



中华人民共和国国家标准

GB/T 20379—2006/ISO 10504:1998

淀粉衍生物 葡萄糖浆、果糖浆和氢化 葡萄糖浆成分的测定 高效液相色谱法

Starch derivatives—Determination of the composition of glucose syrups,
fructose syrups and hydrogenated glucose syrups—Method using
high-performance liquid chromatography

(ISO 10504:1998, IDT)



2006-03-14 发布

2006-10-01 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

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
淀粉衍生物 葡萄糖浆、果糖浆和氢化
葡萄糖浆成分的测定 高效液相色谱法

GB/T 20379—2006/ISO 10504:1998

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号

邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 10 千字

2006年10月第一版 2006年10月第一次印刷

*

书号: 155066·1-28218 定价 10.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB/T 20379-2006

前 言

本标准等同采用 ISO 10504:1998《淀粉衍生物——葡萄糖浆、果糖浆和氢化葡萄糖浆成分的测定——高效液相色谱法》(英文版),其内容和结构与 ISO 10504:1998 一致。

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由中国商业联合会提出。

本标准由中国商业联合会商业标准中心归口。

本标准起草单位:江南大学江南大学食品学院、吉林淀粉批发市场、中国淀粉工业协会变性淀粉专业委员会。

本标准主要起草人:顾正彪、洪雁、陈洪兴、童群义、钟立满、李兆丰、周心怡。

淀粉衍生物 葡萄糖浆、果糖浆和氢化 葡萄糖浆成分的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了高效液相色谱法(HPLC)测定葡萄糖溶液、葡萄糖浆、含果糖的糖浆、氢化葡萄糖浆、山梨醇、甘露醇和麦芽糖醇成分的方法。其组分主要是葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、果糖、山梨醇、甘露醇、麦芽糖醇和麦芽低聚糖。

必须使用阳离子交换柱。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 12100 淀粉水解产品含水量测定方法

3 原理

糖类成分用高效液相色谱分离。通过使用水做洗提液的阳离子交换柱分离获得。洗出的成分用差示折射仪检测,电子积分器定量。

4 试剂

所用试剂应为分析纯。

4.1 专用蒸馏水

所用水必须是达到 GB/T 6682 规定的一级。最适合的是去离子水,它能防止离子交换树脂的污染。

水必须经过 0.22 μm 过滤器过滤,同时经真空或在线脱气装置进行脱气。蒸馏水应用惰性气体加以保护,最好在 70℃ 保存以防微生物生长。

注:一些商用的水净化装置也能生产过滤并且脱过气的水。

4.2 基准的标准溶液

根据折射计的灵敏度,准备含质量分数为 10%(或少于)干物质的溶液(参见附录 A),成分要尽可能接近被分析的样品。

注:第 1 章所列的适合组分的参考原料,可以从确定的化学品公司采购。

4.3 离子交换树脂,用于样品的离线去离子

存在于样品中的各种盐类也可以被折射计检测到,会引起测定误差,因此要从离子交换柱中一同除去。这些盐应该首先用离子交换树脂除去。最方便的方法是安装一个在线的筒式防护柱系统,但这也可以使用下列树脂离线实现。

a) 阳离子型:

——强阳离子交换剂,4%交联聚苯乙烯二乙烯基苯, H^+ 型;

——固体粒子 $0.635\ \mu\text{m}\sim 1.27\ \mu\text{m}$ 。

b) 阴离子型:

——弱阴离子交换剂,4%含有三级胺(叔胺)的交联链聚苯乙烯二乙烯基苯主链,以游离碱形态存在;

——固体粒子 $0.635\ \mu\text{m}\sim 1.27\ \mu\text{m}$ 。

5 仪器

5.1 液相色谱仪配置如下:

一个泵,无脉冲,按要求提供稳定流速的水流;

一个控温的差示折射计;

一个控温的色谱柱烘箱,柱温能保持在 95°C ,温差在 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 内。

5.2 样品注射器,由一容积为 $20\ \mu\text{L}$ 或更小的环形注射器(手动或部分自动进样器)组成。

5.3 积分器,包含有计算和记录功能的电子积分器,与检测器的输出电压兼容。

5.4 分离柱,含有形状最适合分析的预装阳离子交换柱。

推荐的树脂是滴珠,直径 $9\ \mu\text{m}\sim 25\ \mu\text{m}$ 的 6%~8% 的交联聚苯乙烯二乙烯基苯磺酸盐。

5.5 防护柱,定制的双筒系统,插入时不用在线加热,用于去除样品中的离子。

注:很多供应商能提供满足上述要求的树脂,但几个实验室证实 Bio-Rid 提供的效果较好。

5.6 样品过滤系统,由一个附加有合适的膜盘式过滤器的洗涤器构成。孔径尺寸应为 $0.45\ \mu\text{m}$ 。

注:商品糖浆通常要高度精制,使用孔径为 $0.45\ \mu\text{m}$ 的过滤器是适合的,然而,如果色谱柱的堵塞太频繁,可改用孔径为 $0.22\ \mu\text{m}$ 的过滤器。

6 操作方法

6.1 柱的选择

在一般应用中,应该使用钙型阳离子交换树脂,特别是用于果糖浆和氢化葡萄糖浆。但是当麦芽三糖含量达到 6% 或更多时,从高含量麦芽糖中分离麦芽三糖很难。在这种情况下,最好用钾型或钠型阳离子树脂。

6.2 系统启动

将色谱柱安装在烘箱中,将防护柱(如果使用的话)连接到入口(5.5),不必要加热防护柱,将注射器连接到色谱柱(或防护柱)的入口,柱的出口连接到检测器入口。这样安装,探测器的流出物就成为废料。

以 $0.1\ \text{mL}/\text{min}$ 的速度启动泵,让溶剂流过柱。按供应商的推荐设定柱的温度,将控制参数输入积分仪,当柱的温度稳定后,增加溶剂流速到 $0.5\ \text{mL}/\text{min}$,净化有关单元。查阅折射计使用说明手册,将检测仪设置为能正确测定样品池的信号,设定必须的衰减。

6.3 柱的校准

6.3.1 按照 GB/T 12100 指定的方法,测定每种纯物质的水分含量(参见附录 A),这些纯物质被用于混合成基准的标准溶液。

对多羟基化合物(三元醇或更多),没有商业标准可用。

6.3.2 配制每种纯物质的溶液(见 4.2),使用与分析时相同的条件,重复几次将一定量的样品注入到柱中。根据积分仪的响应至少做三次重复,对主要组分的误差应在 $\pm 0.1\%$ 或更少。计算所有成分检测结果的平均值。

注:对于个别基准物质,可以假定每种糖有相同的相关响应。正常的面积百分数反映真实的分析。为获得所需的高分子量种类,可以用糊精或从淀粉水解物中制备的特殊精制部分。

6.3.3 配制单种物质的混合物,其成分尽可能接近被分析的样品。这些混合物应该制备特定的浓度(见 4.2)。

注:在附录 A 中举例说明。

6.3.4 重复两次向色谱仪中注入选定的部分样品,注入的量应该足够多,以保证能测到较少组分的峰。而主要成分要在检测器的线性响应范围内。

6.3.5 检查色谱峰面积,至少二次色谱分析的主要峰面积的最大偏差应在 $\pm 0.2\%$ 以内。

对成分 x 的响应值 r_x 可以按式(1)计算:

$$r_x = \frac{m_x}{\alpha_x} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

r_x ——成分 x 的响应值;

m_x ——成分 x 在标准溶液中的质量分数, %;

α_x ——成分 x 的正常色谱的面积分数, %。

响应值通常等于或接近一致,如果观察到偏差超过 2%,应该检查色谱分析系统,特别是积分仪参数。

6.4 样品处理

6.4.1 当使用在线去离子时,将样品稀释到选择的浓度(4.2),然后通过孔径为 $0.45 \mu\text{m}$ 的过滤器过滤。

如果没有使用这样的系统,则样品应首先进行离线处理(6.4.2 和 6.4.3)。

6.4.2 按比例混合离子交换树脂,使之获得相同的交换能力。用适量水洗涤混合树脂(4.1),去掉多余部分,保证树脂潮湿,这样,树脂可以保存几个月。

6.4.3 将 $1.0 \text{ g} \sim 1.5 \text{ g}$ 混合树脂加入到含 $25\% \sim 30\%$ 干物质的 $15 \text{ mL} \sim 20 \text{ mL}$ 的液体样品中。轻轻搅拌 15 min ,然后滤去树脂,稀释到选择的浓度后用孔径为 $0.45 \mu\text{m}$ 的过滤器过滤。

6.5 样品分析

将选择的部分样品注入色谱仪,然后按 6.3.4 的描述进行分析,应进行重复分析。记录占检测器响应值总的面积百分数。

7 结果计算

按照式(2)计算成分 x 的含量:

$$c_x = r_x \times \alpha_x \dots\dots\dots (2)$$

式中:

c_x ——测试样品中成分 x 的质量分数, %;

r_x ——成分 x 的响应值(见 6.3.5);

α_x ——成分 x 的正常色谱的面积分数, %。

计算结果精确到小数点后一位。

当系统在最适宜的状态下,合成标准溶液的面积百分比与已知标准溶液的成分密切相关。其归一化的响应值可应用于所有成分,在这种情况下,成分的百分含量等于成分的面积百分比。

8 精密度

8.1 重复性

在很短的时间间隔内,在同一实验室中由同一实验者采用同样的仪器、同样的材料、同样的方法进行的两个独立实验结果绝对差值不应超过表 1 所列种类糖浆重复性限($\text{g}/100 \text{ g}$) 的 5% 。

表 1 重复性限

糖浆种类	近似糖浆组成/(g/100 g)	分析物	重复性限 r /(g/100 g)
葡萄糖	葡萄糖 95	葡萄糖	0.90
		麦芽糖	0.17
葡萄糖	葡萄糖 45	葡萄糖	1.4
		麦芽糖	0.70
麦芽糖	麦芽糖 80	麦芽糖	0.36
麦芽糖	麦芽糖 48	麦芽糖	0.39
果糖	果糖 42	果糖	0.43
		葡萄糖	0.23
果糖	果糖 9	果糖	0.22
		葡萄糖	0.55
山梨醇	山梨醇 98	山梨醇	0.81
麦芽糖醇	麦芽糖醇 75	麦芽糖醇	0.19
		麦芽三糖醇	0.12

8.2 再现性

在不同实验室由不同实验者采用不同仪器、相同材料、相同方法进行的两个独立实验所得结果的绝对差值不应超过表 2 所列种类糖浆再现性限(g/100 g)的 5%。

表 2 再现性限

糖浆种类	近似糖浆组成/(g/100 g)	分析物	再现性限 R /(g/100 g)
葡萄糖	葡萄糖 95	葡萄糖	1.7
		麦芽糖	0.55
葡萄糖	葡萄糖 45	葡萄糖	4.0
		麦芽糖	1.20
麦芽糖	麦芽糖 80	麦芽糖	3.50
麦芽糖	麦芽糖 48	麦芽糖	2.10
果糖	果糖 42	果糖	1.0
		葡萄糖	0.98
果糖	果糖 9	果糖	0.57
		葡萄糖	1.40
山梨醇	山梨醇 98	山梨醇	1.70
麦芽糖醇	麦芽糖醇 75	麦芽糖醇	0.87
		麦芽三糖醇	0.21

附 录 A
(资料性附录)
标准溶液举例

表 A.1 主要标准溶液的混合物成分

%

标准溶液	葡萄糖	麦芽糖	麦芽三糖	麦芽低聚糖
葡萄糖	99.0	0.5	0.0	0.5
麦芽糖	0.2	99.0	0.5	0.3
麦芽三糖	0.0	0.0	95.0	5.0
麦芽低聚糖	4.0	4.0	4.0	88.0

表 A.2 葡萄糖浆参考溶液

参考溶液	葡萄糖	麦芽糖	麦芽三糖	麦芽低聚糖
葡萄糖(干物质)4.5 g	4.455 0	0.022 5	0.000 0	0.022 5
麦芽糖(干物质)2.5 g	0.005 0	2.475 0	0.012 5	0.007 5
麦芽三糖(干物质)0.3 g	0.000 0	0.000 0	0.285 0	0.015 0
麦芽低聚糖(干物质)2.6 g	0.104 0	0.104 0	0.104 0	2.288 0
全部(干物质)9.9 g	4.564	2.601 5	0.401 5	2.333 0
成分/(%)	46.10	26.28	4.06	23.57