

ICS 67.180.20
X 60

QB

中华人民共和国轻工行业标准

QB/T 5503—××××

壳寡糖

Chitooligosaccharides

(报批稿)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

中华人民共和国工业和信息化部 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国食品发酵标准化中心归口。

本标准起草单位：惠州长龙生物技术有限公司、山东卫康生物医药科技有限公司、青岛弘海生物技术有限公司、青岛博智汇力生物技术有限公司、大连中科格莱克生物科技有限公司、中国食品发酵工业研究院有限公司、中国科学院海洋研究所、华东理工大学、中科荣信（苏州）生物科技有限公司、山东绿健生物技术有限公司、上海诺鼎实业有限公司、梁山菱花生物科技有限公司、青岛琅琊台集团股份有限公司、山东莱州市海力生物制品有限公司、中国海洋大学、上海长欧生物科技有限公司。

本标准主要起草人：杜昱光、李鹏程、刘万顺、武竹英、赵黎明、陈列欢、拓亚琴、王宗继、高红波、彭睿、张斌、郭新光、李克成、邢荣娥、李进国、孙明、马金玲、王丽丽、刘明、赵峡、张标、景文利、杨玉岭、焦思明、李悦明、姜明庆、张晓霞、满德恩、夏秀梅、秦臻、吴彪、刘松。

本标准首次发布。

壳寡糖

1 范围

本标准规定了壳寡糖的术语和定义、平均相对分子质量和结构简式、产品分类、要求、试验方法、检验规则、标志、包装、运输和贮存。

本标准适用于以壳聚糖为原料，经过降解、分离、干燥等工艺制成的壳寡糖产品的生产、检验和销售。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 191 包装储运图示标志
- GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备
- GB/T 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备
- GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备
- GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定
- GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验沙门氏菌检验
- GB 4789.10-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验金黄色葡萄球菌检验
- GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定
- GB 5009.11 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定
- GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定
- GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法
- GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则
- GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则
- GB 29941-2013 食品安全国家标准 食品添加剂 脱乙酰甲壳素（壳聚糖）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

壳寡糖 chitooligosaccharides

壳低聚糖

低聚壳聚糖

由氨基葡萄糖和（或）*N*-乙酰氨基葡萄糖经 β -（1,4）糖苷键连接而成的聚合度不高于20的低聚糖及其盐。

注：食品工业用壳寡糖聚合度为2~10。

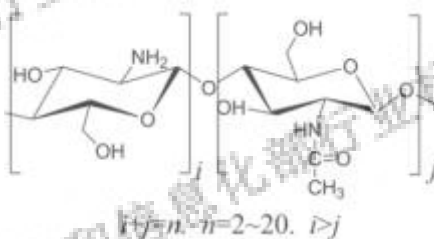
4 平均相对分子质量和结构简式

4.1 平均相对分子质量

食品工业用壳寡糖为 340~1610；其他工业用壳寡糖为 340~3500（按 2018 年国际原子量表）。

注：壳寡糖平均相对分子质量测定方法参见附录 A。

4.2 结构简式



5 产品分类

按应用领域分为食品工业用壳寡糖和其他工业用壳寡糖。

注：食品工业用壳寡糖应符合国家相关规定。

6 要求

6.1 感官要求

应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	要 求
色 泽	白色至黄褐色
状 态	粉末
杂 质	无正常视力可见外来杂质

6.2 理化指标

应符合表2的规定。

表2 理化指标

项 目	指 标	
	食品工业用壳寡糖	其他工业用壳寡糖
水分/(g/100g)	≤	10.0
单糖含量(以氨基葡萄糖、N-乙酰氨基葡萄糖加和计)/(g/100g)	≤	2.0
可转化氨基葡萄糖含量 ^a (以氨基葡萄糖计,以干基计)/(g/100g)	≥	60
壳寡糖含量(以对应盐计,以干基计)/(g/100g)	≥	80
总灰分/(g/100g)	≤	1.0
水不溶物/(g/100g)	≤	0.5
pH(1%水溶液)		5.0~7.0
		4.0~7.5

^a 壳寡糖经浓酸水解产生的氨基葡萄糖残基的量。

6.3 污染物限量

食品工业用壳寡糖应符合GB 29941-2013中无机砷和铅的相关规定。

6.4 微生物限量

食品工业用壳寡糖应符合表3的规定。

表3 食品工业用壳寡糖微生物限量

项 目	指 标
菌落总数/(CFU/g)	≤ 1000
金黄色葡萄球菌/(CFU/g)	< 10
沙门氏菌/25 g	不得检出

7 试验方法

7.1 基本要求

本方法中所用的水,在未注明其他要求时,应符合GB/T 6682-2008中水的规格,所用试剂,在未注明其他规格时,均指分析纯(AR)。分析中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品,在没有注明其它要求时,均按GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603的规定制备。

7.2 感官

取适量样品,倒在白瓷盘上,在自然光线下,用肉眼观察样品的色泽,状态,有无杂质。

7.3 水分

7.3.1 分析步骤

用干燥至恒重的称量瓶称取壳寡糖试样1g(精确到1mg),放入真空干燥箱内,同时在干燥箱中放置足量的P₂O₅,干燥过程中如果内置的P₂O₅已经吸潮,需要更换新的干燥的P₂O₅。在压力40kPa~53kPa,温度60±2℃下连续干燥4h,得到干燥试样。

7.3.2 计算

试样中水分的含量按式(1)进行计算:

$$w_0 = \frac{m_1 - m_2}{m_0} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

式中:

w_0 ——试样中水分中的含量,单位为克每百克(g/100g);

m_1 ——称量瓶和试样的质量,单位为克(g);

m_2 ——称量瓶和试样干燥后的质量,单位为克(g);

m_0 ——试样的质量,单位为克(g)。

7.3.3 允许差

试验结果以平行测定结果的算术平均值为准。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5%。

7.4 单糖含量

7.4.1 原理

根据氨基葡萄糖盐酸盐和 *N*-乙酰氨基葡萄糖在流动相和固定相之间具有不同的分配系数，将壳寡糖用水溶解过滤后注入液相色谱，经氨基柱进行色谱分离，蒸发光散射检测器检测，以保留时间定性，外标法定量测定。

7.4.2 试剂和溶液

7.4.2.1 氨基葡萄糖盐酸盐（ $\geq 99\%$ ）。

7.4.2.2 *N*-乙酰氨基葡萄糖（ $\geq 99\%$ ）。

7.4.2.3 乙腈：色谱纯。

7.4.3 仪器和设备

7.4.3.1 高效液相色谱仪：带蒸发光散射检测器。

7.4.3.2 分析天平：感量为 0.1 mg。

7.4.4 参考色谱条件

7.4.4.1 色谱柱：氨基柱（4.6 mm×250 mm）或其他同等分析效果的色谱柱。

7.4.4.2 流动相：乙腈/水=80/20（体积比）。

7.4.4.3 流速：1.0 mL/min。

7.4.4.4 柱温：30℃。

7.4.4.5 蒸发光检测器：蒸发温度 60℃，雾化温度 30℃。

7.4.4.6 进样量：5 μ L~20 μ L。

7.4.4.7 流动相梯度系统程序见表 4。

表4 梯度洗脱程序表

时间/min	水/% (体积比)	乙腈/% (体积比)
0	20	80
12	20	80
34	50	50
35	20	80
40	20	80

7.4.5 分析方法

7.4.5.1 对照品溶液制备

称取氨基葡萄糖盐酸盐和 *N*-乙酰氨基葡萄糖各 50 mg（精确到 1 mg），溶解定容于 50 mL 容量瓶中。准确移取上述溶液 2 mL 于 50 mL 容量瓶，用水稀释至刻度，摇匀，用水系滤膜（0.22 μ m）过滤，弃初滤液约 0.5 mL，取滤液，待测。

7.4.5.2 样品溶液制备

称取壳寡糖试样 200 mg（精确到 1 mg），溶解定容于 50 mL 容量瓶中，用水系滤膜（0.22 μ m）过滤，弃初滤液约 0.5 mL，取滤液，待测。

7.4.6 结果计算

样品中氨基葡萄糖含量按公式（2）计算：

$$w_1 = \frac{c_1 \times S_1 \times V}{S_2 \times m_3} \times 0.8309 \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

式中:

- w_1 ——样品中的氨基葡萄糖含量, 单位为克每百克(g/100 g);
- c_1 ——对照品溶液中氨基葡萄糖盐酸盐的浓度, 单位为毫克每毫升 (mg/mL);
- S_1 ——样品溶液中氨基葡萄糖盐酸盐的峰面积的对数值;
- V ——样品定容体积, 单位为毫升(mL);
- S_2 ——对照品溶液中氨基葡萄糖盐酸盐的峰面积的对数值;
- m_3 ——样品溶液中壳寡糖的质量, 单位为毫克 (mg);
- 0.8309——换算系数, 为样品对应的氨基葡萄糖与氨基葡萄糖盐酸盐标准品相对分子质量之比。

样品中N-乙酰氨基葡萄糖含量按公式 (3) 计算:

$$w_2 = \frac{c_2 \times S_3 \times V}{S_4 \times m_3} \times 100 \dots \dots \dots (3)$$

式中:

- w_2 ——样品中N-乙酰氨基葡萄糖含量, 单位为克每百克(g/100 g);
- c_2 ——对照品溶液中N-乙酰氨基葡萄糖的浓度, 单位为毫克每毫升 (mg/mL);
- S_3 ——样品溶液中N-乙酰氨基葡萄糖的峰面积的对数值;
- V ——样品定容体积, 单位为毫升 (mL);
- S_4 ——对照品溶液中N-乙酰氨基葡萄糖的峰面积的对数值;
- m_3 ——样品溶液中壳寡糖的质量, 单位为毫克 (mg)。

样品中单糖含量(以氨基葡萄糖、N-乙酰氨基葡萄糖加和计)按公式 (4) 计算:

$$w_3 = w_1 + w_2 \dots \dots \dots (4)$$

式中:

- w_3 ——样品中的单糖含量(以氨基葡萄糖、N-乙酰氨基葡萄糖加和计), 单位为克每百克(g/100 g);
- w_1 ——样品中的氨基葡萄糖含量, 单位为克每百克(g/100 g);
- w_2 ——样品中N-乙酰氨基葡萄糖含量, 单位为克每百克(g/100 g)。

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, 结果保留两位有效数字。

7.5 可转化氨基葡萄糖含量

7.5.1 原理

根据氨基葡萄糖盐酸盐在流动相和固定相之间具有不同的分配系数, 壳寡糖经浓盐酸水解生成氨基葡萄糖盐酸盐后的试样注入液相色谱, 经氨基柱进行色谱分离、蒸发光散射检测器检测, 以保留时间定性、外标法定量测定。

7.5.2 试剂和溶液

7.5.2.1 氨基葡萄糖盐酸盐 (≥99%)。

7.5.2.2 浓盐酸。

7.5.2.3 乙腈: 色谱纯。

7.5.3 仪器和设备

7.5.3.1 高效液相色谱仪：带蒸发光散射检测器。

7.5.3.2 分析天平：感量为 0.1 mg。

7.5.3.3 pH 计。

7.5.3.4 旋转蒸发仪。

7.5.4 参考色谱条件

7.5.4.1 色谱柱：氨基柱（4.6 mm×250 mm）或其他同等分析效果的色谱柱。

7.5.4.2 流动相：乙腈/水=80/20（体积比）。

7.5.4.3 流速：1.0 mL/min。

7.5.4.4 柱温：30℃。

7.5.4.5 蒸发光检测器：蒸发温度 60℃，雾化温度 30℃。

7.5.4.6 进样量：4~10 μL。

7.5.5 分析步骤

7.5.5.1 试样的制备

称取壳寡糖试样 50 mg（精确到 1 mg）于水解管中，加入 3 mL 浓盐酸，于（100±5）℃水解 3 h~4 h，冷却，用旋转蒸发仪蒸发除酸（或用 2 mol/L~5 mol/L 氢氧化钠溶液中和至 pH 5~7），然后转移至 50 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，通过水系 0.22 μm 滤膜过滤，弃初滤液约 0.5 mL，取滤液，进样。

注：若测定结果与产品实际标注差异显著，可根据情况适当延长水解时间，以确保样品全部水解。

7.5.5.2 标准曲线的绘制

分别称取 20 mg、40 mg、60 mg、80 mg、100 mg 氨基葡萄糖盐酸盐（精确到 1 mg），按试样项方法处理，用水定容到刻度，得到氨基葡萄糖盐酸盐分别为 0.4 mg/mL、0.8 mg/mL、1.2 mg/mL、1.6 mg/mL、2.0 mg/mL 系列标准溶液。在参考色谱条件下进样，以色谱峰面积的对数值为纵坐标，标准物质浓度为横坐标，绘制标准曲线。

7.5.5.3 试样的含量测定

在相同色谱条件下，将处理后的试样溶液注入液相色谱仪中，记录氨基葡萄糖盐酸盐色谱峰的保留时间和峰面积。用氨基葡萄糖盐酸盐的峰面积的对数值来定量，根据标准曲线得到待测液中氨基葡萄糖盐酸盐的浓度，折算为氨基葡萄糖的量，并扣除样品单糖含量（单糖含量的测定方法按 7.4 操作）。

7.5.5.4 结果计算

可转化氨基葡萄糖含量（以氨基葡萄糖计，以干基计）按公式（5）计算：

$$w_4 = \frac{c_3 \times 50}{m_4 \times (100 - w_0)} \times 0.8309 \times 100 - w_3 \dots \dots \dots (5)$$

式中：

w_4 ——可转化氨基葡萄糖含量（以氨基葡萄糖计），单位为克每百克(g/100g)；

c_3 ——由标准曲线查得的氨基葡萄糖盐酸盐的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

50——样品体积，单位为毫升（mL）；

m_4 ——试样的质量，单位为毫克（mg）；

w_0 ——待测壳寡糖样品的含水量，单位为克每百克(g/100 g)；

0.8309——换算系数，为样品对应的氨基葡萄糖与氨基葡萄糖盐酸盐标准品相对分子质量之比。

w_3 ——待测壳寡糖样品中的单糖含量（质量分数），单位为克每百克(g/100 g)；

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，结果保留两位有效数字。

7.5.5.5 允许差

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5%。

7.6 壳寡糖含量

7.6.1 仪器和设备

7.6.1.1 紫外-可见分光光度计。

7.6.1.2 分析天平：感量为0.1 mg。

7.6.2 试剂和溶液

7.6.2.1 0.001 mol/L 盐酸（HCl）：取0.1 mol/L 盐酸（HCl）标准溶液10 mL，置于1000 mL容量瓶，蒸馏水定容至刻度。

7.6.2.2 *N*-乙酰氨基葡萄糖标准溶液：用0.001 mol/L 盐酸（7.6.2.1）溶解配置成0.1 mg/mL的*N*-乙酰氨基葡萄糖溶液，再稀释成0.01 mg/mL、0.02 mg/mL、0.03 mg/mL、0.04 mg/mL、0.05 mg/mL的标准溶液。

7.6.3 试样处理

准确称取壳寡糖样品100 mg（精确到1 mg），置于烧杯中，用0.001 mol/L 盐酸完全溶解后转移到100 mL容量瓶中，用该浓度的盐酸定容至刻度。取定容后的溶液10 mL，转移到100 mL容量瓶中，用0.001 mol/L 盐酸定容至刻度，摇匀。

7.6.4 标准曲线的绘制

以0.001 mol/L 盐酸为参比液，在199 nm处测定标准系列溶液的吸光度，绘制出标准曲线。

7.6.5 样品及对照品的测定

在相同条件下测定样品溶液在该波长下的吸光度。代入标准曲线中，得到样品中的乙酰基浓度，从而求得脱乙酰度。

7.6.6 壳寡糖含量计算

按公式（6）计算脱乙酰度（以干基计）：

$$w_7 = \left(1 - \frac{w_5}{w_6}\right) \times 100\% \dots \dots \dots (6)$$

式中：

w_7 ——样品的脱乙酰度，以干基计，单位为质量百分数（%）；

w_5 ——样品中乙酰基浓度，单位为mg/mL；

w_6 ——样品浓度，以干基计，单位为mg/mL

壳寡糖含量（以对应盐含量计，以干基计）按公式（7）计算：

$$w_8 = w_4 \times w_7 \times K_i + w_4 \times (1 - w_7) \times K_0 \dots \dots \dots (7)$$

w_8 ——壳寡糖含量（以对应盐计，以干基计），单位为克每百克(g/100g)；

w_7 ——样品的脱乙酰度，%；

w_4 ——可转化氨基糖含量（以氨基葡萄糖计，以干基计），单位为克每百克(g/100g)；

K_i ——氨基葡萄糖盐型换算系数：氨基葡萄糖盐酸盐折算系数为1.20；氨基葡萄糖醋酸盐折算系数为1.34；氨基葡萄糖乳酸盐折算系数为1.50；混合酸盐以盐酸盐换算系数计算；

K_0 ——*N*-乙酰氨基葡萄糖换算系数为1.23。

7.6.7 允许差

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5%。

7.7 总灰分

按 GB5009.4 规定的方法测定。

7.8 水不溶物

7.8.1 分析步骤

称取试样 5 g~10 g（精确到 1 mg），加入 400 mL 蒸馏水中，搅拌至完全溶解，用在(105±2)℃下烘干至恒重并称重的砂芯漏斗（G3）过滤，将滤渣与漏斗放置在(105±2)℃下烘干至恒重。

7.8.2 计算

水不溶物的质量分数按公式（8）计算：

$$w_9 = \frac{m_5 - m_6}{m_7} \times 100 \dots \dots \dots (8)$$

式中：

w_9 ——样品中水不溶物的质量分数，单位为克每百克(g/100 g)；

m_5 ——烘干后试样与漏斗总质量，单位为克（g）；

m_6 ——烘干后漏斗质量，单位为克（g）；

m_7 ——试样质量，单位为克（g）。

7.8.3 允许差

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过 0.2%。

7.9 pH

7.9.1 仪器和设备

pH计：精度0.01。

7.9.2 分析步骤

按仪器使用说明书调试和校正酸度计。

称取试样1.0 g(精确到1 mg),加入新煮沸冷却(除去二氧化碳)的pH在5.0~7.0的蒸馏水定容至100 mL,配制成浓度为1%的试样液,用磁力搅拌器搅拌均匀,然后用水冲洗电极探头,用滤纸轻轻吸干,将电极插入待测样液中,调节温度调节器,使仪器指示温度与溶液温度相同,稳定后读数。

所得结果精确到两位小数。

7.9.3 允许差

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过0.1。

7.10 无机砷

按 GB 5009.11 测定。

7.11 铅

按 GB 5009.12 测定。

7.12 菌落总数

按 GB 4789.2 测定。

7.13 金黄色葡萄球菌

按 GB 4789.10-2016 第二法测定。

7.14 沙门氏菌

按 GB 4789.4 测定。

8 检验规则

8.1 组批

同原料、同工艺生产的，同一包装线同一天包装出厂（或入库的），质量均一的产品为一批。

8.2 取样与抽样

8.2.1 采用适宜的方法保证取样具有代表性，保证取样部位和取样瓶的清洁。对用于微生物试验的取样，应使用无菌操作。

8.2.2 产品按批抽样。批量少于 600 件时，从不少于 3 件最小规格包装中，抽取 200 g 样品。批量大于等于 600 件时，按包装件数的 0.5% 比例的最小规格包装中，抽取 200 g 样品。

8.2.3 将所取样品混匀后，分为两份，一份检验，一份封存备查。密闭保存于包装袋或磨口瓶中，粘贴标签，并注明生产厂名、产品名称、批号、数量、取样日期。

8.3 出厂检验

8.3.1 产品出厂前，应由生产厂的质检部门负责按本标准规定逐批进行检验。检验合格后方可出厂。

8.3.2 出厂检验项目为壳寡糖含量、可转化氨基葡萄糖含量、单糖含量、水分、灰分、水不溶物和 pH。

8.4 型式检验

检验项目为本标准要求中规定的全部项目。一般情况下，型式检验半年进行一次。有下列情况之一时，亦应进行型式检验：

- a) 原辅材料有较大变化时；
- b) 更改关键工艺或设备时；

- c) 新试制的产品或正常生产的产品停产 3 个月后，重新恢复生产时；
- d) 出厂检验与上次型式检验结果有较大差异时；
- e) 国家质量监督检验机构按有关规定需要抽检时。

8.5 判定规则

- 8.5.1 抽取样品经检验，所检项目全部合格，判该批产品为合格。
- 8.5.2 检验结果如有两项及两项以下指标不合格，应重新自同批产品中抽取两倍量样品进行复检，以复检结果为准，若仍有不合格项，判该批产品为不合格。
- 8.5.3 检验结果如有三项及以上指标不合格，判该批产品为不合格。

9 标志、包装、运输、贮存

9.1 标志

食品工业用壳寡糖预包装食品标签标示应符合 GB 7718 的规定，并标识壳寡糖含量（对应盐的类型）和可转化氨基葡萄糖含量，如需标示营养标签的产品还应符合 GB 28050 的规定。包装储运图示按 GB/T 191 的规定执行。

9.2 包装

包装容器应整洁、卫生、无破损，应符合国家相关规定。

9.3 运输

运输工具应清洁卫生。不得与有毒、有害、有腐蚀性和含有异味的物品混装、混运，应避免受潮、受压、暴晒。装卸时，应轻拿轻放，不得直接钩扎外包装。

9.4 贮存

应储存在干燥、清洁的仓库内。严防日晒雨淋，严禁火种。不得露天存放，不得与有毒有污染的物品或其他杂物混存。

附录 A (资料性附录)

壳寡糖平均相对分子质量的测定

A.1 试剂和溶液

A.2.1 氨基葡萄糖盐酸盐标准溶液

称取氨基葡萄糖盐酸盐100 mg (精确到1 mg), 置于小烧杯中, 加少量蒸馏水溶解后, 转移到100 mL容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 混匀。取定容后的溶液10 mL, 置于烧杯中, 调pH至7, 转移到100 mL容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 4℃冰箱中保存备用。

A.2.2 乙酰丙酮溶液

取乙酰丙酮 3.5 mL, 溶于 1 mol/L 碳酸钠溶液中定容至 50 mL, 混匀, 现用现配。

A.2.3 对-二甲氨基苯甲醛溶液

称取对-二甲氨基苯甲醛 0.8 g, 溶于 15 mL 无水乙醇及 15 mL 浓盐酸的混合液中, 摇匀保存于棕色瓶中, 现用现配。

A.2 仪器和设备

A.2.4 分光光度计。

A.2.5 分析天平: 感量为0.1 mg。

A.3 标准曲线的绘制

准确量取氨基葡萄糖盐酸盐标准溶液 (A.2.1) 0.0 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL和5.0 mL, 分别置于15 mL具塞试管中, 各加水5.0 mL、4.0 mL、3.0 mL、2.0 mL、1.0 mL、0.0 mL, 再分别加乙酰丙酮溶液1.0 mL, 封口摇匀, 置沸水浴中加热25 min, 取出, 置水浴中冷却。各加对-二甲氨基苯甲醛溶液1.0 mL, 用无水乙醇加至10 mL, 封口摇匀, 60℃水浴中保温1 h, 快速冷却至室温, 以不含氨基葡萄糖盐酸盐标准溶液为空白, 在525 nm波长处测定吸光度值 (D), 以氨基葡萄糖盐酸盐溶液摩尔浓度 (mol/mL) 为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线。

注1: 计算氨基葡萄糖盐酸盐溶液摩尔浓度时, 相对分子质量按 161.1 (脱去 1 个水分子后的氨基葡萄糖残基的相对分子质量) 计。

注2: 冷却至室温后, 需在 30 min 内完成测定。

A.4 样品平均相对分子质量的测定

称取0.1 g (精确到1 mg) 壳寡糖样品, 置于烧杯中, 加适量的水溶解, 摇匀, 调pH至7, 定容至100 mL容量瓶中混匀, 吸取体积为 V_1 的稀释后的溶液 (参考取样量为3 mL) 于试管中, 加水至5 mL。加乙酰丙酮溶液1 mL, 封口摇匀, 后续步骤同“标准曲线的绘制”, 测出吸光度值 (D), 通过标准曲线查得的待测液摩尔浓度 c_4 (mol/mL)。

A.5 结果计算

按照公式 (A.1) 计算样品的干基质量:

$$m_9 = m_8 \times \left(\frac{100 - w_0}{100} \right) \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

m_9 ——样品的干基质量, 单位为克 (g);

m_8 ——样品的质量, 单位为克 (g);

w_0 ——待测壳寡糖样品的含水量, 单位为克每百克(g/100 g);

100——换算系数。

平均相对分子质量按公式 (A.2) 计算:

$$M = \frac{m_9 \times V_1}{c_4 \times 10 \times 100} \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

M ——壳寡糖样品平均相对分子质量;

m_9 ——样品的干基质量, 单位为克 (g);

V_1 ——取样体积, 单位为毫升 (mL);

c_4 ——查标准曲线获得的试样中壳寡糖摩尔浓度, 单位为摩尔每毫升 (mol/mL);

10——待测液的体积, 单位为毫升 (mL);

100——样品第一次稀释后的体积, 单位为毫升 (mL)。

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, 结果保留两位有效数字。

A.6 允许差

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 5%。