



中华人民共和国国家标准

GB/T 45733—2025



银耳中银耳多糖的测定方法 离子色谱法

The determination of polysaccharides in white jully fungus—
Ion chromatography

2025-05-30 发布

2026-06-01 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(SWG 9)归口。

本文件起草单位：自然资源部第三海洋研究所、古田县食用菌研发中心、福建省农业科学院农产品加工研究所、福建省祥云生物科技发展有限公司、厦门谱尼测试有限公司、古田海旭宝生物科技有限公司、安发(福建)生物科技有限公司、金唐(福建)健康科技有限公司、太阳树(厦门)生物工程有限公司、上海辉文生物技术股份有限公司、宁德市产品质量检验所、安诺康(福建)生物科技有限公司、古田县食用菌产业发展中心。

本文件主要起草人：张怡评、郑瑜婷、陈伟珠、施丽君、赖谱富、黄宏南、陈祥珍、余新富、丁清、郑春源、张涵芝、马涛、林丽容、林枝东、刘裕、张李躬、俞穗珍、孙钧政、黄文华、高益槐、韩春霞、陈巧、黄勇云。

银耳中银耳多糖的测定方法

离子色谱法

1 范围

本文件描述了银耳中银耳多糖含量的离子色谱测定方法。
本文件适用于银耳中银耳多糖的测定。

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

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 polysaccharides in white jelly fungus

由担子菌银耳提取的以岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸等为单糖单元的通过脱水缩合以糖苷键聚合而成的高分子化合物。

[来源:GB/T 35945—2018,2.1.8.8,有修改]

4 原理

样品经水提取的银耳多糖混合液,用三氟乙酸水解,产物经阴离子色谱柱分离,采用配有脉冲安培检测器的离子色谱仪测定,外标法定性定量,以各单糖的峰面积为基准计算出样品中银耳多糖的含量。

5 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯。

- 5.1 水:GB/T 6682,一级。
- 5.2 氮气(N_2):99.5%。
- 5.3 甲醇(CH_3OH):色谱级。
- 5.4 三氟乙酸($C_2HF_3O_2$)。
- 5.5 氢氧化钠($NaOH$):色谱级。
- 5.6 乙酸钠(CH_3COONa):色谱级。
- 5.7 岩藻糖标准品($C_6H_{12}O_5$,CAS 号:2438-80-4):纯度不小于 98%,或等同标准物质/标准样品。
- 5.8 半乳糖标准品($C_6H_{12}O_6$,CAS 号:59-23-4):纯度不小于 98%,或等同标准物质/标准样品。

- 5.9 葡萄糖标准品($C_6H_{12}O_6$, CAS 号:50-99-7):纯度不小于 98%,或等同标准物质/标准样品。
- 5.10 木糖标准品($C_5H_{10}O_5$, CAS 号:58-86-6):纯度不小于 98%,或等同标准物质/标准样品。
- 5.11 甘露糖标准品($C_6H_{12}O_6$, CAS 号:3458-28-4):纯度不小于 98%,或等同标准物质/标准样品。
- 5.12 半乳糖醛酸标准品($C_6H_{10}O_7$, CAS 号:14982-50-4):纯度不小于 98%,或等同标准物质/标准样品。
- 5.13 葡萄糖醛酸标准品($C_6H_{10}O_7$, CAS 号:6556-12-3):纯度不小于 98%,或等同标准物质/标准样品。
- 5.14 三氟乙酸溶液(2 mol/L):准确量取 15.00 mL 三氟乙酸(5.4),溶于水并稀释至 100 mL,混匀。
- 5.15 氢氧化钠溶液(0.05 mol/L):称取 2.00 g 氢氧化钠(5.5),溶于水并稀释至 1 000 mL,混匀。
- 5.16 氢氧化钠溶液(0.25 mol/L):称取 10.00 g 氢氧化钠(5.5),溶于水并稀释至 1 000 mL,混匀。
- 5.17 氢氧化钠(0.10 mol/L)和乙酸钠(0.15 mol/L)混合溶液:称取 4.00 g 氢氧化钠(5.5)和 12.30 g 乙酸钠(5.6),溶于水并稀释至 1 000 mL,混匀。
- 5.18 混合标准储备液:分别准确称取经过 $60\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 真空干燥 2 h 的岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸标准品 0.1 g(精确至 0.000 1 g)置于 100 mL 容量瓶中,加水溶解并定容至刻度,摇匀,即得质量浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷藏保存,有效期 3 个月。
- 5.19 混合标准中间液:移取 1.00 mL 混合标准储备液(5.18)于 10 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,现配现用。
- 5.20 混合标准工作液:准确移取适量混合标准中间液(5.19)于容量瓶中,用水稀释成质量浓度分别为 0.50 $\mu\text{g/mL}$ 、1.00 $\mu\text{g/mL}$ 、2.50 $\mu\text{g/mL}$ 、5.00 $\mu\text{g/mL}$ 、10.00 $\mu\text{g/mL}$ 和 20.00 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作液,可根据试样溶液的质量浓度适当调整混合标准工作液质量浓度,现配现用。
- 5.21 0.45 μm 水性滤膜针头过滤器(纤维素滤膜除外)。

6 仪器

- 6.1 离子色谱仪:配脉冲安培检测器。
- 6.2 真空干燥箱: $50\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 6.3 分析天平:感量 0.000 1 g。
- 6.4 恒温水浴锅:室温 $\sim 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 6.5 恒温加热磁力搅拌器:室温 $\sim 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 6.6 离心机:转速 $\geq 10\text{ }000\text{ r/min}$ 。
- 6.7 电热恒温干燥箱。
- 6.8 氮吹仪。
- 6.9 标准筛:孔径 0.70 mm。
- 6.10 水解管(高硼硅玻璃厚壁耐压):10 mL。

7 测定步骤

7.1 样品前处理

7.1.1 试样制备

新鲜样品:准确称取适量样品置于烘箱, $50\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥 8 h,按 8.1 中公式(1)计算含水率后,粉碎,过标准筛,混匀备用。

干样品:取适量样品粉碎,通过标准筛,混匀备用。

7.1.2 试样提取

准确称取试样 1 g(精确到 0.000 1 g)至 125 mL 三角烧瓶中,加入 60 mL 水,用恒温水浴在 100 °C±2 °C 条件下搅拌提取 2 h 后,放置冷却倒入离心管,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,置于 250 mL 容量瓶,离心管沉淀按照上述步骤重复提取 2 次,合并上清液于 250 mL 容量瓶,加水定容至刻度,混匀,即为银耳多糖混合液。

7.1.3 试样水解

准确吸取银耳多糖混合液(7.1.2)0.5 mL 于 10 mL 水解管中,加入 2 mol/L 三氟乙酸溶液 0.5 mL,在 110 °C±2 °C 电热恒温干燥箱中水解 1.5 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,采用 0.45 μm 水性滤膜过滤后,即为试样溶液。

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:以季铵盐为功能基,聚苯乙烯/二乙烯基苯聚合物树脂为填料的阴离子交换柱(3 mm×150 mm,粒径 6.5 μm),或性能相当者;
- b) 柱温:30 °C;
- c) 进样体积:10 μL;
- d) 流速:0.5 mL/min;
- e) 脉冲安培检测器:Ag/AgCl 参比电极;Au 工作电极;检测器电位波形程序见表 1;
- f) 流动相:A 相为水,B 相为氢氧化钠溶液(0.05 mol/L),C 相为氢氧化钠溶液(0.25 mol/L),D 相为氢氧化钠(0.10 mol/L)和乙酸钠(0.15 mol/L)混合溶液,梯度洗脱程序见表 2。

表 1 检测器电位波形程序

时间 s	电压 V	积分	时间 s	电压 V	积分
0.00	+0.10	—	0.42	−2.00	—
0.20	+0.10	开始	0.43	+0.60	—
0.40	+0.10	结束	0.44	−0.10	—
0.41	−2.00	—	0.50	−0.1	—

表 2 梯度洗脱程序

时间 min	A %	B %	C %	D %
0	98	2	0	0
20.0	98	2	0	0
20.1	40	0	0	60

表 2 梯度洗脱程序 (续)

时间 min	A %	B %	C %	D %
35.0	40	0	0	60
35.1	20	0	80	0
45.0	20	0	80	0
45.1	98	2	0	0
55.0	98	2	0	0

7.2.2 标准工作曲线绘制

将混合标准工作液(5.20)按浓度从低到高依次注入离子色谱仪,测定各单糖标准品色谱图峰面积,以各单糖浓度为横坐标,以各单糖的峰面积为纵坐标,分别绘制标准工作曲线。混合标准工作液的离子色谱图见附录 A 中图 A.1。

7.2.3 试样溶液的测定

将试样溶液(7.1.3)注入离子色谱仪,记录试样溶液中各单糖峰面积,根据标准曲线得到试样溶液中各单糖的浓度。试样溶液中各单糖的响应值均应在标准曲线线性范围之内,超过线性范围则应稀释后再进行分析。试样溶液的离子色谱图见图 A.2。

7.2.4 空白试验

除不加试样外,按 7.1.2、7.1.3 和 7.2 步骤进行。空白溶液离子色谱图见图 A.3。

8 分析结果的表述

8.1 试样含水率的计算,按公式(1)计算。

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

式中:

- w —— 试样含水率, %;
- m_1 —— 烘干前的样品质量,单位为克(g);
- m_2 —— 烘干后的样品质量,单位为克(g)。

8.2 试样中岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸含量按公式(2)计算。

$$X_i = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times 10^{-6} (1 - w)}{m_3} \times f \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- X_i —— 试样中岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸的含量,单位为克每百克(g/100 g), i 代表不同的单糖;
- ρ —— 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、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
- ρ_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、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

葡萄糖醛酸的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
 V ——银耳多糖混合液的定容体积,单位为毫升(mL);
 w ——试样含水率, $\%$;
 m_3 ——试样的称样量,单位为克(g);
 f ——银耳多糖混合液的稀释倍数。
计算结果保留 3 位有效数字。

8.3 试样中银耳多糖含量按公式(3)计算。

$$X=\sum X_i \dots\dots\dots (3)$$

式中:
 X ——试样中银耳多糖的含量,单位为克每百克($\text{g}/100\text{ g}$);
 X_i ——试样中岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸的含量,单位为克每百克($\text{g}/100\text{ g}$), 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应超过算术平均值的 10%。

10 检出限与定量限

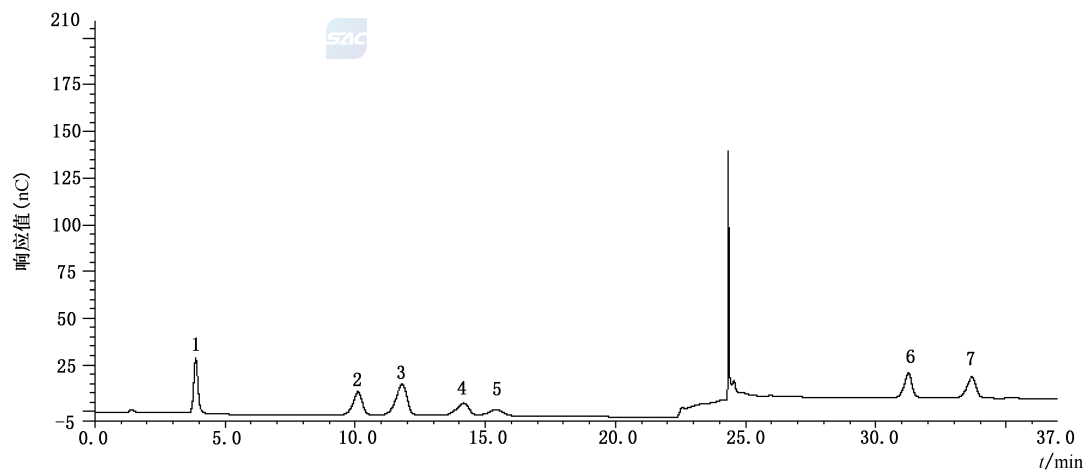
当试样称样量为 1 g,定容体积为 250 mL 时,岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸的方法检出限和定量限见表 3。

表 3 各种单糖的方法检出限和定量限

目标物	方法检出限/($\text{g}/100\text{ g}$)	方法定量限/($\text{g}/100\text{ g}$)
岩藻糖	0.2×10^{-3}	0.8×10^{-3}
半乳糖	0.4×10^{-3}	1.0×10^{-3}
葡萄糖	0.3×10^{-3}	0.8×10^{-3}
木糖	0.4×10^{-3}	1.3×10^{-3}
甘露糖	1.5×10^{-3}	4.9×10^{-3}
半乳糖醛酸	2.0×10^{-3}	7.0×10^{-3}
葡萄糖醛酸	2.2×10^{-3}	8.6×10^{-3}

附 录 A
(资料性)
离子色谱图

A.1 岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸混合标准工作液的离子色谱图见图 A.1。

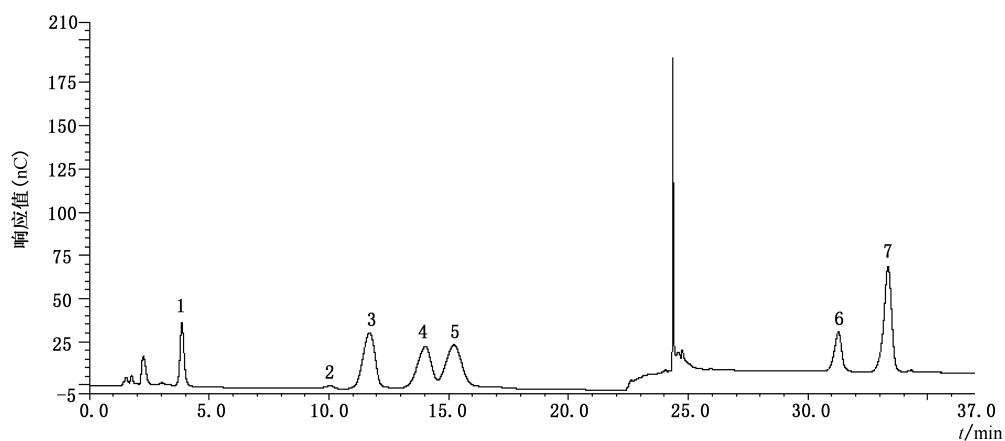


标引序号说明：

- 1——岩藻糖(10.00 $\mu\text{g/mL}$)；
- 2——半乳糖(5.00 $\mu\text{g/mL}$)；
- 3——葡萄糖(10.00 $\mu\text{g/mL}$)；
- 4——木糖(3.00 $\mu\text{g/mL}$)；
- 5——甘露糖(3.00 $\mu\text{g/mL}$)；
- 6——半乳糖醛酸(10.00 $\mu\text{g/mL}$)；
- 7——葡萄糖醛酸(10.00 $\mu\text{g/mL}$)。

图 A.1 岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸混合标准工作液的离子色谱图

A.2 试样溶液的离子色谱图见图 A.2。



标引序号说明:

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

图 A.2 试样溶液的离子色谱图

A.3 空白溶液的离子色谱图见图 A.3。

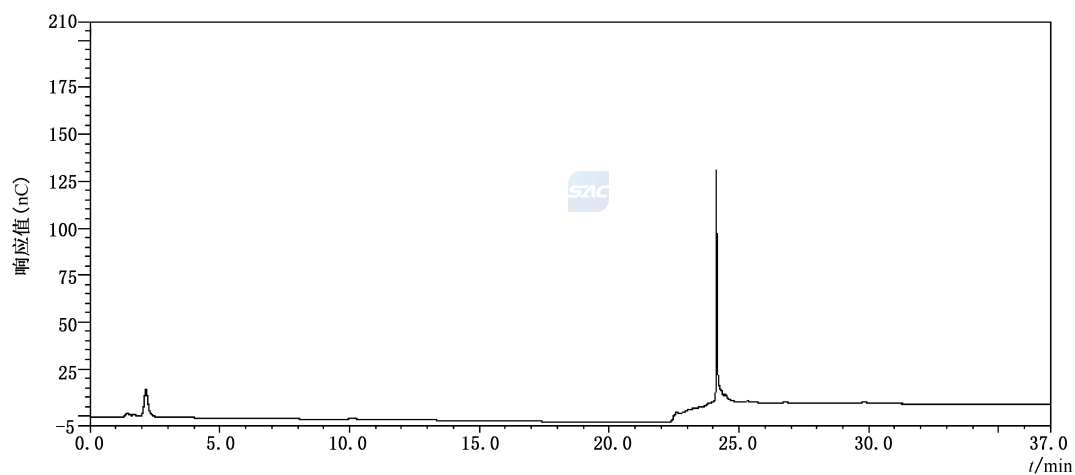


图 A.3 空白溶液的离子色谱图

参 考 文 献

- [1] GB/T 35945—2018 新型生物发酵名词术语
-