

DB45

广西壮族自治区地方标准

DB 45/T 2205—2020

甘蔗及其制品中葡聚糖的测定方法 免疫 比浊法

Test method for dextran in sugarcane and its products—Immune Turbidimetry
method

地方标准信息服务平台

2020-11-13 发布

2020-12-20 实施

广西壮族自治区市场监督管理局 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。

本文件由广西壮族自治区糖业发展办公室提出并宣贯。

本文件由广西糖业标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：广西糖业集团有限公司、广东省生物工程研究所（广州甘蔗糖业研究所）、广西壮族自治区分析测试研究中心、广西壮族自治区产品质量检验研究院、广西糖业集团防城精制糖有限公司。

本文件主要起草人：柳颖、林荣珍、常国炜、马步、邓卫利、杨宇格、刘桂云、缪路、黎志德、张九花、杨华、林金梅、方海香、梁达奉。

地方标准信息服务平台

甘蔗及其制品中葡聚糖的测定方法 免疫比浊法

1 范围

本文件规定了甘蔗及其制品中葡聚糖含量免疫比浊法的测定。

本文件适用于广西境内甘蔗及其制品中葡聚糖含量为3.5 mg/L~600 mg/L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

GB/T 9289 制糖工业术语

3 术语和定义

GB/T 9289界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

葡聚糖 dextran

又称右旋糖酐，是蔗糖经明串珠菌(*Leuconostocmesenteroides*)转化形成的，一种完全由 α -D-吡喃葡萄糖单体构成的多糖，分子式 $[C_6H_{10}O_5]_n$ ，分子量通常为数万至数百万。

4 原理

利用葡聚糖与葡聚糖单克隆抗体特异性反应，形成葡聚糖-葡聚糖单克隆抗体复合物析出，使反应体系浊度增加，浊度增量和葡聚糖含量成正比，通过增量浊度与标准系列来比较定量。

5 试剂

5.1 除非另有说明，本标准所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

5.2 盐酸(HCl)溶液(1+99)：量取1 mL盐酸，加入99 mL水，混匀。

5.3 缓冲溶液：称取0.800 g氯化钠(NaCl)、0.020 g氯化钾(KCl)、0.363 g十二水合磷酸氢二钠($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$)和0.024 g磷酸二氢钾(KH_2PO_4)，溶于90 mL水中，以盐酸溶液(1+99)调pH至7.2，移入100 mL容量瓶，定容。

5.4 蔗糖储备液(250 g/L)：称取25.0 g蔗糖($C_{12}H_{22}O_{11}$ ，优级纯，且葡聚糖含量低于5 mg/kg)，用水溶解，移入100 mL容量瓶，定容。

5.5 葡聚糖标准品：CAS号：9004-54-0，纯度>99%。

- 5.6 葡聚糖标准储备液（1 mg/mL）：称取葡聚糖标准品 2 g（准确至 0.1 mg）于已恒重的称量瓶内，放于干燥箱内在 105 °C 下干燥 3 h，取出，放在干燥器内，冷却至室温，称量（准确至 0.1 mg），计算葡聚糖标准品中的水分含量。根据葡聚糖标准品的水分含量，迅速称取未经干燥的葡聚糖，使其含无水葡聚糖约 0.1000 g，加入 2.0 mL 水溶解成糊状，放置约 10 min，不时搅拌，使粒子均匀水化，当有凝胶物存在时，多次加入少量水至约 25 mL 将凝胶状物溶解，移入 100 mL 容量瓶，定容。此溶液现配现用。
- 5.7 葡聚糖标准系列溶液：分别吸取葡聚糖标准储备液（1 mg/mL）0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL 于 10 mL 容量瓶，再分别吸取蔗糖储备液（250 g/L）6 mL 于上述 6 个 10 mL 容量瓶中，定容。此葡聚糖标准系列溶液的质量浓度分别为 0 mg/L、20 mg/L、40 mg/L、60 mg/L、80 mg/L 和 100 mg/L。可根据样品中葡聚糖的实际含量配制相应质量浓度的葡聚糖标准系列溶液，质量浓度不超过 600 mg/L。
- 5.8 葡聚糖单克隆抗体溶液：称取 0.060 g 葡聚糖单克隆抗体（鼠抗葡聚糖 IgM，效价大于 10^6 ），溶于 15 mL 缓冲溶液中，静置 30 min，移入带盖棕色小瓶，盖好，备用。该溶液应现配现用，在 4 °C 下贮存期为 7 d。

6 仪器和设备

- 6.1 浊度仪：配 1 cm 四面透光测试皿；入射光波长 λ ：(860±30) nm（LED 光源）或 400 nm~600 nm（钨灯），检测器处在与入射光垂直的位置上。
- 6.2 分析天平：感量为 0.1 mg。
- 6.3 干燥箱：控温范围室温为 +5 °C 至 250 °C，温度分辨率为 0.1 °C。
- 6.4 移液器：量程为 20 μ L。
- 6.5 滤膜：水系，厚薄均匀，膜面上分布着对称、均匀、穿透性强的微孔，孔径为 0.22 μ m。
- 6.6 秒表：精度为 1 s。

7 测定步骤

7.1 试样制备

初压汁、混合汁、中和汁、清汁等锤度小于 25° Bx 的液态样品，用滤网或滤布过滤，再以水系滤膜过滤备用；糖浆、糖膏、糖糊等锤度大于或等于 25° Bx 的液态样品和固态样品，称取 15.0 g~20.0 g 样品 (m)，用水稀释或溶解，移入 100 mL 容量瓶，定容，以水系滤膜过滤备用。

7.2 测定方法

7.2.1 标准曲线制作

用 2 mL 吸量管吸取 1.5 mL 葡聚糖单抗溶液置于测试皿，放入浊度仪，盖上浊度仪盖子，放置 1 min 后立即测定浊度值 ($N_{\text{标}0}$)；取出测试皿，用移液器将 15 μ L 葡聚糖标准系列溶液加入葡聚糖单抗溶液中，开启秒表计时，盖上测试皿盖子，上下颠倒 6 次混匀，混匀过程中应避免产生气泡，取下测试皿盖子，将测试皿放入浊度仪，盖上浊度仪盖子，放置 1 min 后立即测定浊度值 ($N_{\text{标}}$)，应在 2 min 内测定完毕，按 8.1.1 计算反应溶液体系浊度增量 ($\Delta NTU_{\text{标}}$)。以葡聚糖浓度为横坐标，浊度增量为纵坐标，绘制标准曲线。

7.2.2 试样中葡聚糖浓度测定

吸取 1.5 mL 葡聚糖单抗溶液置于测试皿，放入浊度仪，盖上浊度仪盖子，放置 1 min 后立即测定浊度值 ($N_{\text{样}0}$)；取出测试皿，用移液器将 15 μ L 试样溶液加入葡聚糖单抗溶液中，开启秒表计时。盖上测试

皿盖子，上下颠倒6次混匀，混匀过程中应避免产生气泡。取下测试皿盖子，将测试皿放入浊度仪，盖上浊度仪盖子，放置1min后立即测定浊度值（ $N_{\#}$ ），应在2min内测定完毕，按8.1.2计算反应体系浊度增量（ $\Delta NTU_{\#}$ ），与标准系列比较定量，得到试样中葡聚糖浓度（ c ）。

8 计算及结果表示

8.1 浊度增量

8.1.1 标准品测定

反应溶液体系的浊度增量按式（1）计算：

$$\Delta NTU_{\text{标}} = N_{\text{标}} - N_{\text{标}0} \quad (1)$$

式中：

$\Delta NTU_{\text{标}}$ ——测定标准品时反应溶液体系的浊度增量，单位为散射浊度单位（NTU）；

$N_{\text{标}}$ ——测定标准品时反应后体系浊度，单位为散射浊度单位（NTU）；

$N_{\text{标}0}$ ——测定标准品时反应前体系浊度，单位为散射浊度单位（NTU）。

计算结果表示到小数点后一位。

8.1.2 试样测定

反应溶液体系的浊度增量按式（2）计算：

$$\Delta NTU_{\text{样}} = N_{\text{样}} - N_{\text{样}0} \quad (2)$$

式中：

$\Delta NTU_{\text{样}}$ ——测定样品时反应溶液体系的浊度增量，单位为散射浊度单位（NTU）；

$N_{\text{样}}$ ——测定样品时反应后体系浊度，单位为散射浊度单位（NTU）；

$N_{\text{样}0}$ ——测定样品时反应前体系浊度，单位为散射浊度单位（NTU）。

计算结果表示到小数点后一位。

8.2 样品中葡聚糖含量

低浊度液态样品：将浊度增量代入标准曲线，得到样品中葡聚糖含量，单位为毫克每升（mg/L），计算结果取整数。

高浊度液态样品及固态样品按式（3）计算：

$$X = \frac{c}{m} \times 100 \quad (3)$$

式中：

X ——样品中葡聚糖含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c ——由标准曲线计算得到的葡聚糖浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

m ——样品称样量，单位为克（g）；

100——样品定容体积，单位为毫升（mL）。

计算结果取整数。

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于算数平均值的15%。

10 其他

对初压汁、混合汁、中和汁、清汁等锤度小于25° Bx的液态样品，本方法检出限为3.5mg/L，定量限为15 mg/L；对糖浆、糖膏、糖糊等锤度大于等于25° Bx的液态样品和固态样品，以取样量15.0 g计，本方法检出限为23.3 mg/kg，定量限为100 mg/kg。

地方标准信息服务平台

地方标准信息服务平台

中华人民共和国广西地方标准

甘蔗及其制品中葡聚糖的测定方法 免疫

比浊法

DB45/T 2205—2020

广西壮族自治区市场监督管理局统一印制

版权专有 侵权必究