

膳食纤维测定仪测定三种醋中的总膳食纤维 TDF 的含量

（高分子量膳食纤维 HMWDF+不可沉降性膳食纤维 SDFS）

一、前言

测定醋中膳食纤维含量具有重要的科学与应用意义。首先，从营养学角度看，膳食纤维在调节肠道功能、改善肠道菌群结构、降低餐后血糖波动及促进脂质代谢等方面发挥着关键作用。虽然醋属于液态调味品，通常不被视为膳食纤维的重要来源，但随着功能性食品和健康调味品的发展，部分醋产品在发酵过程中可能引入可溶性膳食纤维或低聚糖类物质，其实际含量有必要通过科学检测加以确认。其次，从产品研发与质量控制角度，膳食纤维含量的测定有助于评估原料选择、发酵工艺及后处理过程对营养成分的影响，为功能型醋产品的配方优化和工艺改进提供数据支持。再次，在法规与市场层面，准确测定膳食纤维含量是进行营养标签标识和健康宣称的基础，有助于规范市场秩序，避免夸大或误导性宣传。总体而言，开展醋中膳食纤维含量的测试，不仅有助于深入理解其营养特性，也对产品创新、质量评价及消费者健康选择具有现实意义。

本方案依照国标《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 膳食纤维测定仪对三种醋样品中的总膳食纤维 TDF（高分子量膳食纤维 HMWDF 与不可沉降性膳食纤维 SDFS 的总和）进行测定。

二、仪器

DF06 膳食纤维测定仪， K1160 全自动凯氏定氮仪，SH520 自动消解仪， K2025 高效液相色谱仪，马弗炉，分析天平等

三、实验过程

3.1、仪器准备

3.1.1、将滤膜编号，于 105℃烘箱中烘干至恒重并称重为 M_0 后，安装于过滤漏斗中，并安装至仪器相应位置处。

3.1.2、称取 0.35g 胰 α -淀粉酶、移取 350 μ L 淀粉葡萄糖苷酶溶液至离心管中，加入顺丁烯二酸缓冲液 35mL，然后漩涡震荡 5 分钟使酶溶解，若溶解后底部有少许沉淀（一般为提取酶时的载体），可取上清液使用；移取 700 μ L 的 50mg/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。

3.1.3、确保 95%乙醇、78%乙醇、纯水（三级，下同）、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。

3.2、用小烧杯准确称取样品 3g 左右，精确至 0.1mg

3.3、HMWDF 的测定

3.3.1、设定酶解程序如下：

胰 α -淀粉酶/淀粉葡萄糖苷酶混合酶反应时间/h	16	95%乙醇沉淀用量/mL	260
Tris 溶液添加量/mL	10	沉淀时间/min	60
蛋白酶反应时间/min	30	78%乙醇洗涤用量/mL	15
乙酸加液量/mL	2	95%乙醇洗涤用量/mL	15
抽滤方式	低	抽滤时间/min	10

3.3.2、在运行-GB5009.88-2023 第二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，将样品用缓冲液充分洗入酶解袋中，缓冲液总用量不应超过 10mL。（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 2mL）。

3.3.3、仪器自动进行混合酶酶解、Tris 溶液添加。然后根据弹窗提示测定（或需添加 Tris 溶液或乙酸溶液调整）空白、样品的 pH 值为 8.2 ± 0.2 ，然后点击下一步，仪器自动进行糖化终止和蛋白酶的添加、酶解。

3.3.4、蛋白酶酶解完成后，仪器自动按照方法添加乙酸溶液，然后根据弹窗提示测定（或需添加乙酸溶液或 1mol/L 氢氧化钠溶液）空白、样品的 pH 值为 4.3 ± 0.2 ，然后点击下一步，仪器自动进行 95%乙醇添加、计时沉淀。沉淀之前，确保抽滤装置全部组装完成，然后放到仪器对应位置处（先不要与抽滤接口连接）。

3.3.5、沉淀计时结束后，仪器自动开始抽滤。抽滤的前 5 分钟，抽滤装置不连接抽滤接口，使滤液自然流动过滤；后 5 分钟，将抽滤装置连接到抽滤接口。若抽滤结束后，内斗中仍存有滤液，则需在调试界面手动开启抽滤，将滤液全部收集至抽滤瓶中。程序结束后，得到滤液与 TDF 的残渣，将附有残渣的滤纸取出，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_{GR} 。

3.4、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 0.2g、硫酸钾 3g、硫酸 20mL，420℃下保温时间至少为 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 。

3.5、用量筒移取 200mL 滤液至烧瓶中，设定旋转蒸发仪的参数为 50° C~80° C，转速为 100rpm，然后将盛有滤液的烧瓶安装到旋转蒸发仪对应位置处，将滤液旋蒸至近干。

3.6、用 20mL 纯水将近干溶液复溶。充分溶解后，取 5mL 溶液至离心管中，离心管中提前加入 2g 的阴离子交换树脂（OH⁻）和氢离子交换树脂（H⁺），然后反复颠倒混合至少 5 分钟进行脱盐，然后静置 10 分钟后将上清液转移至新的离心管中。再向有离子交换树脂的离心管中加入 5mL 纯水，重复颠倒混合和静置的过程，然后将上清液合并至新的离心管中。

3.7、将脱盐后的溶液过 0.45 μm 水相膜后，上液相色谱仪检测，按照参考国标设置液相色谱仪的参数。

3.8、HMWDF 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。

HMWDF 按下公式计算，书写相同的参数应对应好相应的测试指标：

$$X_{HMWDF} = \frac{(\overline{M_{GR}} - M_G) - M_P - M_A - M_B}{\overline{M} \times f} \times 100\%$$

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

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;

M₀: 试样预处理后质量, g。

3.9、SDFS 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: 同 3.8 中 f;

100: 转换为百分比含量的系数;

1000: mg 转换为 g 的系数。

四、结果与讨论

经过分析检测, 3 种醋样品中的 HMWDF 含量如下表:

样品	称样量/g	残渣/g	残渣蛋白 /g	残渣灰分/%	HMWDF/%	均值/%	精密度/%
醋 1	3.3257	0.0696	0.0172	0.0177	0.73	0.76	6.62
	3.2194	0.0489					
	3.3015	0.0521	0.0106	0.0153	0.78		
	3.1292	0.0509					
	0.0000	0.0139	0.0053				

	0.0000	0.0184		0.0104			
醋 2	3.2345	0.0529	0.0143		0.64		
	3.1792	0.0469		0.0145			
	3.1566	0.0518	0.0133		0.58	0.61	10.70
	3.2288	0.0491		0.0182			
	0.0000	0.0139	0.0053				
	0.0000	0.0184		0.0104			
醋 3	3.2914	0.0728	0.0209		0.91		
	3.2656	0.0782		0.0244			
	3.2077	0.0743	0.0215		0.96	0.93	5.33
	3.1998	0.0756		0.0223			
	0.0000	0.0139	0.0053				
	0.0000	0.0184		0.0104			

SDFS 的测定结果如下表：

样品	称样量/g	二甘醇质量/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/%
醋 1	3.3257	200	522.719	8.231	0.07
醋 2	3.2345		504.741	3.839	0.03
醋 3	3.2914		488.784	5.977	0.06

三种醋样品中的 HMWDF 的测得值分别为 0.76%、0.61%、0.93%，精密度分别为 6.62%、10.70%、5.33%，均符合参考国标中精密度不应高于 20%的要求；SDFS 的测得值分别为 0.07%、0.03%、0.06%。因此，可得三种醋样品中的 TDF 含量分别为 0.83%、0.64%、0.99%。

五、参考文献

[1] GB 5009.88-2023 食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定[s]