《透明质酸钠》行业标准（征求意见稿）
编制说明

一、工作简况

（一）、任务来源

本项目被工业和信息化部列入2020年第三批行业标准制修订和外文版项目计划（工信厅科函〔2020〕263号），项目编号为2020-1774T-QB，由中国食品发酵工业研究院有限公司牵头，全国食品工业标准化技术委员会工业发酵分技术委员会归口。

（二）、主要工作过程

QB/T 4576-2013 《透明质酸钠》行业标准自发布以来已实施多年，随着产品种类创新和质量提升，现有标准中某些指标、方法不再适应市场需求。为了规范行业生产、引导行业健康发展，根据行业需要，对透明质酸钠行业标准进行修订。

（1）起草阶段：

2020年11月标准任务下达后，中国食品发酵工业研究院积极开展调研工作，并于2020年12月公开发文征集起草单位，组建了标准起草工作组。

2021年4月在济南召开第一次起草工作组会议，针对前期收集整理的文献资料，研讨新标准制定思路，分析讨论标准制定关键问题。根据会议讨论情况，整理形成标准草案、启动会会议纪要、后续项目进度及分工安排等材料。

2021年7月15日，在安徽蚌埠组织召开了第二次标准工作组会议，根据标准质量提升要求以及行业发展现状针对标准中的质量安全指标进行了交流讨论，并形成标准讨论稿、会议纪要。

2021年8月至2022年4月，起草组针对透明质酸钠含量检测方法开展相关研究工作，完成了分光光度计法和高效液相色谱法的优化、建立和验证工作。

2022年5月26日起草组召开研讨会，讨论并明确了透明质酸钠含量测定方法实验室比对工作实施方案。

2022年7月至8日，组织7家实验室开展并完成2项透明质酸钠含量测定方法实验室比对工作，并对比对结果进行整理分析。

2022年8月24日，在北京组织召开第三次起草工作组会议，交流总结前期工作内容，结合样品数据讨论完善技术要求内容和实验方法，形成讨论征求意见稿。

（2）征求意见阶段：.....。

（3）审查阶段：.....。

（4）报批阶段：.....。

（三）、主要参加单位及工作组成员所作的工作

本标准由中国食品发酵工业研究院有限公司等单位共同负责起草。

工作组成员：暂略。

工作内容：中国食品发酵工业研究院有限公司负责起草，收集、整理国内外相关标准和技术资料，制定研究方案，标准起草和编制说明等，以及组织、协调、审核等工作。其他起草单位协助搜索技术资料并研究分析，方法验证比对，样品检测及数据整理，参与研究方案确定，对本标准各版本涵盖的全部内容提出编写和修改意见。

二、标准编制原则和主要内容

透明质酸(hyaluronic acid, HA)是由 D-葡萄糖醛酸与 N-乙酰氨基葡萄糖以β-1,3 糖苷键相连，双糖之间则由β-1,4 糖苷键连接而成，是一种直链高分子酸性黏多糖。商品化的透明质酸通常以其钠盐形式存在，即为透明质酸钠（sodium hyaluronate）。透明质酸钠溶于水后，分子高度伸展并相互缠绕连接，形成连续的网状结构，使其能吸收和保持其自身质量 1000 倍的水分。由于其独特的流变学特性、黏弹性、润滑性、成膜性、修复性，在医学领域、化妆品领域、食品等领域有着广泛的应用。

2008 年原卫生部发布《中华人民共和国卫生部公告（2008 年 第 12 号）》批准透明质酸钠为新资源食品应用于保健食品；2013 年，根据行业发展需要，《QB/T4576 透明质酸钠》行业标准正式发布实施；2021 年 1 月，国家卫健委发布透明质酸钠等 15 种“三新食品”的公告，批准透明质酸钠作为新食品原料应用于乳及乳制品、饮料类、酒类、可可制品、巧克力和巧克力制品、糖果、冷冻饮品中，并规定了相应的食用量。

随着透明质酸钠市场规模和食品应用领域的进一步稳定和扩大，2013 年版标准中对透明质酸钠的产品类型及规格要求已无法满足市场及企业生产应用的需要。因此行业迫切需要对标准内容和要求进行修订。

（一）、标准编制原则

1、以科学为依据

以科学技术和实验数据为依据，采用统计评估方法，结合行业情况和企业生产检测数据，

经过科学研究而修订。

2、以保证食品安全、保护人民健康为原则

标准的制定以保证食品安全、保护人民健康为基本原则。制定产品标准可规范产品质量，引导行业健康发展，对项目设置和指标进行认真研究，最大限度地保证产品的安全和质量水平。

2、与国际标准接轨

我国加入 WTO 后，与国际贸易接轨，向世界先进水平靠拢是国内生产企业发展的必经之路。起草工作组通过对相关的国内外标准、技术资料的分析，结合国内产品的生产工艺、质量水平及检验水平的实际情况，本着使标准趋向科学性、先进性及合理适用的原则进行标准修订工作。

（二）、本标准主要内容的论据、解决的主要问题

1. 范围

在标准适用范围中明确该标准适用的透明质酸钠的生产工艺。“本文件适用于以葡萄糖、酵母粉、蛋白胨等为原料，由马链球菌兽疫亚种经发酵生产而成的透明质酸钠的生产、检验和销售”。

2. 规范性引用文件

更新了了本标准中涉及引用的标准等相关文件。

3. 术语和定义

参考国内外标准法规定义描述，明确透明质酸钠是透明质酸的钠盐，即“透明质酸钠由β-D-N-乙酰氨基葡萄糖和β-D-葡萄糖醛酸为结构单元的以β-1,4-糖苷键连成的一种链状高分子酸性粘多糖的钠盐”。并注明了“透明质酸钠”、“透明质酸”和“玻尿酸”的关系。

4. 分子式、相对分子质量及结构式

根据原卫生部 2008 年 12 号公告和卫健委 2020 年 9 号公告，明确透明质酸钠的相对分子质量，并更新国际原子量表。修正了 2013 年版标准结构式的编辑性错误。

5. 产品分类

删除产品分类。

6. 要求和试验方法

本标准在卫健委 2020 年 9 号公告和 2013 版标准的基础上，综合对比分析了美国食品化学品法典（FCC 12）、日本药典、韩国药典及收集到的部分国内企业标准，并结合透明质酸钠产品实际情况参考确定。根据产品特性设定了鉴别、感官要求、理化要求、安全要求。

（1） 鉴别

增加了红外光谱和钠盐焰色反应的鉴别要求，并规定了红外光谱和焰色反应的检测方法。

（2） 感官要求

产品感官特性与生产原料、产品类型、生产工艺有关，本标准根据征集到的产品样品实际情况给出产品基本的感官要求。与 2013 年版标准相比增加了颗粒产品的感官特点及杂质要求；删除 2013 年版感官要求中的溶解特性，相关描述不在感官要求中进行描述。

（3） 理化要求

本标准在 2013 年标准及卫健委 2020 年 9 号公告的基础上，综合对比分析国内外标准法规要求，根据标准会议讨论意见，结合产品实际检测情况，理化要求中依据透明质酸钠含量对相关产品进行了分等分级，其中，透明质酸钠含量大于等于 95%为优级、大于等于 90%为一级；水分和灰分要求与 2013 年版一致；删除透光率指标要求。

A 透明质酸钠含量

① 酸解-分光光度计法（附录 A）

2013 年版标准中规定了酸解-分光光度计法测定透明质酸钠含量的方法。其原理为利用硫酸将透明质酸钠酸解为等摩尔比的葡萄糖醛酸和 N-乙酰氨基葡萄糖，通过葡萄糖醛酸含量的测定计算透明质酸钠的含量。本次修订优化了样品的前处理过程，采用重量稀释法，避免了由于透明质酸钠溶液粘性大等特点造成的稀释误差。

② 酶解-HPLC 法（附录 B）

对于透明质酸钠含量的测定，本次修订增加了酶解-HPLC 法，其原理是利用透明质酸酶可作用于透明质酸钠的β-1,4-糖苷键，使透明质酸钠水解产生 N-乙酰氨基葡萄糖-葡萄糖醛酸双糖，利用高效液相色谱法测定 N-乙酰氨基葡萄糖-葡萄糖醛酸双糖产物的含量，进而计算出透明质酸钠的含量。

起草组针对两种方法分别开展了方法学考察和实验室间比对，结果表明，两种方法结果满足一致性要求，在统计学上不具有差异。。

B 水分和灰分

水分：按 GB 5009.3-2016 规定的第一法“直接干燥法”进行测定，明确温度为 103℃±2℃，干燥时间为 4h。

灰分：明确灰分按 GB 5009.4-2016 规定的第一法“总灰分”进行测定。

C pH

pH 指标要求与原标准一致。试验方法中明确无二氧化碳蒸馏水的配制及结果表述方式。

（4） 安全要求

基于 2013 年版标准及卫健委 2020 年 9 号中的安全指标要求，结合透明质酸钠行业产品生产工艺和实际情况，具体包括：

重金属：铅（Pb）和砷（As）的限量由原来的 10mg/kg 和 0.5mg/kg 分别加严至 0.5mg/kg 和 0.3mg/kg。

微生物指标中霉菌和酵母菌为不超过 100CFU/g；增加菌落种数不超过 1000 CFU/g、大肠菌群不超过 3.0 MPN/g 的限量要求；结合透明质酸钠的生产工艺、原辅料，以及行业检测数据，删除上一版标准中沙门氏菌的限量要求。

7. 检验规则

按照最新标准要求规范表述。与 2013 年版标准相比，出厂检验增加了水分、菌落总数、霉菌和酵母和大肠菌群。

8. 标志、包装、运输、贮存

分别对标志、包装、运输及贮存作了详细且规范的要求。

三、主要试验（或验证）情况

标准制定过程中分别对透明质酸钠及其制品的感官、透明质酸钠含量、水分、灰分等质量指标及重金属、微生物等安全指标进行了测定。对于本次修订的透明质酸钠含量新增方法进行了方法学考察，并比较了酸解法和酶解法的测定结果。具体方法验证情况如下。

1、透明质酸钠含量 高效液相色谱法

透明质酸酶可作用于透明质酸钠的β-1,4-糖苷键，使透明质酸钠酶解产生 N-乙酰氨基葡萄糖-葡萄醛酸双糖，利用高效液相色谱法测定已知浓度透明质酸钠对照品酶解产生双糖产物的含量，计算透明质酸钠的含量。

1.1 分析步骤和检测条件：见标准文本；

1.2 方法学考察

a 线性范围

分别移取透明质酸钠对照品溶液 0.05 mL、0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL 于 15 mL 具塞刻度试管中，加入磷酸盐缓冲溶液至 9 mL，然后加入 1mL 透明质酸酶，混匀，37℃~42 ℃水浴中酶解 1 h。沸水浴 2 min，终止反应。冷却至室温后，用 0.22 μm 滤膜过滤，按 B.3.3 所述色谱条件进行分析，记录峰面积。以透明质酸钠对照品系列工作液溶液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。以透明质酸钠对照品系列标准工作溶液浓度为横坐标，

峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。结果表明，在 0.01-0.2 mg/mL 范围内，线性良好，线性方程为：y = 3×10^7x + 672.44，相关系数 R^2 为 1。

表 5 标准曲线

序号	浓度 mg/mL	储备液体积 mL	缓冲液体积 mL	峰面积
1	0.01	0.10	4.90	255357
2	0.02	0.20	4.80	514918
3	0.05	0.50	4.50	1313637
4	0.10	1.00	4.00	2619483
5	0.20	2.00	3.00	5209376

b 重复性实验

选取一代表性透明质酸钠产品，平行制备 6 个平行样。经测定，6 个结果的相对标准偏差为 3.29%。结果满足方法学要求。

表 6 重复性实验

序号	峰面积	浓度 mg/mL	RSD%
1	1415.851	0.472	3.29
2	1496.030	0.498	
3	1400.076	0.466	
4	1508.218	0.503	
5	1448.913	0.483	
6	1508.764	0.503	

c 精确度实验

透明质酸钠样品酶解液重复进样 6 次，6 个结果的相对标准偏差为 3.95%，精确度良好。

表 7 精确度实验

序号	浓度 mg/mL	峰面积	RSD%
1	0.081	1656.053	3.95
2	0.074	1508.530	
3	0.074	1507.928	
4	0.074	1507.073	
5	0.074	1506.012	
6	0.074	1509.370	

d 加标回收率实验

称取 0.1 g 样品（精确至 0.001 g）至 100 mL 容量瓶中，加入 50 mL 磷酸盐缓冲溶液后，42 ℃水浴超声 30 min。充分溶解后以磷酸盐缓冲溶液定容并摇匀。再取 1 mL 样品溶液于 10 mL 容量瓶中，分别加入 0 mL（空白）、0.5 mL（水平 1）、1.0 mL（水平 2）和 1.5 mL（水平 3）对照品储备液（0.5 mg/mL），磷酸盐缓冲溶液定容并混匀后，按照附录方法 A.4.3 和 A.4.4 进行酶解和检测（每个水平平行制备 3 份）。结果表明：三个水平的回收率为 86.35~94.73%之间，相对标准偏差均小于 5%，满足回收率和精密度要求。具体结果见表 8。

表 8 加标回收率实验

添加浓度 mg/mL	浓度 mg/mL	加标回收率%	RSD%	浓度平均值 mg/mL
空白	0.0425	/	4.76	0.0421
	0.0416			
0.025	0.0670	102.40	1.48	0.0677
	0.0673			
	0.0688			
0.05	0.0863	93.60	2.57	0.0889
	0.0897			
	0.0906			
0.075	0.1166	97.78	1.72	0.1154
	0.1197			
	0.1100			

e 透明质酸钠样品测定

选择行业具有代表性的透明质酸钠样品，采用酶解-HPLC 法测定其含量，并依据本标准中规定的透明质酸钠含量对相关产品进行分级。结果表明，征集到的 13 个产品的透明质酸钠含量均大于 90%，其中 8 个产品的含量大于 95%，占比 62%。具体测定结果和登记见表 9。

表 9 透明质酸钠样品测定结果

序号	测定结果	判定
HA-P-01	99.90	优级品
HA-P-02	95.70	优级品
HA-P-03	97.10	优级品
HA-P-04	96.50	优级品
HA-P-05	94.90	一等品
HA-P-06	90.50	一等品
HA-P-07	98.70	优级品
HA-P-08	94.10	一等品
HA-P-09	94.08	一等品
HA-P-10	92.94	一等品
HA-P-11	96.12	优级品
HA-P-12	95.56	优级品
HA-P-13	99.55	优级品

2 酸解法和酶解法的比较

针对透明质酸钠含量测定的两种方法（方法一、方法二），选取 5 个样品，在同一实验室内分别采用两种方法测定其中的透明质酸钠含量，结果见下表 10。

表 10　同一实验室内分别采用两种方法测定透明质酸钠含量结果

样品	酶解法	酸解法	相对相差%
SCFF-HA-P-01	99.19	98.19	1.01
SCFF-HA-P-02	98.22	97.25	0.99
SCFF-HA-P-03	98.71	98.95	0.24

SCFF-HA-P-04	98.50	97.34	1.18
SCFF-HA-P-05	97.65	95.87	1.84

由表 10 可以看出，分别采用方法一、方法二对 5 个样品开展透明质酸钠含量测定，测定结果的相对相差均小于 2%，说明方法一、方法二无显著性差异，一致性良好。

3 实验室间方法比对

为验证透明质酸钠原料中透明质酸钠含量测定方法，起草组组织实验室进行透明质酸钠含量测定的两种方法（酸解法和酶解法）。

3.1 实验样品

名 称	编 号	规 格
样品 1	SCFF-HA-P-01	约 4 g
样品 2	SCFF-HA-P-02	约 2 g
样品 3	SCFF-HA-P-03	约 2 g
样品 4	SCFF-HA-P-04	约 2 g
样品 5	SCFF-HA-P-05	约 2 g

3.2 回收率和精密度

A 酶解法

实验室编号	回收率%			RSD%
	添加水平 1（0.05mg/mL）	添加水平 2（0.10mg/mL）	添加水平 3（0.15mg/mL）	
Lab01	101	104	105	1.99~3.37
Lab02	97.4	97.87	99.45	0.15~0.35
Lab04	96.4	98.7	99.3	0.30~1.40
Lab05	104.3	102.5	103.1	0.45~0.86
Lab06	101.73	92.79	92.72	0.73~2.05

B 酸解法

实验室编号	回收率%		RSD%
	添加水平 1	添加水平 2	
Lab01	99	94	0.82~1.16
Lab04	100.4	100.1	0.4~1.1
Lab06	96.64	96.81	0-0.77

3.3 样品测定结果

A 酶解法

样品编号	Lab01	Lab02	Lab04	Lab05	RSD%
SCFF-HA-P-01	100.08	97.6	95.0	97.89	2.13
SCFF-HA-P-02	94.80	97.83	94.9	98.59	2.04
SCFF-HA-P-03	93.74	98.42	96.5	100.65	3.01
SCFF-HA-P-04	96.28	96.02	95.2	97.98	1.21
SCFF-HA-P-05	96.54	98.24	95.1	96.11	1.36

B 酸解法

样品编号	Lab01	Lab04	Lab06	RSD%
SCFF-HA-P-01	95.89	97.80	100.89	2.57

SCFF-HA-P-02	97.97	93.70	100.07	3.34
SCFF-HA-P-03	99.70	96.00	101.16	2.69
SCFF-HA-P-04	98.60	95.10	98.31	2.00
SCFF-HA-P-05	94.26	95.20	98.15	2.12

四、标准中涉及专利的情况

本标准不涉及专利问题。

五、预期达到的社会效益、对产业发展的作用等情况

本标准符合国内外产品的要求，在市场经济中占有十分重要的地位，本标准通过深入研究和市场调研确定了产品的各项质量安全指标，并依据透明质酸钠含量指标对透明质酸钠产品进行了分等分级，提升和保障了产品的品质。因此本标准的修订有效指导产品品质评价和进一步规范透明质酸钠市场发展，对我国透明质酸钠产业具有重要意义。

六、与国际、国外对比情况

本标准没有采用国际标准。

本标准在 2013 年版标准、原卫生部 2008 年第 12 号公告及卫健委 2020 年 9 号公告的基础上，综合对比分析了 FCC 第 12 版、日本药典及收集到的部分国内企业标准，并结合市场上透明质酸钠制品产品实际情况确定。

本标准制定过程中未测试国外的样品、样机。

本标准水平为国内先进水平。

七．在标准体系中的位置，与现行相关法律、法规、规章及相关标准，特别是强制性标准的协调性

本标准与现行法律、法规、规章和政策以及有关基础和强制性标准不矛盾。在食品工业标准体系中属于“07 其他新型发酵制品 01 功能性发酵制品”。

八．重大分歧意见的处理经过和依据

无。

九．标准性质的建议

建议本标准的性质为推荐性行业标准。

十、贯彻标准的要求和措施建议

建议本标准批准发布 6 个月后实施。本标准实施时，代替 QB/T 4576-2013 《透明质酸钠》。

十一、废止现行相关标准的建议

无。

十二、其他应予说明的事项

无。

附表 1 透明质酸钠相关标准法规技术指标对比表

项目	指标	本标准	2008 年公告	QB/T4576-2013	2020 年 9 号公告	美国 FCC	日本药典	韩国 KFDA（HA）
质量指标	含量	≥95%，≥90%	≥87%	≥87%（酸解法）	≥87%	≥95%	90.0-105.5%（酸解法）	≥90%
	水分	≤10%	≤10%	≤10%	≤10%	干燥失重≤20%	干燥失重≤15%	10
	灰分	≤13%	≤13%	≤13%	≤13%	-	-	5
	pH	6.0-8.0	6.0-8.0	6.0-8.0	6.0-8.0	6.0-8.0	-	2.5-3.5
	透光率	-	-	≥99%	-	-	溶液清澈度和颜色	/
鉴别	-	红外光谱和钠盐	-	-	-	红外光谱和钠盐	红外光谱和钠盐	焰色反应
重金属	Pb（mg/kg）	≤0.5	-	≤10	≤0.5	≤1	-	≤2.0
	As（mg/kg）	≤0.3	-	≤2	≤0.3	≤2	-	≤2.0
微生物	霉菌和酵母	10	-	≤100	-	-	10 CFU/g	
	沙门氏菌	-	-	不应检出/25g	-	-	-	
	大肠埃希氏菌	-	-	-	-	-	-	大肠杆菌阴性
	大肠菌群	3.0	-	-	-	-	-	-
	菌落总数	1000	-	-	-	-	100 CFU/g	1000
其他	氯化物	-	-	-	-	≤0.5%	≤0.124%	-
	粘度	-	-	-	-	标识值的 90-120%	乌氏粘度计（ 10.0-19.5 dL/g 或 25.0-55.0 dL/g）	-