

DB21

辽宁省地方标准

DB21/T 2598—2016

褐藻酸寡糖含量的检测

Determination of the content of alginate oligosaccharides

辽宁省地方标准全文公开
DB21

2016 - 03 - 28 发布

2016 - 05 - 28 实施

辽宁省质量技术监督局 发布

前 言

本标准是依据 GB/T 1.1-2009《标准化工作导则第 1 部分：标准的结构和编写》给出的规则起草的。

本标准由中国科学院大连化学物理研究所提出。

本标准由大连市质量技术监督局归口。

本标准起草单位：中国科学院大连化学物理研究所。

本标准主要起草人：赵勇、尹恒、陈玮。



褐藻酸寡糖含量的检测

1 范围

本标准规定了褐藻酸寡糖含量的检测的术语和定义、原理、仪器、试剂、操作步骤和重复性。

本标准适用于从海带、马尾藻、巨藻、泡叶藻等褐藻类植物中提取的褐藻酸盐，经过加工制成的褐藻酸寡糖产品中褐藻酸寡糖含量的测定。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件

2.1

褐藻酸寡糖 Alginate Oligosaccharides, AOS

褐藻酸在酸水解或生物酶降解条件下转变为聚合度为2~20的线性低聚糖。

2.2

褐藻酸寡糖的含量 Content of AOS

褐藻酸寡糖产品中褐藻酸寡糖占褐藻酸寡糖产品的质量百分比。

3 原理

在沸水浴条件下，利用含四硼酸钠的硫酸溶液将待测样品中的褐藻酸寡糖彻底水解，生成糖醛酸。糖醛酸可与间羟联苯试剂发生反应，生成紫红色物质，在波长为525nm处有吸收。在吸收值为0~1.0的范围内，该紫红色物质的吸收值与糖醛酸浓度呈线性关系，通过计算可得到待测样品中糖醛酸的浓度和总质量。利用糖醛酸的总质量除以待测样品的总质量，计算得出褐藻酸寡糖的含量。

4 仪器

- 4.1 分光光度计。
- 4.2 分析天平：感应量为0.0001g。
- 4.3 电子天平：感应量为0.01g。
- 4.4 水浴锅。
- 4.5 漩涡混合振荡器。
- 4.6 恒温干燥箱。

5 试剂

- 5.1 去离子水。

- 5.2 浓硫酸：分析纯。
- 5.3 半乳糖醛酸：色谱纯，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.4 氢氧化钠：分析纯。
- 5.5 十水合四硼酸钠：分析纯。
- 5.6 间羟联苯：优级纯，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.7 0.1g/L 半乳糖醛酸标准溶液：将 0.10g 半乳糖醛酸用 200mL~300mL 去离子水在烧杯中溶解，再将溶解后溶液移入 1L 容量瓶中，加去离子水至容量瓶刻度线。
- 5.8 120mM 四硼酸钠-硫酸溶液：将 4.576g 十水合四硼酸钠用 50mL~60mL 浓硫酸在烧杯中溶解，再将溶解后溶液移入 100mL 容量瓶中，加浓硫酸至容量瓶刻度线。
- 5.9 0.5% (w/v) 氢氧化钠溶液：将 0.50g 氢氧化钠用 50mL~60mL 去离子水在烧杯中溶解，再将溶解后溶液移入 100mL 容量瓶中，加去离子水至容量瓶刻度线。
- 5.10 0.15% (w/v) 间羟联苯试剂：将 0.15g 间羟联苯用 50mL~60mL 上述氢氧化钠溶液在烧杯中溶解，再将溶解后溶液移入 100mL 容量瓶中，加上上述氢氧化钠溶液至容量瓶刻度线，置于棕色瓶中，阴暗处保存。

6 操作步骤

6.1 待测样品的预处理

待测样品为固体，按下述步骤直接检测样品中褐藻酸寡糖的含量。待测样品为液体，需先利用恒温干燥箱将液体进行干燥处理，然后再按下述步骤对样品中褐藻酸寡糖的含量进行检测。

6.2 标准曲线制作

6.2.1 取 10mL 带塞试管，分别加入 0mL, 0.1mL, 0.2mL, 0.3mL, 0.4mL 半乳糖醛酸标准溶液 (5.7)，利用去离子水将每个试管中溶液的体积定容为 0.4mL，置于漩涡混合振荡器上振荡 30s，得到浓度分别为 0 μ g/mL, 25 μ g/mL, 50 μ g/mL, 75 μ g/mL, 100 μ g/mL 的半乳糖醛酸梯度溶液。

6.2.2 将上述试管置于冰水浴中预冷 3min~5min，然后在每个试管中缓慢加入 2.4mL 四硼酸钠-硫酸溶液 (5.8)，加盖后置于漩涡混合振荡器上振荡 30s。随后将试管置于沸水浴中反应 20min，反应结束后将试管冷却至室温。

6.2.3 在每个试管中分别加入 80 μ L 间羟联苯试剂 (5.10)，置于漩涡混合振荡器上振荡 30s，室温放置 10min。

6.2.4 利用分光光度计测量 525nm 波长下的吸收值 (A_{525nm})。

6.2.5 以半乳糖醛酸的浓度为横坐标，以 A_{525nm} 为纵坐标，制作标准曲线。

6.3 待测样品中褐藻酸寡糖含量的测定

6.3.1 准确称取 0.050g 待测样品，用 25mL 蒸馏水在烧杯中溶解，再将溶解后溶液转移到 1L 的容量瓶中，用蒸馏水定容到 1L，配成 0.05g/L 的样品溶液。

6.3.2 取 0.4mL 样品溶液，加入到 10mL 带塞试管中，置于冰水浴中预冷 3min~5min，随后缓慢加入 2.4mL 四硼酸钠-硫酸溶液 (5.8)，加盖后置于漩涡混合振荡器上振荡 30s。随后将试管置于沸水浴中反应 20min，反应结束后将试管冷却至室温。

6.3.3 在每个试管中分别加入 80 μ L 间羟联苯试剂 (5.10)，置于漩涡混合振荡器上振荡 30s，室温放置 10min。利用分光光度计测量待测样品的 A_{525nm} 。

- 6.3.4 如果测得的 $A_{525\text{nm}}$ 不在标准曲线范围内，需提高或稀释待测样品的浓度，使其测得的 $A_{525\text{nm}}$ 在标准曲线范围内。
- 6.3.5 通过标准曲线，计算得出待测样品中糖醛酸的浓度。
- 6.3.6 待测样品中褐藻酸寡糖的含量按式（1）进行计算：

$$C_{\text{AOS}} = \frac{C_1 \times V}{W} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

C_{AOS} —待测样品中褐藻酸寡糖的含量，%；

C_1 —样品溶液中糖醛酸质量浓度，g/L；

V —样品溶液的体积，L；

W —待测样品的质量，g。

7 重复性

在同一实验室由同一操作人员完成的三个平行测定结果，对质量分数大于10%的组分，相对标准偏差 $\leq 5\%$ ；对质量分数小于10%的组分，相对标准偏差 $\leq 10\%$ ；以三次平行测定结果的算术平均值为测定结果。

