

doi: 10.11823/j.issn.1674-5795.2017.05.03

浊度法测定葡聚糖溶液浓度的改进

赵虹¹, 于铭茹², 张川¹

(1. 国家海洋标准计量中心, 天津 300112; 2. 国家海洋局北海海洋工程勘察研究院, 山东 青岛 266061)

摘 要: 浊度法作为快速定量检测葡聚糖的一种简便方法已经应用于膜性能评价检测领域。对葡聚糖溶液和乙醇的反应机理进行分析, 提出了反应进程是影响最终溶液体系浊度值稳定性的重要因素的推论。通过改进实验条件, 提高了葡聚糖溶液浓度测定值的准确度, 解决了检测时无法建立工作曲线和重复性差的问题。针对 20 K, 100 K, 200 K 的葡聚糖得到线性范围 100 ~ 1000 mg/L, 检出限结果为 0.007 ~ 0.093 mg/L, 加标回收率 80% ~ 95%, 精密度 2.5% 的满意结果。

关键词: 葡聚糖; 浊度; 混合速率

中图分类号: TB9; O652.61

文献标识码: A

文章编号: 1674-5795(2017)05-0012-04

Improvement of the Turbidimetric Method for Determination of Dextran Solution Concentration

ZHAO Hong¹, YU Mingru², ZHANG Chuan¹

(1. National Center of Ocean Standard and Metrology, Tianjin 300112, China;

2. North China Sea Marine Engineering Survey and Research Academy, SOA, Qingdao 266061, China)

Abstract: The turbidimetric method is a kind of simple and convenient way of rapid quantitative detection of dextran, which has been applied to membrane performance evaluation and testing. This work was based on the reaction mechanism of dextran solution and ethanol, and proposed that the reaction process is an important factor that affects the stability of the turbidity value of the final solution system. By improving the experiment condition, the accuracy of the dextran solution concentration was raised, and the problem that working curve and repeatability cannot be set up in testing was solved. Satisfactory results were achieved for linear range 100 ~ 1000 mg/L, detection limit 0.007 ~ 0.093 mg/L, and standard recovery (80% ~ 95%) of dextran (20 K/100 K/200 K).

Key words: dextran; turbidity; mixing rate

0 引言

葡聚糖是一种分子量分布范围极广(标称分子量: 10,000 ~ 2500,000)的链状水溶性高分子基准物质, 常作为截留目标物用于表征超滤膜截留性能^[1], 因此, 在膜性能检测行业中使用简单快捷的方法来测量葡聚糖浓度是十分必要的^[2]。国内外文献曾报道过测定溶液中葡聚糖含量的方法有凝胶色谱法^[3]、旋光法^[4]、苯酚-硫酸法^[5]、浊度法^[6]等, 其中浊度法最为简便、安全, 值得被推广使用。戴海平等^[6]研究发现, 该方法是一种简单、快速测定超滤膜切割分子量的方法。也有研究表示^[7], 此方法中葡聚糖与乙醇反应产生的

浊度值不稳定、重复性差, 无法建立线性效果良好的标准曲线, 难以应用于葡聚糖溶液浓度的测试, 但是该研究没有进一步分析造成浊度值不稳定的原因和解决的办法。

本文致力于解决在检测中存在的上述问题, 同时, 考虑到已有相关文献中缺少对葡聚糖溶液与乙醇混合方式、速率的研究, 通过控制反应搅拌时间、改变液体混合速率, 对比了快速混合、慢速混合、直接混合三种混合方式对浊度值稳定性的影响, 并以此建立了稳定、可靠的葡聚糖测定方法。通过评价方法的检出限、加标回收率等途径对方法的准确性进行了考察, 确认了实验条件的改进, 有助于葡聚糖浓度的测定过程。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

高精度浊度计(型号: 2100AN); 磁力搅拌器; 超

收稿日期: 2017-07-27

基金项目: 海洋公益性科研专项(201105025)

作者简介: 赵虹(1989-), 女, 天津人, 硕士, 主要从事分离膜性能检测方法研究。

纯水机(型号:UPH-I-40);葡聚糖(标称分子量:20 K,100 K,200 K),进口分装;乙醇(分析纯)。

1.2 实验步骤

将乙醇加入预先配制好的葡聚糖溶液,葡聚糖溶液与乙醇体积比为1:1,采取慢速滴加与搅拌相结合的混合方式让两者充分反应,混合完成后将混合液静置。待反应进行30 min,将浑浊液转移至玻璃样品瓶并置于浊度计样品槽中,在仪器工作条件下测定每份样品的浊度值。

2 结果与讨论

浊度法测定葡聚糖溶液浓度的原理源自葡聚糖不溶于乙醇等有机溶剂的理化性质,而乙醇与水易迅速混溶成为均匀相,葡聚糖在含有乙醇的均匀相中溶解性下降而析出,可用浊度计或分光光度计测定其溶液的浊度值,由于溶液的浊度值与葡聚糖含量具有线性相关关系,因此,可进行葡聚糖的定量检测。浊度法作为一种快速检测方法,相关试剂一旦接触,上述沉淀平衡立即打破,葡聚糖快速析出。因此,反应能否完全进行关键取决于两种液体的接触方式。在液(水和乙醇的混合液)、固(葡聚糖)两相之间的非均相化学反应中,通过搅拌可使反应完全进行,使不相溶的固体充分悬浮,以利于化学反应的顺利进行^[8]。基于以上分析,实验设计针对葡聚糖-乙醇反应时间、试剂混合速率及静置方式三个方面进行了条件摸索。并通过测定检出限和回收率对改进后方法的准确性及适用性进行了评价。

2.1 反应时间对浊度值的影响

选择浓度为100 mg/L的葡聚糖溶液,以葡聚糖溶液与乙醇体积比1:1加入乙醇,根据混合液浊度值在

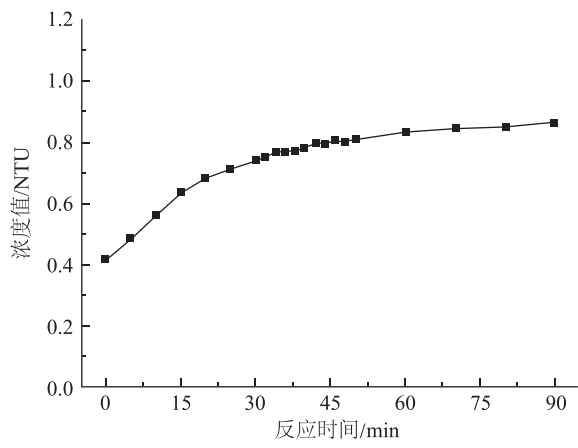


图1 反应时间与浊度值之间关系

90 min 内的变化情况,选取浊度值逐渐稳定对应的时间作为反应时间。如图1所示,在反应开始的前30 min内,溶液体系浊度值随反应进行急剧增加,反应时间达到30 min后,浊度值逐渐趋于平缓,体系逐渐稳定。折中考虑结果的稳定性及检测效率,最终选择30 min作为反应时间。

2.2 液体间混合速率对浊度值稳定性的影响

分别准备三份相同体积、浓度为100 mg/L的葡聚糖溶液:第一份放置于磁力搅拌器上边搅拌溶液边以5 mL/min的速率缓慢滴入等体积乙醇;第二份在上述同样条件下以20 mL/min的较快速率滴入等体积乙醇;第三份直接倒入等体积乙醇后摇匀。三份样品在反应后均静置30 min,再分别测定各自溶液的浊度值,每个样品在重复性条件下测量6次,并进行数据的离散程度分析。

通过对三份不同速率混合所得样品的测试,得到混合液的浊度值、平均值、实验标准偏差如表1所示。相比于样品3,样品1和2的标准偏差值较小,浊度值的离散程度小、重复性好,说明搅拌可以使反应更充分,进而促使混合液浊度值更加稳定。对比样品1和样品2,以较慢速率加入乙醇可以得到离散性更小的数据,说明液体混合速率快慢对于反应进行的程度和结果的稳定性也有一定的影响。因此,在后续试验中,采取边搅拌边慢速(5 mL/min)滴加乙醇的实验方法来控制两种液体的混合速率。

表1 乙醇和葡聚糖混合速率对浊度值的影响

混合速率	浊度值/NTU						平均值/NTU	相对标准偏差/%
	1	2	3	4	5	6		
样品1	0.772	0.786	0.802	0.811	0.838	0.790	0.80	2.5
样品2	0.525	0.430	0.770	0.522	0.546	0.445	0.54	22.2
样品3	1.210	0.859	0.798	0.756	0.625	0.532	0.80	28.8

2.3 静置方式对工作曲线线性关系的影响

准备两组相同的葡聚糖系列溶液,浓度范围在100~1000 mg/L,两组样品均以体积比1:1,边搅拌边慢速滴加乙醇的条件下得到混合液。在30 min的反应时间内,其中一组样品在加入乙醇后停止搅拌保持静置,另一组样品在加入乙醇后持续搅拌。待反应进行30 min时,分别测定两组混合液的浊度值,制作两条葡聚糖溶液浓度与浊度关系曲线。根据线性拟合后的相关性系数,判断搅拌时间的长短是否对浊度值的稳定性有影响。

两组对比实验建立的葡聚糖浓度与浊度关系曲线如图 2 所示, 曲线(a)中浓度与浊度值呈现出较好的线性关系, 相关性系数大于 0.99。曲线(b)中浓度和浊度值之间的整体线性关系较差, 仅在部分浓度范围内保持线性关系。对比两条标准曲线, 发现两种液体混合完成后仍然持续搅拌会影响浊度值的稳定性, 间接影响葡聚糖浓度与浊度之间的线性关系。因此, 在液体混合过程中短时的搅拌有利于葡聚糖溶液与乙醇反应进行的更完全, 得到的混合液更均匀、浊度值更稳定。

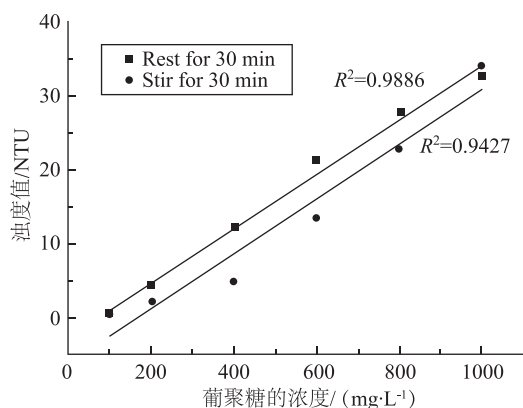


图 2 反应过程中静置或搅拌混合液对标准曲线的影响

2.4 检出限

准备标称分子量为 20 K, 100 K, 200 K 的葡聚糖系列溶液, 浓度范围为 100 ~ 1000 mg/L, 以改进后的混合方法与速率加入乙醇, 建立不同分子量葡聚糖溶液浓度与浊度的标准曲线。乙醇作为空白样, 重复测试 11 次, 计算实验标准偏差及检出限。

2.4.1 建立不同分子量葡聚糖浓度与浊度标准曲线

如图 3 所示, 三个葡聚糖溶液的拟合方程分别为: $Y = 0.037X - 2.48$; $Y = 0.334X - 27.23$; $Y = 0.467X - 22.27$ 。相关系数的平方均大于或接近 0.99, 间接说明

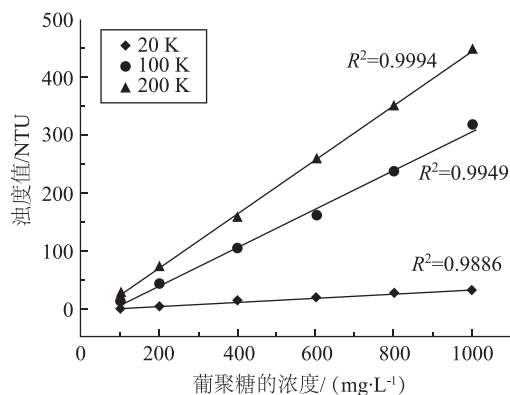


图 3 葡聚糖溶液浓度与浊度关系曲线

改进实验方法后浊度值趋于稳定、具有较好的重复性。因此, 在实验中可以通过控制液体混合速率和搅拌时间建立线性关系良好的葡聚糖浓度与浊度标准曲线。

2.4.2 计算方法的检出限

多次测定空白样的浊度值及实验标准偏差如表 2 所示, 利用 2.4.1 中所得葡聚糖溶液浓度与浊度标准曲线的斜率, 结合空白样的实验标准偏差, 通过公式 (1) 计算不同分子量葡聚糖标准曲线的检出限, 结果如表 3 所示。

$$D_L = k \cdot S_b / b \quad (1)$$

式中: D_L 为方法的检出限, mg/L; k 为置信因子, 一般取 2 或 3; S_b 为空白样测量结果的标准偏差; b 为拟合曲线的斜率。

表 2 空白样的浊度值及标准偏差 NTU

序号	浊度值	平均值	标准偏差
1	0.095		
2	0.095		
3	0.095		
4	0.097		
5	0.097		
6	0.095	0.095	0.001
7	0.096		
8	0.094		
9	0.094		
10	0.094		
11	0.094		

表 3 优化实验条件后测量方法的检出限

序号	分子量	标准曲线斜率	置信因子	检出限/(mg · L ⁻¹)
1	20 K	0.0367	3	0.093
2	100 K	0.3343	3	0.010
3	200 K	0.4669	3	0.007

通过上述实验数据, 可得出运用该分析方法检测不同分子量的葡聚糖溶液检出限为 0.007 ~ 0.093 mg/L。同时可观察到随葡聚糖分子量的增大, 标准曲线的斜率增加, 测量方法的检出限随之降低。

2.5 回收率

选取标称分子量为 20 K, 100 K, 200 K 的葡聚糖,

对三种分子量的葡聚糖分别配制成 2 份相同体积的未知浓度葡聚糖溶液(测量线性范围内), 其中一份利用改进后条件加入乙醇得到混合液, 测定浊度值; 另 x 一份溶液先加入 10 mg 纯物质混匀, 再利用改进后条件加入乙醇得到混合液, 测定浊度值。通过计算加标回收率来评价方法的可靠性。

加标回收率是实验室常用的确定准确度的方法之一。运用公式(2)计算出不同分子量葡聚糖溶液浓度与浊度标准曲线的加标回收率, 结果如表 4 所示。

加标回收率 = (加标试样测定值 - 试样测定值) ÷ 加标量 × 100% (2)

加标回收率测定结果(如表 4 所示)在 80% ~ 95%

表 4 优化实验条件后的回收率(n = 3)

葡聚糖分子量	未知样品		加标样品		加标回收量/mg	平均加标回收量/mg	加标回收量相对标准偏差/%	加标回收率/%
	浊度值/NTU	浓度值/(mg · L ⁻¹)	浊度值/NTU	浓度值/(mg · L ⁻¹)				
20 K	1.52	109.16	4.49	190.14	8.1	8.1	1.9	81%
	1.55	109.98	4.58	192.59	8.3			
	1.57	110.53	4.52	190.95	8.0			
100 K	31.7	176.28	58.9	257.65	8.1	8.1	0.7	81%
	31.7	176.28	59.0	257.95	8.2			
	31.7	176.28	58.8	257.35	8.1			
200 K	58.9	173.84	102	266.15	9.2	9.4	2.2	94%
	58.4	172.77	103	268.3	9.6			
	58.5	172.99	103	268.3	9.5			

范围内, 对于微量葡聚糖的定量分析应用, 可认为该方法准确可靠。

如表 5 所示, 通过对比几种葡聚糖含量检测方法的性能发现: 本工作所采用的浊度法检出限与色谱法相当或更低; 回收率苯酚 - 硫酸法最优, 其它两方法相当; 本方法精密度与色谱法相当, 优于苯酚 - 硫酸法。鉴于本方法在仪器设备复杂度及操作简便程度方面均优于其他两种方法, 结合上述方法性能的对比, 可见本方法在测定葡聚糖含量方面的优势。

表 5 不同葡聚糖含量检测方法的回收率比较

分析方法	检出限/(mg · L ⁻¹)	回收率/%	相对标准偏差/%	来源
色谱法	0.08	88.8 ~ 90.1	1.9 ~ 2.8	文献[9]
苯酚 - 硫酸法	\	98.68	4.4	文献[10]
浊度法	0.007 ~ 0.093	81 ~ 94	2.5	本工作

3 结论

本工作在前人工作的基础上, 进一步摸索了乙醇沉淀法检测葡聚糖的试验条件, 确定了搅拌和减慢葡聚糖溶液与乙醇的混合速率, 可促使反应更加充分, 产

生使反应体系的浊度测试结果更加稳定的效果。采用优化后的试验条件分别对分子量 20 K, 100 K, 200 K 的葡聚糖进行了测试, 并对方法的检出限和加标回收率分别进行了考察, 上述几种葡聚糖的检出限结果为 0.093, 0.010, 0.007 mg/L, 加标回收率分别为 81%, 81% 及 94%, 方法的误差为 2.5%。证明该方法可适用于水中痕量葡聚糖的检测, 应用于滤出液中葡聚糖含量的准确测定, 且方法准确可靠, 解决了浊度法在应用上存在重复性差的问题。由于该方法不需大型分析仪器, 所用试剂无毒无害且操作简便, 相较于其它方法更易于推广。

参 考 文 献

[1] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 32360-2015 超滤膜测试方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

[2] 鄢忠森, 瞿芳术, 梁恒, 等. 利用葡聚糖和蛋白质进行超滤膜切割分子量测试对比研究[J]. 膜科学与技术, 2015, 35(3): 44 - 50.

[3] Meisam Bakhshayeshi, Achyuta Teella, Hongyi Zhou, et al. Development of an optimized dextran retention test for large pore size hollow fiber ultrafiltration membranes [J]. Journal of Membrane Science, 2012; 32 - 38, 421 - 422.

(下转第 19 页)

响应观测点为平台几何中心, 载荷输入为各测力方向量程上限的 1.5 倍, 测力平台谐响应分析结果如下。

从测力平台几何中心 Y 方向(即气动升力主测量方向)的变形振幅随频率变化响应曲线上可以看出, 测力平台具有一个 Y 方向一阶谐振频率 360 Hz, 与前

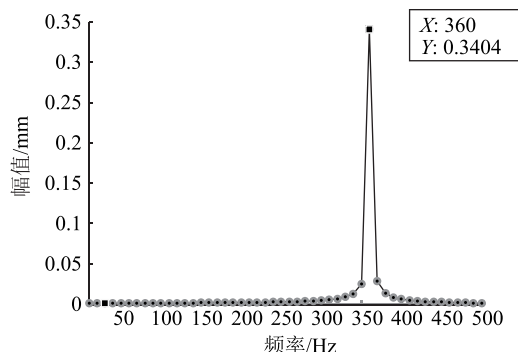


图5 幅值-频率响应曲线

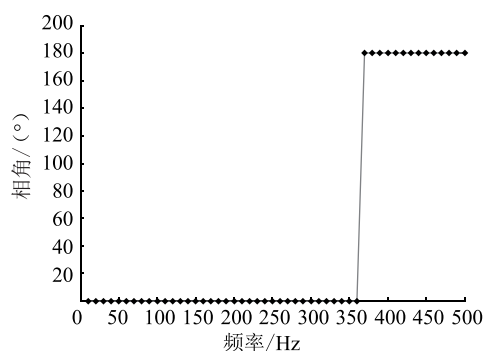


图6 相角-频率响应曲线

述模态分析结果一阶固有频率 360.79 Hz 一致。从图 5 和 6 可以看出, 测力平台在外界载荷频率在 360 Hz 发生共振, 振幅达到 0.34 mm, 相角为 180°, 在扑翼飞行器测试工作频率周围响应平稳, 振幅在 1.4 μm 左右。

4 结论

提出了一种新型组合式扑翼飞行器气动力测试方法, 并对响应测力平台的设计以及动态特性分析进行详尽的说明。ANSYS Workbench 有限元分析结果表明: 该测力平台固有频率远高于扑翼飞行器机翼周期性上下扑动频率, 不会引起结构共振; 同时, 谐响应分析结果表明: 在指定工作频率范围内, 系统响应平缓, 能够保证位移幅值在 1.4 μm 左右, 从而说明了测力平台结构设计的合理性和测量方法的可行性。

参考文献

- [1] Caetano J V, Visser C C D, Remes B D, et al. Controlled Flight Maneuvers of a Flapping Wing Micro Air Vehicle: a Step Towards the Del Fly II Identification [J]. AIAA Atmospheric Flight Mechanics Conference, 2013, 6(4): 52-59.
- [2] Mazaheri K, Ebrahimi A. Experimental Investigation of the Effect of Chordwise Flexibility on the Aerodynamics of Flapping Wings in Hovering Flight [J]. Journal of Fluids & Structures 2010, 26(4): 544-558.
- [3] 宗光华, 贾明, 毕树升. 扑翼式微型飞行器的升力测量与分析 [J]. 机械工程学报, 2005, 41(8): 120-124.

(上接第 15 页)

- [4] Rao A V, Mehta D J. Studies on ultrafiltration membranes. I. Development of cellulose nitrate membranes [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2010, 22(12): 3559-3577.
- [5] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. A colorimetric method for the determination of sugars [J]. Nature, 1951, 28(7): 167-168.
- [6] 戴海平, 张惠新, 梁福海, 等. 用葡聚糖测定超滤膜切割分子量的简易方法 [J]. 膜科学与技术, 2005, 25(4): 63-65.
- [7] 张晓慧, 罗嫣, 于小焱, 等. 乙醇沉淀法测定葡聚糖浓度

方法探讨 [J]. 广州化工, 2011, 39(20): 88-89.

- [8] 孟明扬. 液体搅拌对非均相化学反应的影响 [J]. 染料与染色, 1989(05): 47-49.
- [9] 林钦恒, 郑家概, 蔡大川, 等. 柱前衍生化 HPLC 法测定酵母细胞壁中的甘露聚糖与 β -葡聚糖 [J]. 分析测试学报, 2015, 34(01): 106-110.
- [10] 张潮, 陈友媛. 苯酚-硫酸法测定黄河口沉积物中的多糖 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2013, 43(12): 87-91.