

QB

中华人民共和国轻工行业标准

XX/T XXXXX—XXXX

茶多糖分子量及其分布的测定 高效凝胶渗透色谱法

Determination of Molecular Weight and Distribution of Tea Polysaccharides: High Performance Gel Permeation Chromatography Method

(征求意见稿)

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

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。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国食品工业标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：略

本文件主要起草人：略

茶多糖分子量及其分布的测定 高效凝胶渗透色谱法

1 范围

本标准规定了茶多糖的分子量及分子量分布的测定。

本标准适用于来源于绿茶、白茶、黄茶、乌龙茶、红茶、黑茶或再加工茶等茶类中的水溶性茶多糖。

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 30766-2014 茶叶分类

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

茶多糖为水溶性不均一多糖。其溶液经HPGPC色谱柱按分子流体力学体积（分子量）大小分离后，经示差折光（RI）检测器和多角度激光光散射（MALLS）检测器在线分析，MALLS测定各洗脱组分的绝对分子量，结合RI浓度信号，最终直接获得茶多糖的绝对分子量及其分布。

5 试剂与材料

5.1 除非另有说明，所用试剂均为分析纯，用水为GB/T中规定的一级水。

5.2 氯化钠。

5.3 微孔滤膜：0.45 μm ，水系滤膜。

6 仪器与设备

6.1 高效凝胶渗透色谱仪

高效液相色谱仪：配备自动进样器模块和流动相在线脱气装置；分析柱：亲水性凝胶渗透色谱柱，分子量排阻限达到或涵盖5 kDa~5 000 kDa（以葡聚糖标定）；多角度激光光散射检测器：激光波长应位于可见光区（630 nm~690 nm），至少包含3个角度（推荐7~18个角度）；示差折光检测器：控温精度 $\pm 0.01^\circ\text{C}$ 。

6.2 分析天平：精度0.000 1 g。

6.3 离心机：最高转速可达到10 000 r/min。

7 测定步骤

7.1 流动相制备

称取适量的氯化钠试样，精确至0.000 1 g，加水溶解，配制成0.05 mol/L的氯化钠水溶液，并经0.45 μm 水系滤膜过滤。

7.2 试液制备

称取适量茶多糖试样，加流动相溶解，配制成2.00 mg/mL的溶液，以10 000 r/min转速离心5 min，弃去沉淀（若有），再用0.45 μm水系滤膜连续进行3次过滤，获得的滤过液即为试液。

7.3 色谱条件

凝胶渗透色谱柱，适用于水溶性聚合物的色谱分析，分子量排阻限达到或涵盖5 kDa~5 000 kDa（以葡聚糖标定）；流动相：0.05 mol/L 氯化钠水溶液；流动相流速：0.40 mL/min；柱温：30℃ ± 0.1℃；进样量：10 μL；洗脱时间：45 min；dn/dc值：0.1380 mL/g。

7.4 高效凝胶渗透色谱仪测定

色谱仪系统达到稳定状态后，在6.3条件下，以流动相作为空白液进样，确认色谱图基线噪声符合工作站系统要求后，启动试样分析，色谱仪工作站软件采集数据。

7.5 数据处理及结果表述

测试完成后，通过色谱工作站软件自动分析识别示差折光信号色谱图中的色谱峰，并采用切线法或垂直分割法进行手动校正，以确定各组分峰的起止点。组分峰确定后，色谱工作站软件处理并输出各峰所代表的组分的分子量数据，以重均分子量 M_w 作为茶多糖分子量的核心报告值，单位为kDa或Da，同时可列出数均分子量 M_n ，并计算多分散性指数 D ，计算公式如下：

$$D = M_w/M_n$$

M_w ，重均分子量； M_n ，数均分子量。

HPGPC的示差折光信号色谱图呈现多峰（多分子量组分）分布时，除给出各组分的 M_w 和 D ，还应给出各组分的质占比，质占比基于示差折光信号色谱图中的对应峰的积分面积与各峰积分面积之和的比例，计算公式如下：

$$W_i = \left(\frac{A_i}{A_1 + A_2 + \dots + A_n} \right) \times 100\%$$

W_i ，第*i*个组分的质量百分比（%）； A_i ，第*i*个RI色谱峰的积分面积； n ，色谱峰总数。

7.6 重复性

相同条件下，试样两次重复测定获得的结果的绝对值差值不得超过算术平均值的10%。