



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

银耳中银耳多糖的测定方法

The determination of polysaccharides in white jully fungus

(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。

2024年8月1日

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华全国供销合作总社提出。

本文件由全国银耳标准化工作组（SWG9）归口。

本文件起草单位：自然资源部第三海洋研究所、厦门谱尼测试有限公司、古田县食用菌研发中心、全国银耳标准化工作组、福建省食用菌产品质量监督检验中心、福建省祥云生物科技发展有限公司、安发（福建）生物科技有限公司、安诺康（福建）生物科技有限公司。

本文件主要起草人：

银耳中银耳多糖的测定方法

1 范围

本文件描述了采用离子色谱法对银耳中银耳多糖的定性定量方法。

本文件适用于银耳中银耳多糖经酸水解后的特征性单糖——岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖和甘露糖的测定。

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

GB/T 35945 新型生物发酵名词术语

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

银耳多糖 *tremella fuciformis extract*

由担子菌银耳中提取的一类多糖。

[来源：GB/T 35945-2018，2.1.8.8]

4 原理

银耳多糖样品在酸性条件下水解成单糖，其中特征性单糖——岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖，采用阴离子交换柱分离，脉冲安培检测器测定，保留时间定性，峰面积外标法定量。

5 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 规定的一级水。

5.1 标准品

5.1.1 岩藻糖标准品（CAS 号：2438-80-4）：纯度 \geq 98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.1.2 半乳糖标准品 (CAS 号: 59-23-4): 纯度 \geq 98%, 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.1.3 葡萄糖标准品 (CAS 号: 492-62-6): 纯度 \geq 98%, 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.1.4 木糖标准品 (, CAS 号: 58-86-6): 纯度 \geq 98%, 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.1.5 甘露糖标准品 (, CAS 号: 31103-86-3): 纯度 \geq 98%, 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.2 试剂

5.2.1 氮气 (N_2), 99.99%。

5.2.2 甲醇 (CH_3OH), 色谱纯。

5.2.3 三氟乙酸 ($C_2HF_3O_2$), 分析纯。

5.2.4 氢氧化钠溶液 ($NaOH$, 50%, 质量浓度): 色谱纯。

5.3 试剂配制

5.3.1 三氟乙酸溶液 (2 mol/L)

准确量取 14.85mL 三氟乙酸 (5.8), 加水定容至 100 mL, 混匀。

5.3.2 氢氧化钠溶液 ($NaOH$, 0.05 M)

准确移取 2.6mL50%氢氧化钠溶液 (5.9), 加水定容至 1000mL 容量瓶, 混匀。

5.4 标准溶液的制备

5.4.1 单糖标准储备溶液

分别准确称取岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖标准品 0.01g (精确至 0.0001g) 置于 10mL 容量瓶中, 加水溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得浓度为 1.0mg/mL 的标准储备液, 于 4℃ 冰箱中冷藏保存, 有效期 3 个月。

5.4.2 单糖标准溶液的配制

准确移取适量标准储备溶液 (5.12), 用水稀释成浓度分别为 0.5 μ g/mL、1.0 μ g/mL、2.5 μ g/mL、5.0 μ g/mL、10.0 μ g/mL、20.0 μ g/mL 的标准工作液, 然后进行色谱分析, 绘制校正曲线。

5.5 材料

5.5.1 容量瓶

5mL、10mL、100mL、1000 mL。

5.5.2 水解管

25mL。

6 仪器设备

6.1 离子色谱仪

配脉冲安培检测器。

6.2 分析天平

精度 0.01g、0.0001g。

6.3 粉碎机

6.4 恒温水浴锅

R T[~](100±0.0℃)。

6.5 离心机

转速≥10000r/min。

6.6 电热恒温干燥箱。

6.7 氮吹仪。

7 试验步骤

7.1 样品前处理

7.1.1 试样提取

称取粉碎后过 24 目筛的银耳干品样品 1.0000 g（精确到 0.0001 g），加入 50 mL 水，用恒温水浴在 92℃条件下于搅拌提取 5 h 后，放置冷却倒入离心管，10000 r/min，离心 10 min，取上清液定容至 50 mL，混匀。

7.1.2 试样水解

准确吸取试样提取溶液 0.5 mL 于 25 mL 水解管中，加入 2 mol/L 三氟乙酸溶液 0.5 mL，在 110℃电热恒温干燥箱中水解 3 h，取出后冷却至室温，加入 1 mL 甲醇，氮气吹干，加水溶解转移至 5 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，混匀。

7.2 测定

7.2.1 色谱条件

以下分析条件可供参考，采用其他条件应验证其适用性。

a) 色谱柱：Dinoex Carbo Pac™ PA20，250 mm × 4.6 mm，5 μm，或相当者；

- b)柱温：30℃；
 c)流速：0.5 mL/min；
 d)流动相：0.05 mol/L NaOH-H₂O(V/V, 2/98)，等度洗脱；
 e)进样体积：10 μL。

7.2.2 标准工作曲线绘制

分别取单糖标准溶液，注入离子色谱仪，以各单糖的峰面积为纵坐标，以相应的单糖标样浓度为横坐标，分别绘制标准工作曲线。岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖标准溶液的离子色谱图参见附录A.1。

7.2.3 试样溶液的测定

取试样溶液10 μL，注入离子色谱仪，根据单糖标准品的保留时间定性，外标法定量，记录峰面积，试样中各单糖的响应值均应在标准曲线范围之内，超过线性范围则应稀释后再进行分析。试样溶液色谱图参见附录A.2。

7.2.4 空白试验

除不加试样外，均按上述步骤进行。

8 分析结果的表述

8.1 试样中岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖含量按式(1)计算。

$$X_i = \frac{(C - C_0) \times V \times 10^{-6}}{m} \times f \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X_i ——试样中岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖的含量，单位为百分率(%)， i 代表不同的单糖；

c ——由标准曲线计算得到的试样溶液中岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖的质量浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)；

c_0 ——由标准曲线计算得到的空白溶液中岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖的质量浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)；

v ——定容的体积，单位为毫升(mL)；

f ——稀释倍数；

m ——试样的称样量，单位为克(g)；

10^{-6} ——换算系数；

100——换算系数。

计算结果保留3位有效数字。

8.2 银耳中5种单糖总量的计算

$$X = \sum X_i \dots \dots \dots (2)$$

式中：

X ——5种单糖计算的和，单位为百分率(%)；

X_i ——试样中岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖的含量，单位为百分率（%）， i 代表不同的单糖。

9 精密度

在重复性条件下获得的2次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

10 检出限与定量限

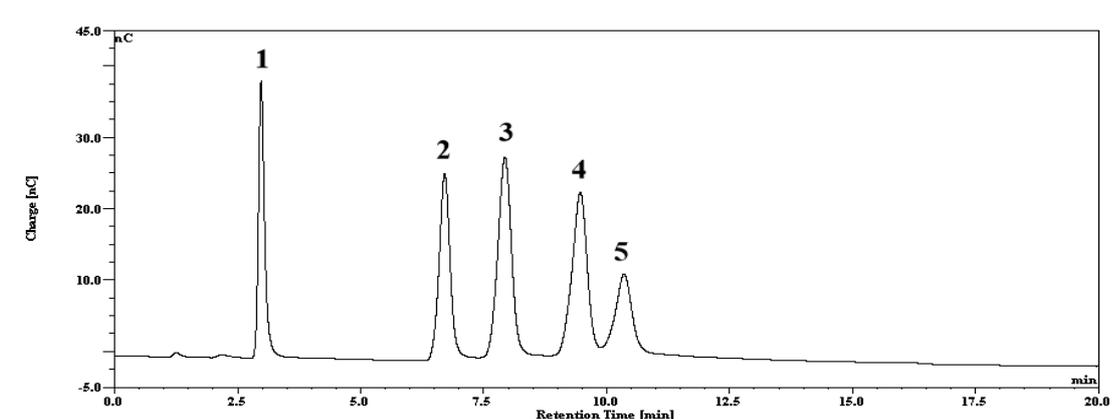
检测获得的各单糖的主峰信号为检测器噪音水平的3倍时，得其检出限：岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖检出限分别为0.02 $\mu\text{g/g}$ 、0.04 $\mu\text{g/g}$ 、0.05 $\mu\text{g/g}$ 、0.04 $\mu\text{g/g}$ 、0.15 $\mu\text{g/g}$ ；各单糖的主峰信号为检测器噪音水平的10倍时，得其定量限：岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖定量分别为0.08 $\mu\text{g/g}$ 、0.10 $\mu\text{g/g}$ 、0.07 $\mu\text{g/g}$ 、0.13 $\mu\text{g/g}$ 、0.49 $\mu\text{g/g}$ 。

附录 A

(资料性)

岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖标准溶液及银耳多糖溶液的离子色谱图

A.1 岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖标准品的离子色谱图见图A.1。

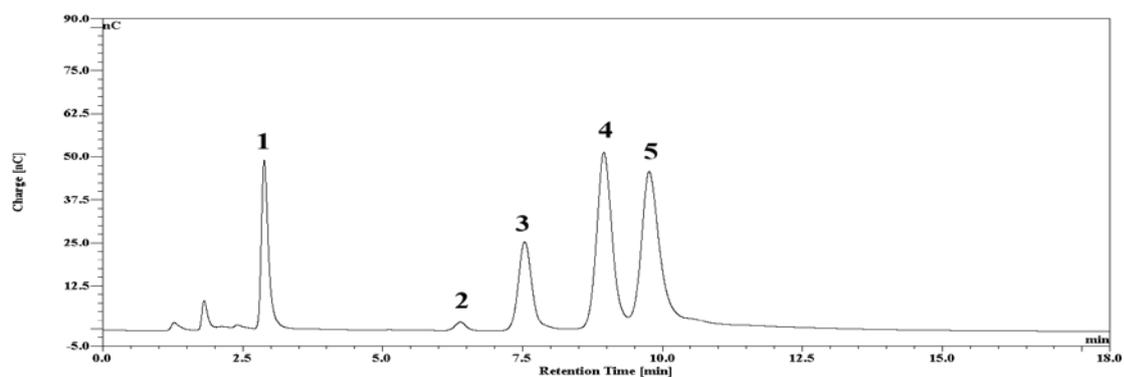


标引序号说明：

- 1——岩藻糖； 4——木糖；
 2——半乳糖； 5——甘露糖。
 3——葡萄糖；

图A.1 岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖标准溶液的离子色谱图

A.2 银耳多糖溶液的离子色谱图见图A.2。



标引序号说明：

- 1——岩藻糖； 4——木糖；
 2——半乳糖； 5——甘露糖。
 3——葡萄糖；

图A.2 银耳多糖溶液的离子色谱图

参考文献

- [1] GB5009.8-2023 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
-