

ICS 67.120.30  
CCS X 20

SC

# 中华人民共和国水产行业标准

SC/T 3064—2025

## 海藻及其制品中L-岩藻糖的测定 液相色谱法

Determination of L-fucose in seaweed and its products—Liquid chromatography

2025-01-09 发布

中华人民共和国农业农村部 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。

本文件由农业农村部渔业渔政管理局提出。

本文件由全国水产标准化技术委员会水产品加工分技术委员会(SAC/TC 156/SC 3)归口。

本文件起草单位：中国水产科学研究院黄海水产研究所、青岛明月海藻集团有限公司、青岛海之林生物科技有限公司、日照健安检测技术服务有限公司、山东海之宝海洋科技有限公司、山东省海洋资源与环境研究院。

本文件主要起草人：孙伟红、郭莹莹、孙占一、陈宏、王联珠、郭晓华、申培丽、刘晓勇、徐英江、刘兴勇、李文刚、朱文嘉、邢丽红、孙晓杰、冷凯良、苗钧魁、彭吉星。

本文件为首次发布。



# 海藻及其制品中 L-岩藻糖的测定 液相色谱法

## 1 范围

本文件描述了用液相色谱法测定海藻及其制品中 L-岩藻糖含量的原理、试剂和材料、仪器设备、样品的制备与保存、测定步骤、数据处理、方法灵敏度和精密度。

本文件适用于鲜海藻、盐渍海藻、干海藻及岩藻多糖中 L-岩藻糖含量的测定。

## 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

GB/T 30891—2014 水产品抽样规范

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 原理

试样中岩藻多糖在酸性条件下水解为 L-岩藻糖，经 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮衍生化，液相色谱-紫外检测器或二极管阵列检测器测定，外标法定量。

## 5 试剂和材料

除另有说明，所有试剂均为分析纯，试验用水应符合 GB/T 6682 一级水的规定。

### 5.1 试剂

5.1.1 甲醇(CH<sub>3</sub>OH)：色谱纯。

5.1.2 三氯甲烷(CHCl<sub>3</sub>)。

5.1.3 乙腈(CH<sub>3</sub>CN)：色谱纯。

5.1.4 硫酸(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)：含量 95%~98%。

5.1.5 氨水(NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)：含量 25%~28%。

5.1.6 磷酸二氢钾(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)。

5.1.7 氢氧化钠(NaOH)。

5.1.8 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O, PMP, CAS 号:89-25-8)：化学纯，纯度≥99.0%。

5.1.9 冰乙酸(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>)。

5.1.10 磷酸(H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)：含量≥85%。

### 5.2 标准品

5.2.1 L-岩藻糖标准品(C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>, CAS 号:2438-80-4)，纯度≥98.0%。

### 5.3 溶液配制

5.3.1 1 mol/L 硫酸溶液：移取硫酸 5.4 mL，缓缓注入适量水中，冷却至室温后用水定容至 100 mL，混匀。

5.3.2 0.1 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液：称取磷酸二氢钾 6.80 g，加入约 400 mL 水溶解，用氨水调节 pH

为 6.8~7.0,再用水定容至 500 mL,混匀。

5.3.3 1 mol/L 氢氧化钠溶液:称取氢氧化钠 4.00 g,用适量水溶解,冷却至室温后用水定容至 100 mL,混匀。

5.3.4 0.3 mol/L 氢氧化钠溶液:称取氢氧化钠 1.20 g,用适量水溶解,冷却至室温后用水定容至 100 mL,混匀。

5.3.5 0.5 mol/L PMP-甲醇溶液:称取 4.36 g PMP,用甲醇溶解并定容至 50 mL,现用现配。

5.3.6 0.3 mol/L 冰乙酸溶液:移取冰乙酸 1.7 mL,用水定容至 100 mL,混匀。

5.3.7 50 mmol/L 磷酸溶液:移取磷酸 333  $\mu$ L,用水定容至 100 mL,混匀。

5.3.8 50 mmol/L 磷酸二氢钾缓冲液:称取磷酸二氢钾 6.80 g,加入约 900 mL 水溶解,用氨水调节 pH 为 6.8~7.0,再用水定容至 1 L,过 0.45  $\mu$ m 滤膜,备用。

#### 5.4 标准溶液配制

5.4.1 L-岩藻糖标准储备液(1.0 mg/mL):称取 L-岩藻糖标准品约 10 mg(精确至 0.01 mg),用水溶解并定容于 10 mL 容量瓶中,4 $^{\circ}$ C 密封保存,有效期 15 d。

5.4.2 L-岩藻糖标准中间液(100  $\mu$ g/mL):准确量取 L-岩藻糖标准储备液(5.4.1)适量,用水稀释配制成浓度为 100  $\mu$ g/mL 的 L-岩藻糖标准中间液,现配现用。

#### 5.5 材料

5.5.1 具塞消化管:20 mL 螺旋盖玻璃试管,配置聚对苯二甲酸丁二醇酯(PBTP)耐压盖。

5.5.2 精密 pH 试纸:测量范围 4.5~9.0 和 0.0~6.0。

5.5.3 具塞试管:10 mL,聚丙烯材质。

5.5.4 针式滤器:水相,0.22  $\mu$ m。

### 6 仪器设备

6.1 液相色谱仪:配紫外检测器或二极管阵列检测器。

6.2 分析天平:感量分别为 0.01 g、0.1 mg 和 0.01 mg。

6.3 涡旋混合器。

6.4 电热恒温鼓风干燥箱。

6.5 离心机:转速不低于 4 000 r/min。

6.6 恒温水浴锅。

### 7 样品的制备与保存

#### 7.1 试样制备

湿基试样制备按 GB/T 30891—2014 附录 B 的规定执行;干制品试样粉碎后全部过 0.425 mm 孔径分析筛,充分混匀后装入洁净容器中密封备用。

#### 7.2 试样的保存

鲜海藻、盐渍海藻置于-18 $^{\circ}$ C 以下保存,干海藻和岩藻多糖试样置于常温干燥环境下保存。

### 8 测定步骤

#### 8.1 水解

##### 8.1.1 鲜海藻、盐渍海藻

称取试样 1 g~2 g(精确至 0.01 g)于 20 mL 具塞消化管中,加入 1 mol/L 硫酸溶液(5.3.1)5 mL,充分涡旋,充氮封管,置于电热恒温干燥箱中,110  $^{\circ}$ C 水解 2 h。取出消化管冷却至室温,将水解液全部转移至 50 mL 离心管中,用 0.1 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液(5.3.2)5 mL 分 2 次冲洗消化管,冲洗液合并于上

述 50 mL 离心管中。4 000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移至 25 mL 容量瓶中, 加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液(5.3.3) 8.0 mL~8.4 mL, 将 pH 调节至 4.5~9.0, 加 0.1 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液(5.3.2) 定容至刻度。上述水解液若不能及时衍生化应密封保存, 放置时间不应超过 24 h。

### 8.1.2 干海藻、岩藻多糖

称取干海藻试样 0.1 g(精确至 0.1 mg) 或岩藻多糖试样 0.02 g(精确至 0.1 mg) 于 20 mL 具塞消化管中, 加入 1 mol/L 硫酸溶液(5.3.1) 2 mL, 充分涡旋, 充氮封管, 置于电热恒温干燥箱中, 110 °C 水解 2 h。取出消化管冷却至室温, 将水解液全部转移至 50 mL 离心管中, 用 0.1 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液(5.3.2) 5 mL 分 2 次冲洗消化管, 洗液并于上述 50 mL 离心管中。4 000 r/min 离心 10 min, 将上清液转移到 25 mL 容量瓶中, 加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液(5.3.3) 3.7 mL~4.0 mL, 将 pH 调节至 4.5~9.0, 加 0.1 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液(5.3.2) 定容至刻度。上述水解液若不能及时衍生化应密封保存, 放置时间不应超过 24 h。

## 8.2 衍生化

8.2.1 准确移取 8.1 制备的水解液 1 mL 于具塞试管中, 准确加入 0.3 mol/L 氢氧化钠溶液(5.3.4) 1 mL、0.5 mol/L PMP-甲醇溶液(5.3.5) 1 mL, 涡旋混合 30 s, 置于恒温水浴锅中, 70 °C 反应 70 min。取出冷却至室温, 准确加入 0.3 mol/L 冰乙酸溶液(5.3.6) 1 mL、水 1 mL, 涡旋混匀。

8.2.2 准确移取上述试液 1 mL 于另一具塞试管中, 加入三氯甲烷(5.1.2) 2 mL, 涡旋混合 30 s, 静置分层, 吸弃下层三氯甲烷相, 按上述方法再用三氯甲烷重复萃取 2 次。准确移取上层水相 500  $\mu$ L, 准确加入 50 mmol/L 磷酸溶液(5.3.7) 500  $\mu$ L, 涡旋混匀, 此时 pH 应为 4.0~4.5, 用针式滤器过滤至进样小瓶中, 供液相色谱分析。

## 8.3 标准工作曲线制作

准确移取适量 1.0 mg/mL L-岩藻糖标准储备液(5.4.1) 或者 100  $\mu$ g/mL L-岩藻糖标准中间液(5.4.2), 用水配制成 L-岩藻糖浓度分别为 10  $\mu$ g/mL、20  $\mu$ g/mL、50  $\mu$ g/mL、100  $\mu$ g/mL、200  $\mu$ g/mL、500  $\mu$ g/mL 的系列标准工作液, 按照 8.2 的步骤进行衍生化, 供液相色谱测定。以 L-岩藻糖衍生物的峰面积为纵坐标, 相应的 L-岩藻糖浓度为横坐标绘制标准曲线。L-岩藻糖衍生物标准液相色谱图见附录 A 中的图 A.1。

## 8.4 测定

### 8.4.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- 色谱柱: C<sub>18</sub> 色谱柱, 250 mm×4.6 mm (i. d.), 5  $\mu$ m, 或性能相当者;
- 柱温: 40 °C;
- 流速: 1.0 mL/min;
- 进样量: 20  $\mu$ L;
- 检测波长: 250 nm;
- 流动相: A 为 50 mmol/L 磷酸二氢钾缓冲液(5.3.8), B 为乙腈; A:B = 65:35(体积比), 等度洗脱。

### 8.4.2 测定方法

#### 8.4.2.1 定性方法

按 8.4.1 列出的色谱条件进行液相色谱分析测定, 根据 L-岩藻糖衍生物色谱峰的保留时间定性。在相同测试条件下, 试样溶液中 L-岩藻糖衍生物的保留时间与标准品的保留时间偏差在  $\pm 2.5\%$  以内。

#### 8.4.2.2 定量方法

取试样溶液做多点校准, 以色谱峰面积定量, 按外标法计算, 标准溶液及试样溶液中 L-岩藻糖衍生物响应值均应在仪器检测的线性范围内, 超过线性范围应用水稀释后再进样分析。典型样品的液相色谱图见中图 A.2。

## 8.5 空白试验

除不称取试样外,采取完全相同的测定步骤进行检测。

## 9 数据处理

试样中 L-岩藻糖的含量按公式(1)计算。

$$X = \frac{C \times V \times f}{m \times 10^4} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 试样中 L-岩藻糖含量的数值,单位为克每百克(g/100g);
- C —— 试液中 L-岩藻糖浓度的数值,单位为微克每毫升( $\mu\text{g}/\text{mL}$ );
- V —— 定容体积的数值,单位为毫升(mL);
- f —— 稀释倍数;
- m —— 试样质量的数值,单位为克(g);
- $10^4$  —— 换算系数。

注:平行测定结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

## 10 方法灵敏度和精密度

### 10.1 灵敏度

鲜海藻、盐渍海藻中 L-岩藻糖的方法检出限为 0.025 0 g/100 g,方法定量限为 0.100 g/100 g;干海藻中 L-岩藻糖的方法检出限为 0.250 g/100 g,方法定量限为 1.00 g/100 g,岩藻多糖中 L-岩藻糖的方法检出限为 1.25 g/100 g,方法定量限为 5.00 g/100 g。

### 10.2 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

(资料性)  
L-岩藻糖衍生物液相色谱图

A.1 L-岩藻糖标准溶液的液相色谱图

L-岩藻糖标准溶液的液相色谱图(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 见图 A.1

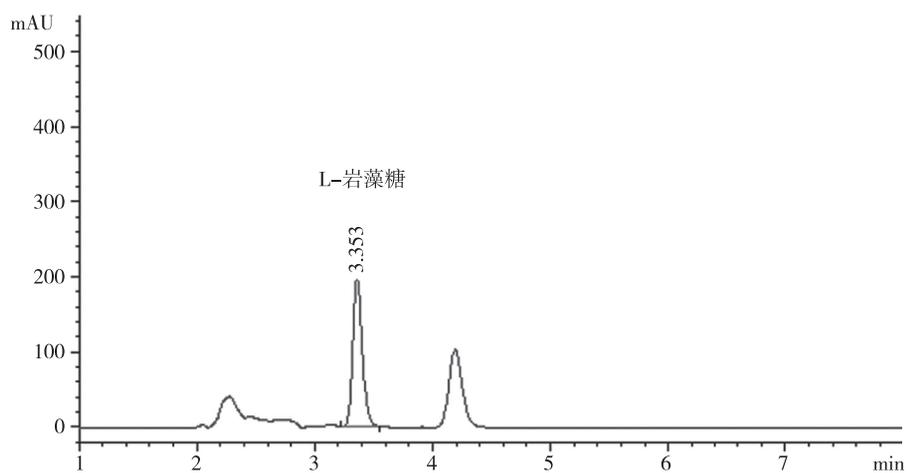


图 A.1 L-岩藻糖标准溶液的液相色谱图(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

A.2 典型样品的液相色谱图

典型样品的液相色谱图见图 A.2.

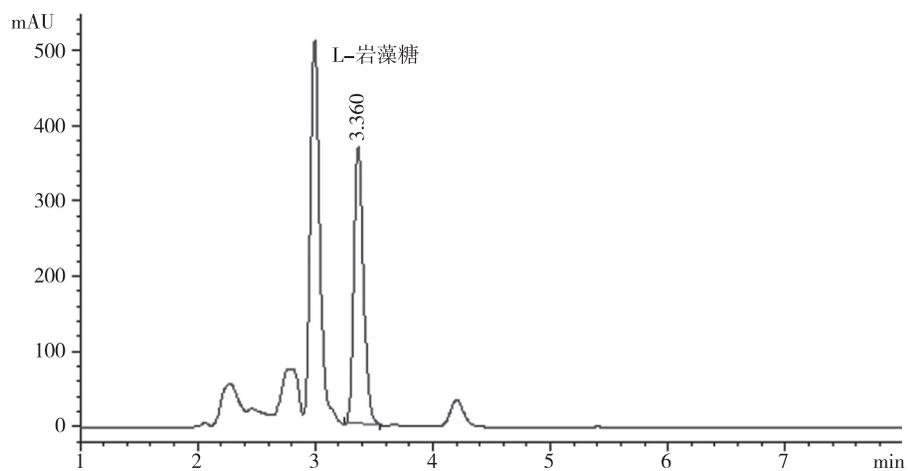


图 A.2 典型样品的液相色谱图