



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

# 枸杞中枸杞多糖的测定 ——离子色谱法

Determination of wolfberry polysaccharides in wolfberry

--Ion chromatography

(征求意见稿)

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布



# 前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由中国科学院兰州化学物理研究所提出。

本标准由中国标准化研究院归口。

本标准起草单位：中国科学院兰州化学物理研究所、兰州市食品药品检验检测研究院、中国标准化研究院、北京林业大学、宁夏中杞生物科技有限公司。

本标准主要起草人：邸多隆、裴栋、邱国玉、席兴军、王宁丽、刘笑笑、兰韬、雷建都、贾占魁。



## 1 范围

本标准规定了基于离子色谱法的枸杞中枸杞多糖含量测定方法的范围、规范性引用文件、原理、试剂和材料、仪器和设备、枸杞中枸杞多糖的提取与测定方法、结果计算与表示、精密度和回收率。

本标准适用于枸杞种植、加工、销售等质量控制环节中枸杞多糖含量的测定。

## 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。

中国药典 2020版

GB/T 18672 枸杞

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备

## 3 原理

样品分别经乙醚提取、80%乙醇提取，除去小分子化合物，然后用水回流提取、水解后制备得到枸杞多糖水解液。水解液中单糖以离子交换色谱柱，氢氧化钠/醋酸钠溶液梯度洗脱，脉冲安培检测器(Au为工作电极，Pd为参比电极)检测，测定枸杞多糖水解产生的单糖组成及含量，以各单糖的加和含量为基准计算出枸杞样品中枸杞多糖的含量。

## 4 试剂和材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，水应符合 GB/T 6682 中一级水的要求。

4.1 标准物质：D-葡萄糖，D-木糖，D-半乳糖，D-甘露糖，L-阿拉伯糖，L-鼠李糖，D-果糖，L-岩藻糖，D-核糖，D-半乳糖醛酸，D-葡萄糖醛酸，纯度≥99%。

4.2 氢氧化钠（NaOH）：色谱纯。

4.3 醋酸钠（CH<sub>3</sub>COONa）：色谱纯。

4.4 三氟乙酸（C<sub>2</sub>HF<sub>3</sub>O<sub>2</sub>）：分析纯。

4.5 4 mol/L 三氟乙酸溶液：准确移取 30 mL 三氟乙酸（4.4），用水稀释至 100 mL。

4.6 单糖标准溶液：准确称取经真空干燥至恒重的 D-葡萄糖（4.1），D-木糖（4.1），D-半乳糖（4.1），D-甘露糖（4.1），L-阿拉伯糖（4.1），L-鼠李糖（4.1），D-果糖（4.1），L-岩藻糖（4.1），D-核糖（4.1），D-半乳糖醛酸（4.1），D-葡萄糖醛酸（4.1）对照品各 100 mg，置于同一 100 mL 容量瓶中，加水适量使溶解并稀释至刻度，配制成质量浓度为 1000  $\mu\text{g/mL}$  的单糖标准溶液，摇匀，即得。

4.7 去离子水为实验室自制，符合 GB/T6682 中的要求。

4.8 氮气（ $\text{N}_2$ ）：氮气（ $\geq 99.995\%$ ）。

4.9 滤膜：0.22  $\mu\text{m}$  水系滤膜。

4.10 圆底烧瓶：250 mL。

4.11 滤纸：定性滤纸（直径 15 cm）。

4.12 容量瓶：25 mL，100 mL。

## 5 仪器和设备

5.1 离子色谱仪：配脉冲安培检测器(Au 为工作电极，Pd 为参比电极)。

5.2 分析天平：感量 0.0001g。

5.3 十万分之一分析天平：感量 0.00001g。

5.4 微波消解仪：配有聚四氟乙烯消解罐。

5.5 电热恒温鼓风干燥箱。

5.6 超声波清洗仪。

5.7 涡旋混合器。

5.8 恒温电热套。

5.9 索氏提取器。

5.10 旋转蒸发仪。

5.11 氮吹仪。

5.12 pH 计。

5.13 微量移液枪及配套枪头。

5.14 小型粉碎机。

## 6 枸杞中枸杞多糖的提取与测定方法

## 6.1 样品前处理

取干燥枸杞子，去除果蒂、叶子等杂质，粉碎，混匀备用。

## 6.2 试样枸杞多糖的提取与水解液的制备

准确称取样品粉末( $0.5 \pm 0.05$ )g，加乙醚100 mL，加热回流1小时，静置，放冷，小心弃去乙醚液，残渣置水浴上挥尽乙醚。加入80%乙醇100 mL，加热回流1小时，趁热滤过，滤渣与滤器用热80%乙醇30 mL分次洗涤，滤渣连同滤纸置烧瓶中，加水150 mL，加热回流2小时。趁热滤过，用少量热水洗涤滤器，合并滤液与洗液，旋转蒸发浓缩溶剂后，移至25 mL容量瓶中，用少量热水洗涤旋蒸瓶，合并浓缩液与洗液，放冷，用水稀释至刻度，摇匀，即得样品溶液。

量取样品溶液5 mL，置微波消解罐中，加入4 mol/L三氟乙酸(TFA) 5 mL，于110℃微波中水解30 min后，冷却至室温，氮吹完全除去三氟乙酸，加水定容至5 mL，摇匀，0.22 μm滤膜过滤，供离子色谱分析用。试样中各单糖的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应稀释后再进行离子色谱分析。

## 6.3 单糖标准溶液

准确称取经真空干燥至恒重的D-葡萄糖，D-木糖，D-半乳糖，D-甘露糖，L-阿拉伯糖，L-鼠李糖，D-果糖，L-岩藻糖，D-核糖，D-半乳糖醛酸，D-葡萄糖醛酸对照品各约100 mg，置于同一100 mL容量瓶中，加水适量使溶解并稀释至刻度，摇匀，过0.22 μm滤膜，作为单糖标准溶液，供离子色谱分析。

## 6.4 测定

### 6.4.1 色谱参考条件

以下分析条件可供参考，采用其他条件应验证其适用性：

—色谱柱：Metrosep Carb 2 - 250/4.0色谱柱和Metrosep Carb 2 Guard/4.0保护柱，或性能相当者。

—进样量：20 μL

—流速：0.6 mL/min

—流动相：以氢氧化钠和醋酸钠溶液梯度洗脱(A: 1 mmol/L氢氧化钠和1.5 mmol/L醋酸钠混合溶液；B: 100 mmol/L氢氧化钠和150 mmol/L醋酸钠混合溶液)

—梯度洗脱程序见表1。

—检测器：脉冲安培检测器，Au工作电极，Pd参比电极，检测器电位波形程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

时间/min	A	B
0.00	100	0
30.0	100	0
30.1	0	100
55.0	0	100
55.1	100	0
75.0	100	0

表2 检测器电位波形程序

时间/s	电位/V	积分
0.00	+0.05	—
0.20	+0.05	开始
0.30	+0.05	结束
0.35	+0.55	—
0.55	-0.10	—

#### 6.4.2 标准工作曲线的制备

分别取单糖标准溶液（6.3）配制成0.1、0.25、0.5、1.0、2.5、5.0 μg/mL的系列混合溶液，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绘制标准工作曲线。

#### 6.4.3 色谱分析

分别取单糖系列混合溶液（6.4.2）和试样溶液（6.2）各20 μL，注入离子色谱仪，按6.4.1规定的色谱条件进行分析，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。根据对照品的保留时间定性，外标法定量。各单糖混合溶液色谱图和试样溶液色谱参见附录A。

### 7 结果计算与表示

#### 7.1 结果计算

样品中各单糖的含量按式（1）计算。

$$X_i = \frac{c_i \times V_i \times D \times 10^{-6}}{m} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$



$X_i$ ——样品中各单糖组分的含量（占干物质），%；

$c_i$ ——由标准曲线计算所得样品中各单糖组分的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

$V_i$ ——样品的稀释体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$D$ ——稀释因子，即待测的样品溶液被稀释的倍数；

$m$ ——样品的质量，液体为称取样品中干物质的重量；固体为称取样品重量减去水分含量，单位为克（ $\text{g}$ ）；

计算结果保留三位有效数字。

样品中的多糖的百分含量按式（2）计算

$$\text{枸杞多糖含量}(\%) = \sum X_i \dots\dots\dots (2)$$

式中：

枸杞多糖含量（%）：多糖的含量（占干物质，质量分数），%；

计算结果保留三位有效数字。

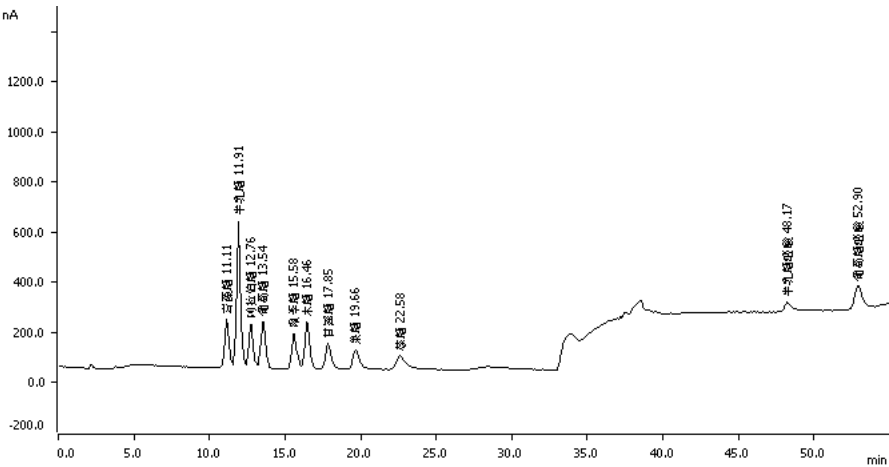
## 7.2 结果表示

测定结果以平均测定的算术平均值表示，计算结果保留三位有效数字。两次平行测定结果的相对平均偏差不应超过5%。

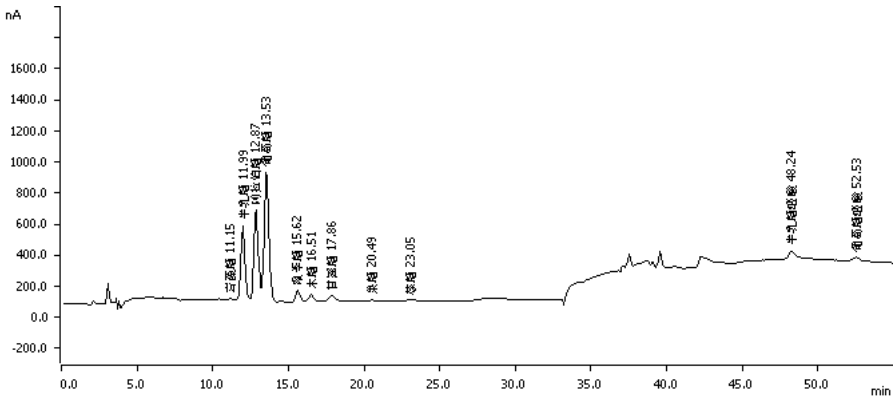
## 8 精密度和回收率

本方法以干燥枸杞子为样品进行枸杞多糖含量的测定实验，精密度和回收率实验结果参见附录B，计算结果保留小数点后两位，其相对标准偏差均小于10%。

附 录 A  
(资料性附录)  
离子色谱图



图A.1 单糖标准溶液色谱图（1 mg/L）



图A.2 枸杞多糖溶液色谱图

附录B  
(资料性附录)  
精密度和回收率试验研究结果

本方法的精密度实验研究结果见表B.1

表B.1 本方法的精密度实验研究结果（n=6）

峰 面 积	试验号	1	2	3	4	5	6	RSD%
	Fuc	32.52	31.93	31.97	32.28	32.13	32.78	1.03
	Gal	93.20	92.94	93.16	93.79	93.87	93.57	0.40
	Ara	28.77	29.10	28.36	29.30	29.25	29.20	1.26
	Glc	32.63	32.25	31.16	32.63	32.11	32.01	1.69
	Rha	25.17	25.08	25.69	26.32	26.00	25.98	1.92
	Xyl	35.01	34.90	35.57	35.71	35.48	35.29	0.91
	Man	22.25	22.41	21.49	22.81	22.22	22.64	2.06
	Fru	17.11	16.83	17.37	17.36	16.80	16.95	1.48
	Rib	19.09	18.82	18.24	19.02	18.63	18.57	1.68
	GalUA	12.00	11.85	12.60	12.29	12.05	11.92	2.31
	GLcUA	16.33	16.75	16.56	15.51	15.96	15.97	2.81

本方法的回收率试验研究结果见表B.2

表B.2 本方法的回收率实验研究结果

枸杞多糖	提取液本底 浓度(μg/mL)	样品加标浓度（μg/mL）			加标平均回收率（%）		
		1	2	3	1	2	3
Fuc	0.02	0.01	0.02	0.02	88.95	80.48	108.06
Gal	1.26	0.63	1.26	1.89	103.33	88.75	106.17
Ara	7.58	3.79	7.58	11.38	86.25	102.98	82.96
Glc	2.63	1.32	2.63	3.95	106.66	103.13	95.36
Rha	0.75	0.37	0.75	1.12	96.75	94.81	99.93
Xyl	1.28	0.64	1.28	1.92	97.27	93.69	105.23
Man	0.92	0.46	0.92	1.39	109.62	88.46	101.22
Fru	1.05	0.53	1.05	1.58	87.89	94.13	104.13
Rib	0.55	0.28	0.55	0.83	102.34	83.15	98.51
GalUA	0.55	0.27	0.55	0.82	92.63	94.57	95.58
GLcUA	0.22	0.11	0.22	0.33	105.57	94.81	89.96