



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 30390—202X

代替 GB/T 30390—2013

## 油料种籽中果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和 棉子糖含量的测定

Determination of fructose, glucose, sucrose, stachyose and raffinose in oilseeds

(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  
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。

本文件是GB/T 30390-2013《油料种籽中果糖、葡萄糖、蔗糖含量的测定—高效液相色谱法》的修订版本。GB/T 30390-2013已经发布了以下部分：

——第1部分：油料种籽中果糖、葡萄糖、蔗糖含量的测定—高效液相色谱法

本文件代替GB/T 30390-2013《油料种籽中果糖、葡萄糖、蔗糖含量的测定—高效液相色谱法》，与GB/T 30390-2013相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 修改标准名称为《油料种籽中果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖含量的测定》；
- b) 增加了水苏糖、棉子糖的分离检测；
- c) 增加了果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖、棉子糖含量的离子色谱检测方法，修改方法检出限及定量限指标。

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。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出并归口。

本文件起草单位：中国农业科学院油料作物研究所，中国农业科学院农产品加工研究所和中国农业科学院作物科学研究所

本文件主要起草人：

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- GB/T 30390-2013；
- 本次为第1次修订。

# 油料种籽中果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖含量的测定

## 1 范围

本文件规定了油料种籽中果糖、葡萄糖、蔗糖含量测定的高效液相色谱法；果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖含量测定的离子色谱法。

本文件适用于油料种籽中果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉籽糖含量的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件，凡是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 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14489.1 油料水分及挥发物含量测定

## 3 术语定义

本文件没有需要界定的术语和定义

### 第一法 高效液相色谱法

## 4 原理

试样经沉淀蛋白质和萃取脂肪后过滤，滤液经氨基色谱柱分离，用高效液相色谱（带示差折光检测器或蒸发光散射检测器）测定，外标法定量。

## 5 试剂和材料

除非另有说明，均使用分析纯试剂，水为 GB/T 6682 规定的二级水。

### 5.1 试剂

5.1.1 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ）：色谱纯。

5.1.2 冰乙酸（ $\text{CH}_3\text{COOH}$ ）。

5.1.3 石油醚：沸程  $30^\circ\text{C} - 60^\circ\text{C}$ 。

5.1.4 乙酸锌 [ $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ]。

5.1.5 亚铁氰化钾 [ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ]。

## 5.2 试剂配制

5.2.1 乙酸锌溶液（1 mol/L）：称取 21.9 g 乙酸锌（5.1.4），加 3 mL 冰乙酸（5.1.2），加水溶解稀释至 100 mL。

5.2.2 亚铁氰化钾溶液（1 mol/L）：称取 10.6 g 亚铁氰化钾（5.1.5），加水溶解稀释至 100 mL。

## 5.3 标准品

5.3.1 果糖（ $C_6H_{12}O_6$ ，CAS 号：57-48-7）：纯度 $\geq 99\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3.2 葡萄糖（ $C_6H_{12}O_6$ ，CAS 号：50-99-7）：纯度 $\geq 99\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3.3 蔗糖（ $C_{12}H_{22}O_{12}$ ，CAS 号：57-50-1）：纯度 $\geq 99\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3.4 棉子糖（ $C_{18}H_{32}O_{16}$ ，CAS 号：512-69-6）：纯度 $\geq 99\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3.5 水苏糖（ $C_{24}H_{42}O_{21}$ ，CAS 号：54261-98-2）：纯度 $\geq 98\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

## 5.4 标准溶液配置

5.4.1 标准储备液（20 mg/mL）：分别称取 1 g（精确至 0.1 mg）经过  $96\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$  干燥 2 h 后的果糖（5.3.1）、葡萄糖（5.3.2）、蔗糖（5.3.3）、棉子糖（5.3.4）和水苏糖（5.3.5）标准品于 50 mL 容量瓶中，加水溶解并定容。溶液放置于  $4\text{ }^\circ\text{C}$  下，可保存一个月。

5.4.2 标准工作液：分别准确吸取标准储备液（5.4.1）0.05 mL、0.25 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.50 mL、5.00 mL 于 10 mL 容量瓶中，加水溶解并定容，分别相当于 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、2.0 mg/mL、5.0 mg/mL、10.0 mg/mL 浓度标准溶液。

## 5.5 材料

5.5.1 水性滤膜针式过滤器：0.22  $\mu\text{m}$ 。

5.5.2 定性快速滤纸。

## 6 仪器设备

6.1 高效液相色谱仪：带有示差折光检测器或者蒸发光散射检测器。

6.2 电子天平：感量 0.1 mg 和 1 mg。

6.3 恒温烘箱。

6.4 磁力搅拌器。

6.5 粉碎机：转速  $> 12000$  转/分。

6.6 恒温水浴： $60\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 。

6.7 离心机：2 000 r/min

## 7 样品制备

7.1 按 GB/T 5491 取样品约 200 g，经粉碎机粉碎，过 0.64 mm 孔径筛，置于密闭容器内。

7.2 花生样品应先切片，再经粉碎机粉碎。

## 8 分析步骤

### 8.1 提取

称取试样 5 g（精确至 0.1 mg），置于 50 mL 具塞离心管中，加入 25 mL 石油醚（5.1.3），漩涡振荡 1 min，2 000 r/min 离心 5 min，弃去上层石油醚。重复上述步骤 2 次。60 °C 水浴蒸发残留的石油醚，用玻璃棒将样品转移至 150 mL 恒重的锥形瓶中，用 50 mL 水分两次冲洗离心管，洗液并入锥形瓶，缓慢加入乙酸锌溶液（5.2.1）和亚铁氰化钾溶液（5.2.2）各 5 mL，再加水至溶液总质量约为 100 g（ $m_2$ ，精确至 1 mg），室温搅拌 30 min 后，用定性快速滤纸（5.5.2）过滤，滤液再用 0.22  $\mu\text{m}$  针式过滤器（5.5.1）过滤，得到待测样品，同时做空白试验。

注：试样中糖含量超出工作曲线浓度时，应选择适当的稀释倍数，以水稀释。

### 8.2 色谱参考条件

8.2.1 色谱柱：氨基柱，4.6 mm  $\times$  250 mm，5  $\mu\text{m}$ ；

8.2.2 柱温：40 °C；

8.2.3 流动相：乙腈（5.1.1）+ 水 = 75+25（V+V）；

8.2.4 流速：1.0 mL/min；

8.2.5 进样体积：10  $\mu\text{L}$ ；

8.2.6 色谱图：参见图 A.1。

### 8.3 标准曲线绘制

吸取糖标准工作液（5.4.2）于进样瓶中，液相色谱仪（带示差折光检测器或蒸发光检测器）测定，以浓度为横坐标、峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

### 8.4 样品中糖测定

吸取待测液于进样瓶中，液相色谱仪（带示差折光检测器或蒸发光检测器）测定，根据标准曲线计算样液中果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖的含量，或者利用回归方程式计算样液中果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖的含量，同时测定试剂空白试验。色谱图参考附录 A.1。

## 9 水分含量测定

按 GB/T 14489.1 测定样品中水分含量。

## 10 结果计算和表达

试样中果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖的含量以质量分数  $\omega$  计，数值用 mg/g 表示，按式（1）计算：

$$\omega = \frac{c \times m_2}{m_1} \times \frac{100\%}{100\% - w} \dots \dots \dots (1)$$

式中:

$\omega$ —样品中糖(果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖)含量,单位为毫克每克(mg/g);

$c$ —根据标准曲线算出的样液中糖的含量,单位为毫克每克(mg/g);

$m_1$ —试样的质量,单位为克(g);

$m_2$ —水溶液的总质量,单位为克(g)。

$w$ —水分及挥发物(以质量分数计,数值以%表示)。

测定结果取其两次测定的算术平均值。糖的含量 $\geq 10$  mg/g时,计算结果保留3位有效数字;计算结果 $< 10$  mg/g时,计算结果保留2位有效数字。

## 11 精密度

### 11.1 重复性

在重复性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于算术平均值的10%。

### 11.2 再现性

在再现性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于算术平均值的10%。

## 第二法 离子色谱法

## 12 原理

试样经沉淀蛋白质和萃取脂肪后过滤,滤液用离子色谱法测定,以氢氧化钠溶液为流动相、阴离子交换分离、脉冲安培检测器检测,以色谱峰保留时间定性,外标法定量。

## 13 试剂和材料

除非另有说明,均使用分析纯试剂,水为 GB/T 6682 规定的二级水。

### 13.1 试剂

13.1.1 氢氧化钠溶液(50%) 色谱纯:离子色谱专用。

13.1.2 冰乙酸(CH<sub>3</sub>COOH)。

13.1.3 石油醚:沸程 30°C - 60°C。

13.1.4 乙酸锌[Zn(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O]。

13.1.5 亚铁氰化钾[K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>·3H<sub>2</sub>O]。

### 13.2 试剂配置

13.2.1 乙酸锌溶液 (1 mol/L): 称取 21.9 g 乙酸锌 (13.1.4), 加 3 mL 冰乙酸 (13.1.2), 加水溶解稀释至 100 mL。

13.2.2 亚铁氰化钾溶液 (1 mol/L): 称取 10.6 g 亚铁氰化钾 (13.1.5), 加水溶解稀释至 100 mL。

13.2.3 氢氧化钠溶液 (200 mmol/L): 量取 10.5 mL 的 50% 氢氧化钠溶液 (13.1.1), 用预先脱气的水稀释并定容至 1000 mL, 氮气保护。

### 13.3 标准品

13.3.1 果糖 ( $C_6H_{12}O_6$ , CAS 号: 57-48-7): 纯度 $\geq 99\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

13.3.2 葡萄糖 ( $C_6H_{12}O_6$ , CAS 号: 50-99-7): 纯度 $\geq 99\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

13.3.3 蔗糖 ( $C_{12}H_{22}O_{12}$ , CAS 号: 57-50-1): 纯度 $\geq 99\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

13.3.4 棉子糖 ( $C_{18}H_{32}O_{16}$ , CAS 号: 512-69-6): 纯度 $\geq 99\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

13.3.5 水苏糖 ( $C_{24}H_{42}O_{21}$ , CAS 号: 54261-98-2): 纯度 $\geq 98\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

### 13.4 标准溶液的配置

13.4.1 标准储备液(10 mg/mL): 果糖 (13.3.1)、葡萄糖 (13.3.2)、蔗糖 (13.3.3) 经过  $(96\pm 2)^\circ\text{C}$  干燥 2 h。分别准确称取果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖 (13.3.4) 和棉子糖 (13.3.5) 各 0.1 g 于 10 mL 容量瓶中, 用水溶解并定容至刻度。置于  $4^\circ\text{C}$  密封保存, 有效期一个月。。

13.4.2 标准工作液(1.0 mg/mL): 分别吸取 1.0 mL 果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖标准储备液 (13.4.1) 于 10mL 容量瓶中, 用水稀释定容至刻度, 配制浓度为 1.0mg/mL 标准工作液, 现用现配。

13.4.3 混合系列标准工作液: 准确吸取标准工作液 (13.4.2) 适量, 用水稀释、得到浓度分别为 2 mg/L、5mg/L、10mg/L、20mg/L、50mg/L、100mg/L、200 mg/L 的果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖的混合系列标准工作溶液, 现用现配。

### 13.5 材料

13.5.1 水性滤膜针式过滤器:  $0.22\mu\text{m}$  和  $0.45\mu\text{m}$ 。

13.5.2 定性快速滤纸

## 14 仪器设备

14.1 离子色谱仪: 配有梯度泵, 脉冲安培检测器, Au 工作电极。

14.2 电子天平: 感量 0.01g - 0.001g。

14.3 恒温烘箱。

14.4 磁力搅拌器。

14.5 粉碎机: 转速  $> 12000$  转/分。

14.6 恒温水浴:  $60^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 。

14.7 离心机: 2000 r/min。

## 15 样品制备

15.1 按 GB/T 5491 取样品约 200g，经粉碎机粉碎，过 0.64 mm 孔径筛，置于密闭容器内。

15.2 花生样品应先切片，再经粉碎机粉碎。

15.3 样品提取净化

同8.1。

注:试样中糖含量超出工作曲线浓度时，应选择适当的稀释倍数，以水稀释。

## 16 分析步骤

### 16.1 离子色谱条件设置

(1) 色谱柱: PA20型阴离子分离柱 (3 mm×150 mm) 和PA20型保护柱 (3 mm×30 mm)，或等效色谱柱；

(2) 流动相A: 水；

(3) 流动相B: 氢氧化钠溶液 (13.2.3)；

(4) 柱温: 30 °C；

(5) 流速: 0.5 mL/min；

(6) 进样量: 1μL；

(7) 工作电极: Au电极；

(8) 参比电极: Ag/AgCl参比电极；

(9) 检测池温度: 35 °C；

(10) 洗脱条件见表1。

表 1 洗脱程序

时间 min	流动相 A %	流动相 B %
0	91	9
20	91	9
20.1	20	80
30	20	80
30.1	91	9
40	91	9

### 16.2 离子色谱条件设置

按照16.1设定的色谱工作条件，待仪器稳定后，依次测定混合系列标准工作液 (13.4.3) 中果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖的色谱峰面积。根据混合系列标准工作液 (13.4.3) 中果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖的浓度与相应峰面积绘制果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖的浓度—色谱峰面积标准曲线，标准品色谱图见附录B中的图B.1。

### 16.3 试样溶液测定

将试样溶液按照16.1设定的色谱工作条件进行测定，根据保留时间定性，根据标准曲线得到试样中糖的浓度。

## 17 水分含量的测定

按GB/T 14489.1测定样品中水分含量。

## 18 结果计算和表达

试样中果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖的含量以质量分数  $\omega$  计，数值用 mg/g 表示，按式(1)计算：

$$\omega = \frac{c \times m_2}{m_1} \times \frac{100\%}{100\% - w} \quad (1)$$

式中：

$\omega$ —样品中糖（果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖）含量，单位为毫克每克（mg/g）；

$c$ —根据标准曲线算出的样液中糖的含量，单位为毫克每克（mg/g）；

$m_1$ —试样的质量，单位为克（g）；

$m_2$ —水溶液的总质量，单位为克（g）。

$w$ —水分及挥发物（以质量分数计，数值以%表示）。

测定结果取其两次测定的算术平均值。糖的含量  $\geq 10$  mg/g时，计算结果保留3位有效数字；计算结果  $< 10$  mg/g时，计算结果保留2位有效数字。

## 19 精密度

### 19.1 重复性

在重复性条件下，获得的三次独立测试结果的绝对差值不大于算术平均值的10%。

### 19.2 再现性

在再现性条件下，获得的三次独立测试结果的绝对差值不大于算术平均值的10%。

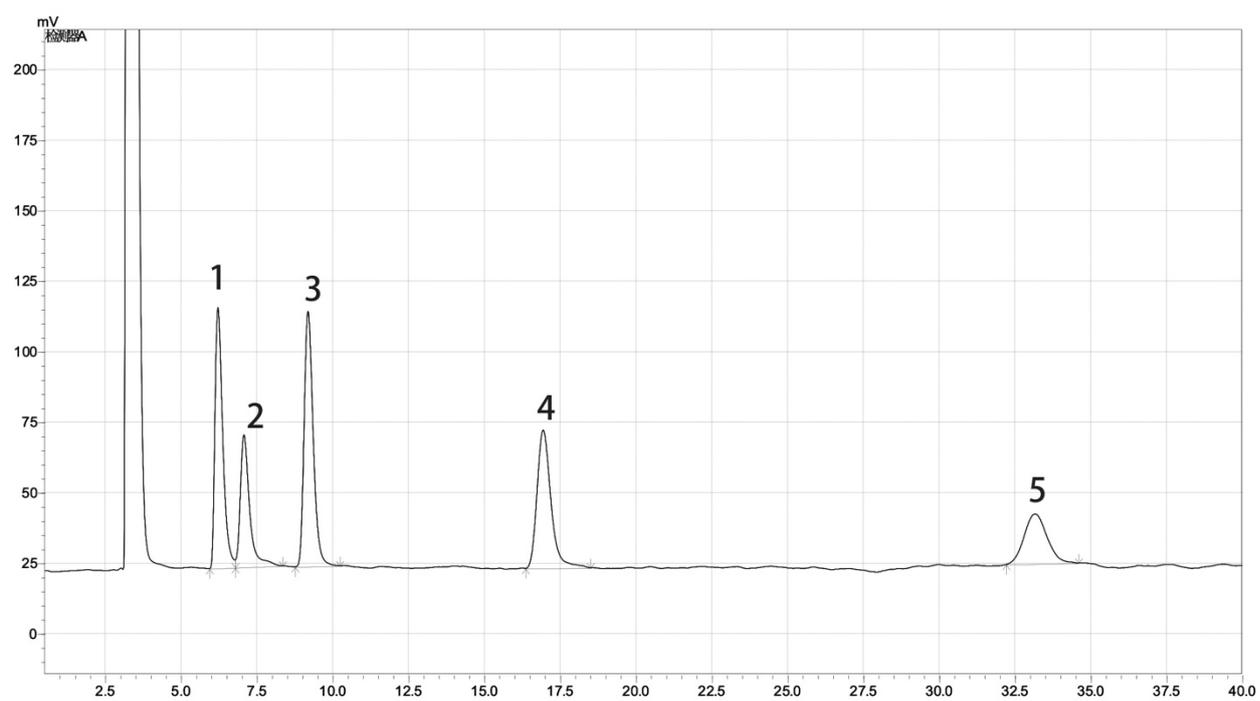
## 20 其他

本标准方法一检出限：果糖、葡萄糖、蔗糖和棉子糖为2 mg/g，水苏糖为5 mg/g。

本标准方法二检出限：果糖0.026 mg/g，葡萄糖0.008 mg/g，蔗糖0.018 mg/g，棉子糖0.020 mg/g，水苏糖0.018 mg/g。

附录 A  
(资料性附录)

果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖高效液相色谱图



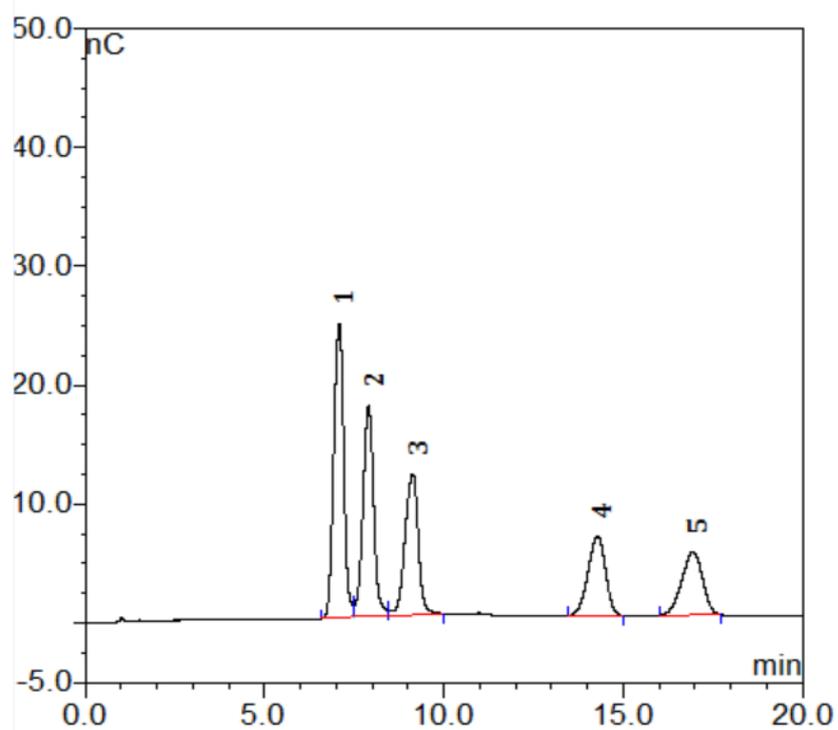
1-果糖、2-葡萄糖、3-蔗糖、4-棉子糖、5-水苏糖

图 A.1 10mg/g 果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖标准溶液的高效液相色谱图

## 附录 B

(资料性附录)

## 果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖标准溶液离子色谱图



1—葡萄糖, 2—蔗糖, 3—果糖, 4-棉子糖, 5-水苏糖

图 B.1 20 $\mu$ g/g 果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖和棉子糖标准溶液离子色谱图