ICS 11.120
C 25

T

中国医药保健品进出口商会团体标准

T/CCCMHPIE 1.42—2018

植物提取物
岩藻多糖

Plant extract——

Fucoidan

2018-07-01 发布　　2018-07-15 实施

中国医药保健品进出口商会　　发布

前　　言

本标准按照GB/T 1.1—2009和GB/T 20004.1—2017 给出的规则起草。

本标准由中国医药保健品进出口商会提出。

本标准由中华人民共和国商务部归口。

本标准由中国医药保健品进出口商会国际商务标准化技术委员会负责解释。

本标准负责起草单位：北京雷力联合海洋生物科技有限公司、北京绿色金可生物技术股份有限公司、青岛明月海藻集团有限公司。

本标准主要起草人：严国富、汤洁、牛红艳、姚军芳、王晓梅。

岩藻多糖

1 范围

本标准规定了岩藻多糖的技术要求、检验方法、检验规则、包装、运输和贮存要求。

本标准适用于以山东海域海带或裙带菜的藻体为原料，经水提，无水乙醇沉降、脱水，干燥等工序制得的多糖类产品。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

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 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数

GB 4789.38 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠埃希氏菌计数

GB 4806.1 食品安全国家标准 食品接触材料及制品通用安全要求

GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定

GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定

《中华人民共和国药典（2015 版）》第四部通则 0861 残留溶剂测定法

《中华人民共和国药典（2015 版）》第四部通则 0982 粒度和粒度分布测定法

《中华人民共和国药典（2015 版）》第四部通则 2321 铅、镉、砷、汞、铜测定法

3 技术要求

3.1 工艺要求

3.1.1 植物原料

山东海域褐藻门布科海带 *Laminaria japonica Aresch*.或褐藻门、褐子纲海带目、翅藻科裙带菜 *Undaria Pinnatifida Suringar*.的藻体。

3.1.2 工艺过程

原料 → 粉碎 → 提取 → 过滤 → 分离→沉降、脱水→ 干燥 → 产品

3.2 产品要求

3.2.1 感官要求

应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项　　目	要　　求
色　泽	近白色或淡黄色、色泽均匀
滋味与气味	略带海藻腥味、无异味
外观	均匀粉末或颗粒，无肉眼可见异物

3.2.2 理化要求

应符合表 2 的规定。

表 2 理化要求

项　　目	指　　标
鉴别	经水解供试品液相色谱图中应出现与对照品液相色谱图相应峰；未经水解供试品液相色谱图中不得出现特征峰。 凝胶色谱鉴定供试品分子量在 2 万~30 万道尔顿之间，平均分子量应大于 1 万道尔顿，岩藻多糖应不含小分子单糖。
L-岩藻糖（按干燥品计）/%	≥15.0
硫酸基（以 SO_4^{2-}计）/%	≥15.0
水分/%	≤16.0
灰分/%	≤30.0
重金属及有害元素	
砷（As）/（mg/kg）	≤2.0
铅（Pb）/（mg/kg）	≤3.0
镉（Cd）/（mg/kg）	≤1.0
汞（Hg）/（mg/kg）	≤0.1

3.2.3 微生物要求

应符合表 3 的规定。

表 3 微生物要求

项　　目	指　　标
菌落总数/（CFU/g）	≤1000
霉菌及酵母菌数/（CFU/g）	≤100
大肠埃希氏菌	不得检出
沙门氏菌	不得检出

3.2.4 其他污染物

其他污染物限量要求，依据不同要求，应符合我国相关法规的规定。对于出口产品，应符合出口目的国相关法规的规定。

4 检验方法

4.1 感官检验

在光线充足、无异味、清洁卫生的环境中，将试样置于白色搪瓷盘或不锈钢工作台上，观察其色泽、外观，并检查有无异物。

4.2 理化指标

4.2.1 鉴别

按第 A.2 章中规定的方法进行测定。经水解供试品液相色谱图中应出现与对照品液相色谱图相应峰，未经水解供试品液相色谱图中不得出现特征峰，特征图谱及参考保留时间见附录 B。凝胶色谱鉴定供试品分子量在 2 万~30 万道尔顿之间，平均分子量应大于 1 万道尔顿，岩藻多糖应不含小分子单糖。岩藻多糖供试品凝胶柱标准曲线和凝胶色谱图见附录 B。

4.2.2 L-岩藻糖

按第 A.3 章中规定的方法进行测定。

4.2.3 硫酸基（SO_4^{2-}）

按第 A.4 章中规定的方法进行测定。

4.2.4 水分

按 GB 5009.3 中的第一法进行测定。

4.2.5 灰分测定

按 GB 5009.4 中的第一法进行测定。

4.2.6 重金属及有害元素

按《中华人民共和国药典（2015版）》第四部通则 2321 铅、镉、砷、汞、铜测定法进行测定。

4.3 微生物指标

4.3.1 菌落总数

按 GB 4789.2 中规定的方法进行检验。

4.3.2 霉菌及酵母菌数

按 GB 4789.15 中规定的方法进行检验。

4.3.3 大肠埃希氏菌

按GB 4789.38中规定的方法进行检验。

4.3.4 沙门氏菌

按GB 4789.4中规定的方法进行检验。

5 检验规则

5.1 组批

在原料及生产条件基本相同的情况下同一天或同一班组生产的产品为一批，按批号抽取。

5.2 出厂检验

5.2.1 产品须逐批检验，检验合格并签发检验合格证，产品凭检验合格证出厂。

5.2.2 出厂检验项目：外观、水分、灰分、L-岩藻糖、硫酸基（SO_4^{2-}）、重金属及有害元素、菌落总数、霉菌及酵母菌数、大肠埃希氏菌、沙门氏菌。

5.3 型式检验

5 3.1 型式检验项目包括本标准中规定的全部项目。

5.3.2 有下列情况之一时须进行型式检验。

a）长期停产后重新恢复生产；

b) 原料变化或改变主要生产工艺，可能影响产品质量时；

c) 国家质量监督机构提出进行型式检验要求时；

d) 出厂检验与上次型式检验有很大差异时；

e) 正常生产时，每 6 个月至少一次型式检验。

5.4 判定规则

5.4.1 检验结果全部项目符合本标准规定时，判该批产品为合格品。

5.4.2 检验结果不符合本标准要求时，可以在原批次产品中双倍抽样复检一次，判定以复检结果为准。复检后仍有一项或一项以上不符合标准时，判该批产品为不合格品。

6 包装、标签、运输、贮存

6.1 包装

内包装为食品包装复合袋或者PE袋，应符合GB 9683或GB/T 4456的规定。外包装纸箱材料应符合GB/T6543的规定。

6.2 标签

包装标签上应标明：产品名称、生产厂名、厂址、生产日期、批号、保质期、净含量、体积、标准号、批文号及储运要求的图形类标志符号。

6.3 运输

运输时运输工具应清洁、卫生、无异味、无污染。运输过程中应防止挤压、防雨、防潮、防晒，装卸时应轻搬、轻放。运输时严禁与有毒、有害、有异味、有腐蚀性、易污染的货物混装混运。

6.4 贮存

产品应贮存于阴凉、干燥的仓库中。避免与有毒、有害、易腐、易污染等物品一起堆放。

6.5 保质期

在符合规定的贮运条件、包装完整、未经开启封口的情况下，保质期为 36 个月。

附录 A

（资料性附录）

鉴别方法

A.1 一般规定

本标准所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和符合GB/T 6682 规定的实验用水。实验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

A.2 鉴别

A.2.1 HPLC 鉴别

A.2.1.1 仪器和材料

A.2.1.1.1 高效液相色谱仪（附紫外检测器）。

A.2.1.1.2 电子天平，感量为 0.01mg。

A.2.1.1.3 乙腈。

A.2.1.1.4 L-岩藻糖对照品、半乳糖对照品。

A.2.1.2 鉴别方法

A.2.1.2.1 对照品溶液的配制

准确称取 L-岩藻糖对照品、半乳糖对照品各 10mg 置烧杯中，加蒸馏水溶解，移入 10mL 容量瓶中，用水定容至刻度，待衍生化。

A.2.1.2.2 对照品溶液的衍生化

取待衍生溶液 1mL 置 5mL 具塞玻璃试管中，加入 0.3mol/L 氢氧化钠溶液 1mL，混合均匀后加入 0.5mol/L PMP 甲醇溶液 1mL 混匀，置于 70℃恒温水浴锅中反应 70min。取出后冷却至室温，加入 0.3mol/L 醋酸溶液 1mL 中和。将衍生化溶液转移至 10mL 容量瓶中，用 0.1mol/L 磷酸二氢钾缓冲溶液定容至刻度。取上述溶液 1mL 于 5mL 具塞玻璃试管中，加入三氯甲烷 2mL，涡旋混合后弃去三氯甲烷层，重复 2 次，将剩余水相过 0.45μm 水系膜，进行色谱分析。

A.2.1.2.3 未经水解的供试品溶液的配制

准确称取岩藻多糖样品 100mg 置 50mL 烧杯中，加 10mL 蒸馏水溶解，转入 25mL 容量瓶中，用 0.1mol/L 磷酸二氢钾缓冲溶液定容至刻度，待衍生化。衍生化条件同“对照品溶液的衍生化”。

A.2.1.2.4 经水解的供试品溶液的配制

准确称取岩藻多糖样品 100mg 于水解管中，加入 4mol/L 三氟乙酸溶液 10mL，混匀后充入氮气封盖，在 110℃烘箱中水解 2h 后室温冷却，加入 4mol/L 氢氧化钠溶液 10mL 中和，调节 pH 值至中性。将水解溶液转移到 25mL 容量瓶中，用 0.1mol/L 磷酸二氢钾缓冲溶液定容至刻度，待衍生化。衍生化条件同“对照品溶液的衍生化”。

A.2.1.2.5 色谱系统与系统适应性

十八烷基键合硅胶填充柱（250mm×4.6mm，5μm）或同类型柱；以乙腈－50mmol/L 磷酸二氢钾缓冲溶液（15:85，v/v）为流动相 A，以乙腈－50mmol/L 磷酸二氢钾缓冲溶液（40:60，v/v）为流动相 B，按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为 1.0mL/min，柱温为 40℃，检测波长为 250nm。理论板数按 L-岩藻糖峰计算应不低于 5000。

时间（min）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0	100	0
9	90	10
15	45	55
25	100	0

A.2.1.2.6 测定

分别吸取对照品溶液与供试品溶液各 10μL，注入液相色谱仪，测定，记录色谱图。

A.2.2 凝胶色谱鉴别

A.2.2.1 仪器和材料

A.2.2.1.1 紫外可见光分光光度计。

A.2.2.1.2 电子天平，感量为 0.01mg。

A.2.2.1.3 苯酚。

A.2.2.1.4 硫酸。

A.2.2.2 鉴别方法

A.2.2.2.1 供试品溶液的配制

准确称取岩藻多糖样品 100mg 置 50mL 烧杯中，加入 10mL 蒸馏水溶解，转入 100mL 容量瓶中，蒸馏水定容至刻度。过 0.45μm 水系膜，即得供试品溶液。

A.2.2.2.2 凝胶色谱条件

凝胶色谱柱（Sepharose 2B，粒径 60-200μm），柱温 25℃，流速 2.0mL/min，固定相为琼脂糖凝胶，流动相为 1.0%NaCl；长径比 90:1（cm/cm）；上样量为 0.2mL；苯酚—硫酸显色；480nm 可见光检测。

A.2.2.2.3 供试品平均分子量测定

根据凝胶层析分析理论中，分离目标样品与相对分子质量之间呈对数线性关系的原理，见公式（E.1）。

$$m=a-b\lg M \qquad \text{(E.1)}$$

式中：m——出峰体积（ml）；

a——常数 158.21；

b——常数 23.892；

M——相对分子质量。

以相对分子质量的对数值为横坐标，以出峰时洗脱液体积纵坐标，绘制凝胶柱标准曲线。以洗脱液体积为横坐标，以吸光度纵坐标，绘制岩藻多糖供试品凝胶色谱图。

A.3 L-岩藻糖

A.3.1 方法提要

岩藻多糖样品在酸性条件下水解，经1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮（PMP）进行衍生化后，高效液相色谱分析，外标法定量。

A.3.2 仪器和材料

A.3.2.1 高效液相色谱仪：配紫外检测器。

A.3.2.2 分析天平：感量0.01g、0.0001g。

A.3.2.3 涡旋混合器。

A.3.2.4 鼓风干燥箱。

A.3.2.5 恒温水浴锅。

A.3.2.6 氮吹仪。

A.3.2.7 超声清洗器。

A.3.2.8 水解管：耐压螺盖玻璃管或硬质玻璃管，体积20mL~30mL，用去离子水冲洗干净并烘干。

A.3.2.9 具塞玻璃离心管：5mL。

A.3.2.10 容量瓶：10mL、25mL、100mL。

A.3.2.11 对照品：L-岩藻糖、半乳糖。

A.3.2.12 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮（PMP）。

A.3.2.13 乙腈纯。

A.3.2.14 甲醇。

A.3.2.15 磷酸二氢钾。

A.3.2.16 三氟乙酸。

A.3.2.17 氢氧化钠。

A.3.2.18 三氯甲烷。

A.3.2.19 冰乙酸。

A.3.2.20 氨水。

A.3.2.21 4mol/L三氟乙酸溶液：准确量取29.7mL三氟乙酸，加水定容至100mL。

A.3.2.22 4mol/L氢氧化钠溶液：准确称取16.0g氢氧化钠，加水溶解并定容至100mL。

A.3.2.23 0.3mol/L氢氧化钠溶液：准确称取1.2g氢氧化钠，加水溶解并定容至100mL。

A.3.2.24 0.5mol/LPMP甲醇溶液：准确称取8.71gPMP，用甲醇溶解并定容至100mL。

A.3.2.25 0.3mol/L醋酸溶液：准确量取1.7mL冰醋酸，加水溶解并定容至100mL。

A.3.2.26 0.1mol/L磷酸二氢钾缓冲溶液：准确称取1.36g磷酸二氢钾，加80mL水溶解，先用氨水调节pH为6.0，再用水定容至100mL。

A.3.2.27 50mmol/L磷酸二氢钾缓冲溶液：准确称取6.8g磷酸二氢钾，加900mL水溶解，用NaOH调节pH为6.9，最后用水定容至1000mL，备用。

A.3.2.28 1.0mg/mL标准工作溶液：准确称取L-岩藻糖标准品10.0mg，用水溶解并定容至10mL，配成浓度为1.0mg/mL的标准工作液，于4℃冰箱中冷藏保存，有效期3个月。

A.3.3 操作方法

A.3.3.1 供试品溶液的配制

准确称取岩藻多糖样品 100mg 于水解管中，加入 4mol/L 三氟乙酸溶液 10mL，混匀后充入氮气封盖，在 110℃烘箱中水解 2h 后室温冷却，加入 4mol/L 氢氧化钠溶液 10mL 中和，调节 pH 值至中性。将水解溶液转移到 25mL 容量瓶中，用 0.1mol/L 磷酸二氢钾缓冲溶液定容至刻度，待衍生化。

A.3.3.2 样液的衍生化

取待衍生溶液 1mL 置 5mL 具塞玻璃试管中，加入 0.3mol/L 氢氧化钠溶液 1mL，混合均匀后加入 0.5mol/L PMP 甲醇溶液 1mL 混匀，置于 70℃恒温水浴锅中反应 70min。取出后冷却至室温，加入 0.3mol/L 醋酸溶液 1mL 中和。将衍生化溶液转移至 10mL 容量瓶中，用 0.1mol/L 磷酸二氢钾缓冲溶液定容至刻度。取上述溶液 1mL 于 5mL 具塞玻璃试管中，加入三氯甲烷 2mL，涡旋混合后弃去三氯甲烷层，重复 2 次，将剩余水相过 0.45μm 水系膜，进行色谱分析。

A.3.3.3 对照品溶液的衍生化

准确称取L-岩藻糖对照品10mg置10mL容量瓶中，加蒸馏水溶解并定容制成储备液，用水稀释成浓度分别为1μg/mL、5μg/mL、10μg/mL、50μg/mL、100μg/mL、200μg/mL的标准工作液，然后分别取1mL于5mL具塞玻璃试管中，按照A.3.3.2的操作进行衍生化，然后进行色谱分析。

A.3.3.4 色谱条件

以十八烷基键合硅胶填充柱（250mm×4.6mm，5μm）或同类型柱；以乙腈－50mmol/L磷酸二氢钾缓冲溶液（15:85，v/v）为流动相A，以乙腈－50mmol/L磷酸二氢钾缓冲溶液（40:60，v/v）为流动相B，按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为1.0mL/min，柱温为40℃，检测波长为250nm。理论板数按L-岩藻糖峰计算应不低于5000。

时间（min）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0	100	0
9	90	10
15	45	55

25	100	0

A.3.3.5 测定方法

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10μL，注入液相色谱仪，测定，记录色谱图。

A.3.4 结果计算

供试品中 L-岩藻糖含量以质量分数 w_1 计，数值以%表示，按公式（E.2）计算。

$$w_1 = \frac{A_1 \times V_1 \times C_1 \times P_1}{A_2 \times m_1} \times 100\% \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots \text{（E.2）}$$

式中：w_1——供试品中 L-岩藻糖的质量分数，%；

A_1——供试品溶液中 L-岩藻糖的峰面积；

A_2——对照品溶液中 L-岩藻糖的峰面积；

C_1——对照品溶液的浓度，mg/mL；

m_1——供试品的称样量，mg；

V_1——供试品定容体积，mL；

P_1——供试品稀释倍数。

A.3.5 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对值不得超过其算数平均值的 10%。

A.4 硫酸基（SO_4^{2-}）

A.4.1 方法提要

在岩藻多糖中，硫酸基团是以硫酸酯的形式结合在岩藻多糖上的，采用盐酸水解，使硫酸酯水解成为游离硫酸根。在酸性介质下加入钡盐沉淀硫酸根，将沉淀洗涤，干燥称重，计算其含量。

A.4.2 仪器和材料

A.4.2.1 循环水式多用真空泵。

A.4.2.2 恒温干燥箱。

A.4.2.3 1mol/L盐酸：按照GB/T 601中4.2中的方法配制。

A.4.2.4 10%氯化钡：称取50g氯化钡，用水溶解并定容至500mL。

A.4.2.5 0.1mol/L硝酸银溶液：称取硝酸银1.7g，以适量水溶解后，转移至100mL棕色容量瓶中，定容，摇匀。

A.4.3 操作方法

A.4.3.1 样品溶液制备

准确称取岩藻多糖样品 0.5g（精确至 0.0001g），放入水解管中，加入 1mol/L 盐酸 15mL，封口，在 105℃恒温烘箱中水解 4h，冷却至室温，使用快速定量滤纸过滤，收集滤液于 250mL 锥形瓶中，以少量水洗涤水解管和定量滤纸，收集所有滤液于锥形瓶中。

A.4.3.2 测定

将锥形瓶中溶液煮沸 1min 左右，趁热逐滴加入 10%氯化钡溶液 20mL，再煮沸 3min~5min。然后置于 70℃~80℃恒温水浴中陈化 2h。用玻璃 G4 砂芯漏斗（已烘至恒重）抽滤，用蒸馏水水洗涤沉淀至无氯离子。将玻璃砂芯漏斗置于 105℃恒温干燥箱中烘至恒重。

A.4.4 结果计算

硫酸基（SO_4^{2-}）含量（X），用%表示，按式（E.3）计算。

$$X=\frac{m_1}{m_0}\times\frac{96.06}{233.39}\times100 \cdots\cdots\cdots\cdots (E.3)$$

式中：m_0——试样的质量，g；

m_1——无水硫酸钡的质量，g；

96.06——硫酸根的摩尔质量，g/mol；

233.39——$BaSO_4$摩尔质量，g/mol。

A.4.5 重复性

两个平行样品结果相对偏差不得超过3%，否则重新测定。

附录B

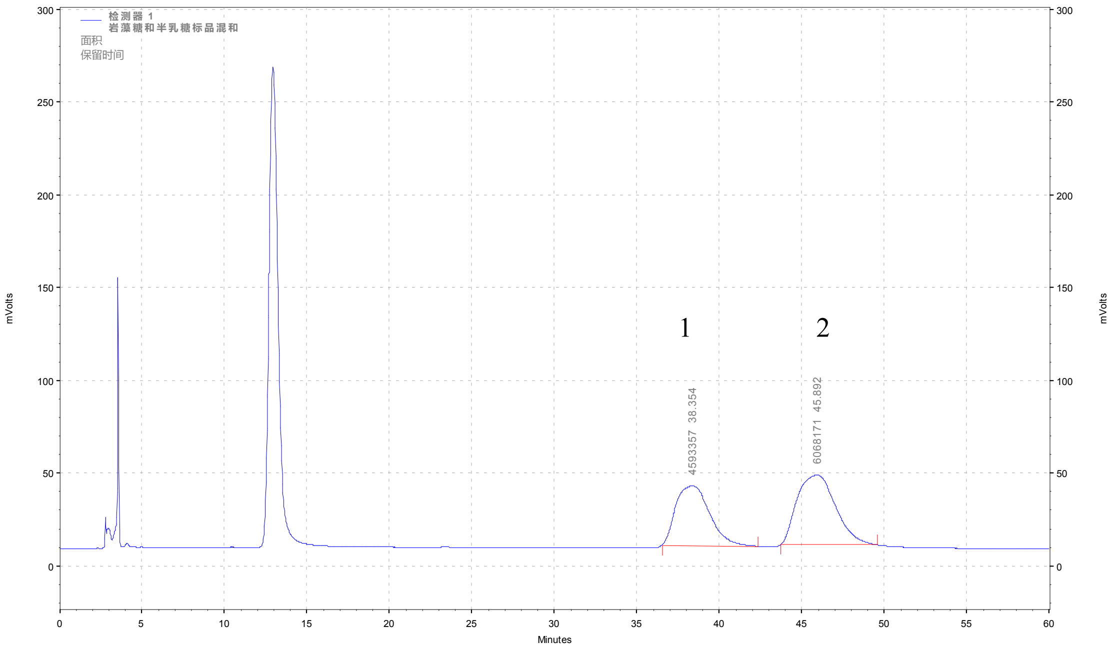
（资料性附录）

特征图谱及参考保留时间

B.1 L-岩藻糖和半乳糖对照品 HPLC 特征图谱及参考保留时间

B.1.1 L-岩藻糖、半乳糖HPLC特征图谱

L-岩藻糖（1 号峰）和半乳糖（2 号峰）HPLC 特征图谱见图 B1。



图B1 L-岩藻糖和半乳糖HPLC特征图谱

B.1.2 L-岩藻糖、半乳糖 HPLC 参考保留时间

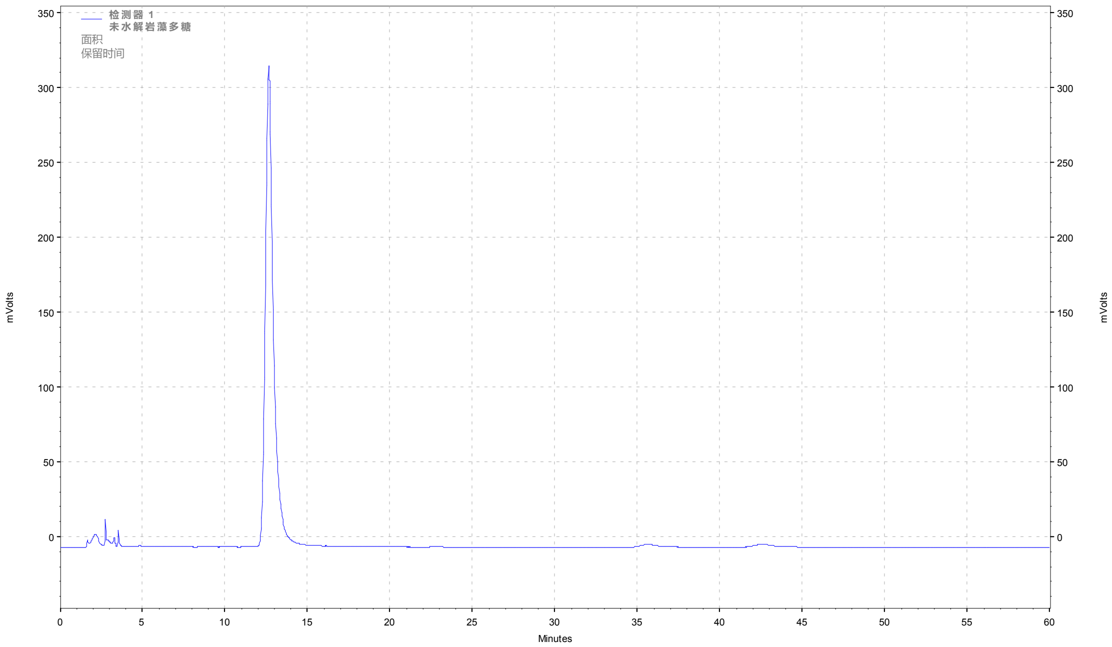
表 B1 L-岩藻糖和半乳糖 HPLC 参考保留时间

组分名称	保留时间（min）
L-岩藻糖	38.354
半乳糖	45.892

B.2 未经水解岩藻多糖供试品 HPLC 特征图谱

B.2.1 未经水解岩藻多糖HPLC特征图谱

未经水解岩藻多糖HPLC特征图谱见图B2。



图B2 未经水解岩藻多糖HPLC特征图谱

B.2.2 未经水解岩藻多糖 HPLC 参考保留时间

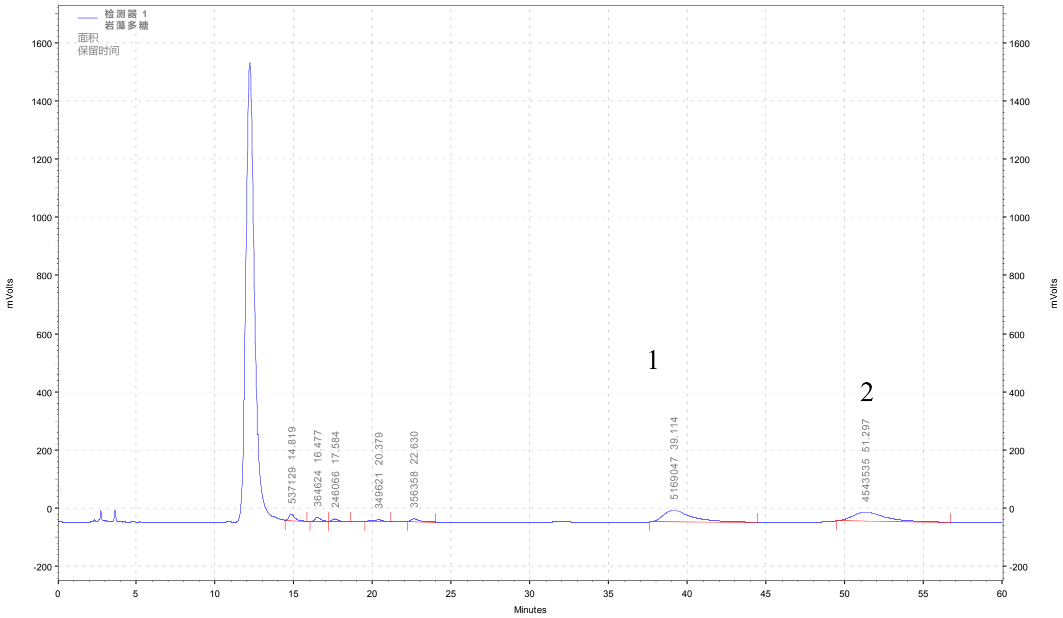
表 B2 未经水解岩藻多糖中 L-岩藻糖和半乳糖 HPLC 参考保留时间

组分名称	保留时间（min）
L-岩藻糖	0
半乳糖	0

B.3 经水解岩藻多糖供试品 HPLC 特征图谱及参考保留时间

B.3.1 经水解岩藻多糖HPLC特征图谱

经水解岩藻多糖 HPLC 特征图谱见图 B3。



图B3 经水解岩藻多糖HPLC特征图谱

B.3.2 经水解岩藻多糖 HPLC 参考保留时间

表 B3 经水解岩藻多糖中 L-岩藻糖和半乳糖 HPLC 参考保留时间

组分名称	保留时间（min）
L-岩藻糖	39.114
半乳糖	51.297

B.4 凝胶色谱鉴定岩藻多糖供试品平均分子量

B.4.1 凝胶柱标准曲线

凝胶柱标准曲线见图 B4。

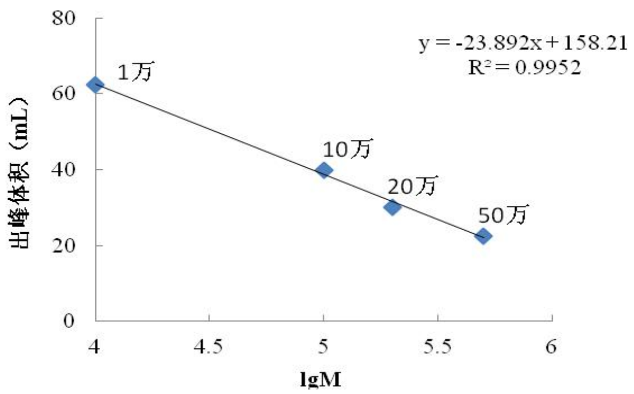


图 B4 凝胶柱标准曲线

B.4.2 岩藻多糖供试品凝胶色谱图

岩藻多糖供试品凝胶色谱图见图 B5。

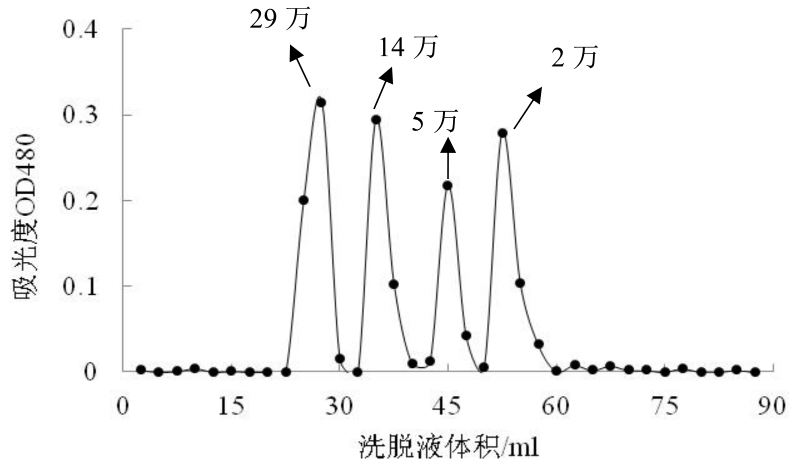


图 B5 岩藻多糖供试品凝胶色谱图

1）非商业性声明：上述所采用的设备、色谱柱、标准对照品等，涉及具体商业品牌、型号的，仅供参考，无商业目的，鼓励标准使用者尝试使用不同品牌、型号的设备、色谱柱及标准品。