**团体标准**

**《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》编制说明**

**南宁汉和生物科技股份有限公司**

**新胜利工业集团有限公司**

**2022年10月**

**一、编制背景及任务来源**

1. **标准编制背景**

我国以18亿亩耕地，养活 14亿人口，粮食供给将是一个长期存在的问题。因此，通过科学技术投入以增加粮食产量和品质，提高农民收入是我们的一项长期任务。长期以来，肥料的不合理使用导致生态环境、土壤理化性质以及微生物群落结构受到了不同程度的破坏，同时造成了资源浪费、环境污染和生产成本的增加，也导致了农产品的品质的严重下降。在化肥工业中，氮肥占主导地位，其次是磷钾肥，而氮肥的过量使用带来了一系列的环境问题，包括由于径流和淋溶导致的地表水及地下水的污染，挥发导致的空气污染，作物中硝酸盐积累量增加[1-3]，严重威胁人类健康。据报道[4]，我国耕地面积仅占世界的7%，却使用了世界的35%的氮肥，过量使用氮肥使得绝大部分农田土壤发生酸化、板结现象。氮素在影响作物产量方面占有重要地位，适当提高氮肥的施用量可提高作物产量在许多作物种植中都得到了证明。

因此，如何提高肥料利用率，最大限度地发挥其在农业生产中的增产增收作用成为亟待解决的问题。在复合肥料中添加具有促进植物生长，促进养分吸收利用的生物刺激素无疑是目前较为有效的解决办法之一。

褐藻寡糖是以海藻为原料，经过酸解、碱解或酶解使得海藻多糖水解得到聚合度2-20的寡糖片段。褐藻寡糖通过促进激素含量、蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的活力，能够明显增强细胞内的激素含量，从而对细胞的生长进行调控。可打破种子休眠促进萌发；促进根和茎叶生长；保花保果；促进果实成熟。褐藻寡糖能增强植物抗逆性：褐藻寡糖处理能诱导植物增强多种抗逆酶类，使体内的抗逆指标明显增强，对引起细胞损伤的物质进行清除，调控植株生长状况从而提高植物的抗逆能力。褐藻寡糖的羧基含有负电荷基团，负电荷结合了氮肥中的氨、铵态氮，在特定的条件下形成络合物，缓慢释放氮养分，抑制其向硝态氮及亚硝态氮的转化，最终达到减少氮素损失及长期供氮的目的，从而提高了氮肥的利用率。

近年来，随着人们对食品安全意识日益增强，褐藻寡糖作为机理清析，效果显著的生物刺激素[5-6]，且具有提高肥料利用率的作用。将褐藻寡糖与复合肥料结合，生产含褐藻寡糖的复合肥料符合科学发展和国家减施增效政策。当前市场上含褐藻寡糖产品众多，效果良莠不济，缺乏简便且行之有效的鉴别方法。

因此，本标准的制定，意义在于通过测定复合肥料中的褐藻寡糖含量，能够为当前市售的众多宣传含褐藻寡糖复合肥料的真假鉴别提供借鉴。

1. **任务来源**

《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》标准涉及测定褐藻寡糖含量，属于新制定标准，由南宁汉和生物科技股份有限公司提出。

**二、编制过程**

1. **项目启动**

为确保团体标准《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》编制工作的顺利开展，2022年6月，南宁汉和生物科技股份有限公司组建了项目编制组，明确工作职责，定期召开会议研究工作。项目课题组按**GB/T1.1、GB/T1.2的要求，**各编写小组人员开展了资料收集与分析、方法优化与调查等相关工作。从科研与生产实践两方面出发，进行前期广泛调查及数据收集，汇集各方面的资料，确定了编制时间进度安排，编写了《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》（征求意见稿）。

1. **收集国内外相关资料**

**（1）相关研究资料**

编制工作启动后，收集同行相关研究报告，征求了相关院校、生产单位、国内同行和专家的意见，汇总整理，形成了标准编制所需的基础资料。

**（2）国内相关标准概况**

根据检索，截止2022年7月30日，目前我国现行的国标及行业标准中，还没有相应的测定复合肥料中褐藻寡糖含量的方法，有必要建立复合肥料中褐藻寡糖含量测定的标准，规范实验室现有分析手段。本标准制定及实施后，能够填补复合肥料中褐藻寡糖含量分析方法的空白。本方法适应目前场地调查的要求，分析方法准确、适用。

**（3）国外相关标准概况**

目前为止，暂未查询到关于复合肥料中褐藻寡糖含量测定方面的国际标准和国外标准等。

1. **标准编写**

项目课题组按照《中华人民共和国标准化法》、《团体标准管理规定》的要求，起草了团体标准《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》（讨论稿）。

9月，项目编制组充分讨论《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》（讨论稿），再次对讨论稿进行了详细研究，并修改完善形成《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》（征求意见稿）。

1. **征求意见**

4月，项目编制组通过讨论，充分征求相关院校、国内同行和专家对《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》（征求意见稿）的意见，并修改完善标准，形成《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》（送审稿）。

**三、编制原则和主要内容确定**

1. **编制原则**

标准制定以保证适用的前提下，内容力求完整、准确、易于理解，充分注重标准的科学性、先进性、适用性、经济合理性、安全可靠性、切实可行及协调统一性为基本原则。编制本标准遵循如下依据：

GB/T1.1-2020《标准化工作导则第1部分：标准化文件的结构和起草规则》

GB/T27417-2017《合格评定化学分析方法确认和验证指南》

GB/T27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测

1. **主要内容确定**

本标准规定了复合肥料中褐藻寡糖含量测定的检测方法、检出限及定量限，适用于测定复合肥料中褐藻寡糖含量。

**（1）检测方法**

原理：利用酶解法生产的褐藻寡糖因其通过β消除形成双键的糖醛酸结构在波长235nm处有稳定吸收，吸收值与褐藻寡糖浓度呈正比例线性关系，通过计算可得褐藻寡糖的含量。

方法：

称取一定量的含褐藻寡糖复合肥料样品试样于100ml容量瓶中用去离子水溶解瓶并定容，摇匀，过滤。再准确移取1.00ml溶液于10ml比色管中，用去离子水定容，摇匀。标准工作溶液和试样溶液同时在235nm波长下，用1cm石英比色皿测定吸光值，并以褐藻寡糖的浓度为横坐标，吸光值为纵坐标绘制曲线。

试样中的褐藻寡糖含量W%按以下公式计算：

$$w=\frac{x∙V∙f}{m×10^{3}}×100$$

式中：

X——由标准曲线查出的试样溶液中褐藻寡糖的含量，mg/ml；

V——试样的定容体积，ml；

f——试样溶液的稀释倍数；

m——试样的称样质量，g。

**（2）仪器及试剂**

 a）分光光度计

b) 分析天平：感应量为0.0001g。

 c) 褐藻寡糖标准品：含量≥95%；

**（3）检出限及定量限**

参照国际纯粹与应用化学联合会（IUPAC）和GB/T 5009.1-2003的方法，以3倍空白值标准偏差作为检出限，10空白值标准偏差作为定量限[6]。称样量为1g,定容体积为1mL时，检出限为0.13mg/kg，定量限为0.46mg/kg。

**（4）标准曲线的建立和线性范围的确定**

取褐藻寡糖储备液（1.0mg/ml），用去离子水配制成浓度分别是0mg/ml、0.02mg/ml、0.04mg/ml、0.06mg/ml、0.08mg/ml、0.10mg/ml的标准工作溶液。（参考浓度，可根据实际需要调整）。

由低质量浓度到高质量依次对标准系列溶液测定，以标准系列溶液中目标组分浓度为横坐标，以其对应的吸光值纵坐标，建立校准曲线。校准曲线的相关系数≥0.999，否则重新绘制校准曲线。

表3 标准曲线

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 编号 | 浓度mg/ml | 吸收值A |
| Std1 | 0 | 0 |
| Std2 | 0.02 | 0.192 |
| Std3 | 0.04 | 0.374 |
| Std4 | 0.06 | 0.558 |
| Std5 | 0.08 | 0.736 |
| Std6 | 0.10 | 0.918 |
| 回归曲线 | y = 9.0868 x + 0.0054 |
| 相关系数 | R2=0.9999 |

**（5）标准方法的验证数据**

 详见验证报告。

**四、标准实施建议**

1. **广泛宣传**

《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》作为复合肥料中褐藻寡糖含量的评估的参考，各相关单位应充分利用多种形式广泛宣传，营造一个良好氛围。

1. **组织实施**

待标准发布后，相关单位应尽快制定指导计划，促使相关单位和个人组织实施。

1. **评价和改进**

定期对《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》开展科学性、有效性、适宜性的评价，通过评价工作发现目前标准中存在问题和改进的方向，对现有标准进行完善。

**五、标准水平**

**（一）、与现有标准及修订中的标准协调配套情况**

本文件与现有标准及修订中的标准协调配套，未发现冲突情况。

**（二）、涉及国内外专利及处置情况**

经查，本文件没有涉及国内外专利。

**六、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系**

本文件与有关现行法律、法规和强制性国家标准具有一致性，无冲突之处。

**七、重大分歧意见的处理经过和依据**

无。

**八.标准作为强制性或推荐性国家（或行业）标准的建议**

无。

**九.贯彻标准的要求和措施建议**

无。

**十、废止现行有关标准的建议**

无。

**十一、其他应予以说明的事项**

无。

《复合肥料中褐藻寡糖含量的检测方法》

 标准编制组

2022年10月30日

**参考文献**

1. Kellman L.M., Hillaire Marcel C., Evaluation of nitrogen isotopes as indicators of nitrate contamination sources in an agricultural watershed.Agriculture，Ecosystems and Environment，2003(95): 87-102
2. Lægreid M.,Bockman, O.C., Kaarstad O., New York: Agriculture, Fertilizers and the Environment. CABI Publishing, 1999
3. Yan X., Jin J.Y., He P, et al., Recent Advances in Technology of Increasing Fertilizer Use Efficiency. Agricultural Sciences in China, 2008.4(7): 450~459
4. 张涛.从氮肥的诸多反思看低碳经济: 政府应该引导农民合理用肥.中国农资， 2010(03):19~19.
5. 刘瑞志.褐藻寡糖促进植物生长与抗逆效应机理研究：[D].青岛:中国海洋大学.2009
6. 张运红.[高活性寡糖筛选及其促进植物生长的生理机制研究](https://wwwwvip.lunwen.in:8086/KNS8/download?filename=JVjRzl1Nx50bMVDbFVmMKRDWFVnTklDZ5Z1S5ljeyQmUoJHRO9maUlzbKpWcqljSupWMQdlQqhVejFHTzsUSjtCUQhldllUQTdDMwUlc3YUaxBncwADbPlFbHd2TvJ0bMF2K5JWMixGSHZ0V5EUbpl1bhB1RC9SU&tablename=CDFD1214&dflag=nhdown&ArticleTitle=%0A      %E9%AB%98%E6%B4%BB%E6%80%A7%E5%AF%A1%E7%B3%96%E7%AD%9B%E9%80%89%E5%8F%8A%E5%85%B6%E4%BF%83%E8%BF%9B%E6%A4%8D%E7%89%A9%E7%94%9F%E9%95%BF%E7%9A%84%E7%94%9F%E7%90%86%E6%9C%BA%E5%88%B6%E7%A0%94%E7%A9%B6%0A      -%E5%BC%A0%E8%BF%90%E7%BA%A2&FileType=pdfdown&dflag=pdfdown&ddata=1011405197.nh|CDFD1214|%0A      %E9%AB%98%E6%B4%BB%E6%80%A7%E5%AF%A1%E7%B3%96%E7%AD%9B%E9%80%89%E5%8F%8A%E5%85%B6%E4%BF%83%E8%BF%9B%E6%A4%8D%E7%89%A9%E7%94%9F%E9%95%BF%E7%9A%84%E7%94%9F%E7%90%86%E6%9C%BA%E5%88%B6%E7%A0%94%E7%A9%B6%0A      |%E5%BC%A0%E8%BF%90%E7%BA%A2|%E5%8D%8E%E4%B8%AD%E5%86%9C%E4%B8%9A%E5%A4%A7%E5%AD%A6|%0A%E5%8D%9A%E5%A3%AB%0A|null&siteid=www.51xialunwen.com&username=62823509&userid=1220554" \t "https://wwwwvip.lunwen.in:8086/kns/brief/_blank)：[D].武汉：华中农业大学,2011