

分析测试

不同分析方法对测定亚麻胶含量的影响

牛丽红¹, 张海霞¹, 李 胜², 邓 利³

(1. 燕京理工学院, 河北 廊坊 065201; 2. 中石油燃料油有限责任公司青岛仓储分公司, 山东 青岛 266500; 3. 北京化工大学, 北京 100029)

摘要:主要考察了苯酚硫酸法和凝胶渗透色谱法测定同一亚麻胶产品质量分数产生偏差的原因。苯酚硫酸法以分子质量为 10^4 的葡聚糖为标准品,将亚麻胶中多糖降解为单糖,降解过程繁杂,操作时间冗长,所含的可溶性纤维素经降解也会产生小分子还原糖,使测定结果偏高,测得亚麻胶质量分数为81.02%;凝胶渗透色谱法以分子质量为 10^4 的葡聚糖为标准品,快速、便捷地直接测得多糖质量分数为75.24%,但难以鉴定分离组别。

关键词:苯酚硫酸法;凝胶渗透色谱法;亚麻胶含量;测定

中图分类号:TQ46

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2017)01-0196-02

DOI:10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2017.01.047

Influence of different analysis method on determination of flax gum content

NIU Li-hong¹, ZHANG Hai-xia¹, LI Sheng², DNEG Li³

(1. Yanching Institute of Technology, Langfang 065201, China;

2. PetroChina Fuel Oil Co., Ltd., Qingdao Storage Branch, Qingdao 266500, China;

3. Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: Phenol sulfuric acid method and gel permeation chromatography method are used to determine the content of flax gum. The main reasons for the deviation of the results are analyzed. For phenol sulfuric acid method, glucan with the molecular weight of 10^4 is used as the standard sample. However, the degradation of the polysaccharide in flax gum is a complicated and time-consuming process, leading to the formation of small molecule reducing sugar from soluble cellulose. The resultant content of flax gum measured by phenol sulfuric acid method is a little higher (81.02%). In contrast, with glucan with the molecular weight of 10^4 as the standard sample, gel permeation chromatography method can determine the content of flax gum as 75.24% quickly and easily, but it is difficult to identify the separate groups.

Key words: phenol sulfuric acid method; gel permeation chromatography; flax gum content; determination

亚麻籽由种皮、内胚乳和胚3部分组成,其中种皮质量占亚麻籽全部质量的39%,亚麻籽胶就主要分布在种皮内^[1]。亚麻籽胶大约含9%的蛋白质和近80%的多糖类物质以及可溶性膳食纤维,多糖是亚麻胶中最有效的成分之一,有广泛的药理活性,可有益身体健康^[2-3]。

目前我国只有测定多糖的国际标准,将粗多糖降解成为小分子单糖,通过滴定测定水解出来的小分子还原糖的质量分数,再乘以1个系数折合出多糖质量分数。水解过程繁杂,操作时间冗长,水解过程中还会出现以下2种情况:一种是由于水解不完全,产生一定量的未完全水解的小分子非还原糖,使测定结果表现为质量分数偏低;另一种是亚麻胶产品中的杂质(如可溶性纤维素)经降解也会产生小分子还原糖,使测定结果偏高。而凝胶渗透色谱法以葡聚糖为标准品,可快速、便捷地直接测定多糖质量分数^[4]。

1 仪器与试剂

1.1 苯酚硫酸法所用仪器

苯酚硫酸法所用仪器与试剂如表1所示。

表1 实验仪器试剂一览表

| 仪器或试剂名称 | 型号 | 生产厂家 |
|---------|-------------------------|-------------------|
| 电子分析天平 | GALAXY200D型 | 北京海淀航天计算机公司 |
| 恒温干燥箱 | 101-2AB | 天津市泰斯特仪器有限公司 |
| 分光光度计 | UV-1601 | 北京瑞利分析仪器有限公司 |
| 电炉 | ES-1020-1000 W | 佛山市南海区金沙西联农业五金塑料厂 |
| 烧杯 | 100 mL, 250 mL, 1000 mL | 北京化工厂 |
| 容量瓶 | 100 mL | 北京化工厂 |
| 试管 | | 北京化工厂 |
| 试管夹 | | |
| 葡萄糖 | 分析纯 | 天津市福晨化学试剂厂 |
| 苯酚 | 分析纯 | 天津市福晨化学试剂厂 |
| 硫酸 | 分析纯 | 北京化工厂 |

收稿日期:2016-06-30

基金项目:廊坊市科学技术研究与发展计划自筹经费项目(2015011058)

作者简介:牛丽红(1982-),女,硕士,讲师,主要从事化工与制药方面的研究,81783249@qq.com。

1.2 凝胶渗透色谱法所用试剂与仪器

1.2.1 实验仪器试剂

Waters2414 示差检测器;Waters 1515 泵;Waters 2707 进样器。分子质量为 10^4 的葡聚糖标准品。

1.2.2 色谱条件

色谱柱:Ultrahydrogel 2000(7.8 mm × 300 mm)与 Ultrahydrogel 250(7.8 mm × 300 mm) 串联;流动相:水;流速:0.5 mL/min;检测器:示差检测器;测试温度:35℃;淋洗液:0.1 mol/L NaNO_3 水溶液。

2 实验方法

2.1 亚麻胶产品的紫外-可见光谱分析

将提取的亚麻胶样品溶于去离子水,用紫外-可见分光光度计测定其吸光度,结果如图 1 所示。多糖的可见光最大吸收峰在波长 490 nm 处,与文献[5]中的值一致。

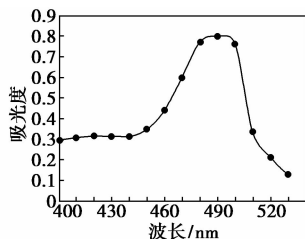


图 1 亚麻胶紫外-可见光谱图

2.2 苯酚硫酸法测定亚麻胶产品多糖的质量分数^[6]

2.2.1 葡萄糖标准曲线的绘制

精密称取干燥恒重的葡萄糖 100 mg,用水溶解并稀释至 100 mL,备用。精密吸取备用液 10 mL,加水稀释至 100 mL 定容,得葡萄糖标准液。精密吸取标准液 100、200、...、600 μL ,分别置于试管内,各加水至 2 mL,再各加 5% 苯酚试剂 1.0 mL,各试管迅速滴加浓硫酸 5.0 mL,立刻摇匀,沸水加热 15 min,迅速冷却;另取 2 mL 水,同样的方法操作加入试剂作空白对照,用紫外可见分光光度计在 $\lambda = 490 \text{ nm}$ 测定吸光度。绘制标准曲线并得回归方程,结果如

图 2 所示。

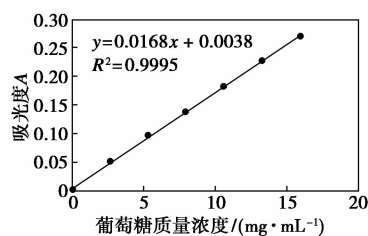


图 2 葡萄糖标准曲线

2.2.2 待测亚麻胶样品的多糖质量分数的测定与计算

准确称量 0.1008 g 亚麻胶产品并溶于去离子水,转移至 100 mL 容量瓶,定容至 100 mL;用吸量管移取 1.00 mL 到另 1 支 100 mL 容量瓶,定容至 100 mL,将稀释后的溶液按照标准曲线的测定方法进行测定,以标准曲线测定中 0 号液为参比液,平行测定 3 次吸光度,按回归方程计算待测液中多糖的质量浓度,结果如表 2 所示。

表 2 亚麻胶产品中多糖质量分数的测定

| 编号 | 1 | 2 | 3 |
|--|-------|-------|-------|
| 吸光度 A | 0.140 | 0.140 | 0.143 |
| 多糖质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ | 8.11 | 8.11 | 8.29 |
| 多糖质量分数/% | 80.43 | 80.43 | 82.20 |
| 多糖平均质量分数/% | 81.02 | | |
| RSD/% | 0.68 | | |

2.3 亚麻胶产品的凝胶色谱分析

亚麻胶产品的凝胶色谱图及色谱数据分别如图 3 和表 3 所示。

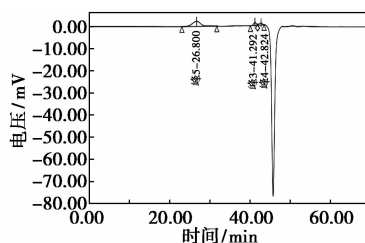


图 3 亚麻胶产品凝胶色谱图

表 3 亚麻胶产品凝胶色谱数据表

| | 淋洗体积/mL | 保留时间/min | M_n | M_w | M_z | $M_z + 1$ | M_z/M_w | $M_z + 1/M_w$ | | |
|---|---------|----------|--------|--------|--------|-----------|-----------|---------------|------------|------------|
| 1 | 26.800 | 53.600 | 298582 | 306502 | 313811 | 320413 | 1.023847 | 1.045387 | | |
| 2 | 41.292 | 82.584 | | | | | | | | |
| | 面积 | 面积/% | 高度 | 高度/% | 积分类型 | 峰编码 | 峰值点 | 积分开始时间/min | 积分截止时间/min | 基线开始时间/min |
| 1 | 355206 | 75.24 | 2330 | 49.79 | Bb | 108 G11 | 521 | 23.150 | 31.833 | 23.150 |
| 2 | 66548 | 14.10 | 1431 | 30.57 | Bv | G11 G50 | 106 | 40.183 | 41.950 | 40.183 |

3 结果与分析

苯酚硫酸法的水解过程繁杂,操作时间冗长,由

于水解不完全,产生一定量的未完全水解的小分子非还原糖,使测定结果表现为质量分数偏低;亚麻胶

(下转第 199 页)

为圆形的S沟道,其优点是在柱体体积相同的情况下,保证各组分的气体分子在芯片式色谱柱沟道内外侧走过相等的路径^[5]。沟道内径为400 μm,长度为5.8 m。为了实现对VOCs的分离,分别涂敷100%二甲基聚硅氧烷、14%氰丙苯基-86%二甲基聚硅氧烷和聚乙二醇3种固定液。芯片的管路连接方式选用夹具固定方式连接,采用有螺纹接口的聚四氟乙烯管连接,连接头的形式采用锥形压环连接,可以承受300℃的温度。

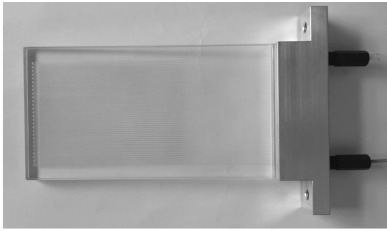


图1 芯片式色谱柱实物图

2 色谱分析的速率理论

2.1 评价色谱柱性能的几个参数

理论塔板数 N 和理论塔板高度 H 是反映色谱柱柱效性能的2个主要指标, N 的计算公式为^[5]:

$$N = 5.54(t_{\text{R}}/W_{1/2})^2 = 16(t_{\text{R}}/W_{\text{b}})^2 \quad (1)$$

式中: t_{R} 为保留时间,是指从进样开始,直至样品通过色谱柱产生最高峰时所需的时间; W_{b} 为峰底宽,是指在色谱峰流出曲线的两侧拐点处所作切线与峰底或基线相交两点间的距离; $W_{1/2}$ 为半峰宽,是指在峰高中点处作平行于峰底的直线,与色谱峰两侧交点间的距离。

H 的计算公式为^[6]:

$$H = L/N \quad (2)$$

式中: L 是指色谱柱的长度。

由此可见,色谱峰变窄,塔板高度减小,色谱柱柱效将增加。 N 和 H 是描述色谱柱柱效性能的主要指标。

(上接第197页)

产品中的杂质(如可溶性纤维素)经降解也会产生小分子还原糖,使测定结果偏高。凝胶渗透色谱法以 10^4 分子质量的葡聚糖为标准,可快速、便捷地直接测得多糖质量分数为75.24%,但难以鉴定分离组别。

参考文献

[1] 鹿保鑫,杨健,刘婷婷. 亚麻胶提取工艺的研究[J]. 黑龙江农业科学,2007,(3):95-97.

组分分离程度—分离度的计算式为^[7]:

$$R = [2(t_{\text{R}2} - t_{\text{R}1})]/(Y_1 + Y_2) \quad (3)$$

式中: Y_1 、 Y_2 为色谱峰的峰底宽。

R 值的大小可以定量地反映组分间的分离程度。当色谱峰形不对称或相邻2峰间稍有重叠时,较难测量峰底宽,可用半峰宽来代替,此时分离度 R 可表示为:

$$R = [1.18(t_{\text{R}2} - t_{\text{R}1})]/(Y_{1/2(1)} + Y_{1/2(2)}) \quad (4)$$

式中: $Y_{1/2(1)}$ 、 $Y_{1/2(2)}$ 为色谱峰半峰高时的峰宽。

2.2 速率理论^[8]

在色谱柱和试样一定,最佳流速下,柱效最高, $H-u$ 的关系式为:

$$H = A + B/u + Cu \quad (5)$$

式中: H 为塔板高度; u 为载气线速度; A 、 B 、 C 为3个常数,其中 A 为涡流扩散项, B 为分子扩散系数, C 为传质阻力系数。式(5)即为范第姆特方程的简化式。根据式(5),用在不同流速下测得的塔板高度 H 对流速 u 作图,得 $H-u$ 曲线,如图2所示。在 $H-u$ 曲线的最低点,理论塔板高度 H 最小,此时色谱柱的柱效最高,该点所对应的流速即为最佳流速 $u_{\text{最佳}}$, $H_{\text{最小}}$ 及 $u_{\text{最佳}}$ 可由式(5)微分求得,即:

$$dH/du = -B/u^2 + C = 0, u_{\text{最佳}} = \sqrt{B/C} \quad (6)$$

将式(6)代入式(5)中得:

$$H_{\text{最小}} = A + 2\sqrt{BC} \quad (7)$$

在实际工作中,在不明显影响色谱柱柱效的前提下尽量缩短分析时间,往往使流速稍高于最佳流速。

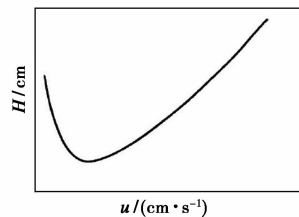


图2 塔板高度与载气线速度的关系曲线

[2] 王惠芳,尉蕊仙. 亚麻籽中提取亚麻胶的工艺探讨[J]. 西部粮油科技,2002,27(5):23-24.

[3] Qian K Y, Cui S W, Wu Y, et al. Flaxseed gum from flaxseed hulls: Extraction, fractionation, and characterization [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 28(2): 275-283.

[4] 韩振泰,赵玉娟,刘惠文,等. 高效液相色谱法测定灵芝多糖含量[J]. 中国农业科技导报,2009,11(1):65-67.

[5] 黄群,麻成金,马美湖,等. 超声波辅助提取鹌鹑蛋黄卵磷脂研究[J]. 食品科学,2007,27(11):297-300.

[6] 张泽生,张兰,徐慧,等. 亚麻粕中亚麻胶提取与纯化[J]. 食品研究与开发,2010,31(9):234-237. ■