

中华人民共和国烟草行业标准

YC/T 283—2009

烟草及烟草制品 淀粉的测定 酶水解-离子色谱法

Tobacco and tobacco products—Determination of starch—
Enzyme hydrolysis-ion chromatography

2009-03-30 发布

2009-05-01 实施

国家烟草专卖局 发布



前 言

本标准的附录 A 和附录 B 为资料性附录。

本标准由国家烟草专卖局提出。

本标准由全国烟草标准化技术委员会卷烟分技术委员会(SAC/TC 144/SC 1)归口。

本标准起草单位：上海烟草(集团)公司、中国烟草标准化研究中心、广东中烟工业有限责任公司、湖南中烟工业有限责任公司。

本标准主要起草人：孙文梁、周宛虹、余永楨、韩云辉、陈连芳、沈光林、胡静、施文庄、吴名剑、虞苏行、韩星。

烟草及烟草制品 淀粉的测定

酶水解-离子色谱法

1 范围

本标准规定了烟草及烟草制品中淀粉的酶水解-离子色谱测定方法。

本标准适用于烟草及烟草制品中淀粉的测定。

本方法测定淀粉的定量检出限为 0.05 mg/g。

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 6682-2008,ISO 3696:1987,MOD)

YC/T 31 烟草及烟草制品 试样的制备和水分测定 烘箱法

3 原理

采用乙醇除去烟草或烟草制品中的糖类干扰物质,利用 α -淀粉酶和淀粉葡萄糖苷酶将淀粉专一水解成葡萄糖,通过离子交换分离后定量检测葡萄糖,进而计算得出烟草或烟草制品中的淀粉含量。

4 试剂

除特殊要求外,均应使用分析纯试剂。水应符合 GB/T 6682 中一级水的规定。

4.1 氢氧化钠溶液,50%(质量分数)。

4.2 乙醇溶液,80%(体积分数)。

4.3 α -淀粉酶,50 U/mg。来源:Bacillus subtilis。

注:1个 α -淀粉酶活力单位(U)定义为可在 pH 6.9,25℃下每分钟水解淀粉生成 1 μ mol 麦芽糖。

4.4 淀粉葡萄糖苷酶(AGS),70 U/mg。来源:Aspergillus niger。

注:1个淀粉葡萄糖苷酶活力单位(U)定义为可在 pH 4.8,60℃下每分钟水解淀粉生成 1 μ mol 葡萄糖。

4.5 磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液,0.10 mol/L,pH 6.0。

4.6 乙酸-乙酸钠缓冲溶液,0.10 mol/L,pH 4.6。

4.7 淀粉葡萄糖苷酶溶液,280 U/mL,由淀粉葡萄糖苷酶(4.4)和乙酸-乙酸钠缓冲溶液(4.6)配制,即配即用。

4.8 苯甲酸溶液,0.1%(质量分数)。

4.9 标准溶液

4.9.1 葡萄糖标准储备液

称取约 50 mg 葡萄糖,精确至 0.1 mg,以 0.1% 苯甲酸溶液(4.8)溶解并定容于 100 mL 容量瓶中。葡萄糖标准储备液应置于 4℃ 下保存,有效期 6 个月。取用时,应在达到常温后使用。

4.9.2 葡萄糖工作标准液

分别移取 50.0 μ L、100.0 μ L、250.0 μ L、500.0 μ L 和 1 000.0 μ L 葡萄糖标准储备液(4.9.1)于

25 mL容量瓶中,以0.1%苯甲酸溶液(4.8)稀释定容,得到葡萄糖工作标准液。

4.10 流动相:移取50%氢氧化钠溶液(4.1)适量,稀释定容,配制200 mmol/L氢氧化钠溶液,作为流动相A。流动相B为一级水。

5 仪器及材料

5.1 旋风式样品磨,40目筛。

5.2 分析天平,精确至0.1 mg。

5.3 连续萃取装置,参见附录A。

5.4 双层滤纸杯。

5.5 常规玻璃仪器。

5.6 真空抽滤装置。

5.7 电热恒温水浴锅。

5.8 离子色谱仪,配置二元梯度泵和电化学检测器。

5.9 糖离子交换柱,固定相为苯乙烯-二乙烯基苯共聚物,官能团为功能性季胺盐,分析柱3 mm×150 mm,保护柱3 mm×30 mm。

6 制样和水分的测定

按YC/T 31进行试样的制备和水分的测定。

7 分析步骤

7.1 样品前处理

7.1.1 乙醇提取

称取0.5 g试样,精确至0.000 1 g,置于双层滤纸杯(5.4)中,每个样品称取两个平行试样。将称取的试样置于连续萃取装置(5.3)内,以100 mL乙醇溶液(4.2)于100 °C水浴中提取2.0 h。

7.1.2 酶水解

7.1.2.1 取出并打开滤纸杯,将残渣和滤纸置于250 mL锥形瓶中,依次加入50 mL磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液(4.5)和25 mg α-淀粉酶(4.3),在100 °C水浴中水解1.5 h。

7.1.2.2 将α-淀粉酶水解液(7.1.2.1)冷却至60 °C,依次加入50 mL乙酸-乙酸钠缓冲溶液(4.6)和8.0 mL淀粉葡萄糖苷酶溶液(4.7),在60 °C水浴中水解2.0 h。

7.1.2.3 水解完毕取出锥形瓶,立即抽滤,用约50 mL苯甲酸溶液(4.8)清洗滤纸和滤渣。合并滤液和清洗液于250 mL容量瓶中,以0.1%苯甲酸溶液(4.8)稀释定容,得到A溶液。

7.1.3 溶液稀释

7.1.3.1 移取5.0 mL A溶液(7.1.2.3)于50 mL容量瓶中,以0.1%苯甲酸溶液(4.8)稀释定容,得到B溶液。

7.1.3.2 移取2 mL B溶液(7.1.3.1),经0.45 μm滤膜过滤后进行离子色谱分析。

7.1.3.3 当B溶液(7.1.3.1)中的葡萄糖含量超出标准工作曲线的定量范围时,应调整A溶液(7.1.2.3)的稀释倍数。

7.2 离子色谱分析

7.2.1 柱温:30 °C。

7.2.2 流速:0.50 mL/min。

7.2.3 进样量:10 μL。

7.2.4 淋洗液梯度洗脱程序见表 1。

表 1 淋洗液梯度洗脱程序

t/min	流动相 A/%	流动相 B/%	注 释
-30.00	100.0	0.0	—
-20.00	100.0	0.0	—
-19.95	5.0	95.0	—
0.00	5.0	95.0	开始进样和数据采集
14.00	5.0	95.0	停止数据采集

7.2.5 检测器采用脉冲安培检测模式,检测电位波形见表 2。

表 2 检测器检测电位波形

t/s	U/V	积分状态
0.00	0.10	—
0.20	0.10	开始
0.40	0.10	结束
0.41	-2.00	—
0.42	-2.00	—
0.43	0.60	—
0.44	-0.10	—
0.50	-0.10	—

7.3 标准工作曲线

测定葡萄糖工作标准液(4.9.2),根据葡萄糖工作标准液的浓度及其响应峰面积,建立葡萄糖标准工作曲线。工作曲线线性相关系数应不小于 0.999。

7.4 样品测定

按照离子色谱分析条件测定 B 溶液(7.1.3.2)中的葡萄糖,根据保留时间定性,峰面积定量。每个样品平行测定两次。烟草样品水解液的离子色谱图参见附录 B。

7.5 结果的计算与表述

样品中淀粉的含量按式(1)进行计算,将 B 溶液(7.1.3.1)中的葡萄糖含量换算为样品中的淀粉含量,以质量分数表示。

$$X = \frac{0.9 \times k \times c \times V}{m \times (1 - w)} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X——样品中的淀粉含量,%;

0.9——葡萄糖与淀粉之间的换算系数;

k——B 溶液和 A 溶液之间的稀释倍数;

c——B 溶液中的葡萄糖含量,单位为毫克每升(mg/L);

V——A 溶液的体积,单位为升(L);

m——试样的质量,单位为毫克(mg);

w——样品的含水率,%。

取两次平行测定值的平均值作为样品淀粉的测定结果,两次平行测定值间的相对平均偏差应不大于 10.0%。当样品中的淀粉含量小于 10%时,结果精确至 0.01%;当样品中的淀粉含量大于或等于

10%时,结果精确至0.1%。

8 回收率

本方法的回收率试验结果如表3所示。

表3 回收率试验结果

以%表示

样品名称	淀粉含量	加入标样量	测定值	回收率
烤烟烟叶	4.31	2.14	6.58	106.0
烤烟烟叶	4.31	4.19	8.42	98.0
烤烟烟叶	4.31	7.86	12.31	101.8
白肋烟烟叶	0.18	0.11	0.28	90.9
白肋烟烟叶	0.18	0.21	0.38	95.2
白肋烟烟叶	0.18	0.33	0.49	93.9
香料烟烟叶	1.63	0.86	2.53	104.9
香料烟烟叶	1.63	1.73	3.25	93.6
香料烟烟叶	1.63	3.27	4.88	99.4
烤烟型卷烟	3.33	1.71	5.06	101.0
烤烟型卷烟	3.33	3.29	6.56	98.1
烤烟型卷烟	3.33	6.46	9.97	102.8
混合型卷烟	2.47	0.82	3.28	98.8
混合型卷烟	2.47	2.36	4.88	102.1
混合型卷烟	2.47	4.25	6.69	99.3

9 检验报告

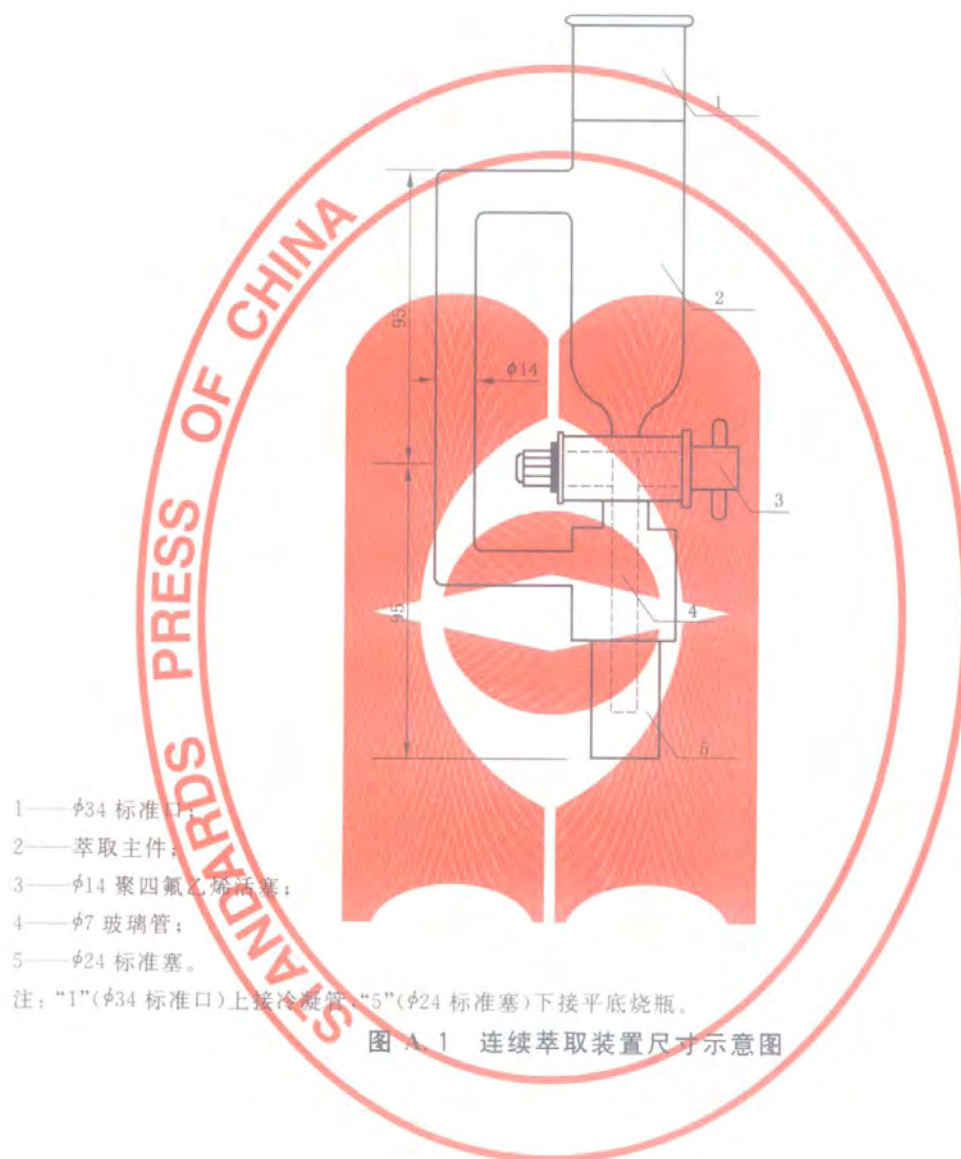
检验报告应说明:

- 识别被测样品需要的所有信息;
- 参照本标准所使用的试验方法;
- 检测结果,包括各单次测定结果及其平均值;
- 与本标准规定的分析步骤的差异;
- 在检测中观察到的异常现象;
- 检测日期;
- 检测人员。

附录 A
 (资料性附录)
 连续萃取装置尺寸示意图

连续萃取装置如图 A.1 所示。

单位为毫米



- 1— $\phi 34$ 标准口;
- 2—萃取主件;
- 3— $\phi 14$ 聚四氟乙烯活塞;
- 4— $\phi 7$ 玻璃管;
- 5— $\phi 24$ 标准塞。

注：“1”($\phi 34$ 标准口)上接冷凝管;“5”($\phi 24$ 标准塞)下接平底烧瓶。

图 A.1 连续萃取装置尺寸示意图

附录 B
(资料性附录)
烟草样品水解液离子色谱图

烟草样品水解液的离子色谱响应如图 B.1 所示。

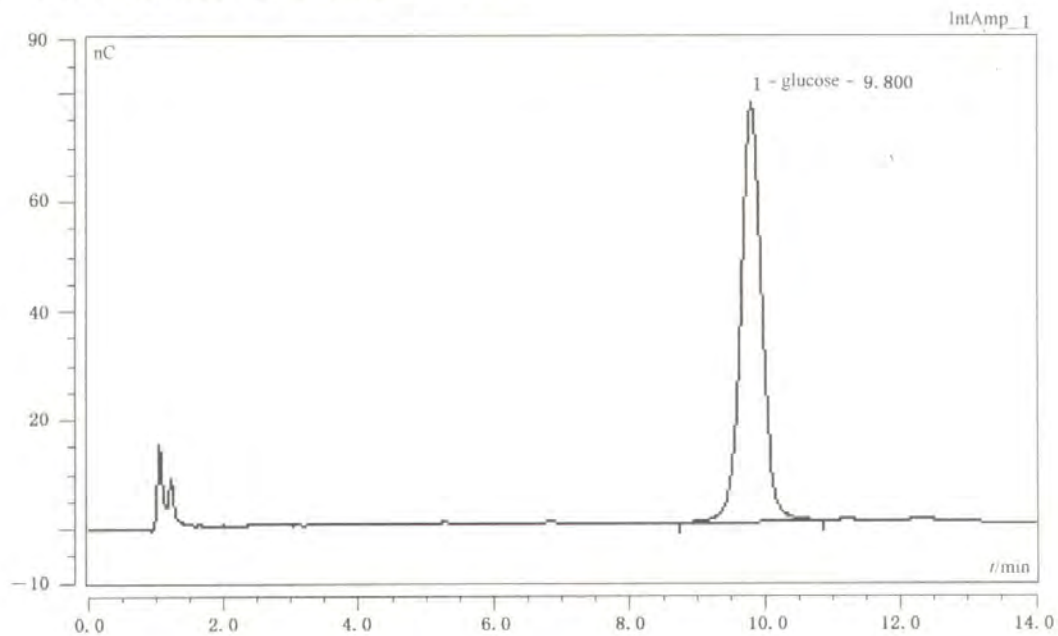


图 B.1 烟草样品水解液的离子色谱图

中华人民共和国烟草
行业标准
烟草及烟草制品 淀粉的测定
酶水解-离子色谱法
YC/T 283—2009

*

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 13 千字
2009年5月第一版 2009年5月第一次印刷

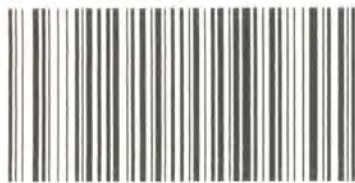
*

书号: 155066·2-19680 定价 16.00 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



YC/T 283-2009