

# **《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》国家 标准编制说明**

## 目录

1 任务来源.....	2
2 起草的目的意义.....	2
2.1 枸杞质量控制的需要.....	2
2.2 完善国家标准的需要.....	3
3 枸杞多糖研究、应用与标准现状.....	4
3.1 枸杞多糖研究.....	4
3.2 枸杞多糖检测方法.....	4
3.3 枸杞多糖标准.....	4
4 主要起草过程.....	5
4.1 成立标准制定工作组.....	5
4.2 确定工作计划和标准制定原则.....	5
4.3 查询国内外相关标准和文献资料.....	6
4.4 研究建立标准方法，开展条件实验.....	6
4.5 方法验证.....	7
4.6 形成标准讨论稿和编制说明.....	7
4.7 形成标准草案.....	7
4.8 形成标准征求意见稿和编制说明.....	7
4.9 征求意见并形成标准送审稿和编制说明.....	8
5 本标准与国内外分析方法的关系.....	8
6 主要技术指标依据与说明.....	8
6.1 标准名称.....	8
6.2 前言.....	8
6.3 主体内容.....	8
6.4 “范围”的界定.....	9
6.5 原理.....	9
6.6 试剂和材料.....	9
6.7 仪器和设备.....	10
6.8 枸杞中枸杞多糖的提取与测定方法.....	10
6.8.1 样品处理.....	10
6.8.2 检测条件.....	11
6.8.3 标准曲线.....	12
6.8.4 检出限和定量限.....	13
6.8.5 精密度.....	14
6.8.6 稳定性.....	15
6.8.7 重复性.....	15
6.8.8 加标回收率.....	16
6.8.9 小结.....	16
6.9 方法验证.....	16
7 采用国际标准和国外先进标准程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况.....	17
8 与现行法律法规和强制性标准的关系.....	17
9 标准作为强制性或推荐性标准的意见.....	17
10 实施标准的建议.....	17
11 参考文献.....	17

## 1 任务来源

本国家标准的制定任务是根据国家标准化管理委员会下达的国家标准制定计划《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》项目（计划号为 20205072-T-424）起草。本项目为 2017 年国家重点研发计划 NQI 项目《主要农业废弃物提取加工与功效评价标准研究》（2017YFF0207800）中一个任务。国家标准计划《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》由中国科学院兰州化学物理研究所上报，中国标准化研究院归口及执行，主管部门为国家市场监督管理总局。本标准由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共同起草。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。

## 2 起草的目的意义

枸杞子是被列入我国《既是食品又是药品的物品名单》，广泛的应用于食品、保健食品和中成药等大健康产业。我国枸杞种植面积达到 400 多万亩，总产量 27 万吨，相关产品的产值达到 200 亿元。近年来，随着欧美等发达国家和地区市场对枸杞的逐步了解，枸杞的营养保健功效在西方国家逐渐得到证实和认可。枸杞的国外市场需求逐渐从亚洲地区和华裔市场拓展到了欧盟、美国、澳大利亚等地。在国际市场需求的带动下，国内从事枸杞进出口业务的企业逐渐增多，枸杞的进出口贸易规模也在不断扩大。根据海关的统计数据，2019 年我国枸杞进出口贸易总量 11587 吨，其中：枸杞出口总量 11563 吨，出口金额 9446 万美元。

枸杞多糖是枸杞中的主要活性成分和指标成分之一，现代研究表明：枸杞多糖具有免疫调节作用、延缓衰老作用、眼部保护作用、肝脏保护作用、抗肿瘤作用、降血糖作用、抗疲劳等多种生理、药理活性。与日益增长的枸杞需求相比，国内外枸杞多糖的相关标准一直未得到很好的提升。

### 2.1 枸杞质量控制的需要

准确测定枸杞多糖的含量，将有利于客观的评价枸杞的质量，有利于引导质

量提升、规范市场秩序、促进公平贸易、实现优质优价、和维护消费者权益。目前全国最大的枸杞交易中心为“中宁国际枸杞交易中心”，每年枸杞交易量约15万吨，占到全国枸杞交易量的一半，其质量安全检测中心每年平均需要检测枸杞多糖5万余批次，全国具有CMA资质的食品检测机构总计1299家，包括省市级食品药品检验检测研究院/所、省市级疾控中心，大部分均可开展枸杞中枸杞多糖的检测。这些机构按照目前的产品标准QB/T 5176-2017《枸杞多糖》，每家每年检测机构约检测以枸杞原料的药品、食品或枸杞原药材约200次，每年共需要检测枸杞多糖26万余批次。民营的食品检测机构116家，如华测、谱尼、莱茵、诺安、SGS等，枸杞相关食品、保健食品中枸杞多糖的检测约11600批次。枸杞提取物生产企业，枸杞中成药生产企业、枸杞保健食品和食品的生产企业每年，如中杞等枸杞加工企业，其企业的质检部每年平均需要检测枸杞多糖15.3万余批次，主要是包括每批次枸杞原料的采购入库、加工产品的质量监控和终端产品的检测。枸杞出口检测，每年出口量约为20000吨，检测约10000余次。因此，我国的枸杞国内外市场均急需制定准确、先进、绿色的枸杞多糖的检测方法国家标准。

## 2.2 完善国家标准的需要

目前，我国关于枸杞多糖的标准主要有QB/T 5176-2017枸杞多糖。该方法是通过多糖类成分在浓硫酸作用下水解，与苯酚缩合成有色化合物，然后利用分光光度法测其多糖含量。经过几年的应用和实施，检验和生产行业领域对该标准当中规定的检测方法，公认该标准存在两个不足：一是检测结果准确性差，准确性差主要是由于该方法专属性差、重现性差、干扰严重。二是检测方法操作繁琐、不能实现高通量检测、危险。因为该方法是显色反应，检测结果与显色时间有直接相关性，所以较难实现自动化、大批量的检测。此外，该方法标准使用大量的浓硫酸和苯酚衍生化等高腐蚀、有毒试剂，对环境和实验人员均有较大负面影响，属于应淘汰的技术方法。

《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》采用的离子色谱方法，通过对枸杞多糖的水解，利用离子色谱技术对组成多糖的单糖进行分离和含量测定，可以很好的克服硫酸苯酚法对枸杞多糖检测的缺陷，方法具有专属性强、稳定、无杂质干扰，此外方法简单、可实现自动化检测、操作安全等优点。

### 3 枸杞多糖研究、应用与标准现状

#### 3.1 枸杞多糖研究

国内外对枸杞多糖的研究已经十分广泛，可查询到大量的论文与专利，研究范围包括提取分离、成分分析、药理活性、结构表征、质量评价及工业应用等方面。

#### 3.2 枸杞多糖检测方法

目前，枸杞多糖的含量测定常用方法是比色法(如蒽酮硫酸法、苯酚硫酸法)。刘万仓等<sup>[1]</sup>采用换算因子(利用 LBP<sub>s</sub> 和葡萄糖标曲)校正的苯酚硫酸法测定了不同产地及不同品质枸杞中多糖含量。近年来，有研究人员建立了通过 PMP 衍生，再利用高效液相色谱技术测定多糖含量的方法，例如，Wu 等<sup>[2]</sup>建立了一种高效液相凝胶排阻色谱法联用多角度激光光散射检测器和示差检测器(HPSEC-MALLS-RID)测定枸杞多糖及其不同组分含量的方法。上述两种方法都能实现枸杞多糖含量的测定，但经典的硫酸-苯酚法是显色反应，检测结果与显色时间有直接相关性，所以较难实现自动化、大批量的检测；该方法专属性差、重现性差、干扰严重；此外，该方法标准使用大量的浓硫酸和苯酚衍生化等高腐蚀、有毒试剂，对环境和实验人员均有较大负面影响。PMP-HPLC 法需要衍生化，操作繁琐。而离子色谱法具有较高的灵敏度且无需衍生前处理，如李静等<sup>[3]</sup>建立了毛细管型离子色谱—脉冲安培法检测枸杞多糖组成的方法，该方法中 10 种单糖成分标准曲线线性关系良好，相关系数均大于 99.9%，检出限在 2.5~75 μg/L 之间，可以实现枸杞多糖中单糖含量的准确测定。因此，制定简单灵敏、准确性高的枸杞中枸杞多糖含量的离子色谱检测方法具有十分重要的现实意义和紧迫性。

#### 3.3 枸杞多糖标准

目前，国内关于枸杞多糖检测相关的标准有 GB/T 18672-2014、GB/T 19742-2008、QB/T 5176-2017 均是采用硫酸苯酚法测定所含的总多糖。而国外包括美国、欧盟、日本等国家目前还没有制订枸杞多糖的相关标准。硫酸苯酚法测定枸杞多糖的方法，虽然较为经典，但普遍存在两个不足：一是检测结果准确性差，准确性差主要是由于该方法专属性差、重现性差、干扰严重。二是

检测方法操作繁琐、不能实现高通量检测、危险。因为该方法是显色反应，检测结果与显色时间有直接相关性，所以较难实现自动化、大批量的检测。此外，该方法标准使用大量的浓硫酸和苯酚衍生化等高腐蚀、有毒试剂，对环境和实验人员均有较大负面影响，属于应淘汰的技术方法。

本标准采用的离子色谱方法，通过对枸杞多糖的水解，利用离子色谱技术对组成多糖的单糖进行分离和含量测定，然后通过加和得到枸杞多糖的总含量，可以很好的克服硫酸苯酚法对枸杞多糖检测的缺陷，方法具有专属性强、稳定、无杂质干扰，此外方法简单、可实现自动化检测、操作安全。

合理准确的枸杞多糖测定方法，将有利于客观的评价枸杞的质量，维护消费者权益，有利于应对国际贸易发展和统一监测的需求。同时，制定枸杞中枸杞多糖的检测方法也是完善国家标准，提升我国枸杞产业的国际影响力的需求。因此，本标准的制定具有十分重要的现实意义和紧迫性。

## **4 主要起草过程**

### **4.1 成立标准制定工作组**

国家重点研发项目立项后，2017 年 11 月 10 日在北京市西藏大厦召开了国家标准《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》第一次工作会。参加单位有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等。会议成立了由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等单位参加的标准工作组，主要由从事标准制修订、仪器分析、具有丰富技术经验的专业研究人员组成，工作组制定了初步的标准编制工作计划。

### **4.2 确定工作计划和标准制定原则**

按照工作任务要求，工作组制定了标准起草工作计划和任务分工。

在充分研究与讨论的基础上，制定了标准制定原则：

- (1) 先进性：其准确度、精密度和灵敏度达到较高水平。
- (2) 适用性：要适应我国植物提取物产业发展的要求，满足植物提取物现代化的需要。

(3) 可操作性：符合我国目前检测仪器设备和试剂、材料的供应条件。

(4) 实用性：符合检测从业人员的技术水平，能被国内主要的环境分析实验室所使用并达到所规定的要求。要有利于提高枸杞原料的质量，为医药、食品等质量控制部门、有关企业和三农服务。

#### 4.3 查询国内外相关标准和文献资料

2020 年，开始开展“枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法”方法研究。由于在现行国家标准、行业标准、地方标准、团体标准和企业标准中，关于枸杞多糖的标准主要是 QB/T 5176-2017 枸杞多糖。该方法是通过多糖类成分在浓硫酸作用下水解，与苯酚缩合成有色化合物，然后利用分光光度法测其多糖含量。经过几年的应用和实施，检验和生产行业领域对该标准当中规定的检测方法，公认该标准存在两个不足：一是检测结果准确性差，准确性差主要是由于该方法专属性差、重现性差、干扰严重。二是检测方法操作繁琐、不能实现高通量检测、危险。因为该方法是显色反应，检测结果与显色时间有直接相关性，所以较难实现自动化、大批量的检测。此外，该方法标准使用大量的浓硫酸和苯酚衍生化等高腐蚀、有毒试剂，对环境和实验人员均有较大负面影响，属于应淘汰的技术方法。

离子色谱方法通过对枸杞多糖的水解，利用离子色谱技术对组成多糖的单糖进行分离和含量测定，然后通过校正因子的计算与加和得到枸杞多糖的总含量，可以很好的克服硫酸苯酚法对枸杞多糖检测的缺陷，方法具有专属性强、稳定、无杂质干扰，此外方法简单、可实现自动化检测、操作安全。借鉴《药典（2015 版）枸杞子》中枸杞多糖的提取方法，以枸杞为样品，经过初步试验，证明方法是可行的。而后对方法进行优化，对方法进行验证，结果表明方法的准确性、回收率、精密度等方面都能达到国家可标准的要求，并且基本符合制定国家标准的条件，并于 2020 年向国家标准化管理委员会提出立项申请。

#### 4.4 研究建立标准方法，开展条件实验

标准工作组按照计划任务书的要求，结合制定标准的要求，研究建立标准方法的实验方案，并进行方法前处理条件的选择、仪器条件的确定和方法精密度、准确度及检出限的测定等试验。

2018 年 4 月开始，标准起草工作组赴宁夏回族自治区中宁县进行枸杞主产

地调研，获取了大量相关信息与数据。2018 年 7 月 18 日从宁夏中杞枸杞种植基地采集大量枸杞果实，晒干后作为枸杞多糖提取的原料。

原料样品采集后，开始开展实验室验证工作，建立枸杞中枸杞多糖的离子色谱分析方法，包括线性范围、相关系数、加标回收率、准确度、精密度、检出限、定量限等，以及枸杞中枸杞多糖的提取条件的摸索与优化，如提取时间、三氟乙酸浓度、微波消解时间等。

#### **4.5 方法验证**

2021 年 5~7 月，由 5 家单位对“枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法”进行验证，分别是.....，通过统计检验技术确认外部实验室试验结果的准确性。

#### **4.6 形成标准讨论稿和编制说明**

2019 年 7 月 5 日，起草工作组组织相关单位和专家，在中国科学院兰州化学物理研究所青岛研究发展中心召开第二次标准起草工作会。参会单位包括中国标准化研究院、中国科学院兰州化学物理研究所、北京林业大学、北京市理化分析测试中心、中国热带农业科学院、宁夏中杞生物科技有限公司等。

与会专家对《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》标准草案中的英文名称、范围、术语和定义、基本要求、主要技术指标、附录等章条提出了详细的意见，会后根据修改意见形成了《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》标准讨论稿及其编制说明。

#### **4.7 形成标准草案**

标准起草工作组查阅、收集和整理了国内外有关研究进展和专利、标准、法规等文献资料，掌握了相关标准的现状；对文献中枸杞多糖测定方法进行了对比和总结，为标准文本的编制奠定理论基础。在《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》国家标准第一次起草工作会议的基础上，起草工作组相关单位共同讨论起草形成了《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》国家标准的技术框架和主要内容，初步形成了《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》标准草案。

#### **4.8 形成标准征求意见稿和编制说明**

在前期工作的基础上，起草工作组组织相关单位和专家于 2019 年 10 月 22 日在北京中国标准化研究院召开第三次标准起草工作会。参会单位包括中国科学院兰州化学物理研究所、中国标准化研究院、北京林业大学、北京理化分析



测试中心等。与会成员认真讨论《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》标准讨论稿后，根据讨论结果修改形成了《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》征求意见稿及编制说明。会议同时讨论了下一阶段征求意见的单位和专家名单。

#### 4.9 征求意见并形成标准送审稿和编制说明

2021年3月1日-2020年4月30日，起草工作组根据讨论的专家和单位名单，分别向相关的行业主管部门、科研机构、检测部门和企业等X个单位和专家发出了标准征求意见稿，向相关单位和专家征求标准修改意见。截止到2020年X月X日，共收集到...等X家科研机构、检测机构、管理部门、生产企业等单位提出的反馈意见X条。

## 5 本标准与国内外分析方法的关系

本标准研究旨在建立一项满足我国枸杞中枸杞多糖含量检测的要求，在质量控制目标和技术手段上与国际接轨，适应我国大部分质控实验室仪器设备和检测能力的检测方法标准。通过查阅国内外相关文献资料，制定条件优化方案，确保本方法前处理所采用的装置操作简便，能够满足国内实验室的条件要求。本标准拟采用离子色谱法测定枸杞多糖中的各个单糖。样品的前处理，即提取采用加热回流法，水解采用微波消解法；检测方法参考文献资料，选择合适的色谱柱以及仪器条件。力求方法在稳定、可靠和实用的基础上，达到国际先进水平，以适应我国枸杞中枸杞多糖含量检测、质控与管理的需要。

## 6 主要技术指标依据与说明

### 6.1 标准名称

本标准主要解决枸杞中枸杞多糖含量测定的技术问题，所以将本标准的名称定为：《枸杞中枸杞多糖的测定 离子色谱法》，翻译为“Determination of wolfberry polysaccharides in wolfberry --Ion chromatography”。

### 6.2 前言

明确了本标准的归口单位及主要起草单位、起草人。

### 6.3 主体内容

标准的主体内容包括：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、精密度和回收率等。

#### 6.4 “范围”的界定

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。

#### 6.5 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。

#### 6.6 试剂和材料

6.6.1 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 $\geq 99\%$ 。

6.6.2 氢氧化钠(NaOH)：色谱纯。

6.6.3 醋酸钠(CH<sub>3</sub>COONa)：色谱纯。

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

6.6.5 4 mol/L三氟乙酸溶液：准确移取30 mL三氟乙酸，用水稀释至100 mL。

6.6.6 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。

6.6.7 去离子水为实验室自制，符合GB/T6682中的要求。

6.6.8 氮气(N<sub>2</sub>)：氮气( $\geq 99.995\%$ )

6.6.9 滤膜：0.22  $\mu\text{m}$ 水系滤膜

6.6.10 圆底烧瓶：250 mL。

6.6.11 滤纸：定性滤纸（直径15 cm）。

6.6.12 容量瓶：25 mL，100 mL。

## 6.7 仪器和设备

6.7.1 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)。

6.7.2 分析天平：感量 0.0001g。

6.7.3 十万分之一分析天平：感量 0.00001g。

6.7.4 微波消解仪：配有聚四氟乙烯消解罐。

6.7.5 电热恒温鼓风干燥箱。

6.7.6 超声波清洗仪。

6.7.7 涡旋混合器。

6.7.8 恒温电热套。

6.7.9 索氏提取器。

6.7.10 旋转蒸发仪。

6.7.11 氮吹仪。

6.7.12 pH 计。

6.7.13 微量移液枪及配套枪头。

6.7.14 小型粉碎机。

## 6.8 枸杞中枸杞多糖的提取与测定方法

### 6.8.1 样品处理

取干燥枸杞子，去除果蒂、叶子等杂质，粉碎，混匀备用。

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 μ m 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。

6.8.2 检测条件

按照制造商操作手册运行离子色谱仪。以下分析条件可供参考，采用其他条件应验证其适用性：

色谱条件如下：

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 2。

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	—

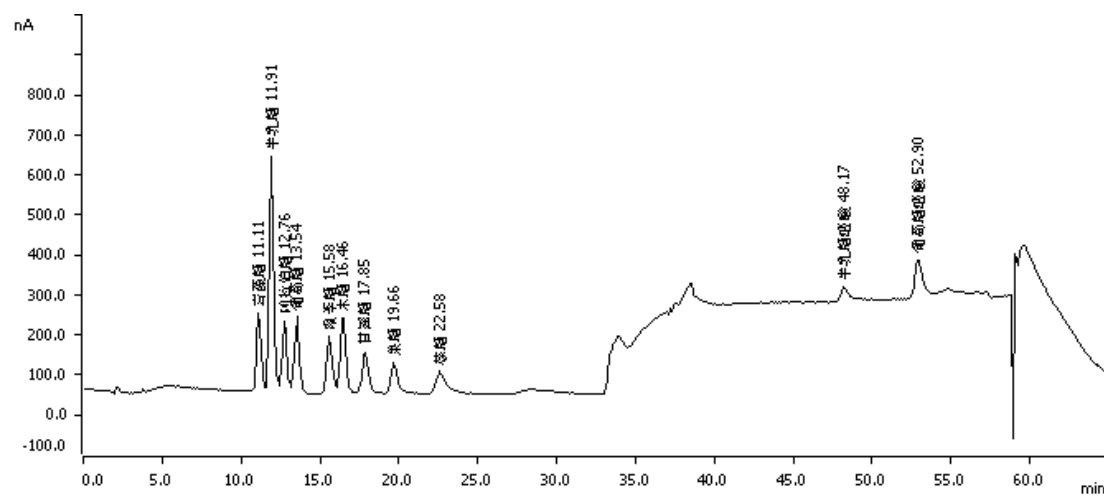


图 1 单糖标准溶液色谱图

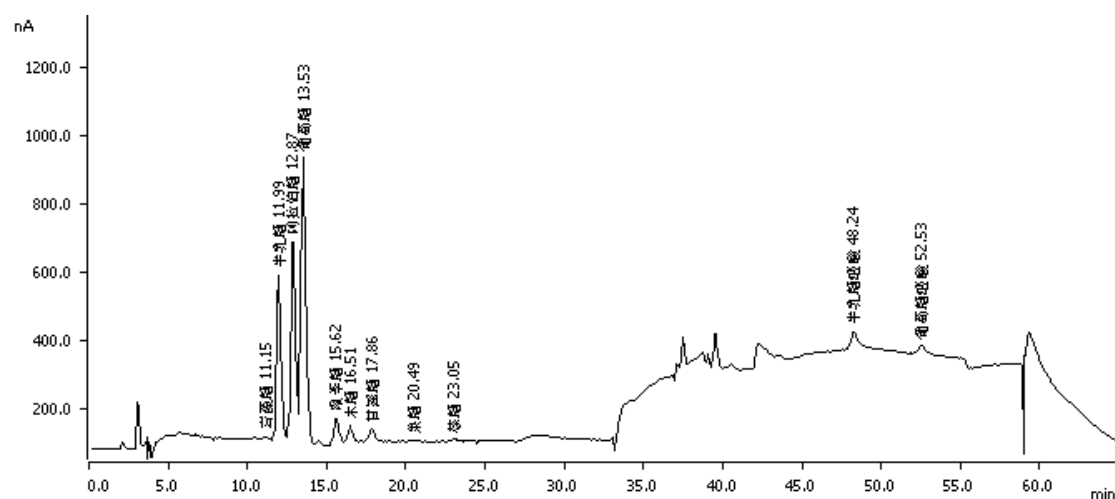


图 2 枸杞多糖溶液色谱图

### 6.8.3 标准曲线

分别取单糖系列配制成 0.1、0.25、0.5、1.0、2.5、5.0  $\mu\text{g/mL}$  的混合标准溶液及待上机试样溶液，按照上述列出的条件进行离子色谱分析测定。由保留时间对各单糖进行定性，根据混标溶液中各单糖响应信号，建立标准工作曲线，工作曲线线性相关系数  $R^2 \geq 0.998$ ，对试样的各单糖含量进行定量计算，通过加和求得试样中多糖的含量。

待测样液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分析。分析过程中，每 20 次样品测定后应加入一个与样品峰面积相

近的混合标准工作液，如果测得的值与原值相对平均偏差超过 5%，则应重新进行标准曲线的制作。

表 3 各单糖线性方程

目标物	线性方程	线性范围(μg/mL)	相关系数(R <sup>2</sup> )
岩藻糖	A= 0.573818+3.04610×Q	0.1-5.0	0.9996
半乳糖	A= -10.1559+9.92044×Q	0.1-5.0	0.9998
阿拉伯糖	A= -8.42698+3.54039×Q	0.1-5.0	0.9989
葡萄糖	A= -8.85801+4.11363×Q	0.1-5.0	0.9992
鼠李糖	A= 2.09622+2.59049×Q	0.1-5.0	0.9994
木糖	A=1.01363+3.49460×Q	0.1-5.0	0.9997
甘露糖	A= -3.71325+2.51509×Q	0.1-5.0	0.9994
果糖	A= -5.57897+2.30125×Q	0.1-5.0	0.9988
核糖	A= -6.67067+2.43576×Q	0.1-5.0	0.9986
半乳糖醛酸	A= -2.56207+1.13913×Q	0.1-5.0	0.9997
葡萄糖醛酸	A= -4.75262+2.92380×Q	0.1-5.0	0.9994

### 6.8.4 检出限和定量限

检出限是指一种分析方法在给定的可靠程度内可从样品中检测到待测物质的最小浓度或者最小量。检出限为物质引起检测器产生的响应信号是噪声值的三倍时，即信噪比为 S/N=3 时的量。定量限是指样品中被检测物能被定量检测到的最低量，其测定结果应具有一定的准确度。定量限表现的是某一分析方法是否具备敏捷的定额检测能力。检测器产生的响应信号为噪声值十倍，即信噪比 S/N=10 时的量为定量限。

表 4 各单糖的检出限和定量限

目标物	检出限(μg/mL)	定量限(μg/mL)
岩藻糖	0.01	0.025
半乳糖	0.005	0.01
阿拉伯糖	0.025	0.05
葡萄糖	0.01	0.05

鼠李糖	0.025	0.05
木糖	0.01	0.05
甘露糖	0.05	0.1
果糖	0.05	0.1
核糖	0.05	0.1
半乳糖醛酸	0.05	0.1
葡萄糖醛酸	0.05	0.1

### 6.8.5 精密度

精密度指的就是当对多个量进行多次测量时，各个量测结果之间的离散程度。

要求所加工的零件的尺寸达到的准确程度,也就是容许误差的大小，容许误差大的精密度低，容许误差小的精密度高，简称“精度”,常用相对标准偏差(relative standard deviation，RSD)表示。

相对标准偏差的计算公式如下：

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\%$$

其中 S 为标准偏差(也可以表示为 SD)。

配制各单糖浓度范围为 0.5 μg/mL 的混合溶液，按 6.8.2 色谱条件进行检测，分别得到其峰面积(nA) x min，计算其 RSD 值，具体实验结果如表 5 所示，实验相对标准误差在 0.40%~2.81%之间，实验偏差较小，精密度符合要求。

表 5 精密度实验结果（n=6）

试验号	1	2	3	4	5	6	RSD%
岩藻糖	32.52	31.93	31.97	32.28	32.13	32.78	1.03
半乳糖	93.20	92.94	93.16	93.79	93.87	93.57	0.40
阿拉伯糖	28.77	29.10	28.36	29.30	29.25	29.20	1.26
葡萄糖	32.63	32.25	31.16	32.63	32.11	32.01	1.69
鼠李糖	25.17	25.08	25.69	26.32	26.00	25.98	1.92
木糖	35.01	34.90	35.57	35.71	35.48	35.29	0.91
甘露糖	22.25	22.41	21.49	22.81	22.22	22.64	2.06
果糖	17.11	16.83	17.37	17.36	16.80	16.95	1.48
核糖	19.09	18.82	18.24	19.02	18.63	18.57	1.68

峰  
面  
积

半乳糖醛酸	12.00	11.85	12.60	12.29	12.05	11.92	2.31
葡萄糖醛酸	16.33	16.75	16.56	15.51	15.96	15.97	2.81

### 6.8.6 稳定性

配制浓度为 1.0  $\mu\text{g/mL}$  的各单糖混合溶液，按 6.8.2 色谱条件进行检测，得到其峰面积，如此反复每隔 1 h 进样 1 次，共进样 5 次，计算 5 次峰面积的相对标准偏差（即 RSD 值），5 次重复进样的相对标准偏差在 0.97%~2.99% 之间，测定稳定性良好。

### 6.8.7 重复性

配制浓度为 1.0  $\mu\text{g/mL}$  的各单糖混合溶液 6 份，按 6.8.2 色谱条件进行检测，分别得到其峰面积，计算其 RSD 值，具体实验结果如表 6 所示，其 RSD 值在 1.1%~3.6% 之间，误差小于规定的 4%，由此判断其重复性良好，实验方案可行，实验人员的操作相对规范。

表 6 重复性实验结果 (n=6)

试验号	1	2	3	4	5	6	RSD%
浓度 $\mu\text{g/mL}$	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
岩藻糖	75.36	76.70	77.30	77.22	81.70	80.84	3.20
半乳糖	228.56	232.95	235.69	234.64	249.71	242.27	3.17
阿拉伯糖	87.21	87.70	87.54	86.96	89.74	87.38	1.15
葡萄糖	116.34	116.58	117.19	112.15	113.97	109.08	2.76
鼠李糖	62.25	62.97	63.48	63.21	67.71	65.47	3.17
木糖	98.38	97.67	98.47	97.27	100.60	95.14	1.82
甘露糖	56.10	55.76	56.04	54.64	56.00	54.41	1.37
果糖	47.90	48.08	48.90	50.24	51.79	51.41	3.38
核糖	56.44	56.43	57.28	57.22	61.11	56.96	3.08
半乳糖醛酸	31.30	30.96	31.63	30.73	31.00	33.80	3.60
葡萄糖醛酸	55.69	54.86	56.69	55.30	55.55	57.90	1.98



6.8.8 加标回收率

本研究同时也进行了加标回收率的测定，以检测该法对枸杞中不同含量的枸杞多糖的检测精度。以各单糖浓度一定的枸杞多糖提取液为本底进行加标，各单糖添加量分别为枸杞多糖提取液中各单糖浓度的 0.5 倍、1 倍和 1.5 倍，按照 6.8.2 的色谱条件每个加标量检测 6 次，其具体结果如表 7 所示。其低浓度加标平均回收率在 86.25~109.62% 之间、中浓度加标平均回收率在 80.48~103.13% 之间、高浓度加标平均回收率在 82.96~108.06% 之间，其回收率均满足要求。

表 7 枸杞多糖提取液加标回收率实验结果

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
岩藻糖	0.02	0.01	0.02	0.02	88.95	80.48	108.06
半乳糖	1.26	0.63	1.26	1.89	103.33	88.75	106.17
阿拉伯糖	7.58	3.79	7.58	11.38	86.25	102.98	82.96
葡萄糖	2.63	1.32	2.63	3.95	106.66	103.13	95.36
鼠李糖	0.75	0.37	0.75	1.12	96.75	94.81	99.93
木糖	1.28	0.64	1.28	1.92	97.27	93.69	105.23
甘露糖	0.92	0.46	0.92	1.39	109.62	88.46	101.22
果糖	1.05	0.53	1.05	1.58	87.89	94.13	104.13
核糖	0.55	0.28	0.55	0.83	102.34	83.15	98.51
半乳糖醛酸	0.55	0.27	0.55	0.82	92.63	94.57	95.58
葡萄糖醛酸	0.22	0.11	0.22	0.33	105.57	94.81	89.96

6.8.9 小结

上述结果表明，离子色谱测定枸杞中枸杞多糖，实验室内方法检出限在 0.025~0.05 μg/mL 之间，定量限在 0.025~0.1 μg/mL 之间。对枸杞多糖实际样品进行加标回收实验，回收率在 80% ~ 110% 之间，相对标准偏差为 8.2% ~ 9.1%，说明方法的精密度和准确度良好。

综上所述，本标准方法能够满足枸杞中枸杞多糖含量测定要求。

6.9 方法验证

选择 5 家具有资质的实验室参加方法的验证工作。向验证单位提供方法草案、验证方案、标准溶液和验证报告格式。验证单位按照方法草案准备实验用品，在规定时间内完成验证实验并反馈验证结果报告。在方法验证前，参加验证的操作人员应熟悉和掌握方法原理、操作步骤及流程。方法验证过程中所用

的试剂和材料、仪器和设备及分析步骤应符合方法相关要求。

## 7 采用国际标准和国外先进标准程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况

目前枸杞多糖含量测定方法无国际标准和国外先进标准可参照。本标准在制订过程中对枸杞原料的质量、检测和市场进行了充分的调查研究，并广泛征求和采纳了国内相关领域专家的意见和建议，所制定的标准适合我国国情，具有先进性、科学性、实用性和可操作性，

## 8 与现行法律法规和强制性标准的关系

标准所确定的各项技术指标和内容符合我国现行的有关方针、政策，并与相关法律、法规、标准吻合。

本标准颁布实施后，更有利于行业应用；与现行的法律、法规及其他国家标准没有矛盾。

## 9 标准作为强制性或推荐性标准的意见

建议本标准作为推荐性国家标准发布。

## 10 实施标准的建议

如果本标准被批准并发布，为了贯彻好本标准，使其有效发挥作用，建议在标准发布后，在相关企业和检测机构进行宣传和贯彻，并组织有关部门和人员进行学习和培训。

## 11 参考文献

- [1] 刘万仓, 孙磊, 乔善义,等. 不同产地枸杞药材中多糖的含量测定[J]. 国际药学研究杂志, 2011, 38(003):229-231.
- [2] Wu D T , Lam S C , Cheong K L , et al. Simultaneous determination of molecular weights and contents of water-soluble polysaccharides and their fractions from *Lycium barbarum* collected in China.[J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2016, 129:210-218.

- [3] 李静,李仁勇,梁立娜.毛细管型离子色谱-脉冲安培法检测枸杞多糖的单糖组成[J].分析化学,2012,40(09):1415-1420.