ICS XX.XX
CCS X XX

团　体　标　准

T/CAS XXXX—20XX

褐藻酸寡糖含量的测定

Determination of the content of alginic acid oligosaccharide

（征求意见稿）

内部讨论资料，严禁非授权使用

XXXX-XX-XX 发布　　XXXX-XX-XX 实施

中国标准化协会 发布

中国标准化协会（CAS）是组织开展国内、国际标准化活动的全国性社会团体。制定中国标准化协会标准（以下简称：中国标协标准），满足市场需要，增加标准的有效供给，是中国标准化协会的工作内容之一。中国境内的团体和个人，均可提出制、修订中国标协标准的建议并参与有关工作。

中国标协标准按《中国标准化协会标准管理办法》进行制定和管理。

中国标协标准草案经向社会公开征求意见，并得到参加审定会议的 75%以上的专家、成员的投票赞同，方可作为中国标协标准予以发布。

在本标准实施过程中，如发现需要修改或补充之处，请将意见和有关资料寄给中国标准化协会，以便修订时参考。

本标准版权为中国标准化协会所有，除了用于国家法律或事先得到中国标准化协会的许可外，不得以任何形式或任何手段复制、再版或使用本标准及其章节，包括电子版、影印件，或发布在互联网及内部网络等。

内部讨论资料，严禁非授权使用

中国标准化协会地址：北京市海淀区增光路 33 号中国标协写字楼
邮政编码：100048　电话：010-88416788　传真：010-68486206
网址：www.china-cas.org　　电子信箱：cas@china-cas.org

目　　次

前　　言 III
引　　言 IV
1 范围 1
2 规范性引用文件 1
3 术语和定义 1
4 原理 1
5 试剂及仪器 1
5.1 试剂 1
5.2 仪器 2
6 操作方法 2
6.1 转化 2
6.2 炭化 2
6.3 灰化 2
6.4 滴定 2
7 计算方法 2
8 精密度 2
9 原理 3
10 试剂及配制 3
10.1 试剂 3
10.2 试剂配制 3
11 仪器 3
12 分析步骤 3
12.1 试样制备 3
12.2 标准曲线的制定 4
12.3 试样的测定 4
12.4 计算结果 4
13 精密度 4

内部讨论资料，严禁非授权使用

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。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件为首次发布。

内部讨论资料，严禁非授权使用

引　　言

团体标准作为一种智力成果，受《中华人民共和国著作权法》保护。在团体标准的制、修订，实施和应用等多个环节中涉及到版权，社会团体需要规范化开展版权管理工作，社会各界需要提升尊重团体标准版权的意识。考虑到团体标准的公益属性和发展现状、社会团体的标准化基础及版权管理的复杂性等因素，在《中华人民共和国著作权法》《中华人民共和国标准化法》和《团体标准管理规定》等现行法律法规和规范性文件指导下，针对团体标准的版权归属、版权管理、版权保护等方面内容，特制定本文件，为指导社会团体科学开展团体标准版权管理相关工作、提升团体标准知识产权保护意识、促进团体标准的实施和应用提供指导提供支撑，同时，完善团体标准管理的基础规则。

内部讨论资料，严禁非授权使用

褐藻酸寡糖含量的测定

1 范围

本文件规定了褐藻酸寡糖含量的测定方法。

本文件适用于以褐藻酸盐为原料，经加工制成的寡糖产品中褐藻酸寡糖含量的测定。

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

3 术语和定义

3.1 褐藻酸寡糖

由 β-D-甘露糖醛酸（Mannuronic acid）和 α-L-古罗糖醛酸（Guluronic acid），通过 1 → 4 糖苷键连接成的聚合度主要为 2-10 的寡糖。

3.2 褐藻酸寡糖的含量

褐藻酸寡糖占寡糖产品的质量百分比。

内部讨论资料，严禁非授权使用

第一法 羧基转化滴定法

4 原理

褐藻酸寡糖分子中单糖残基为 C6 位含有羧基（C_6-OOR）的甘露糖醛酸和古罗糖醛酸，一般情况下 R 为 Na 和/或 H。将褐藻酸寡糖用氢氧化钠溶液转化为钠盐后，进行灰化可使单糖残基上的羧酸钠转化成碳酸盐，用盐酸标准溶液进行滴定，通过消耗的盐酸摩尔数可计算褐藻酸寡糖的含量。

5 试剂及仪器

5.1 试剂

5.1.1 氢氧化钠（NaoH）：分析纯。

5.1.2 盐酸标准溶液（HCl，0.01 mol/L）：分析纯。

5.1.3 甲基橙指示剂（$C_{14}H_{14}N_3SO_3Na$）：分析纯。

5.1.4 纯水：符合 GB/T6682 规定的二级水。

5.2 仪器

5.2.1 真空干燥箱。

5.2.2 分析天平：感量 0.0001 g。

5.2.3 pH 计。

5.2.4 电子调温万用电炉。

5.2.5 高温炉。

6 操作方法

6.1 转化

称取恒重后的褐藻酸寡糖样品 500 mg（精确至 1 mg）（m1）于坩埚中，用20 mL 纯水溶解后，使用 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液将样品溶液 pH 调至 10。待溶液 pH 稳定后，再使用 0.2 mol/L 盐酸溶液将样品溶液 pH 调至 8.0。

6.2 炭化

待 6.1 步骤中溶液 pH 稳定至 8.0 后，置电子调温万用电炉上缓慢加热蒸干（需避免温度过高和溶液喷溅），炭化，得到黑色炭化物。

6.3 灰化

将含有炭化物的坩埚转入高温炉中，在 650 ℃±25 ℃下灰化 4 小时。灰化结束后冷却至室温，将灰化物用煮沸冷却至室温的纯水溶解，定容至 1000 mL 。

6.4 滴定

准确量取 50.0 mL 灰化物溶液于250 mL 三角瓶中，加入甲基橙溶液 5-6 滴，用 0.01 mol/L（c1）盐酸标准溶液滴定到溶液由黄色突变为橙色(滴定至溶液 pH 为 4.0)，记录消耗盐酸标准溶液的毫升数为V。

7 计算方法

褐藻酸寡糖的含量按式（1）进行计算

$$褐藻酸寡糖含量（\%）= \frac{c1\times V\times 198\times 1000}{m1\times 50}\times 100\% \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots（1）$$

式中：

c1 —— 盐酸标准溶液浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

V ——盐酸标准溶液滴定消耗体积，单位为毫升（mL）；

m1——待测样品取样量，单位为毫克（mg）；

1000 ——灰化物定容体积，单位为毫升（mL）；

50——灰化物定容液分析取样体积，单位为毫升（mL）；

198 ——褐藻酸寡糖钠单糖残基的平均相对分子质量，单位为克每摩尔（g/mol）

8 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应超过算术平均值的 5%。

第二法 分光光度法

内部讨论资料，严禁非授权使用

9 原理

褐藻酸寡糖在浓硫酸作用下加热水解脱羧，生成糠醛或糠醛衍生物，可与咔唑发生缩合反应生成紫红色化合物。该类化合物在 530 nm 左右有最大吸收，在一定范围内，吸光度值与糖醛酸浓度呈线性关系。

10 试剂及配制

10.1 试剂

10.1.1 浓硫酸（H_2SO_4）：优级纯。

10.1.2 十水合四硼酸钠（硼砂. $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$）：分析纯。

10.1.3 咔唑($C_{12}H_9N$)：分析纯。

10.1.4 褐藻酸钠对照品（Sodium Alginate）：≥98%。

10.1.5 纯水：符合 GB/T 6682 规定的二级水。

10.1.6 无水乙醇（C_2H_6O）：分析纯。

10.2 试剂配制

10.2.1 褐藻酸钠对照品溶液（0.1 mg/mL）：精密称取烘干至恒重的褐藻酸钠对照品 50 mg（精确到 0.1 mg），用适量纯水溶解，充分溶胀至溶液澄清透亮，定容至 500 mL，即得。

10.2.2 硫酸-硼砂溶液：称取硼砂 3.6 g，加入纯水 40 mL，浓硫酸 36 mL，硼砂溶解后避光静置过夜。

10.2.3 咔唑溶液：称取 0.25 g 咔唑，加入无水乙醇溶解，定容至 250 mL。

11 仪器

11.1 紫外分光光度计。

11.2 分析天平：感量 0.0001 g。

11.3 漩涡混合振荡器。

11.4 恒温干燥箱。

12 分析步骤

12.1 试样制备

待测样品配制（0.06 mg/mL）：精密称取 60 mg（精确到 0. 1 mg）(m2)烘干至恒重的待测样品，纯水定容至 1000 mL，即得。

12. 2 标准曲线的制定

分别精密吸取褐藻酸钠对照品溶液 0 mL，0.05 mL，0.1 mL，0.2 mL，0.3 mL，0.4 mL，0.5 mL 置具塞试管中，用纯水补至 0.5 mL。分别加入硫酸-硼砂试剂（10.2.2）3 mL，振荡均匀后于沸水浴

内部讨论资料，严禁非授权使用

中加热反应 10 min，快速冷却至室温。加入咔唑试剂（10.2.3）0.1 mL，振荡均匀后于沸水浴中反应 10 min，快速冷却至室温。以纯水为空白对照，530 nm 下测吸光度值。以褐藻酸钠对照品浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标绘制标准曲线。

12.3 试样的测定

移取0.5 mL待测样液，分别加入硫酸-硼砂试剂（10.2.2）3 mL，振荡均匀后于沸水浴中反应10 min，快速冷却至室温。加入咔唑试剂（10.2.3）0.1 mL，振荡均匀后于沸水浴中反应10 min，快速冷却至室温。以纯水为空白对照，530 nm下测吸光度值，按照上述标准曲线测定方法进行测定，并根据标准曲线计算含量。

12.4 结果计算

以褐藻酸钠对照品溶液的浓度对其相应的吸光度值作直线回归（相关系数应不低于0.99），由直线回归方程计算待测样品的浓度（c2），再按公式（2）计算待测样品中褐藻酸寡糖含量。

褐藻酸寡糖含量（%）$=\frac{C2\times1000}{m2}\times100\%$.....（2）

式中：

c2 ——根据线性回归方程计算得到的待测样品浓度，单位mg/mL；

m2 ——称取待测样品的质量，单位 mg；

1000——稀释倍数

13 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应超过算术平均值的 5%。

内部讨论资料，严禁非授权使用

参考文献

[1] 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》 。
[2] 《中国药典》2020 版。

内部讨论资料，严禁非授权使用

ICS XX.XXX
CCS X XX
关键词：中国标准化协会、模板