

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4844—2025

饲料原料酵母水解物和酿酒酵母
细胞壁中甘露聚糖的测定 离子色谱法

Determination of mannan in feed materials yeast hydrolysate and yeast cell
wall from *Saccharomyces cerevisiae*—Ion chromatography method

2025-12-09 发布

中华人民共和国农业农村部 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。

本文件由农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)归口。

本文件起草单位：中国农业科学院饲料研究所、安琪酵母股份有限公司。

本文件主要起草人：石冬冬、刘庆生、李秀梅、陈少锋、田园、赵维香、郑君杰。



饲料原料酵母水解物和酿酒酵母细胞壁中 甘露聚糖的测定 离子色谱法

1 范围

本文件描述了饲料原料酵母水解物和酿酒酵母细胞壁中甘露聚糖测定的离子色谱法。
本文件适用于饲料原料酵母水解物和酿酒酵母细胞壁中甘露聚糖的测定。

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

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中的甘露聚糖经盐酸水解得到甘露糖,经离子色谱柱分离和脉冲安培检测器检测,外标法定量。

4.2 试剂或材料

除非另有规定,本方法所使用试剂均为分析纯。

4.2.1 水:GB/T 6682,一级。

4.2.2 盐酸:优级纯。

4.2.3 氢氧化钠:优级纯。

4.2.4 氢氧化钠溶液(4 mol/L):准确称取 160 g 氢氧化钠(4.2.3)于烧杯中,加适量水溶解后,用水转移至 1 L 容量瓶中并定容,混匀后储于塑料瓶,室温保存,有效期为 6 个月。

4.2.5 氢氧化钠溶液(0.2 mol/L):准确称取 8 g 氢氧化钠(4.2.3)于烧杯中,加水溶解后,用水移入 1 L 容量瓶中并定容,混匀后储于塑料瓶,室温保存,有效期为 2 周。

4.2.6 甘露糖标准储备溶液(1 mg/mL):称取甘露糖标准品(CAS:3458-28-4,纯度不低于 99%)0.1 g (精确 0.0001 g)于烧杯中,加水溶解,移入 100 mL 容量瓶中,加水定容。该溶液于 0℃~4℃冷藏保存,有效期为 2 周。

4.2.7 甘露糖标准中间溶液(50 μg/mL):准确吸取甘露糖标准储备溶液(4.2.6)0.5 mL,置于 10 mL 容量瓶中,加水至刻度,摇匀。临用现配。

4.2.8 甘露糖标准系列溶液:准确移取适量甘露糖标准中间溶液(4.2.7),用水稀释配成浓度分别为 0.5 μg/mL、1 μg/mL、2 μg/mL、4 μg/mL、8 μg/mL、12 μg/mL 标准系列溶液。临用现配。

4.2.9 微孔滤膜:水系,0.45 μm。

4.3 仪器设备

4.3.1 离子色谱仪:配有脉冲安培检测器。

4.3.2 分析天平:感量为 0.0001 g。

4.3.3 水浴锅。

4.3.4 高压蒸汽灭菌器

4.3.5 涡旋混合器。

4.3.6 pH 计,精度±0.01。

4.3.7 水解瓶:耐高温带盖玻璃瓶,250 mL。

4.4 样品

按 GB/T 20195 制备试样,粉碎过 0.42 mm 孔径的筛,充分混匀,装入磨口瓶中,避光保存,备用。

4.5 试验步骤

4.5.1 试样水解

平行做两份试验。称取试样 0.4 g,准确至 0.0001 g,置于 20 mL 的带螺帽玻璃试管中,准确加入 6 mL 盐酸(4.2.2),加盖后涡旋 1 min。将试管放入 30 °C 水浴中,温浴 45 min,其间每 15 min 涡旋混合 1 次,每次 1 min。然后,将内容物全部转移到 250 mL 水解瓶中,用 100 mL 的水分几次冲洗试管,洗涤液并入水解瓶中。将水解瓶封口后放入高压蒸汽灭菌器,121 °C 下热压 60 min。取出后冷却,用氢氧化钠溶液(4.2.4)将水解液调 pH 到 6.5±0.2。将水解液用水全部转移到 200 mL(V₁)容量瓶并定容,摇匀后,精确移取 2 mL(V₁)定容后的水解液,用水稀释定容至 100mL(V₂),摇匀,取约 4 mL 过 0.45 μm 滤膜备离子色谱检测用。此溶液需在 12 h 内完成分析检测。

4.5.2 离子色谱参考条件

色谱柱:阴离子交换柱,柱长 150 mm,内径 3.0 mm,粒度 6 μm;

柱温:30 °C;

检测器:脉冲安培检测器;Au 工作电极;Ag/AgCl 参比电极;

流动相:A 为水,B 为氢氧化钠溶液(4.2.5);

梯度洗脱:洗脱程序见表 1;

流速:0.40 mL/min;

进样量:25 μL。

表 1 梯度洗脱程序

时间, min	A, %	B, %
0.00	98	2
15.00	98	2
15.01	70	30
21.00	70	30
21.01	98	2
30.00	98	2

4.5.3 测定

4.5.3.1 标准系列溶液和试样溶液测定

分别取甘露糖标准系列溶液(4.2.8)和试样检测备用液(4.5.1)上机测定。在上述离子色谱条件下,甘露糖标准溶液的离子色谱图见附录 A。

4.5.3.2 定性

在相同测试条件下,以保留时间定性,在对标准系列溶液进行检测的 12 h 内,所检测试样溶液中甘露糖的保留时间应与标准系列溶液中与其浓度相当的标准溶液中甘露糖的保留时间一致,其相对偏差应在±2.5%之内。

4.5.3.3 定量

以甘露糖的浓度为横坐标,色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。标准曲线的相关系数应不低于 0.99。试样溶液中待测物的浓度应在标准曲线的线性范围内,如超出线性范围,应调整试样、调节 pH 后水解液的定容体积,重新测定。

4.6 试验数据处理

试样中甘露聚糖的含量以质量分数计,按公式(1)计算。

$$\omega = \frac{C \times V \times V_2 \times 0.9}{V_1 \times m \times 1000} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- ω —— 试样中甘露聚糖的含量的数值,单位为百分号(%)；
- C —— 从标准曲线查得的试样溶液甘露糖浓度的数值,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$)；
- V —— 试样水解首次定容体积,单位为升(L)；
- V_2 —— 水解液分取后再次定容的体积的数值,单位为毫升(mL)；
- 0.9 —— 将甘露糖换算成甘露聚糖的系数；
- V_1 —— 从定容后的水解液分取体积的数值,单位为毫升(mL)；
- m —— 试样质量的数值,单位为克(g)；

测定结果以平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

4.7 精密度

在重复性条件下,两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 10%。

附录 A
(资料性)
甘露糖标准溶液色谱图

甘露糖标准溶液的离子色谱图见图 A.1。

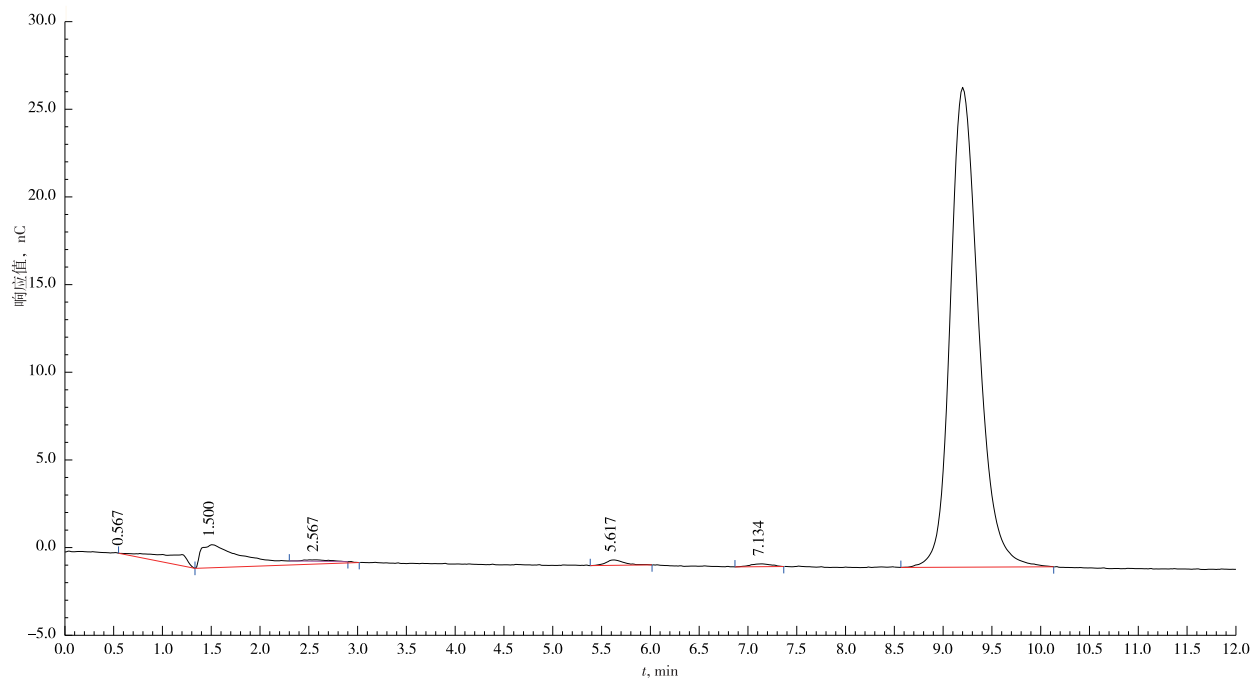


图 A.1 甘露糖标准溶液(5 µg/mL)的离子色谱图