}$$

M_B ：试剂空白质量，g；

$\overline{M_{BR}}$ ：试剂空白残渣质量，g；

M_{BP} ：试剂空白残渣中蛋白质质量，g；

M_{BA} ：试剂空白残渣中灰分质量，g。

试样中 IDF、SDFP 的含量均按下公式计算，书写相同的参数应对应好相应的测试指标：

$$X = \frac{(M_{GR} - M_G) - M_P - M_A - M_B}{M \times f} \times 100$$

$$f = \frac{M_C}{M_D}$$

M_{GR} : 试样残渣及处理后滤膜质量, g;

M_G : 处理后滤膜质量, g;

X: 试样中膳食纤维含量, %;

M_P : 试样残渣中蛋白质质量, g;

M_A : 试样残渣中灰分质量, g;

M_B : 试剂空白质量, g;

M: 试样取样量, g;

f: 试样因脱水、脱糖、脱脂导致质量变化的校正因子, 若样品经多次处理, 则将每个校正因子相乘, 得到总的校正因子; 若试样无需处理, 则为 1;

M_C : 试样预处理前质量, g;

M_D : 试样预处理后质量, g;

试样 SDFS 按下式计算

$$X_{SDFS} = \frac{PA_{SDFS} \times m_{IS}}{PA_{IS} \times m \times Rf \times f} \times \frac{100}{1000}$$

PA_{SDFS} : 试样上机液中待测物质的峰面积, RIU·s;

m_{IS} : 滤液中加入的内标物的质量, mg;

PA_{IS} : 试样上机液中内标物的峰面积, RIU·s;

m: 试样的称样量, g;

Rf: 标准物质与内标物质的响应因子, 经测试, 响应因子 $Rf=1.3481$;

f: 试样因脱水、脱糖、脱脂导致质量变化的校正因子, 若样品经多次处理, 则将每个校正因子相乘,

得到总的校正因子；若试样无需处理，则为1；

100:转换为百分比含量的系数；

1000:mg 转换为 g 的系数。

四、测试结果

经过分析检测，样品中的 IDF 含量、SDF 含量（SDFP+SDFS）、TDF 含量见以下表格：

表二 IDF 含量测定结果（丙酮脱脂）

样品	损失因子	取样量/g	残渣/g	残渣蛋白/g	残渣灰分/g	ISDF/%	均值/%	精密度/%
空白			0.0036		0.0005			
			0.0017	0.0009				
乳粉	1.0346	0.7642	0.0184		0.0019	0.5675	0.5992	10.59
		0.7626	0.0084	0.0044				
		0.7566	0.0166		0.0009			
		0.7612	0.0080	0.0036		0.6310		

注：精密度=|平行一样-平行二样|÷平均值×100%。《GB 5009.88-2023 食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定》中要求精密度不得大于 20%。

表三 SDFP 含量测定结果（丙酮脱脂）

样品	损失因子	取样量/g	残渣/g	残渣蛋白/g	残渣灰分/g	SDFP/%	均值 /%	精密度 /%
空白			0.0061		0.0007			
			0.0057	0.0007				
乳粉	1.0346	1.0031	0.0940		0.0356	1.7987	1.6635	16.25
		1.0034	0.1180	0.0472				
		1.0035	0.0909		0.0367			
		1.0041	0.1174	0.0471		1.5284		

注：精密度=|平行一样-平行二样|÷平均值×100%。《GB 5009.88-2023 食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定》中要求精密度不得大于 20%。

表四 SDFS 含量测定结果

样品	损失因子	二甘醇内标 质量/mg	二甘醇峰面积/ $\mu\text{RIU}\cdot\text{s}$	SDFS 总峰面积 $\mu\text{RIU}\cdot\text{s}$	SDFS/%	均值/%	精密度/%
乳粉	1.0346	200	248,689	14.337	0.822	0.850	6.50
			269,906	16.605	0.877		

表五 TDF 含量测定结果（丙酮脱脂与未脱脂结果对比）

样品	ISDF/%	SDFP/%	SDFS/%	TDF/%
乳粉（丙酮脱脂）	0.5992	1.6635	0.8500	3.1127
乳粉（未脱脂）	5.7120	3.7710	0.8500	10.3330

注：为验证丙酮脱脂对于乳粉类样品膳食纤维含量测试结果的影响，设计了丙酮脱脂与脱脂的对比实验。由结果可以看出，乳粉类样品中可能存在结合态脂类物质，经酶解后以游离态形式存在于滤膜残渣中，若不进行脱脂处理会导致测试结果偏高。

五、注意事项

1、乳粉样品实验过程中可溶可沉降性膳食纤维部分其滤液存在白色絮状物，建议沉淀结束的初始阶段不要连接抽滤瓶使其自动滤过，避免部分假阳性絮状物质进入滤液，影响后续液相测试结果。待滤液体积约 200mL 后可在仪器手动测试界面，阶段性打开抽滤装置以缓慢抽滤。

2、乳粉样品中可能存在部分结合态脂类物质，酶解后存在于残渣中进而会导致 IDF 和 SDFP 部分测试结果偏高，分别使用丙酮对抽滤结束后的这两部分残渣进行脱脂处理可有效避免上述问题。建议后续测试此类样品时，除对样品前处理脱脂外，测试过程中的残渣部分也使用丙酮进行脱脂处理，以减少脂类物质对于测试结果的影响。

六、结论

测试结果表明，DF06 膳食纤维测定仪可用于乳粉样品中 TDF、IDF、SDFP、SDFS 的含量的测试，对于此类可能含有结合态脂类的样品，除了对样品进行脱脂前处理外，建议在酶解实验过程中使用丙酮对含有残渣的滤膜进行脱脂，以避免脂类物质对于测试结果的影响。

七、参考标准

[1] 《GB5009.88-2023 食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定》