

ICS 65. 100
G 25
备案号：53273—2016

HG

中华人民共和国化工行业标准

HG/T 4926—2016

氨基寡糖素原药

Oligochitosan technical material

2016-01-15 发布

2016-07-01 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。

本标准由中国石油和化学工业联合会提出。

本标准由全国农药标准化技术委员会（SAC/TC133）归口。

本标准起草单位：海南正业中农高科股份有限公司、中国农业科学院植物保护研究所、农业部农药检定所、中国科学院大连化学物理研究所。

本标准主要起草人：张善学、曹立冬、陈铁春、黄啟良、吴军、赵小明、于保华、文香玲、黄不慌、尹恒、张益先、陆红霞、沈靖、田慧芳。

氨基寡糖素原药

1 范围

本标准规定了氨基寡糖素原药的要求，试验方法以及标志、标签、包装、贮运、安全和验收期。

本标准适用于由氨基寡糖素及其生产中产生的杂质组成的氨基寡糖素原药。

注：氨基寡糖素的其他名称、结构式和基本物化参数参见附录 A。

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 1601 农药 pH 值的测定方法

GB/T 1604 商品农药验收规则

GB/T 1605—2001 商品农药采样方法

GB 3796 农药包装通则

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法（mod ISO 3696:1987）

GB/T 8170—2008 数值修约规则与极限数值的表示和判定

GB/T 28136—2011 农药水不溶物测定方法

3 要求

3.1 外观

本品应为淡黄色或类白色的粉末。

3.2 技术指标

氨基寡糖素原药还应符合表 1 的要求。

表 1 氨基寡糖素原药控制项目指标

项 目	指 标
氨基寡糖素(以氨基葡萄糖计)质量分数/%	≥ 85.0
游离氨基葡萄糖质量分数/%	≤ 1.0
灰分/%	≤ 1.0
水分/%	≤ 8.0
pH 值范围	3.0~6.0
水不溶物/%	≤ 0.5

4 试验方法

安全提示：使用本标准的人员应有实验室工作的实践经验。本标准并未指出所有的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关法规的规定。

4.1 一般规定

本标准所用试剂和水在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和 GB/T 6682—2008 规定的一级水。检验结果的判定按 GB/T 8170—2008 中 4.3.3 修约值比较法进行。

4.2 抽样

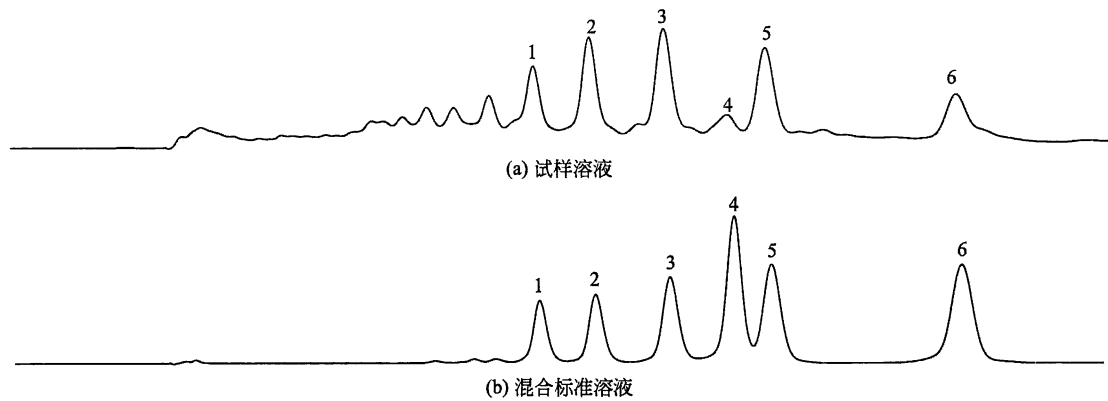
按 GB/T 1605—2001 中“商品原药采样”方法进行。用随机数表法确定抽样的包装件，最终抽样量应不少于 100 g。

4.3 鉴别试验

4.3.1 离子色谱法

本鉴别试验可与氨基寡糖素原药中游离氨基葡萄糖质量分数的测定同时进行。在相同色谱条件下，试样溶液中氨基葡萄糖、壳二糖、壳三糖、壳四糖、壳五糖和壳六糖色谱峰的保留时间与对应标样溶液色谱峰的保留时间的相对差值应在 1.5 % 以内。氨基寡糖素原药至少要含有二糖～六糖中的 2 个或者多个。

氨基寡糖素原药和混合标准溶液的离子色谱图见图 1。



说明：
1——壳六糖；
2——壳五糖；
3——壳四糖；
4——氨基葡萄糖；
5——壳三糖；
6——壳二糖。

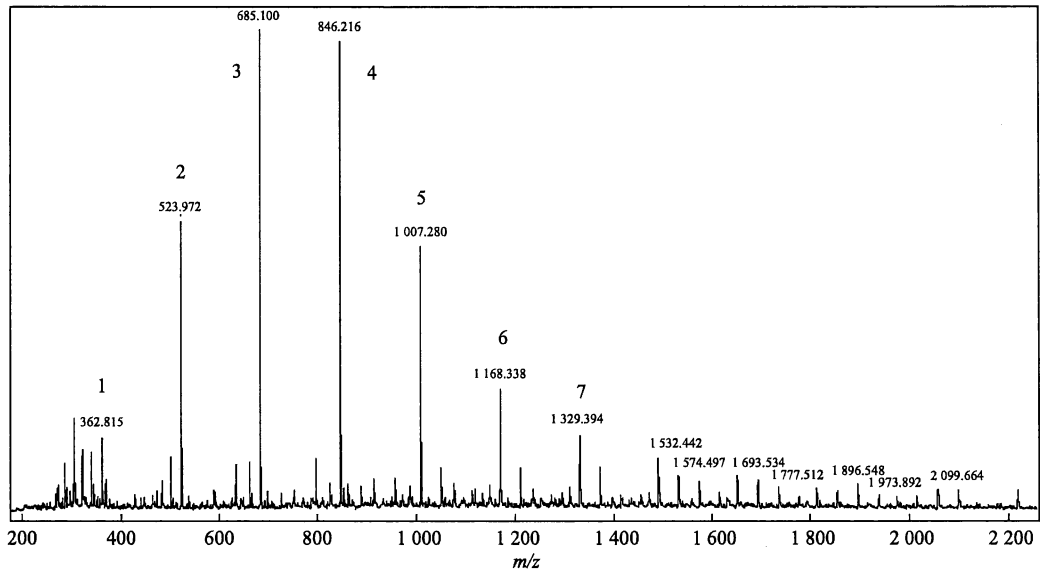
图 1 氨基寡糖素原药和混合标准溶液的离子色谱图

4.3.2 质谱法

4.3.2.1 方法提要

本鉴别试验通过样品的基质辅助激光解析电离飞行时间质谱（MALDI-TOF-MS）分析，利用数据处理软件进行样品的数均分子量（ M_n ）、重均分子量（ M_w ）、多分散性（pd）和平均聚合度（DP）统计分析，氨基寡糖素原药至少要含有二糖～六糖中的 2 个或者多个。

氨基寡糖素原药的质谱图见图 2。



说明：

- 1——壳二糖；
- 2——壳三糖；
- 3——壳四糖；
- 4——壳五糖；
- 5——壳六糖；
- 6——壳七糖；
- 7——壳八糖。

图 2 氨基寡糖素原药的质谱图

4.3.2.2 试剂和溶液

- 基质 2,5-二羟基苯甲酸。
- 校正用混合多肽标样。
- 乙腈：色谱纯。
- 乙醇：色谱纯。
- 三氟乙酸。

4.3.2.3 仪器

基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪，采用反射模式、正离子检测、全景式宽域聚焦技术，数据利用统计软件进行分析处理。

HG/T 4926—2016

4.3.2.4 测定步骤

基质 2,5-二羟基苯甲酸和校正用混合多肽标样用乙腈、超纯水、三氟乙酸按照体积比 200 : 100 : 3 配制成乙腈酸性溶剂。将 2,5-二羟基苯甲酸和待测样品分别溶于上述溶剂, 配制成 50 g/L 和 10 g/L 溶液, 备用。将等体积的基质和样品溶液充分混匀, 取 0.5 μ L 混合液滴于靶板上, 待溶剂自然挥发样品结晶后, 滴加 0.5 μ L 乙醇, 使样品与基质混合物二次结晶, 乙醇挥发后即可进行质谱检测。

4.4 氨基寡糖素质量分数的测定

4.4.1 方法提要

将氨基寡糖素原药在酸性条件下水解为氨基葡萄糖。以氢氧化钠溶液为流动相, 使用脉冲安培检测器和高效阴离子交换色谱柱对水解产物进行分离和测定, 利用外标法定量。

4.4.2 试剂和溶液

氢氧化钠溶液: $w(\text{NaOH})=50\%$, 优级纯。

无水乙酸钠: 优级纯。

水: 符合 GB/T 6682—2008 中一级水的规定, 即电导率 (25 $^{\circ}\text{C}$) $\sigma \leq 0.01 \text{ mS/m}$ 。

氢氧化钠溶液: $c(\text{NaOH})=8.0 \text{ mol/L}$ 。

盐酸溶液: $c(\text{HCl})=8.0 \text{ mol/L}$ 。

混合溶液: 在 2 L 塑料试剂瓶中加入约 1 900 mL 经过 0.4 μm 尼龙滤膜过滤的水, 加入 16.4 g 无水乙酸钠, 再移入 10.5 mL 氢氧化钠溶液 [$w(\text{NaOH})=50\%$] 至水面以下, 然后加入水至 2 L 刻度, 通氮气保护后摇匀, 备用。

D-氨基葡萄糖盐酸盐标样: 已知质量分数, $w \geq 99.0\%$ 。

4.4.3 仪器

离子色谱: 包含在线脱气装置的四元梯度泵、柱温箱、脉冲安培检测器 (Au 工作电极, pH/Ag/AgCl 复合参比电极, 糖标准四电位)、色谱工作站。

分析柱: CarboPac PA100 250 mm \times 4 mm (i. d.); 保护柱: CarboPac PA100 50 mm \times 4 mm (i. d.)。

带聚四氟乙烯衬垫螺旋盖的厚壁耐压管。

4.4.4 离子色谱操作条件

流动相: $\phi(\text{混合溶液} : \text{H}_2\text{O})=10 : 90$;

流速: 1.0 mL/min;

进样体积: 25 μL ;

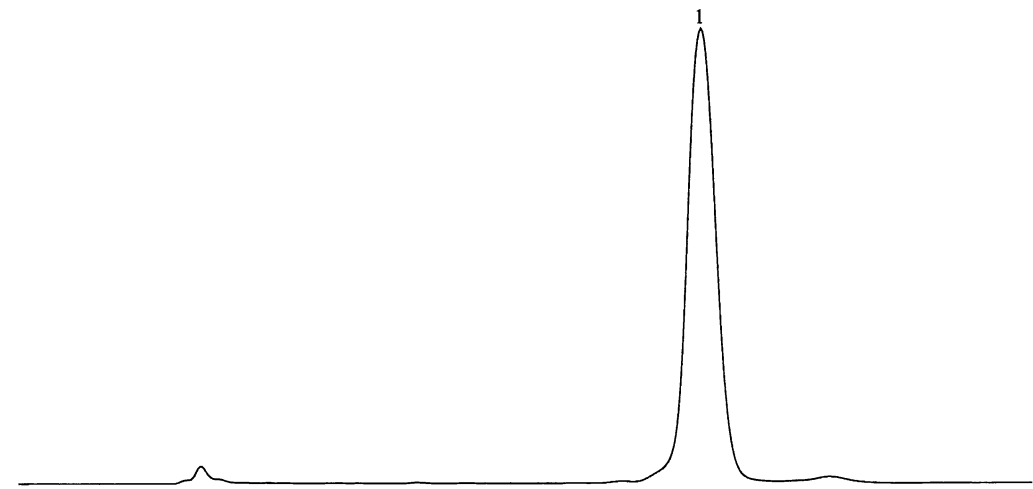
柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$;

保留时间: 氨基葡萄糖约 7.8 min。

实验中各淋洗液上方均施加 0.4 MPa 的氮气进行保护, 以防止淋洗液吸收空气中的二氧化碳。

上述操作参数是典型的, 可根据不同仪器特点对给定的操作参数做适当调整, 以期获得最佳效果。

典型的氨基寡糖素原药水解后溶液的离子色谱图见图 3。



说明：
1——氨基葡萄糖。

图 3 氨基寡糖素原药水解后溶液的离子色谱图

4.4.5 测定步骤

4.4.5.1 标样溶液的配制

称取 D-氨基葡萄糖盐酸盐标样约 15 mg（精确至 0.000 1 g），置于 50 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，超声振荡 5 min。冷却至室温，摇匀。用移液管移取上述溶液 5.0 mL 于 100 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。

4.4.5.2 试样溶液的配制

称取氨基寡糖素原药约 15 mg（精确至 0.000 1 g），置于 10 mL 带聚四氟乙烯衬垫螺旋盖的厚壁耐压管中，加入 5.0 mL 8.0 mol/L 盐酸溶液，充分混匀后充入高纯度氮气并密封，98 ℃油浴下搅拌 8 h。冷却至室温，打开螺旋盖，缓慢加入 8.0 mol/L 氢氧化钠溶液调节水解液的 pH 值至约 7.0。再将水解液全部转移到 50 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，超声振荡 5 min。冷却至室温，摇匀。用移液管移取上述溶液 5.0 mL 于 100 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。

4.4.5.3 测定

在上述操作条件下，待仪器基线稳定后，连续注入数针标样溶液，计算各针相对响应值，待相邻两针的相对响应值变化小于 1%，按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进行测定。

4.4.5.4 计算

将测得的两针试样溶液以及试样前后两针标样溶液中氨基葡萄糖峰面积分别进行平均。
试样中氨基寡糖素（以氨基葡萄糖计）质量分数按公式（1）计算：

$$w_1 = \frac{A_2 m_1 \times 179.17}{A_1 m_2 \times 215.63} \times w_K \dots\dots\dots (1)$$

式中：
w₁——试样中氨基寡糖素（以氨基葡萄糖计）质量分数，以 % 表示；
A₂——试样溶液中氨基葡萄糖峰面积的平均值；
m₁——D-氨基葡萄糖盐酸盐标样的质量的数值，单位为克（g）；

HG/T 4926—2016

w ——标样中 D-氨基葡萄糖盐酸盐质量分数，以 % 表示；

A_1 ——标样溶液中氨基葡萄糖峰面积的平均值；

m_2 ——试样的质量的数值，单位为克 (g)；

K ——校正系数 (氨基寡糖素在降解中的损失， $K=1.7$)；

179.17——氨基葡萄糖的摩尔质量的数值，单位为克每摩尔 (g/mol)；

215.63——D-氨基葡萄糖盐酸盐的摩尔质量的数值，单位为克每摩尔 (g/mol)。

4.4.5.5 允许差

氨基寡糖素质量分数两次平行测定结果之差应不大于 3.0 %，取其算术平均值作为测定结果。

4.5 游离氨基葡萄糖质量分数的测定

4.5.1 方法提要

样品用水溶解。以氢氧化钠溶液为流动相，使用脉冲安培检测器和高效阴离子交换色谱柱对试样中的游离氨基葡萄糖进行离子色谱分离和测定。

4.5.2 试剂和溶液

氢氧化钠溶液： $w(\text{NaOH})=50\%$ ，优级纯。

水：符合 GB/T 6682—2008 中一级水的规定，即电导率 (25 °C) $\sigma \leq 0.01 \text{ mS/m}$ 。

NaOH 溶液 1：在 2 L 塑料试剂瓶中加入 1 900 mL 经过 0.4 μm 尼龙滤膜过滤的一级水，再移入 20.9 mL 氢氧化钠溶液 [$w(\text{NaOH})=50\%$] 至水面以下，然后加入一级水至 2 L 刻度，通氮气保护后摇匀，备用。

D-氨基葡萄糖盐酸盐标样：已知质量分数， $w \geq 99.0\%$ 。

4.5.3 仪器

离子色谱：离子色谱仪，包含在线脱气装置的四元梯度泵、柱温箱、脉冲安培检测器 (Au 工作电极，pH/Ag/AgCl 复合参比电极，糖标准四电位)、色谱工作站。

分析柱：CarboPac PA100 250 mm \times 4 mm (i. d.)；保护柱：CarboPac PA100 50 mm \times 4 mm (i. d.)。

4.5.4 色谱条件

流动相： $\phi(\text{NaOH 溶液 1} : \text{H}_2\text{O})=10 : 90$ ；

流速：0.4 mL/min；

进样体积：25 μL ；

柱温：30 °C；

保留时间：氨基葡萄糖约 16.4 min。

实验中各淋洗液上方均施加 0.4 MPa 的氮气进行保护，以防止淋洗液吸收空气中的二氧化碳。

上述操作参数是典型的，可根据不同仪器特点对给定的操作参数做适当调整，以期获得最佳效果。

典型的氨基寡糖素原药溶液的离子色谱图见图 4。

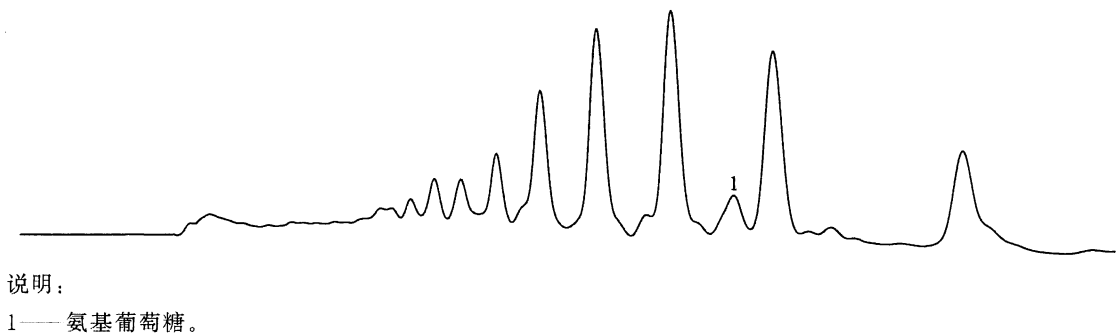


图 4 氨基寡糖素原药溶液的离子色谱图

4.5.5 测定步骤

4.5.5.1 标样溶液的配制

称取 D-氨基葡萄糖盐酸盐标样约 15 mg（精确至 0.000 1 g），置于 50 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，超声振荡 5 min。冷却至室温，摇匀。用移液管移取上述溶液 1.0 mL 于 100 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。

4.5.5.2 试样溶液的配制

称取氨基寡糖素原药约 60.0 mg（精确至 0.000 1 g），置于 100 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，超声振荡 5 min，冷却至室温，摇匀。

4.5.5.3 测定

在上述操作条件下，待仪器基线稳定后，连续注入数针标样溶液，计算各针相对响应值，待相邻两针的相对响应值变化小于 1.5 %，按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进行测定。

4.5.5.4 计算

将测得的两针试样溶液以及试样前后两针标样溶液中氨基葡萄糖峰面积分别进行平均。
试样中氨基葡萄糖质量分数按公式（2）计算：

$$w_2 = \frac{A_2 m_1 \times 179.17}{A_1 m_2 \times 215.63 \times 50} \times w \dots\dots\dots (2)$$

式中：

- w_2 ——试样中氨基葡萄糖质量分数，以 % 表示；
- A_2 ——试样溶液中氨基葡萄糖峰面积的平均值；
- m_1 ——D-氨基葡萄糖盐酸盐标样的质量的数值，单位为克（g）；
- w ——标样中 D-氨基葡萄糖盐酸盐质量分数，以 % 表示；
- A_1 ——标样溶液中氨基葡萄糖峰面积的平均值；
- m_2 ——试样的质量的数值，单位为克（g）；
- 179.17——氨基葡萄糖的摩尔质量的数值，单位为克每摩尔（g/mol）；
- 215.63——D-氨基葡萄糖盐酸盐的摩尔质量的数值，单位为克每摩尔（g/mol）；
- 50——标样稀释倍数。

HG/T 4926—2016

4.5.5.5 允许差

游离氨基葡萄糖质量分数两次平行测定结果的相对偏差应不大于 10 %，取其算术平均值作为测定结果。

4.6 灰分的测定

4.6.1 原理

样品经灼烧后所残留的无机物质称为灰分。灰分数值系灼烧、称重后计算得出。

4.6.2 仪器和设备

- 马弗炉：温度不低于 600 ℃。
- 天平：感量为 0.1 mg。
- 石英坩埚或瓷坩埚。
- 干燥器：内有干燥剂。
- 电热板。

4.6.3 分析步骤

4.6.3.1 坩埚的灼烧

取大小适宜的石英坩埚或瓷坩埚置于马弗炉中，在 550 ℃±25 ℃下灼烧 0.5 h。冷却至 200 ℃左右，取出，放入干燥器中冷却 30 min，准确称量。重复灼烧至前后两次称量相差不超过 0.5 mg 为恒重。

4.6.3.2 测定

称取 2 g~3 g（精确至 0.000 1 g）试样，先在电热板上以小火加热使试样充分炭化至无烟，然后置于马弗炉中，在 550 ℃±25 ℃灼烧 4 h。冷却至 200 ℃左右，取出，放入干燥器中冷却 30 min。称量前如发现灼烧残渣有炭粒，应向试样中滴入少许水湿润，使结块松散，蒸干水分，再次灼烧至无炭粒即表示灰化完全，方可称量。重复灼烧至前后两次称量相差不超过 0.5 mg 为恒重。

4.6.3.3 计算

试样中的灰分按公式（3）计算：

$$w_3 = \frac{m_1 - m_2}{m_3 - m_2} \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

- 式中：
- w_3 ——试样中灰分质量分数，以 % 表示；
 - m_1 ——坩埚和灰分的质量的数值，单位为克（g）；
 - m_2 ——坩埚的质量的数值，单位为克（g）；
 - m_3 ——坩埚和试样的质量的数值，单位为克（g）。

4.6.3.4 允许差

灰分两次平行测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5 %，取其算术平均值作为测定结果。

4.7 水分的测定

4.7.1 原理

利用样品中水分的物理性质，在达到 40 kPa~53 kPa 压力后加热至 60 ℃±5 ℃，采用减压烘干

方法去除试样中的水分，再通过烘干前后的称量数值计算出水分的含量。

4.7.2 仪器和设备

- 真空干燥箱。
- 扁形铝制或玻璃制称量瓶。
- 干燥器：内附有效干燥剂。
- 天平：感量为 0.1 mg。

4.7.3 分析步骤

4.7.3.1 测定

取已恒重的称量瓶称取 2 g~10 g（精确至 0.000 1 g）试样，放入真空干燥箱内。将真空干燥箱连接真空泵，抽出真空干燥箱内空气（所需压力一般为 40 kPa~53 kPa），并同时加热至所需温度 60℃±5℃。关闭真空泵上的活塞，停止抽气，使真空干燥箱内保持一定的温度和压力。经 4 h 后，打开活塞，使空气经干燥装置缓缓通入至真空干燥箱内，待压力恢复正常后再打开。取出称量瓶，放入干燥器中 0.5 h 后称量。重复以上操作至前后两次质量差不超过 2 mg 即为恒重。

4.7.3.2 水分的计算

试样中的水分按公式（4）计算：

$$w_4 = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

- 式中：
- w₄——试样中水分质量分数，以 % 表示；
 - m₁——称量瓶和试样的质量的数值，单位为克（g）；
 - m₂——称量瓶和试样干燥后的质量的数值，单位为克（g）；
 - m₃——称量瓶的质量的数值，单位为克（g）。

4.7.3.3 允许差

在重复性条件下获得的水分两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5 %，取其算术平均值作为测定结果。

4.8 pH 值的测定

按 GB/T 1601 进行。

4.9 水不溶物的测定

按 GB/T 28136—2011 中 3.2 的规定进行。

4.10 产品的检验与验收

应符合 GB/T 1604 的规定。

5 标志、标签、包装、贮运、安全和验收期

5.1 标志、标签和包装

氨基寡糖素原药的标志、标签和包装应符合 GB 3796 的规定。氨基寡糖素原药用衬塑编织袋或

纸板桶装，每袋（桶）净含量一般为 25 kg 或 50 kg。也可根据用户要求或订货协议采用其他形式的包装，但需符合 GB 3796 的规定。

5.2 贮运

氨基寡糖素原药包装件应贮存在通风、干燥的库房中。贮运时不得与食物、种子、饲料混放，避免与皮肤、眼睛接触，防止由口、鼻吸入。

5.3 安全

本品属低毒农药。使用本品时要戴防护镜和胶皮手套，穿必要的防护衣物。施药后应用肥皂和清水冲洗。误服者应立即送医院对症治疗。

5.4 验收期

氨基寡糖素原药的验收期为 1 个月。从交货之日起，在 1 个月内完成产品的质量验收，其各项指标均应符合标准要求。

附 录 A

(资料性附录)

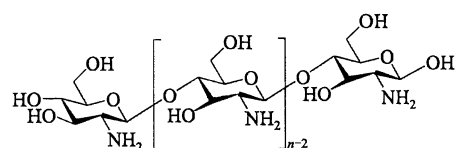
氨基寡糖素的其他名称、结构式和基本物化参数

本产品有效成分氨基寡糖素的其他名称、结构式和基本物化参数如下。

ISO 通用名称: oligochitosan

化学名称: β -(1,4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡聚糖

结构式:



实验式: $(C_6H_{11}NO)_n \cdot H_2O$ ($2 \leq n \leq 20$)

相对分子质量: $n \times 161 + 18$

生物活性: 诱导抗病、抗逆、促生长

性状: 淡黄色或类白色的粉末

溶解度 (25 °C): 易溶于水

稳定性: 在正常的贮存条件下对光、热很稳定, 在强酸性水介质中缓慢分解