



中华人民共和国国家标准

GB/TXXXXX—XXXX

生化制品中还原糖的测定 第二法 离子色谱法

Determination of reducing sugar in biochemical products
Ion chromatography method

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由全国生化检测标准化技术委员会（SAC/TC 387）提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

生化制品中还原糖的测定 第二法 离子色谱法

1 范围

本文件规定了生化制品中L-岩藻糖、D-阿拉伯糖、L-鼠李糖、D-半乳糖、D-葡萄糖、D-甘露糖、D-木糖、D-核糖、D-乳糖、D-麦芽糖10种还原糖含量的离子色谱法。

本文件适用于生化制品中的岩藻糖、阿拉伯糖、鼠李糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、木糖、核糖、乳糖、麦芽糖含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

样品中的还原糖经沸水提取后，经离子色谱柱分离，脉冲安培检测器检测，色谱保留时间定性，外标法定量。

5 试剂耗材

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。

5.1 试剂

5.1.1 氢氧化钠（NaOH）：色谱纯。

5.1.2 正己烷（C₆H₆）：分析纯。

5.2 试剂配制

5.2.1 氢氧化钠溶液（200 mmol/L）：称取 8.00g 氢氧化钠，溶于水稀释至 1000 mL，混匀。

5.3 标准品

5.3.1 L-岩藻糖（CAS: 2438-80-4，纯度：≥99.0%，或经国家认证并授权标准物质证书的标准物质）。

5.3.2 D-阿拉伯糖（CAS: 10323-20-3，纯度：≥99.0%，或经国家认证并授权标准物质证书的标准物质）。

- 5.3.3 L-鼠李糖 (CAS: 3615-41-6, 纯度: $\geq 99.0\%$, 或经国家认证并授权标准物质证书的标准物质)。
- 5.3.4 D-半乳糖 (CAS: 59-23-4, 纯度: $\geq 99.0\%$, 或经国家认证并授权标准物质证书的标准物质)。
- 5.3.5 D-葡萄糖 (CAS: 50-99-7, 纯度: $\geq 99.0\%$, 或经国家认证并授权标准物质证书的标准物质)。
- 5.3.6 D-甘露糖 (CAS: 3458-28-4, 纯度: $\geq 99.0\%$, 或经国家认证并授权标准物质证书的标准物质)。
- 5.3.7 D-木糖 (CAS: 6763-34-3, 纯度: $\geq 99.0\%$, 或经国家认证并授权标准物质证书的标准物质)。
- 5.3.8 D-核糖 (CAS: 50-69-1, 纯度: $\geq 99.0\%$, 或经国家认证并授权标准物质证书的标准物质)。
- 5.3.9 D-乳糖 (CAS: 63-42-3, 纯度: $\geq 99.0\%$, 或经国家认证并授权标准物质证书的标准物质)。
- 5.3.10 D-麦芽糖 (CAS: 69-79-4, 纯度: $\geq 95.0\%$, 或经国家认证并授权标准物质证书的标准物质)。

5.4 标准溶液的制备

- 5.4.1 标准储备液 (10.0 mg/mL): 分别称取 1.0g 标准物质 (精确至 0.1 mg), 用水溶解并定容至 100 mL, 配制成质量浓度为 10.0 mg/mL 标准储备液, 冷藏保存。
- 5.4.2 混合标准储备液 (100 mg/L): 分别吸取 1.00 mL 标准储备液 (10.0 mg/mL) 于 100 mL 容量瓶中, 用水稀释并定容至刻度, 配制成质量浓度为 100 mg/L 混合标准储备液, 冷藏保存。
- 5.4.3 混合标准工作液: 分别吸取 0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL 混合标准储备液 (100 mg/L) 于 10 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 配制成 1.0 mg/L、2.0 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L 混合标准工作液。

5.5 材料

- 5.5.1 微孔过滤膜: 孔径 0.22 μm 。
- 5.5.2 净化柱: C₁₈固相萃取小柱 (500mg) 或性能相当者。

6 仪器设备

- 6.1 离子色谱仪: 脉冲安培检测器, Au 工作电极, Ag/AgCl 参比电极。
- 6.2 分析天平: 感量 0.1 mg 和 1 mg。
- 6.3 离心机: 最大转速 15000 r/min。
- 6.4 涡旋混匀器。
- 6.5 电动粉碎机。

7 实验步骤

7.1 样品制备

取有代表性的样品至少 50 g, 固体样品 (液体样品混匀直接待用) 用电动粉碎机粉碎 (过孔径为 0.3 mm 的筛), 混匀后装入洁净的盛样容器内, 作为试样, 室温密封储存。

7.2 样品提取处理

7.2.1 含油脂及蛋白类液体样品前处理

称取样品1 g（精确到0.001 g）于50 mL离心管中，加入20 mL水，在沸水浴中提取30 min，超声提取10 min；样液冷却后，用水定容至50 mL容量瓶中；取部分澄清水层，加入正己烷5 mL，振摇或涡旋2 min，于5000 r/min离心5 min。取水层清液待净化。

7.2.2 不含油脂及蛋白类液体样品前处理

称取样品1 g（精确到0.001 g）于50 mL离心管中，加水至40 mL，在沸水浴中提取30 min，超声提取10 min；样液冷却后，转移至50 mL 容量瓶中定容，充分振摇，于5000 r/min离心5 min，取水层清液待净化。

7.3 试样净化

试样提取溶液可根据试样中目标糖含量稀释适当的倍数。

上述试样提取溶液或稀释溶液采用离心获取上清液后，经过C₁₈固相萃取小柱，弃去前3mL，收集后续洗脱液过0.22μm滤膜待测。C₁₈固相萃取小柱使用前依次用10mL甲醇、15mL水活化，静置30min。

7.4 仪器色谱参考条件

a) 色谱柱：阴离子交换柱（带保护柱）Dionex CarboPac PA20，3 mm ×150 mm，保护柱3 mm ×30 mm，或等效的色谱柱。

b) 流速：0.4 mL/min。

c) 进样量：10μL。

d) 脉冲安培检测器：Au工作电极，Ag/AgCl参比电极。

e) 淋洗液：淋洗液A：水；淋洗液B：氢氧化钠溶液（200 mmol/L）；梯度洗脱条件参见表1。

表1 洗脱条件

时间/min	淋洗液A/%	淋洗液B/%
0.0	97.0	3.0
20.0	97.0	3.0
20.1	70.0	30.0
35.0	70.0	30.0
35.1	0.0	100
40.0	0.0	100
40.1	97.0	3.0
45.0	97.0	3.0

7.5 标准曲线的制作

以混合标准工作液中目标糖的浓度为横坐标，以响应值为纵坐标，绘制标准工作曲线。10种还原糖标准品色谱图见附录A中图A.1。

7.6 样品的测定

将待测样品液上机测定，记录色谱图，根据保留时间定性，记录峰面积，根据标准曲线计算待测样品液中糖的浓度。

8 分析结果计算与表示

试样中可溶性糖含量按照式（1）计算：

$$X = \frac{\rho \times V \times K}{m \times 1000 \times 10} \dots\dots\dots(1)$$

式中：
X——试样中含量，单位为克每百克（g/100g）；
ρ——由标准工作曲线得到的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；
V——定容的体积，单位为毫升（mL）；
K——稀释倍数；
m——试样的称样量，单位为克（g）；
10——换算系数；
1000——换算系数。

糖的含量≥10 g/100g时，计算结果保留3位有效数字；糖的含量<10 g/100g时，计算结果保留2位有效数字。

9 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%。

10 精密度

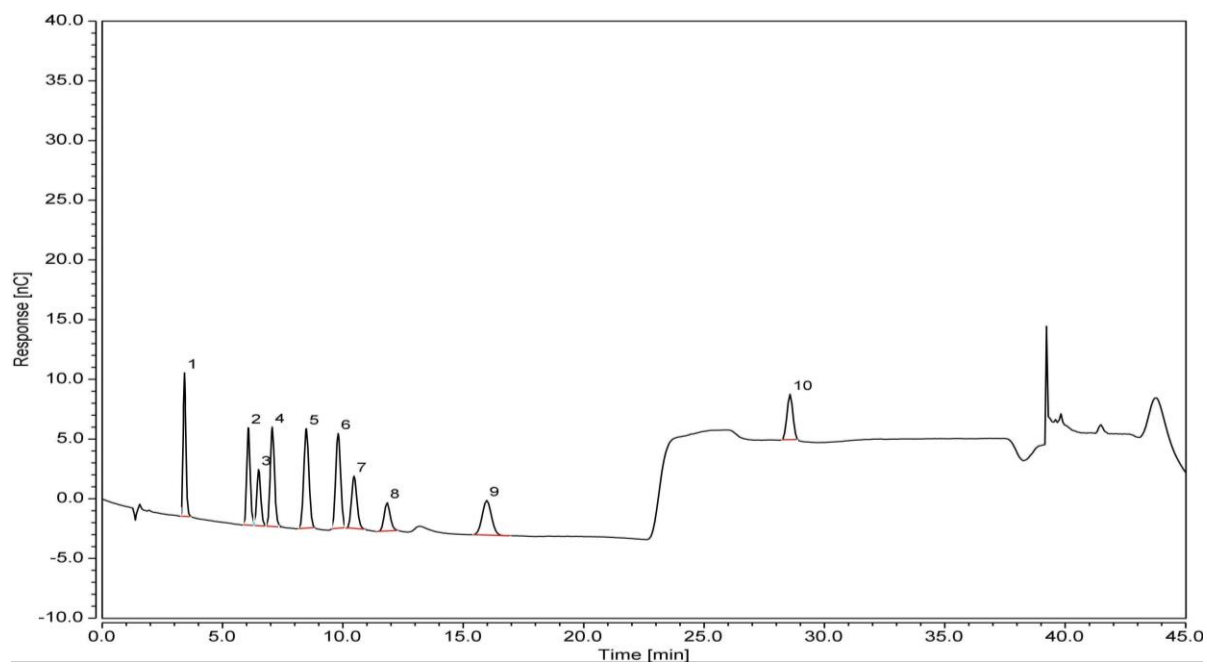
本方法测定10种还原糖标准品的参考检出限和定量限见表2。

表2 10 种还原糖标准品检出限和定量限

序号	化合物	检出限/(mg/L)	定量限/(mg/L)
1	岩藻糖	0.2	0.6
2	阿拉伯糖	0.2	0.6
3	鼠李糖	0.2	0.6
4	半乳糖	0.2	0.6
5	葡萄糖	0.2	0.6
6	甘露糖	0.2	0.6
7	木糖	0.2	0.6
8	核糖	0.2	0.6
9	乳糖	0.2	0.6
10	麦芽糖	0.2	0.6

附录 A
(资料性)
离子色谱图

还原糖标准品色谱图典型图见图A.1。

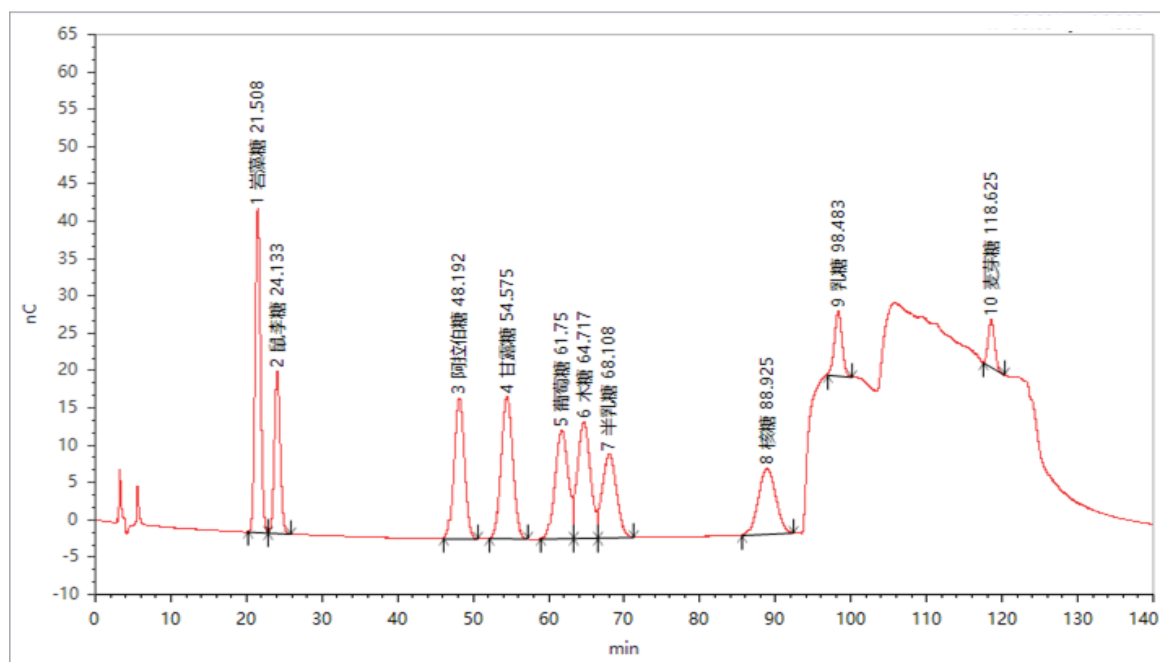


标引序号说明：

- 1——岩藻糖
- 2——阿拉伯糖
- 3——鼠李糖
- 4——半乳糖
- 5——葡萄糖
- 6——甘露糖
- 7——木糖
- 8——核糖
- 9——乳糖
- 10——麦芽糖

图A.1 PA20色谱柱下10种还原糖的出峰时间图

还原糖标准品色谱图典型图见图A.2。



标引序号说明：

- 1——岩藻糖
- 2——鼠李糖
- 3——阿拉伯糖
- 4——甘露糖
- 5——葡萄糖
- 6——木糖
- 7——半乳糖
- 8——核糖
- 9——乳糖
- 10——麦芽糖

图A.2 MA1色谱柱下10种还原糖的出峰时间图