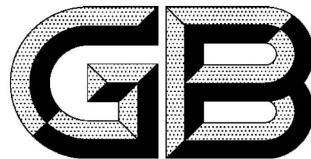


ICS 07.080  
CCS A 40



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 40173—2021

## 水溶性壳聚糖中还原性端基糖的测定 分光光度法

Determination of reducing-end sugar in water-soluble chitosan—  
Spectrophotometric method

2021-05-21 发布

2021-12-01 实施

国家市场监督管理总局  
国家标准化管理委员会 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。

本文件由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)提出并归口。

本文件起草单位：青岛科技大学、中国测试技术研究院生物研究所、青岛市计量技术研究院、武汉新华扬生物股份有限公司、正大投资股份有限公司青岛分公司、青岛蔚蓝生物集团有限公司、深圳市市场监督管理局许可审查中心。

本文件主要起草人：张永勤、吕兴霜、李怀平、李剑、伍发兴、徐丽、王斐、邵静、张凤国、詹志春、马丽侠、毕毅奋、周樱、夏春、蒋子敬、许文廷、张菁、邢明霞、王家林、李玉奎。



# 水溶性壳聚糖中还原性端基糖的测定 分光光度法

## 1 范围

本文件规定了水溶性壳聚糖中还原性端基糖的分光光度测定方法。

本文件适用于水溶性壳聚糖(含量 $\geq 90\%$ ,脱乙酰度 $\geq 90\%$ )中还原性端基糖的检测。

本方法检出限为 0.006 mmol/g, 定量限为 0.023 mmol/g。

## 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

## 3 术语和定义

### 3.1

#### 壳聚糖 chitosan

甲壳素脱乙酰基后得到的衍生物,不溶于水,溶于大多数稀酸,化学名称为  $\beta$ -1,4-2-氨基-2-脱氧-D-葡聚糖。

### 3.2

#### 脱乙酰度 degree of deacetylation

壳聚糖分子中脱除乙酰基的糖残基数占壳聚糖分子中总的糖残基数的百分数。

### 3.3

#### 水溶性壳聚糖 water-soluble chitosan

可溶于酸性、中性和碱性溶液的低聚合度壳聚糖。

## 4 原理

壳聚糖分子末端的还原性端基糖在碱性条件下与 3-甲基-2-苯并噻唑酮腙(MBTH)反应生成吖嗪,酸性条件下过量的 MBTH 被  $\text{Fe}^{3+}$  氧化成阳离子,再与吖嗪反应生成青蓝色化合物,还原端基糖的浓度在一定范围内与其在 590 nm 处的吸光度呈正比例线性关系。通过测定在 590 nm 处的吸光度值,外标法定量。

## 5 试剂与材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯。水为符合 GB/T 6682 规定的三级水。

5.1 3-甲基-2-苯并噻唑酮腙盐酸盐一水合物(MBTH,  $\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_3\text{S} \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ): CAS 号: 38894-11-0,

纯度 $\geqslant 98\%$ 。

5.2 DL-二硫苏糖醇[DTT, HSCH<sub>2</sub>CH(OH)CH(OH)CH<sub>2</sub>SH]: CAS号: 3483-12-3, 纯度 $\geqslant 98\%$ 。

5.3 盐酸氨基葡萄糖标准品(C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub> · HCl): CAS号: 66-84-2, 纯度 $\geqslant 99\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.4 浓盐酸。

5.5 氢氧化钠溶液(0.5 mol/L): 称取2 g氢氧化钠, 加水溶解, 用水稀释并定容至100 mL, 混匀。

5.6 MBTH溶液: 称取0.3 g MBTH, 加水溶解, 用水稀释并定容至100 mL, 混匀, 于4 °C避光贮存, 有效期10天。

5.7 DTT溶液: 称取0.080 g DTT, 加水溶解, 用水稀释并定容至100 mL, 混匀, 于4 °C避光贮存, 有效期10天。

5.8 MBTH试剂: 将MBTH溶液(5.6)和DTT溶液(5.7)等体积混合, 即得MBTH试剂。临用新配。

5.9 硫酸铁铵试剂: 称取5 g硫酸铁铵[NH<sub>4</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>O]和5 g氨基磺酸, 加入41.8 mL浓盐酸, 待充分溶解至澄清, 用水稀释并定容至1 000 mL, 混匀, 于4 °C避光保存, 有效期1个月。

5.10 盐酸氨基葡萄糖标准溶液(0.1 mg/mL): 称取0.1 g盐酸氨基葡萄糖(精确至0.000 1 g), 加水溶解, 用水稀释并定容至100 mL, 混匀, (浓度为1 mg/mL); 准确吸取上述溶液10 mL, 用水稀释定容至100 mL, 混匀, 临用新配。

## 6 仪器设备

6.1 分析天平: 感量为0.01 g和0.000 1 g。

6.2 恒温振荡水浴锅: 温控精度 $\pm 0.2$  °C。

6.3 涡旋振荡器。

6.4 分光光度计: 配1 cm比色皿。

## 7 试样溶液的制备

### 7.1 试样制备

准确称取试样约0.1 g(精确至0.000 1 g), 加水约50 mL, 涡旋混匀使其溶解, 加水定容至100 mL, 静置, 取上清液作为试样溶液。

### 7.2 标准工作溶液的配制

取0.1 mg/mL盐酸氨基葡萄糖标准溶液0 mL、1 mL、3 mL、5 mL、7 mL、9 mL, 分别用水定容至10 mL, 配成浓度为0 mg/mL、0.01 mg/mL、0.03 mg/mL、0.05 mg/mL、0.07 mg/mL、0.09 mg/mL的标准工作溶液。

## 8 测定步骤

### 8.1 标准曲线的制作

分别移取盐酸氨基葡萄糖标准工作溶液500 μL, 各加入500 μL 0.5 mol/L氢氧化钠溶液和500 μL MBTH试剂于比色管中, 混匀, 于80 °C水浴13 min, 趁热迅速加入1 000 μL硫酸铁铵试剂, 混匀, 放置显色1 h。以水调节零点, 于波长590 nm处测定吸光度值。以盐酸氨基葡萄糖的质量浓度为横坐标, 标准工作溶液吸光度值与质量浓度为零的空白管的吸光度的差值为纵坐标绘制标准曲线。

## 8.2 试样溶液的测定

移取试样溶液 500  $\mu\text{L}$ , 加入 500  $\mu\text{L}$  0.5 mol/L 氢氧化钠溶液和 500  $\mu\text{L}$  MBTH 试剂于试管中, 混匀, 于 80  $^{\circ}\text{C}$  水浴 13 min, 趁热迅速加入 1 000  $\mu\text{L}$  硫酸铁铵试剂, 混匀, 放置显色 1 h。以水调节零点, 于波长 590 nm 处测定吸光度值。将待测样吸光度值与质量浓度为零的空白管的吸光度值差值代入标准曲线, 计算试样中还原端基糖的含量。

9 结果计算与表示

## 9.1 结果计算

试样中还原端基糖含量按式(1)计算。

式中：

$X$  ——试样中还原端基糖的含量,单位为毫摩尔每克( $\text{mmol/g}$ );

$A_F$  — 待测样的吸光度值;

$A_B$  — 空白管的吸光度值;

$C_0$  ——标准曲线的截距：

*k* ——标准曲线的斜率,单位为毫升每毫克(mL/mg);

*m* ——水溶性壳聚糖的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

$M$  ——盐酸氨基葡萄糖的分子质量, 215.63 g/mol。

92 结果表示

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留三位有效数字。

10 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得超过算术平均值的 10%。

中华人民共和国  
国家标 准  
**水溶性壳聚糖中还原性端基糖的测定**  
**分光光度法**

GB/T 40173—2021

\*

中国标准出版社出版发行  
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)  
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址:www.spc.org.cn

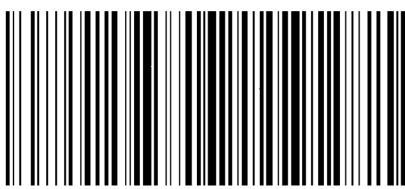
服务热线:400-168-0010

2021年5月第一版

\*

书号:155066·1-67376

版权专有 侵权必究



GB/T 40173-2021



码上扫一扫 正版服务到