ICS 67.180
CCS X69

QB

# 中华人民共和国轻工行业标准

QB/T 4576—XXXX
代替 QB/T4576-2013

# 透明质酸钠

Sodium hyaluronate

（报批稿）

XXXX - XX - XX 发布　　XXXX - XX - XX 实施

中华人民共和国工业和信息化部　发布

工业和信息化部标准报批公示

# 前　　言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则　第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替QB/T4576-2013《透明质酸钠》，与QB/T4576-2013相比，除编辑性修改外，主要技术变化如下：

a）　更改了“相对分子质量”和“结构式”（见4.2、4.3，2013年版的4.2、4.3）；

b）　删除了产品分类（见2013年版的5）；

c）　增加了“鉴别”和试验方法（见5.1、6.2）；

d）　删除了“净含量”（见2013年版的5.1）；

e）　删除了“理化要求”的“透光率”指标（见2013年版的6.2）；

f）　增加了“理化指标”的产品分级（见5.3）；

g）　更改了“铅”和“砷”的指标要求，增加了“菌落总数”、“大肠菌群”的指标要求，删除了“沙门氏菌”的指标要求（见5.4,2013年版的6.3）；

h）　增加了透明质酸钠含量的测定方法（见附录B）。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国食品工业标准化技术委员会工业发酵分技术委员会（TC64/SC5）归口。

本文件起草单位：华熙生物科技股份有限公司、安徽丰原发酵技术工程研究有限公司、山东焦点福瑞达生物股份有限公司、中国食品发酵工业研究院有限公司、武汉中科光谷绿色生物技术有限公司、广东省食品工业研究所有限公司、通标标准技术服务（青岛）有限公司、山东省药学科学院、汤臣倍健股份有限公司、东阿阿胶股份有限公司、浙江养生堂天然药物研究所有限公司、安徽师范大学。

本文件主要起草人：郭学平、刘明、胡富贵、康传利、李翔宇、许配勤、吕明春、刘飞、殷光玲、王延涛、黄志明、黄建忠、付杰、纪传侠、刘磊、陈楠楠、唐孝鹏、王宗、黄翠玲、徐桂欣、张秀华、黄玲、刘海滨、常凯丽、王校冬、彭雪菲、段小波、王磊磊、郭新光。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2013年首次发布QB/T4576-2013；

——本次为第一次修订。

工业和信息化部标准报批公示

# 透明质酸钠

## 1 范围

本文件规定了透明质酸钠的鉴别、感官、理化、安全等要求，描述了相应的试验方法，规定了检验规则和标志、包装、运输、贮存的内容，并给出了分子式、结构式和相对分子质量的信息。

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

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成文本必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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/T191 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 菌落菌数测定
GB 4789.3-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数
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 5009.3-2016 食品安全国家标准 食品中水分的测定
GB 5009.4-2016 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

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

**透明质酸钠 sodium hyaluronate**

由$\beta$-D-N-乙酰氨基葡萄糖和$\beta$-D-葡萄糖醛酸以$\beta$-1,3-糖苷键连接而成的双糖结构单元，再以$\beta$-1,4-糖苷键连成的一种链状高分子酸性黏多糖透明质酸的钠盐。

注：商品化的透明质酸钠也被称为“透明质酸”、“玻尿酸”等。

## 4 分子式、相对分子质量及结构式

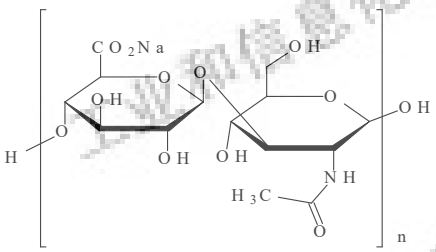
4.1 分子式

$(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n$

4.2 相对分子质量

80 200-4 010 000（按 2021 年国际相对原子质量表）。

4.3 结构式：




5 要求

5.1 鉴别

5.1.1 透明质酸钠

符合透明质酸钠的红外吸收光谱特征。红外吸收光谱图与透明质酸钠标准红外吸收光谱图（图1）一致。

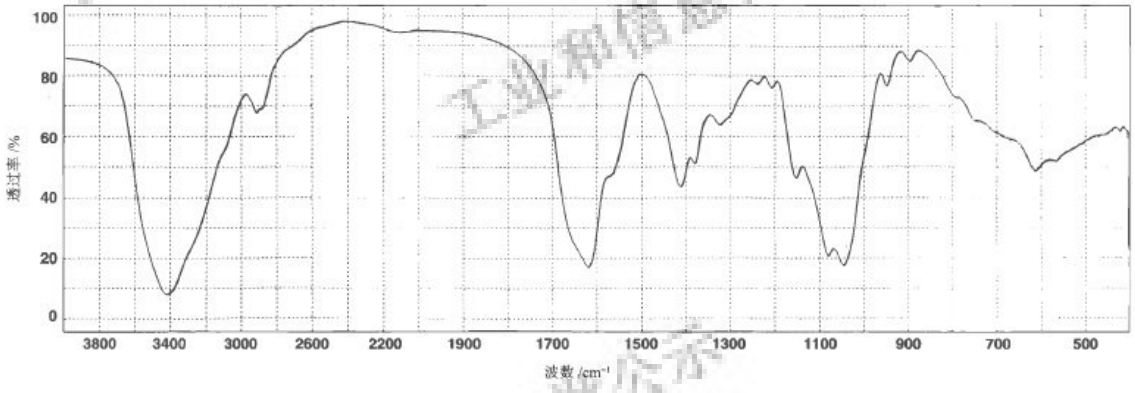



图1：透明质酸钠标准红外吸收光谱图

5.1.2 钠

符合钠盐的焰色反应特征，即火焰呈鲜黄色。

5.2 感官要求

产品为白色或类白色的粉末或颗粒，无正常视力可见杂质。

5.3 理化指标

应符合表 1 的规定。

表 1 理化指标

| 项目 | 指标 |
| --- | --- |

| | 优级品 | 一级品 | 合格品 |
|---|---|---|---|
| 透明质酸钠含量（以干基计），g/100g ≥ | 95 | 90 | 87 |
| 水分，g/100g ≤ | 10.0 | | |
| 灰分，g/100g ≤ | 13.0 | | |
| pH（0.1%水溶液） | 6.0~8.0 | | |

### 5.4 安全指标

应符合表 2 的规定。

表 2 安全指标

| 项 目 | 指 标 |
|---|---|
| 铅（以 Pb 计）/（mg/kg） ≤ | 0.5 |
| 砷（以 As 计）/（mg/kg） ≤ | 0.3 |
| 霉菌和酵母/（CFU/g） ≤ | 100 |
| 菌落总数/（CFU/g） ≤ | 1000 |
| 大肠菌群/（MPN/g） ≤ | 3.0 |

## 6 试验方法

### 6.1 一般要求

本文件所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和符合 GB/T6682-2008 规定的三级水。试验中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品，在没有注明其他要求时，均按 GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603 的规定制备。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

### 6.2 鉴别

#### 6.2.1 透明质酸钠

采用溴化钾压片法，取经 105℃烘箱烘干 2 h 后样品，使用压片装置，在常压或真空条件下加压成型制成透明状片剂，利用红外光谱仪进行扫描，扫描范围 4000cm$^{-1}$~400cm$^{-1}$。对比样品的红外吸收光谱图与标准红外吸收光谱图。

根据设备条件，亦可采用直接进样法。

#### 6.2.2 钠

用盐酸润湿铂丝，在火焰上燃烧至无色，再用盐酸润湿铂丝后蘸取少许透明质酸钠样品在火焰上燃烧，观察火焰颜色。

### 6.3 感官

取适量样品，在自然光线下，用肉眼观察样品的颜色和形态。

### 6.4 透明质酸钠含量（以干基计）

按附录 A 或附录 B 进行测定，其中附录 A 为仲裁法。

### 6.5 水分

按 GB 5009.3-2016 规定的第一法“直接干燥法”的步骤进行测定，其中干燥时间为 4h。

### 6.6 灰分

按 GB 5009.4-2016 规定的第一法“总灰分”进行测定。

6.7 pH

6.7.1 试剂和溶液

无二氧化碳蒸馏水：按 GB/T 603-2002 中 4.1.1.1 规定制备。

6.7.2 仪器和设备

pH 计：精度为 0.01。

6.7.3 测定步骤

称取 0.1 g 透明质酸钠样品（精确至 0.01 g）加入 100 mL 无二氧化碳蒸馏水，磁力搅拌或 40 ℃水浴加热等方式溶解，用 pH 计测定溶液的 pH。结果保留一位小数。

6.8 铅（以 Pb 计）

按 GB 5009.12 规定的方法进行测定。

6.9 砷（以 As 计）

按 GB 5009.11 规定的方法进行测定。

6.10 霉菌和酵母

按 GB 4789.15 规定的方法进行测定。如样品无法溶解，可添加适量无菌透明质酸酶以助于样品溶解。

6.11 菌落总数

按 GB 4789.2 规定的方法进行测定。如样品无法溶解，可添加适量无菌透明质酸酶以助于样品溶解。

6.12 大肠菌群

按 GB 4789.3-2016 中规定的 MPN 法进行测定。如样品无法溶解，可添加适量无菌透明质酸酶以助于样品溶解。

## 7 检验规则

7.1 一般要求

产品按本文件规定进行检验，合格的产品附有生产厂质量检测部门签发的质量合格证明，方可出厂。

7.2 组批

以同一次投料生产、同一规格、同一品种的均一质量的产品为一批。

7.3 抽样与留样

7.3.1 抽样

从整批产品中抽取样品时，应先从整批中抽取若干包装单位，然后再从抽出的包装单位

中抽取均匀试样。取样数量按照表 3 执行。

表 3 产品抽样表

| 批量范围（最小外包装单位） | 抽取样本数（最小外包装单位） | 每个样本抽取单位包装数[a]（瓶、袋） |
|---|---|---|
| ＜100 | 2 | 1 |
| 100~500 | 4 | 1 |
| ＞500 | 6 | 1 |
| [a]单位包装数指大包装中的小包装单位 | | |

7.3.2 取样方法

取样时，用清洁、干燥的取样工具插入包装袋的三分之二。每袋取样100 g，将抽取的样品迅速混匀，用四分法缩分，然后分装于两个清洁干燥的取样袋中，密封。贴上标签，一份用于检测，另一份密封储存备查。

7.4 出厂检验

出厂检验项目为感官、透明质酸钠含量（以干基计）、pH、水分、菌落总数、霉菌和酵母和大肠菌群。

7.5 型式检验

型式检验项目为本文件要求中规定的全部项目。一般情况下，型式检验每 6 个月进行 1 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)国家监督管理机构按有关规定需要抽检时。

7.6 判定规则

检验结果若发现产品有一项不符合本文件要求时，应重新从两倍量包装中抽取样品进行复验，以复验结果为准。如仍有一项不合格，则判该批产品为不合格品。检验结果若发现产品有两项及以上不符合本文件要求时，则判该批产品为不合格品。

## 8 标志、包装、运输、贮存

8.1 标志

外包装标志应符合 GB/T 191 的规定。预包装产品标签应符合 GB 7718 的规定。对有特殊要求的标志，按需方要求进行标志。

8.2 包装

应采用符合相应行业产品包装要求的包装材料，经检验合格后方可使用。严格密封，以防产品吸潮和漏出。对有特殊要求的包装，按需方要求进行包装。

8.3 运输

工业和信息化部标准报批公示

运输工具应清洁；不应与有毒、有害、有腐蚀性和含有异味的物品混装、混运，避免受潮、受压、曝晒；装卸时应轻搬、轻放。

8.4 贮存

产品应贮存在干燥、通风的常温仓库内，严禁与有毒有污染的物品或其他杂物混存。

工业和信息化部标准报批公示

# 附　录 A

（规范性）

## 透明质酸钠含量 分光光度计法

### A.1 原理

透明质酸中含有等量摩尔比的 N-乙酰氨基葡萄糖和葡萄糖醛酸，用硼砂作催化剂对透明质酸钠用硫酸进行酸解，能将葡萄糖醛酸分离出来。葡萄糖醛酸与咔唑反应形成有机络合物，该络合物显示特有的紫色，其吸光度和葡萄糖醛酸的浓度成正比。通过葡萄糖醛酸的含量能确定透明质酸钠的含量。

### A.2 试剂和溶液

A.2.1 标准品：D-葡萄糖醛酸，CAS 6556-12-3，纯度不小于 98%。
A.2.2 浓硫酸：优级纯。
A.2.3 咔唑。
A.2.4 硼砂。
A.2.5 无水乙醇。
A.2.6 咔唑乙醇溶液（0.1%）：称取 0.125 g 咔唑（精确至 0.001 g）溶于 100 mL 无水乙醇中，置于棕色瓶中。4℃~8℃防爆冰箱保存，有效期 2 个月；或室温下避光保存，有效期 15 天。
A.2.7 D-葡萄糖醛酸标准溶液（0.2 mg/mL）：精确称取 20 mg D-葡萄糖醛酸标准品（按实际纯度折算，精确至 0.0001 g），置 100 mL 容量瓶中，加水溶解并定容至刻度，摇匀备用。
A.2.8 硼砂-硫酸溶液（0.025 mol/L）：称取 4.77 g 硼砂（精确至 0.001 g）溶于 500 mL 浓硫酸中，保存于密封的玻璃细口瓶中备用。

### A.3 仪器和设备

A.3.1 旋涡混合器。

A.3.2 分光光度计，可测定 530nm 波长下的吸光度。

### A.4 标准曲线的绘制

分别量取葡萄醛酸标准溶液（A.2.7）0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、2.5 mL，置于 10 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，得 10 μg/mL、20 μg/mL、30 μg/mL、40 μg/mL 和 50 μg/mL 浓度的标准品溶液。取 6 只具塞刻度试管分别加入不同浓度的标准品溶液各 1.0 mL，之后分别加入硼砂硫酸液 5.0 mL，置冰浴中冷却 15min。先轻轻振摇，再用旋涡混合器充分混匀。将试管置沸水中加热 10 min，取出再置于冰水浴或流水中冷却至室温。分别加入咔唑溶液(A.2.6）0.2 mL 于冷却后的试管中，混匀，沸水浴中再加热 15 min 后，冷却至室温。用 10 mm 比色皿于 530 nm 处测定吸光值，以吸光值为纵坐标，浓度为横坐标绘制标准曲线。

### A.5 分析步骤

A.5.1 称取透明质酸钠样品约 0.1 g（$m$，精确至 0.0001 g）于具塞锥形瓶中，加水至 100g（$w_1$，精确至 0.01g），磁力搅拌至充分溶解。再称取上述溶液约 4.0 g（$w_2$，精确至 0.01g）置 50 mL（$V$）容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀。

A.5.2 吸取 1 mL 样品溶液，加入 5mL 硼砂硫酸液，置冰浴中冷却 15min。先轻轻振摇，再用旋涡混合器充分混匀。将试管置沸水中加热 10 min，再置于冰水浴或流水中冷却至室温。分别加入 0.2mL 咔唑试液，混匀，沸水浴中再加热 15 min，之后冷却至室温。以 1 cm 比色皿用分光光度计于 530nm 处测定吸光度。

## A.6 计算

透明质酸钠含量（以干基计）按公式（1）计算。

$$X_2 = \frac{c \times w_1 \times 10^{-6} \times V \times 100 \times 401.3}{w_2 \times m \times (1 - w_3/100) \times 194.1} \quad \text{.....(A.1)}$$

式中：

$X_2$——样品中透明质酸钠含量（以干基计），单位为克每百克（g/100g）；

$c$——根据样品的吸光度，从标准曲线上查出相应的葡萄醛酸浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)；

$w_1$——样品溶液的质量，单位为克（g）；

$10^{-6}$——微克和克的转换系数；

$V$——样品定容的体积，单位为毫升(mL) ；

100——克和百克的转换系数；

401.3——透明质酸钠双糖结构单元的相对分子质量；

$w_2$——移取样品溶液的质量，单位为克（g）；

$m$——样品质量，单位为克（g）；

$w_3$——样品的水分，单位为克每百克（g/100g）；

194.1——D-葡萄糖醛酸的相对分子质量。

结果保留至 1 位小数。

## A.7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的 2%。

工业和信息化部标准报批公示

# 附　录　B

（规范性）

## 透明质酸钠含量 高效液相色谱法

### B.1 原理

透明质酸酶能作用于透明质酸钠的 $\beta$-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。以透明质酸钠的浓度为横坐标，透明质酸钠水解生成的 N-乙酰氨基葡萄糖-葡萄醛酸双糖峰面积为纵坐标绘制标准曲线。通过水解生成的 N-乙酰氨基葡萄糖-葡萄醛酸双糖峰面积能计算样品中透明质酸钠的含量。

### B.2 试剂和耗材

B.2.1 透明质酸钠对照品（CAS：9067-32-7，纯度不小于 99%）

B.2.2 透明质酸酶（酶活不小于 4000 IU/mL）

B.2.3 二水合磷酸二氢钠 $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$

B.2.4 十二水合磷酸氢二钠 $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$

B.2.5 磷酸 $H_3PO_4$

B.2.6 磷酸盐缓冲溶液（0.2 mol/L，pH6.0）：称取 27.4 g 二水合磷酸二氢钠（B.2.3）和 8.8 g 十二水合磷酸氢二钠（B.2.4）于 1000 mL 烧杯中，用水溶解后转移至 1000 mL 容量瓶中，用 1mol/L 磷酸溶液或 1mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 为 6.0，加水定容，并摇匀。

B.2.7 透明质酸钠对照品溶液（1.0 mg/mL）：称取 50 mg 透明质酸钠对照品（按实际纯度折算，精确至 0.1 mg）于容量瓶中，加入 40 mL 磷酸盐缓冲溶液溶解，超声至充分溶解后，磷酸盐缓冲溶液定容并摇匀。

B.2.8 透明质酸酶溶液（1000 IU/mL）：移取适量透明质酸酶（B.2.2）于 10 mL 容量瓶中，磷酸盐缓冲液溶解并定容。现用现配。

B.2.9 流动相（1%磷酸溶液）：移取 10.0 mL 磷酸（B.2.5）于 800 mL 水中，混匀后转移至 1000 mL 容量瓶中，加水定容并混匀。

### B.3 仪器与设备

B.3.1 高效液相色谱，配有紫外检测器。

B.3.2 色谱柱：磺化交联苯乙烯二乙烯基苯共聚物强阳离子交换色谱柱（300mm×8mm），或其他等效色谱柱。

B.3.3 参考色谱条件：流速：0.6 mL/min；进样量：20 μL；柱温：40 ℃；检测波长：232 nm。

## B.4 分析步骤

### B.4.1 标准曲线的绘制

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（B.2.6）至 9 mL，然后加入 1mL 透明质酸酶（B.2.8），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。对照品溶液浓度分别为 0.005 mg/mL、0.010 mg/mL、0.020 mg/mL、0.050 mg/mL、0.100 mg/mL、0.200 mg/mL。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。

### B.4.2 样品前处理

称取 0.1 g 样品（精确至 0.001 g）至 100 mL 容量瓶中，加入 80 mL 磷酸盐缓冲溶液后，42 ℃水浴超声至充分溶解后磷酸盐缓冲溶液定容。

### B.4.3 酶解反应

移取 0.5 mL B.4.2 处理后的样品溶液至 15 mL 具塞刻度试管中，加入 8.5mL 缓冲溶液。再加入 1.0 mL 透明质酸酶溶液，并混匀，37℃~42 ℃水浴中酶解 1 h。然后沸水浴 2 min，终止反应。冷却至室温。

### B.4.4 测定

移取适量 B.4.3 处理后酶解液经 0.22 μm 滤膜过滤。滤液按照 B.3.3 的色谱条件进行分析，并记录峰面积。

## B.5 计算

透明质酸钠含量（以干基计）按公式（2）计算：

$$X = \frac{c \times V \times f \times 100}{m \times (1 - w_3/100) \times 1000} \quad \text{.....（B.1）}$$

其中：

*X*——透明质酸钠的含量（以干基计），单位为克每百克（g/100g）；

$c$——根据样品溶液的峰面积，通过标准曲线计算得到的样品溶液中透明质酸钠的含量，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

$V$——样品溶解后的体积，单位为毫升（mL）；

$f$——样品溶液的稀释倍数；

100——克和百克的换算系数；

$m$——样品的称样量，单位为克（g）；

$w_3$——样品的水分，单位为克每百克（g/100g）；

1000——毫克和克的换算系数。

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，保留一位小数。

B.6 精密度

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算术平均值的 2%。

工业和信息化部标准报批公示

# 附　录　C

（资料性）

## 透明质酸钠高效液相色谱图

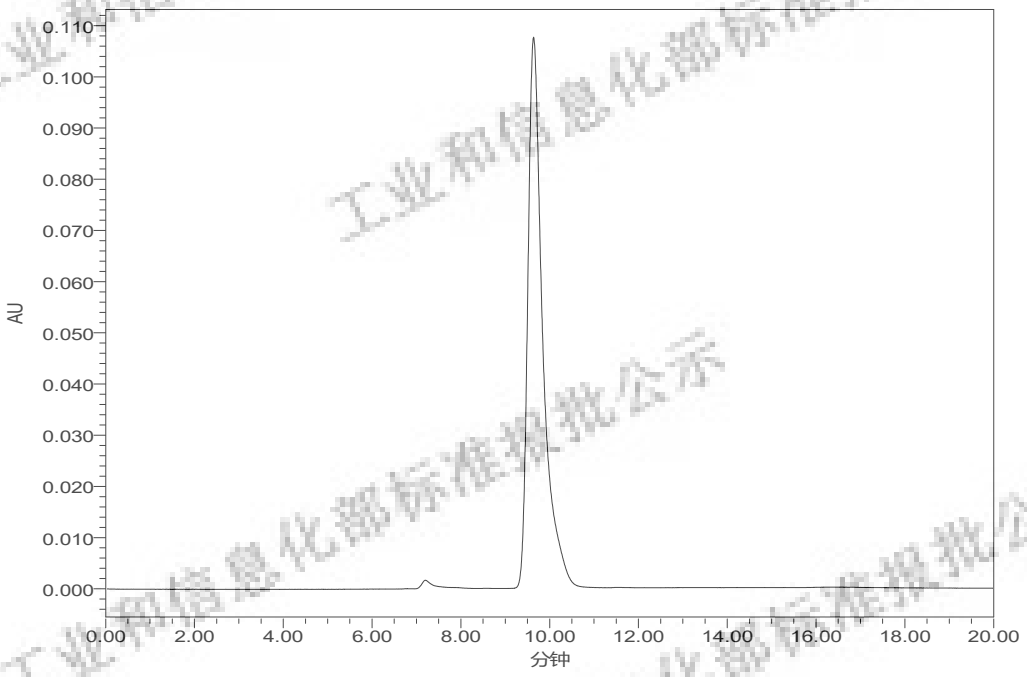



图 C.1 透明质酸钠对照品的色谱图

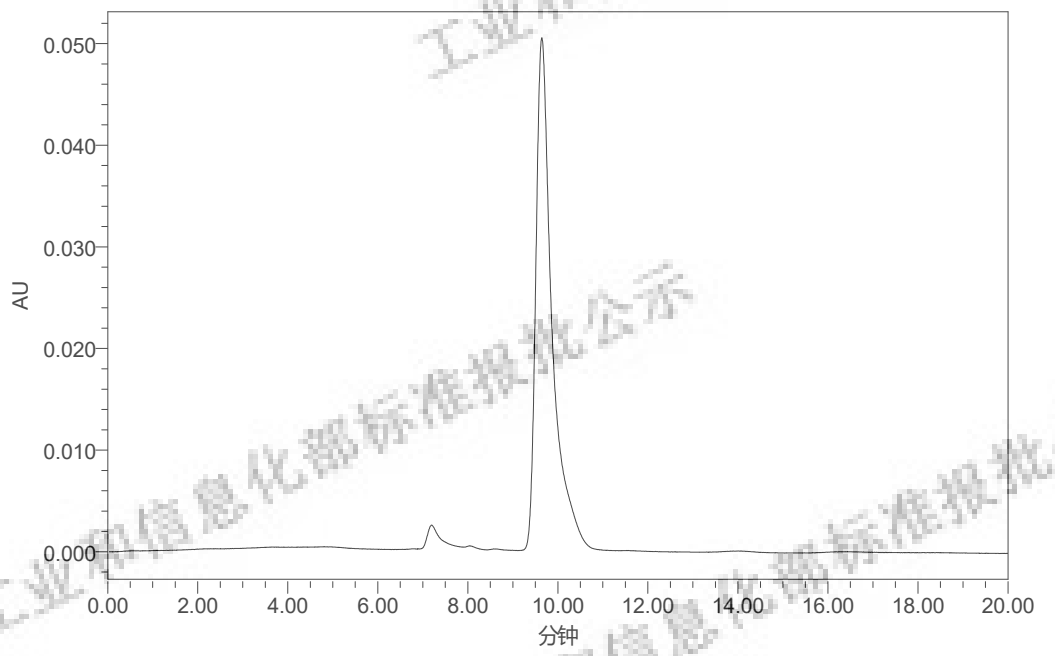



图 C.2 透明质酸钠样品的色谱图

工业和信息化部标准报批公示