

T/ GZTPA

贵州省绿茶品牌发展促进会团体标准

T/ GZTPA 0010-2021

贵州茶叶可溶性糖的检测

气相色谱氢火焰离子化法

Determination of soluble sugar in Guizhou tea

Gas chromatographic hydrogen flame ionization method

2021-11-25 发布

2021-11-26 实施

贵州省绿茶品牌发展促进会 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。

本文件由广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）提出。

本文件由贵州省绿茶品牌发展促进会提出并归口。

本文件起草单位：广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、贵州省农产品质量安全监督检验测试中心、贵州省绿茶品牌发展促进会。

本文件主要起草人：向章敏、李俊、肖雪、蔡滔、陈啸天、方舒婷、刘舒芹、侯雅君、杨运云、刘宁、姚智凯。

T/GZTPA

贵州茶叶可溶性糖的检测 气相色谱氢火焰检测法

1 范围

本文件规定了贵州茶叶5种可溶性糖检测成分的气相色谱分析法(见附录A)。

本文件适用于气相色谱氢火焰光度检测器对贵州茶叶中果糖、葡萄糖、山梨糖醇、肌糖和蔗糖的气相色谱分析。

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 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第2部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

NY/T 2102 茶叶抽样技术规范

3 术语与定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

采用乙腈和水混合溶剂振荡提取，通过甲氧胺盐酸盐和N,O-双（三甲基硅基）三氟乙酰胺两种衍生试剂进行衍生化处理，然后直接采用气相色谱氢火焰检测器进行检测，以苯基-β-D-吡喃葡萄糖苷为内标，采用内标标准曲线法进行定量分析。

5 试验方法

5.1 样品制备

茶叶样品按照 NY/T 2102 进行扦样和取样，取样品约 200 g，经粉碎机粉碎，过 60 目筛，制成茶叶粉末，一式两份。茶叶中水分按 GB 5009.3 测定。

5.2 定性方法

在相同的色谱操作条件下，试样溶液色谱峰的保留时间与标准溶液色谱峰的保留时间一致，其相对差值应在1.5%以内。

5.3 含量测定

5.3.1 试剂或材料

除非另有规定, 仅使用分析纯试剂。

a) 水, GB/T 6682, 一级;

b) 乙腈: 分析纯, 经气相色谱分析无干扰物;

c) 吡啶: 分析纯, 需经过重蒸后使用;

- d) N, O-双(三甲基硅基)三氟乙酰胺: 已知含量, $\geq 99.0\%$;
- e) 甲氧胺盐酸盐: 已知含量, $\geq 98.5\%$;
- f) 苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷: 已知含量, $\geq 99.0\%$;
- g) 果糖: 已知含量, $\geq 99.0\%$;
- h) 葡萄糖: 已知含量, $\geq 99.0\%$;
- i) 山梨糖醇: 已知含量, $\geq 99.0\%$;
- j) 肌糖: 已知含量, $\geq 99.0\%$;
- k) 蔗糖: 已知含量, $\geq 99.0\%$ 。

5.3.2 仪器和设备

- a) 气相色谱: 具有氢火焰离子化检测器(FID);
- b) 分析天平: 感量 0.1 mg;
- c) 振荡器;
- d) 氮吹仪;
- e) 水浴锅;
- f) 离心机。

5.3.3 气相色谱条件

- a) 色谱柱: (5%苯基)-甲基聚硅氧烷(HP-5)柱, 60m $\times$ 250 μ m, 0.25 μ m 石英毛细管柱或相当;
- b) 进样口温度: 280 $^{\circ}$ C;
- c) 检测器温度: 280 $^{\circ}$ C;
- d) 色谱柱程序升温: 80 $^{\circ}$ C保持 2 min, 然后以 5 $^{\circ}$ C/min 程序升温至 240 $^{\circ}$ C, 保持 5 min, 再以 10 $^{\circ}$ C/min 的速度上升至 300 $^{\circ}$ C, 保持 15 min;
- e) 载气: 氮气, 纯度 $\geq 99.999\%$, 流速: 20 mL/min;
- f) 燃气: 氢气, 纯度 $\geq 99.999\%$, 流速: 40 mL/min;
- g) 助燃气: 空气, 纯度 $\geq 99.999\%$, 流速: 400 mL/min;
- h) 进样量: 1.0 μ L;
- i) 分流比: 20:1, 3.0 min 后打开分流阀和隔垫吹扫阀。

5.3.4 测定步骤

5.3.4.1 标样溶液的制备

标准储备溶液: 分别准确称取五种水溶性标准物质(精确至0.0002 g), 用1:1(V:V)的乙腈:水溶液配置一系列可溶性糖标准溶液(果糖10 mg/mL; 葡萄糖20 mg/mL; 山梨糖醇4 mg/mL; 肌糖4 mg/mL; 蔗糖40 mg/mL), 避光冷藏保存0~4 $^{\circ}$ C保存, 有效期1年。

混合标准溶液: 吸取一定量的可溶性糖标准储备溶液于25mL容量瓶中, 用丙酮定容至刻度, 稀释成5个不同浓度(果糖5~1000 mg/L; 葡萄糖10~2000 mg/L; 山梨糖醇2~400 mg/L; 肌糖2~400 mg/L; 蔗糖20~4000 mg/L)的混合标准品。混合标准溶液避光0~4 $^{\circ}$ C保存, 有效期3个月。

内标溶液: 准确量取苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷(精确至0.0002 g)用1:1(V:V)的乙腈:水溶液10 mg/mL, 避光冷藏保存0~4 $^{\circ}$ C保存, 有效期1年。

5.3.4.2 试样溶液的制备

称量0.2000 g 样品于10 mL 玻璃离心管中, 加入苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷内标溶液和10 mL 的1:1(V:V)的乙腈:水溶液, 震荡提取30 min, 4000 r/min下离心10 min, 取0.5 mL上清液转移到新的1.5 mL离心管中, 用氮气吹干。加入350 μ L甲氧胺盐酸盐溶液, 80 $^{\circ}$ C水浴30 min, 放置室温冷却, 然后再加入150 μ L 的N, O-双(三甲基硅基)三氟乙酰胺, 80 $^{\circ}$ C水浴60 min, 室温静置1 h, 再次离心后取上清液上机分析, 每个样品平行实验3次。

5.3.4.3 可溶性糖标准曲线的制作

分别吸取0.5 mL可溶性糖系列标准工作液(5.3.4.1)于一组1.5 mL离心管中, 各加入苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷内标溶液内标溶液混匀。按(5.3.4.1)中条件, 进行衍生化处理, 离心后取上清液上机分析。

以标准物质峰面积与内标物峰面积的比值为纵坐标(Y)，以标准物质的量与内标量的比值为横坐标(X)进行线性回归分析，得到线性回归方程及相关参数。

5.3.4.4 测定

按照色谱分析条件(5.3.3)测定样品(5.3.4.2)、标准溶液(5.3.4.3)中水溶性糖的含量。根据保留时间定性，同时，根据样品色谱图中化合物峰面积和内标峰面积计算得出样品溶液中可溶性糖的浓度(mg/L)。

5.3.5 结果表述

5.3.5.1 定性分析

在相同的色谱操作条件下，试样溶液色谱峰的保留时间与标准溶液色谱峰的保留时间一致，其相对差值应在1.5%以内，混合标准溶液和样品溶液色谱图参见附录A。

5.3.5.2 定量结果计算

样品中可溶性糖的含量 w ，按照式(1)计算：

$$w = \frac{c \times v \times 10^{-3}}{A \times m \times (1 - w_1)} \quad (1)$$

式中：

- w ——样品中各种可溶性糖的含量，单位为微克每克(mg/g)；
- c ——样品溶液中各种可溶性糖的浓度，单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；
- V ——萃取溶液的体积，单位为毫升(mL)；
- A ——稀释倍数；
- m ——样品质量，单位为克(g)；
- w_1 ——样品水分的质量分数。

如果符合(5.3.6)，取两次测量的算术平均值作为结果，结果保留3位有效数字。

5.3.6 允许差

在重复条件下同一样品获得的测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

附录 A

(资料性)

茶叶中可溶性糖气相色谱图

A.1 茶叶中可溶性糖气相色谱图见图 A.1

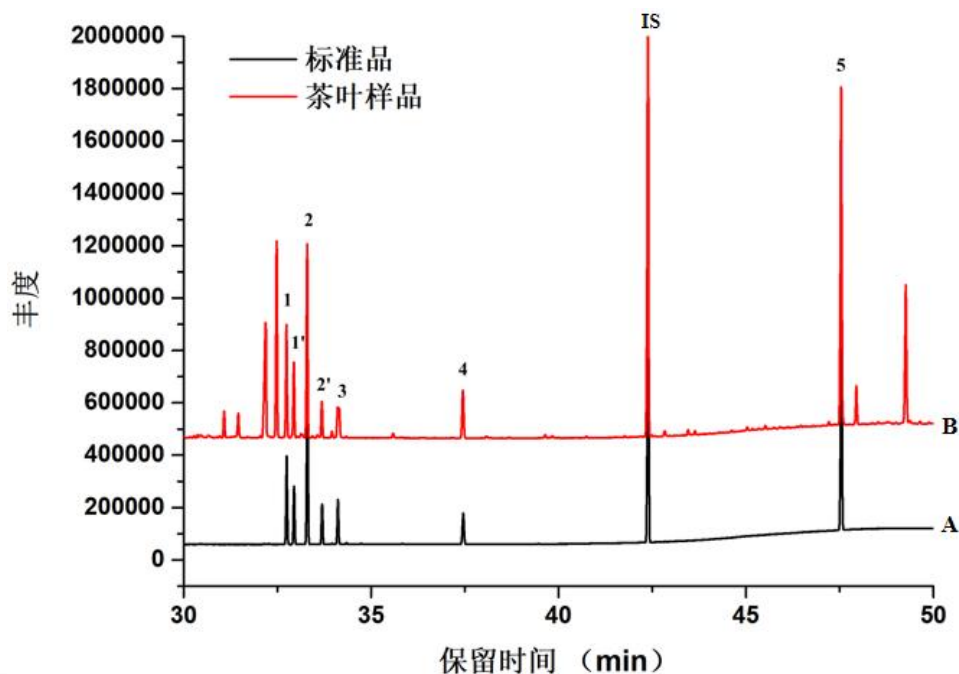


图 1 实际茶叶样品与可溶性糖标准品的气相色谱图 (图中 A 为标准品色谱图, B 为实际样品色谱图, 1,1'为果糖, 2,2'为葡萄糖, 3 为山梨糖醇, 4 为肌糖, 5 为蔗糖, IS 为内标苯基-β-D-吡喃葡萄糖苷)

图 A.1 茶叶中可溶性糖气相色谱图

附录 B

(资料性)

方法的回收率、精密度、线性及检测限

B.1 方法的回收率、精密度、线性及检测限见表 B.1

表 B.1 方法的回收率、精密度、线性及检测限见表

名称	加标水平 (mg)	平均回收 率 (%)	相对标准偏 差 (RSD, n=5, %)	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	线性方程	相 关 系 数 (R^2)	最低检出 限 (LOQ, ng/mL)
果糖	0.40	99.46	7.72	10~100	$Y=1.7559X-0.000919$	0.9999	9.8
	0.75	83.98	2.04				
	1.50	90.23	7.18				
葡萄糖	0.70	88.09	8.54	20~2000	$Y=1.6207X-0.00718$	0.9998	9.5
	1.30	99.12	9.49				
	2.60	95.62	6.48				
山梨 糖醇	0.20	91.93	5.93	4~400	$Y=1.4655X-0.00179$	0.9998	10.4
	0.30	87.58	6.24				
	0.60	100.55	7.22				
肌糖	0.20	81.74	3.02	4~400	$Y=1.2304X-0.000217$	0.9999	12.2
	0.30	89.61	4.15				
	0.60	87.71	3.31				
蔗糖	1.20	88.24	4.16	40~4000	$Y=0.9121X-0.00864$	0.9995	10.6
	3.50	92.62	6.52				
	5.00	100.32	2.94				