

T/GARIRPA

广西农业农村产业振兴促进会团体标准

T/GARIRPA XXXX—2025

阿拉伯木聚糖的测定 高效液相色谱法

Determination of arabinoxylan by high-performance liquid chromatography

(征求意见稿)

2025 - XX - XX 发布

2025 - XX - XX 实施

广西农业农村产业振兴促进会 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。

本文件由广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所提出。

本文件由广西农业农村产业振兴促进会归口。

本文件起草单位：广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所、广西壮族自治区产品质量检验研究院、广西壮族自治区食品药品审评查验中心、桂林纤元生物技术有限公司、广西大学、南宁市食品药品检验所、广西民族大学、广西南宁信雄科技服务有限公司、唐传生物科技（厦门）有限公司、谷创芯生物科技（厦门）有限公司、广西工业职业技术学院、广西皇氏乳业有限公司。

本文件主要起草人：。

阿拉伯木聚糖的测定 高效液相色谱法一

1 范围

本文件界定了阿拉伯木聚糖的术语和定义,规定了阿拉伯木聚糖测定的高效液相色谱法,包括原理、试剂和材料、仪器与设备、样品制备、分析步骤、阿拉伯木聚糖含量计算及精密度。

本文件适用于阿拉伯木聚糖的测定。

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

阿拉伯木聚糖 Arabinoxylan

以甘蔗渣为原料,经清洗、压榨、氢氧化钠提取、沉淀、纯化、干燥等工艺制成。

4 原理

阿拉伯木聚糖是由1,4-β-木糖为主链,阿拉伯糖为主要侧链组成的高分子聚糖。采用酸法水解,水解物主要为木糖与阿拉伯糖,经高效液相色谱柱分离,示差折光检测器检测,外标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明外,本方法所用试剂均为分析纯,水为GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 硫酸。

5.1.2 木糖 (C₅H₁₀O₅, CAS 号: 58-86-6): 纯度≥99%。

5.1.3 阿拉伯糖 (C₅H₁₀O₅, CAS 号: 5328-37-0): 纯度≥99%。

5.2 试剂配制

5.2.1 10% (W/V) 硫酸溶液: 量取 27.77 mL 硫酸,用水稀释到 500 mL

5.2.2 0.05% (W/V) 硫酸溶液: 量取 2.50 mL 10% (W/V) 硫酸 (5.2.1),用水稀释到 500 mL

5.2.3 木糖标准储备液 (10 g/L): 称取 1.0000 g 木糖标准品 (5.1.2),溶于 0.05% (W/V) 硫酸溶液 (5.2.2) 并定容至 100 mL。

5.2.4 阿拉伯糖标准储备液 (10 g/L): 称取 1.0000 g 阿拉伯糖标准品 (5.1.3),溶于 0.05% (W/V) 硫酸溶液 (5.2.2) 并定容至 100 mL。

6 仪器与设备

6.1 高效液相色谱仪,配示差检测器。

6.2 高压灭菌锅(可调温)。

- 6.3 色谱柱。
6.4 分析天平：精密度 0.0001 g。
6.5 恒温水浴锅。

7 样品制备

将阿拉伯木聚糖粉碎并过100目筛。

8 分析步骤

8.1 试样处理

取1 g-2 g(精确到0.0001 g)试样平铺于扁形称量瓶中,厚度不超过5 mm,开启瓶盖在100 ℃-105 ℃干燥5 h,将瓶盖盖好,移至干燥器中冷却30 min后称重,再在上述温度干燥1 h,冷却后再次称重,至连续两次称重的差值不超过5 mg为止。

精确称取干燥样品0.5000 g于50 mL锥形瓶中,加入10 mL水,用带砂芯的硅胶塞盖紧瓶口,90 ℃水浴40 min确保充分溶胀,冷却,加入6 mL 10 % (W/V) 硫酸溶液(5.2.1),再加入4 mL水,盖上硅胶塞,摇匀,将锥形瓶放入灭菌锅,110 ℃酸水解75 min,冷却后取出,溶液转移至200 mL容量瓶,用水清洗锥形瓶2-3次,合并洗涤液于容量瓶中,用水定容至刻度,混匀,过0.22 μm滤膜。

8.2 标准曲线配置

分别移取10 g/L木糖标准储备液0.0 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL,分别加入6支具塞试管中,分别补加0.05 % (W/V) 硫酸溶液(5.2.2)至总体积为10 mL,混匀并用0.22 μm针筒式过滤器过滤,滤液进高效液相色谱检测,记录不同浓度木糖的积峰面积,以木糖浓度作为横坐标,木糖峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

分别移取10 g/L阿拉伯糖标准储备液0.0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL,分别加入6支具塞试管中,分别补加0.05 % (W/V) 硫酸溶液(5.2.2)至总体积为10 mL,混匀并用0.22 μm针筒式过滤器过滤,滤液进高效液相色谱检测,记录不同浓度阿拉伯糖的积峰面积,以阿拉伯糖浓度作为横坐标,阿拉伯糖峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

8.3 试样测定

高效液相色谱(HPLC)分析方法,色谱柱:Carbomix H-NP5:8 % (7.8×300 mm Sepax Technologies, Inc. 美国)或等效色谱柱。

色谱条件:柱温60 ℃,流动相为0.05 % (W/V) 硫酸溶液(5.2.2),流速为0.6 mL·min⁻¹,进样量20 μL,RID-10 A示差检测器检测。在此条件下对得到的色谱图进行木糖和阿拉伯糖积峰面积计算。

9 阿拉伯木聚糖含量计算

9.1 阿拉伯木聚糖的含量 X (%),按照公式(1)进行计算。

$$X = \frac{0.88 \times (m_1 + m_2) \times v}{M} \times 100 \quad (1)$$

式中:

X——试样中阿拉伯木聚糖含量,单位为克每百克(g/100 g);

m_1 ——试样溶液中木糖的浓度,单位为克每升(g/L);

m_2 ——试样溶液中阿拉伯糖的浓度,单位为克每升(g/L);

0.88——木糖、阿拉伯糖与阿拉伯木聚糖的转换系数;

v——试样定容体积,单位为升(L);

M——试样质量,单位为克(g)。

计算结果保留三位有效数字。

10 精密度

10.1 重复性

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过其算术平均值的5 %。

10.2 再现性

在再现条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过其算术平均值的10 %。

阿拉伯木聚糖的测定 高效液相色谱法二

1 范围

本文件界定了阿拉伯木聚糖的术语和定义，阿拉伯木聚糖测定的高效液相色谱法，包括原理、试剂和材料、仪器与设备、样品制备、分析步骤、阿拉伯木聚糖含量计算及精密度。

本文件适用于阿拉伯木聚糖的测定。

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

阿拉伯木聚糖 Arabinoxylan

以甘蔗渣为原料，经清洗、压榨、氢氧化钠提取、沉淀、纯化、干燥等工艺制成。

4 原理

阿拉伯木聚糖是由1,4-β-木糖为主链，阿拉伯糖为主要侧链组成的高分子聚糖。采用酸法水解，水解物主要为木糖与阿拉伯糖，经高效液相色谱柱分离，示差折光检测器检测，外标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明外，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 硫酸。

5.1.2 木糖 (C₅H₁₀O₅, CAS 号: 58-86-6)；纯度≥99 %。

5.1.3 阿拉伯糖 (C₅H₁₀O₅, CAS 号: 5328-37-0)；纯度≥99 %。

5.2 试剂配制

5.2.1 4 % (W/V) 硫酸溶液：量取 11.11 mL 硫酸，用水稀释到 500 mL。

5.2.2 0.05 % (W/V) 硫酸溶液：量取 6.25 mL 4 % (W/V) 硫酸溶液 (5.2.1)，用水稀释到 500 mL。

5.2.3 木糖标准储备液 (10 g/L)：称取 1.0000 g 木糖标准品 (5.1.2)，溶于 0.05 % (W/V) 硫酸溶液 (5.2.2) 并定容至 100 mL。

5.2.4 阿拉伯糖标准储备液 (10 g/L)：称取 1.0000 g 阿拉伯糖标准品 (5.1.3)，溶于 0.05 % (W/V) 硫酸溶液 (5.2.2) 并定容至 100 mL。

6 仪器与设备

6.1 高效液相色谱仪，配示差检测器。

6.2 加热回流装置：由加热套、烧瓶、冷凝管组成。

6.3 色谱柱。

6.4 分析天平：精密度 0.0001 g。

6.5 恒温水浴锅。

7 样品制备

将阿拉伯木聚糖粉碎并过100目筛。

8 分析步骤

8.1 试样处理

取1 g-2 g(精确到0.0001 g)试样平铺于扁形称量瓶中,厚度不超过5 mm,开启瓶盖在100 °C-105 °C干燥5 h,将瓶盖盖好,移至干燥器中冷却30 min后称重,再在上述温度干燥1 h,冷却后再次称重,至连续两次称重的差值不超过5 mg为止。

精确称取干燥样品0.4000 g于烧瓶中,加入10 mL水,90 °C水浴40 min确保充分溶胀,冷却,加入10 mL 4 % (W/V) 硫酸溶液(5.2.1),摇匀,将烧瓶安装在加热回流装置上,20 min加热至沸腾,保持沸腾回流水解180 min,冷却后取出,溶液转移至100 mL容量瓶,用水清洗烧瓶2-3次,合并洗涤液于容量瓶中,用水定容至刻度,混匀,过0.22 μm滤膜。

8.2 标准曲线配置

分别移取10 g/L木糖标准储备液0.0 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL,分别加入6支具塞试管中,分别补加0.05 % (W/V) 硫酸溶液(5.2.2)至总体积为10 mL,混匀并用0.22 μm针筒式过滤器过滤,滤液进高效液相色谱检测,记录不同浓度木糖的积峰面积,以木糖浓度作为横坐标,木糖峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

分别移取10 g/L阿拉伯糖标准储备液0.0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL,分别加入6支具塞试管中,分别补加0.05 % (W/V) 硫酸溶液(5.2.2)至总体积为10 mL,混匀并用0.22 μm针筒式过滤器过滤,滤液进高效液相色谱检测,记录不同浓度阿拉伯糖的积峰面积,以阿拉伯糖浓度作为横坐标,阿拉伯糖峰面积为纵坐标,绘制标准曲线

8.3 试样测定

高效液相色谱(HPLC)分析方法,色谱柱:Carbomix H-NP5:8 % (7.8×300 mm Sepax Technologies, Inc. 美国)或等效色谱柱。

色谱条件:柱温60 °C,流动相为0.05 % (W/V) 硫酸溶液(5.2.2),流速为0.6 mL/min,进样量20 μL, RID-10 A示差检测器检测。在此条件下对得到的色谱图进行木糖和阿拉伯糖积峰面积计算。

9 阿拉伯木聚糖含量计算

9.1 阿拉伯木聚糖的含量 X (%),按照公式(1)进行计算。

$$X = \frac{0.88 \times (m_1 + m_2) \times v}{M} \times 100 \quad (1)$$

式中:

X—试样中阿拉伯木聚糖含量,单位为克每百克(g/100 g);

m_1 —试样溶液中木糖的浓度,单位为克每升(g/L);

m_2 —试样溶液中阿拉伯糖的浓度,单位为克每升(g/L);

0.88—木糖、阿拉伯糖与阿拉伯木聚糖的转换系数;

v—试样定容体积,单位为升(L);

M—试样质量,单位为克(g)

计算结果保留三位有效数字。

10 精密度

10.1 重复性

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过其算术平均值的5 %

10.2 再现性

在再现条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过其算术平均值的10 %。
