

团 体 标 准

T/CNFIA 155—2022

透明质酸钠饮品

Sodium hyaluronate drinks

2022-06-30 发布

2022-06-30 实施

中国食品工业协会 发布

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。

本文件由华熙生物科技股份有限公司提出。

本文件由中国食品工业协会归口。

本文件起草单位：华熙生物科技股份有限公司、中国食品发酵工业研究院、山东省食品药品审评查验中心、山东省食品药品检验研究院。

本文件主要起草人：郭学平、宋永民、陈玉娟、王秀娟、郭新光、李启艳、陈楠楠、贺韵雅、王晓慧、付杰、杨慧珠、宫衍革、田昕、任月辉。

透明质酸钠饮品

1 范围

本文件规定了透明质酸钠饮品的技术要求、生产加工过程卫生要求、检验规则、标志、包装、运输与贮存。

本文件适用于透明质酸钠饮品的生产、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本文件必不可少的条款。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 1886.2 食品安全国家标准 食品添加剂 碳酸氢钠
- GB 1886.228 食品安全国家标准 食品添加剂 二氧化碳
- GB 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量
- GB 4789.1 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则
- 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 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数
- 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/T 4789.21 食品卫生微生物学检验 冷冻饮品、饮料检验
- GB 5749 生活饮用水卫生标准
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB 7101 食品安全国家标准 饮料
- GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则
- GB 8537 食品安全国家标准 饮用天然矿泉水
- GB 8538 食品安全国家标准 饮用天然矿泉水检验方法
- GB/T 10789 饮料通则
- GB/T 10792 碳酸饮料(汽水)
- GB 12695 食品安全国家标准 饮料生产卫生规范
- GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则
- JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则
- 国家质量监督检验检疫总局令(2005)第75号 定量包装商品计量监督管理办法
- 国家卫生健康委员会(2020)第9号公告 关于蝉花子实体(人工培植)等15种“三新食品”的公告

3 术语和定义

GB 7101、GB 10789 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

透明质酸钠 sodium hyaluronate

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黏多糖的钠盐。

注：商品化的透明质酸钠也被称为“透明质酸”“玻尿酸”和“玻璃酸”等。

3.2

透明质酸钠饮品 sodium hyaluronate drinks

以透明质酸钠、饮用纯净水、饮用天然矿泉水及其他类饮用水为原料,添加或不添加碳酸氢钠、二氧化碳,经加工、包装制成的产品。

4 技术要求

4.1 原辅料

4.1.1 水

应符合 GB 5749、GB 8537 的规定。

4.1.2 二氧化碳

应符合 GB 1886.228 的规定。

4.1.3 碳酸氢钠

应符合 GB 1886.2 的规定。

4.1.4 透明质酸钠

应符合《关于蝉花子实体(人工培植)等 15 种“三新食品”的公告》中有关透明质酸钠的规定。

4.2 感官指标

应符合表 1 的规定。

表 1 感官指标

| 项 目 | 指 标 | 检 验 方 法 |
|-------|---------------|--|
| 色泽 | 无色 | 取一定量混合均匀的被测样品置 50 mL 无色透明烧杯中,在自然光下观察色泽,鉴别气味,用温开水漱口,品尝滋味后,检查其有无异物 |
| 滋味与气味 | 具有本品特有的滋味,无异味 | |
| 性状 | 澄清透明液体 | |
| 杂质 | 无正常视力可见外来异物 | |

4.3 理化指标

应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

| 项目 | | 指标 | 检验方法 |
|------------------------------|-----------------|---------|------------|
| 透明质酸钠含量/(g/L) | ≤50 mL 包装 | 1.0~2.0 | 附录 A 或附录 B |
| | 51 mL~500 mL 包装 | 0.1~0.2 | |
| 二氧化碳气容量 ^a (20℃)/倍 | | ≥1.5 | GB 10792 |

^a 适用于添加了碳酸氢钠、二氧化碳的透明质酸钠饮品。

4.4 污染物限量

应符合 GB 2762 的规定。

4.5 微生物限量

应符合表 3 的规定。

表 3 微生物限量

| 项目 | 采样方案 ^a 及限量 | | | | 检验方法 |
|---------------------|-----------------------|----------|-----------------|-----------------|-------------------|
| | <i>n</i> | <i>c</i> | <i>m</i> | <i>M</i> | |
| 菌落总数/(CFU/mL) | 5 | 2 | 10 ² | 10 ⁴ | GB 4789.2 |
| 大肠菌群/(CFU/mL) | 5 | 2 | 1 | 10 | GB 4789.3 中的平板计数法 |
| 沙门氏菌/(/25 mL) | 5 | 0 | 0 | — | GB 4789.4 |
| 铜绿假单胞菌/(CFU/250 mL) | 5 | 0 | 0 | — | GB 8538 |
| 霉菌/(CFU/mL) | ≤ | 20 | | | GB 4789.15 |
| 酵母/(CFU/mL) | ≤ | 20 | | | GB 4789.15 |

^a 样品采样及处理按 GB 4789.1 和 GB/T4789.21 执行。

4.6 净含量及允许短缺量

应符合《定量包装商品计量监督管理办法》的规定,净含量及允许短缺量使用 JJF 1070 规定的方法检验。

5 生产加工过程卫生要求

应符合 GB 12695 的规定。

6 检验规则

6.1 组批

同一班次,同一条生产线生产的包装完好的同一种产品为一组批。

6.2 抽样

批量在 250 箱以下,随机抽取 6 箱,每箱取样 12 瓶,其中 7 瓶用于检验,其余 5 瓶留样备查。

6.3 出厂检验

包括感官指标、透明质酸钠含量、菌落总数、大肠菌群、霉菌、酵母和净含量。

6.4 型式检验

6.4.1 正常生产时每半年进行一次,有下列情况之一时应进行型式检验:

- 新产品投产前;
- 出厂检验结果与上次型式检验有较大差异;
- 更换主要设备、主要原辅材料或更改关键工艺可能影响产品质量时;
- 停产三个月及以上,再恢复生产时。

6.4.2 检验项目为本文件规定的全部项目。

6.5 判定规则

6.5.1 检验项目全部符合本文件的规定,判该批产品为合格产品。

6.5.2 微生物限量指标如有一项不符合要求,即判该批产品为不合格。其他项目如有一项以上(含一项)不合格,应在同批产品中加倍抽样复验,以复验结果为准。若复验项目仍有一项不合格,则判该批产品为不合格品。

7 标志、包装、运输和贮存

7.1 标志

7.1.1 产品包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的规定,标签应符合 GB 7718、GB 28050 及 GB/T 10789 的规定。

7.1.2 标签及说明书应按照《关于蝉花子实体(人工培植)等 15 种“三新食品”的公告》中有关透明质酸钠的规定,标签及说明书标注不适宜人群,并标注推荐食用量 ≤ 200 mg/d。

7.1.3 透明质酸钠饮品可以标识为“玻尿酸饮品”,但应同时标示透明质酸钠的添加量或含量。

7.2 包装

产品包装应符合国家相关规定。

7.3 运输

7.3.1 产品运输工具应清洁无污染,运输产品时应避免日晒、雨淋,不应与有毒、有害、有异味或影响产品质量的物品混装混运。

7.3.2 搬运时应轻拿轻放,严禁扔摔、撞击、挤压。

7.4 贮存

产品应贮存在阴凉、通风、干燥的成品库中。不应与有毒、有害、有异味、易挥发、易腐蚀的物品混贮。

附录 A

(规范性)

透明质酸钠饮品中透明质酸钠含量的测定 高效液相色谱法

A.1 试剂和材料

除另有说明外,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

A.1.1 试剂

A.1.1.1 二水合磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

A.1.1.2 十二水合磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)。

A.1.1.3 磷酸(H_3PO_4)。

A.1.1.4 氢氧化钠(NaOH)。

A.1.1.5 盐酸(HCl)。

A.1.1.6 透明质酸酶(HAase, EC4.2.2.1, 酶活力不低于 5 000 IU/mL)。

A.1.2 试剂配制

A.1.2.1 磷酸盐缓冲液(pH 值 6.0):称取二水合磷酸二氢钠 27.4 g、十二水合磷酸氢二钠 8.8 g,置 1 000 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,得 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液。

A.1.2.2 氢氧化钠溶液(0.1 mol/L):称取 2.0g 氢氧化钠,溶于 50.0mL 水中,混匀,转移至聚乙烯瓶中,密闭放置。

A.1.2.3 盐酸溶液(0.1 mol/L):取 8.33 mL 浓盐酸(37%),用水定容至 1 L。

A.1.2.4 透明质酸酶溶液:用磷酸盐缓冲液将透明质酸酶稀释至酶活力约为 5 000 IU/mL。

A.1.3 标准品

透明质酸钠标准品 $[(\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}_{11}\text{Na})_n]$,CAS:9067-32-7,纯度不低于 98.0%。

A.1.4 标准溶液配制

A.1.4.1 透明质酸钠标准储备溶液(1.0 mg/mL):称取 50 mg 透明质酸钠标准品(精确至 0.1 mg)于 50mL 容量瓶中,加入约 30 mL 磷酸盐缓冲液,涡旋振荡使其分散均匀,待完全溶解后,用磷酸盐缓冲液定容至刻度,摇匀,即得。

A.1.4.2 透明质酸钠标准系列工作溶液:分别移取透明质酸钠标准储备溶液 0.00 mL、0.05 mL、0.10 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.80 mL、1.00 mL 于 10 mL 离心管中,补加磷酸盐缓冲液至 5 mL,再加入 1 mL 透明质酸酶溶液,混匀,42 °C 水浴中酶解 2 h。沸水浴 2 min,终止反应。冷却至室温后,将上述酶解液转移至 10 mL 容量瓶中,用磷酸盐缓冲液定容并摇匀,得到浓度范围在 0.005 mg/mL~0.1 mg/mL 的标准系列工作溶液。

A.1.5 材料

微孔滤膜:0.22 μm ,水相。

A.1.6 仪器和设备

A.1.6.1 高效液相色谱仪:配紫外检测器或二极管阵列检测器。

A.1.6.2 分析天平:感量为 0.01 g 和 0.1 mg。

A.1.6.3 酸度计:精度为 0.01 pH。

A.1.6.4 旋涡混合器。

A.1.6.5 恒温水浴锅。

A.1.6.6 容量瓶:10 mL 和 50 mL。

A.1.6.7 烧杯:10 mL。

A.1.6.8 离心管:10 mL。

A.2 样品制备

A.2.1 样品前处理

取样品适量(相当于透明质酸钠 10 mg),置于烧杯中,加入 3 mL~5 mL 磷酸盐缓冲液,混匀。用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液或 0.1 mol/L 盐酸溶液调节 pH 值至 6.0 后,用磷酸盐缓冲液转移并定容至 10 mL 容量瓶中,混匀。

A.2.2 酶解

准确移取 0.50 mL 上述处理后的样品溶液至 10 mL 离心管中,补加磷酸盐缓冲液至 5 mL,再加入 1 mL 透明质酸酶溶液,混匀,42 °C 水浴中酶解 2 h。沸水浴 2 min,终止反应。冷却至室温后,将上述酶解液转移至 10 mL 容量瓶中,用磷酸盐缓冲液定容并摇匀。经 0.22 μm 水相滤膜过滤后供高效液相色谱测定。

A.3 分析步骤

A.3.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:MCI GEL CK08EH 色谱柱(8×300 mm,9 μm),或性能相当者;
- b) 柱温:40 °C;
- c) 流动相:1%磷酸;
- d) 流速:0.6 mL/min;
- e) 检测波长:232 nm;
- f) 进样量:20 μL。

A.3.2 标准曲线的制作

将透明质酸钠标准系列工作溶液经 0.22 μm 滤膜过滤后,分别注入高效液相色谱仪中,按所述色谱条件进行分析,记录峰面积,以透明质酸钠标准系列工作溶液浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算直线回归方程。

A.3.3 样品测定

样品溶液经高效液相色谱仪分析,测得峰面积,根据标准曲线得到样品溶液中透明质酸钠的浓度,计算样品中透明质酸钠的含量。

A.3.4 平行试验

按上述步骤,对同一试样进行两次平行测定。

A.3.5 空白试验

除不加试样外,采用完全相同的测定步骤进行测定。

A.4 分析结果

透明质酸钠饮品中透明质酸钠的含量按公式(A.1)计算:

$$X = \frac{c \times V_2 \times f}{V_1} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

X —— 饮品中透明质酸钠的含量,单位为克每升(g/L);

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,单位为克每升(g/L);

V_2 —— 酶解液总体积,单位为升(L);

f —— 样品溶液的稀释倍数;

V_1 —— 样品取样体积,单位为升(L);

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,保留三位有效数字。

A.5 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其算术平均值的 10%。

A.6 准确度

方法的回收率为 90%~115%。

A.7 色谱图

透明质酸钠标准溶液、样品供试溶液 MCI GEL CK08EH 色谱柱色谱图见图 A.1 和图 A.2。

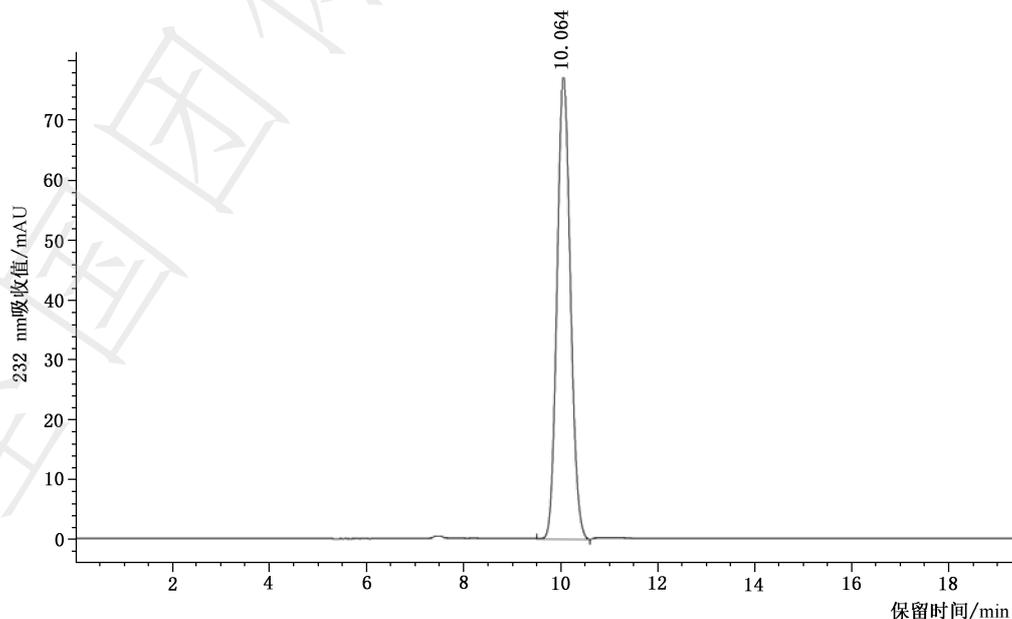


图 A.1 透明质酸钠标准溶液 MCI GEL CK08EH 色谱柱色谱图

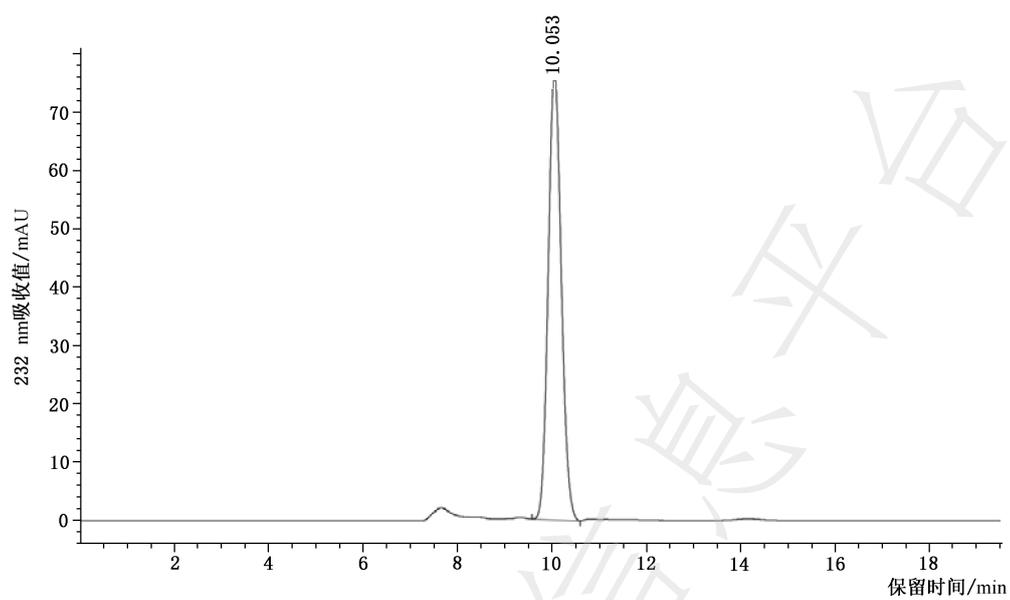


图 A.2 样品供试溶液 MCI GEL CK08EH 色谱柱色谱图

附 录 B

(规范性)

透明质酸钠饮品中透明质酸钠的含量 分光光度计法

B.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,可将葡萄糖醛酸分离出来。葡萄糖醛酸与咪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可以确定透明质酸钠的含量。

B.2 试剂和溶液

B.2.1 标准品:D-葡萄糖醛酸,CAS 6556-12-3,纯度 $\geq 98\%$ 。

B.2.2 浓硫酸:优级纯。

B.2.3 咪唑。

B.2.4 硼砂。

B.2.5 无水乙醇。

B.2.6 咪唑乙醇溶液(0.1%):称取 0.125 g 咪唑溶于 100 mL 无水乙醇中,置于棕色瓶中,4 °C~8 °C 冰箱保存,保质期 2 个月。

B.2.7 D-葡萄糖醛酸标准储备溶液(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$):精密称取经 105 °C 以五氧化二磷为干燥剂,真空干燥至恒重的葡萄糖醛酸对照品约 0.1 g(W_s),置 100 mL 量瓶中,加水溶解稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。精密量取贮备液 5.0 mL,置 100 mL 量瓶中,加水制成每毫升中含 50 μg 的溶液,摇匀,按公式(B.1)计算葡萄糖醛酸对照溶液的浓度。

$$c_{s0} = \frac{W_s \times 5 \times 10^6}{100 \times 100} \times Z \quad \dots\dots\dots(B.1)$$

式中:

c_{s0} ——葡萄糖醛酸对照溶液的浓度,单位为微克/毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

W_s ——为葡萄糖醛酸对照品的称样量,单位为克(g);

Z ——为葡萄糖醛酸对照品的含量。

B.2.8 硼砂-硫酸溶液(0.025 mol/L):称取 4.77 g 硼砂溶于 500 mL 浓硫酸中,保存于密封的玻璃细口瓶中备用。

B.3 仪器和设备

B.3.1 涡旋混合器。

B.3.2 紫外可见分光光度计。

B.4 标准曲线的绘制

精密量取对照品溶液 0.0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 和 1.0 mL,分别置具塞试管中,各加水至 1.0 mL,混匀,冷却至 4 °C 以下,在振摇下缓缓滴加冷却至 4 °C 以下 0.025 mol/L 硼砂-硫酸溶液(B.2.8)5.0 mL,混匀,置沸水浴中加热 10 min,置冰水中放冷。精密加入咪唑乙醇溶液(B.2.6) 0.20 mL,摇匀,置沸水浴中加热 15 min,置冰水中放冷。照紫外可见分光光度计操作规程,用 10 mm 比色皿在 530 nm 波长处测定吸光度,以葡萄糖醛酸的浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)与吸光度,从仪器上显示回归方程及相关系数(要求 $r > 0.990$)。

按表 B.1 制备葡萄糖醛酸对照溶液系列表。

表 B.1 葡萄糖醛酸对照溶液

| 试管编号 | 0(空白) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 葡萄糖醛酸对照溶液/mL | 0 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1.0 |
| 水/mL | 1.0 | 0.8 | 0.6 | 0.4 | 0.2 | 0 |

B.5 分析步骤

取供试品适量,制备成透明质酸钠浓度约为 $80 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的供试品溶液。精密量取上述溶液 1.0 mL , 置具塞试管中,冷却至 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 以下,缓缓滴加 0.025 mol/L 硼砂硫酸溶液 5.0 mL ,混匀,置沸水浴中加热 10 min ,置冰水中放冷。精密加入吡唑乙醇溶液 0.20 mL ,摇匀,置沸水浴中加热 15 min ,置冰水中放冷。照紫外可见分光光度计操作规程,在 530 nm 波长处测定吸光度。由回归方程得葡萄糖醛酸浓度,计算透明质酸钠含量。

B.6 计算

透明质酸钠饮品中透明质酸钠的含量按公式(B.2)计算。

$$X_2 = c \times f \times 2.0675 \times 10^{-3} \quad \dots\dots\dots (\text{B.2})$$

式中:

X_2 ——样品中透明质酸钠的含量,单位为克每升(g/L);

c ——根据样品的吸光度,从标准曲线上查出相应的葡萄糖醛酸浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

f ——样品溶液的稀释倍数;

2.0675 ——透明质酸钠重复双糖单元相对分子质量(401.3)与葡萄糖醛酸相对分子质量(194.1)的比值。结果保留至1位小数。

10^{-3} ——微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$)与克每升(g/L)的换算系数。

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%。