

T/CSBM

团 体 标 准

T/CSBM 0043—2023

护理、防护及口腔器械用透明质酸钠

Sodium hyaluronate for nursing, protective and dental medical devices

2023 - 12 - 04 发布

2024 - 05 - 04 实施

中国生物材料学会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 要求	1
5 试验方法	2

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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国生物材料学会提出。

本文件由中国生物材料学会**团体标准化技术委员会**归口。

本文件起草单位：华熙生物科技股份有限公司、山东省食品药品审评查验中心、山东省医疗器械和药品包装检验研究院。

本文件主要起草人：郭学平、付杰、王秀娟、石艳丽、柴谦、侯丽、万爱磊、田昕、任月辉。

护理、防护及口腔器械用透明质酸钠

1 范围

本文件规定了护理、防护及口腔器械用透明质酸钠的要求和试验方法。

本文件适用于作为护理、防护及口腔器械用透明质酸钠。护理、防护及口腔用器械包括创面敷料、疤痕修复敷料、口腔/鼻腔敷料、体腔器械润滑剂等。

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/T 27818 化学品 皮肤吸收 体外试验方法

YY/T 1571 组织工程医疗器械产品 透明质酸钠

中华人民共和国药典（2020年版 四部）（国家药监局 国家卫生健康委 2020年第78号）

3 术语和定义

YY/T 1571界定的术语和定义适用于本文件。

4 要求

4.1 外观

按5.1进行试验，供试品应为白色或类白色颗粒或粉末或纤维状固体。

4.2 鉴别

按5.2进行试验，红外光吸收图谱应与对照图谱一致。

4.3 pH值

按5.3进行试验，5mg/mL浓度的溶液pH值应为5.0~8.5。

4.4 溶液外观

按5.4进行试验，溶液S应澄清，在600nm的波长处测定吸光度值 A_{600nm} 应不大于0.01。

4.5 干燥失重

按5.5进行试验，供试品干燥失重不应超过15.0%（质量分数）。

4.6 重金属含量

按5.6进行试验，供试品重金属含量不应超过10 μ g/g。

4.7 铁含量

按5.7进行试验，供试品铁含量不应超过80 μg/g。

4.8 特性黏数和分子量

4.8.1 特性黏数应为其标示值的90%~120%。

4.8.2 分子量以特性黏数计。

4.9 核酸

按5.9进行试验，在260 nm的波长处测定吸光度值 A_{260nm} 应不大于0.5。

4.10 氯化物含量

按5.10进行试验，供试品氯化物含量不应超过0.5%。

4.11 蛋白质含量

按5.11进行试验，供试品蛋白质含量不应超过0.1%。

4.12 微生物限度

每1g供试品中需氧菌总数不应超过 10^2 cfu，霉菌和酵母菌总数不应超过20 cfu，金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠埃希菌不应检出。

4.13 溶血性链球菌

按5.13进行试验，应为阴性。

4.14 溶血性

按5.14进行试验，应无溶血环。

4.15 透明质酸钠含量

按5.15进行试验，以干燥品计，透明质酸钠含量应为95.0%~105.0%。

4.16 细菌内毒素

每1mg透明质酸钠中内毒素含量应小于0.5 EU。

4.17 透皮吸收

按照5.17进行试验，按照试验结果判定透明质酸钠可吸收或不可吸收。

5 试验方法

5.1 外观

肉眼直接观测。

5.2 鉴别

样品制备采用溴化钾压片法，按照《中华人民共和国药典》（2020年版 四部）通则0402红外分光光度法规定的方法进行测定。

5.3 pH 值

将透明质酸钠（干燥品）加新沸放冷的水配制成5 mg/mL的溶液，按照《中华人民共和国药典》（2020年版 四部）通则0631 pH值测定法规定的方法进行测定。

5.4 溶液外观

取供试品（相当于0.10 g干燥品）加0.9%氯化钠溶液30 mL，振摇使其溶解并混匀，为溶液S，肉眼直接观测。

5.5 干燥失重

取供试品约0.5 g，精密称定，置于已恒重的扁形称量瓶中，振动使其分布均匀。以五氧化二磷为干燥剂，于105℃干燥6h，计算干燥前后减失重量，按式（1）计算干燥失重。

$$h = \frac{w_0 - w_1}{w_0} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

h ——供试品的干燥失重百分数，%；

w_0 ——供试品干燥前的质量，单位为克（g）；

w_1 ——供试品干燥后的质量，单位为克（g）。

5.6 重金属含量

取供试品1.0 g，按照《中华人民共和国药典》（2020年版 四部）通则0821第二法规定的方法进行测定。

5.7 铁含量

取供试品0.50 g，按照《中华人民共和国药典》（2020年版 四部）通则0807规定的方法进行测定。

5.8 特性黏数和分子量

取供试品约0.1 g，精密称定，置100 mL量瓶中，加0.2 mol/L氯化钠溶液溶解并稀释至刻度，摇匀。再称取该溶液一定量置100 mL容量瓶中，加0.2 mol/L氯化钠溶液稀释至刻度，摇匀。用毛细管内径为0.5 mm~0.6 mm的乌氏粘度计按照《中华人民共和国药典》（2020年版 四部）0633第二法规定的方法进行测定，水浴温度为25℃±0.1℃。按式（2）计算供试液浓度，按式（3）计算特性黏数，按式（4）计算分子量。 w_1 应根据测定的供试液的流出时间调整， t_0 应大于100 s， t_1 应为 t_0 的1.3~1.5倍。

$$C = \frac{w_3 \times w_4 \times 100 \times (100 - h)}{100 \times 100 \times \rho_{25} \times 100} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

C ——供试液浓度（以干燥品计算），单位为克每分升（g/dL）；

w_3 ——供试品质量，单位为克（g）；

w_4 ——称取供试品溶液的质量，单位为克（g）；

h ——供试品的干燥失重百分数；

100——毫升与分升的换算系数；

100——供试品定容体积，单位为毫升（mL）；

ρ_{25} ——供试液在25℃的密度，为1.000 g/mL。

$$\eta = \frac{\sqrt{2\left[\left(\frac{t_1}{t_0}-1\right)-\ln\frac{t_1}{t_0}\right]}}{c} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

η ——特性黏数，单位为分升每克（dL/g）；

t_1 ——试样溶液的平均流出时间，单位为秒（s）；

t_0 ——溶剂的流出时间，单位为秒（s）。

$$M_r = \left(\frac{\eta \times 10^5}{36}\right)^{\frac{1}{0.78}} \dots\dots\dots (4)$$

式中：

M_r ——相对分子质量。

5.9 核酸

取供试品（相当于0.10 g干燥品）加0.9%氯化钠溶液30 mL，振摇使其混匀并溶解作为供试品溶液，按照《中华人民共和国药典》（2020年版 四部）通则0401紫外-可见分光光度法规定的方法。

5.10 氯化物含量

取供试品67 mg，置100 mL量瓶中，加水溶解并稀释至刻度。取15 mL置25 mL纳氏比色管中，作为供试品溶液；另取标准氯化钠溶液（1.0 mL相当于5 g的Cl）10 mL与水5 mL为对照液。供试品溶液和对照液分别加入1.0 mL稀硝酸（取硝酸20 g加水稀释至100 mL）及1.0 mL硝酸银试液，混匀；在暗处放置5 min，在黑色背景中从侧面观察。

5.11 蛋白质含量

5.11.1 仪器

试验用仪器如下：

——紫外可见分光光度计；

——电子天平（精度 0.01 mg）。

5.11.2 试液制备

5.11.2.1 考马斯亮蓝试液

取考马斯亮蓝（G250）0.1 g，加乙醇50 mL溶解后，再加85%磷酸100 mL，加水稀释至800 mL，用定量滤纸滤过，即得。

5.11.2.2 牛血清白蛋白标准溶液的制备

精密称取牛血清白蛋白约50 mg，置100 mL量瓶中，加水溶解稀释至刻度，摇匀，作为贮备液。临用前精密量取贮备液5 mL，置50 mL量瓶中，加水制成每1 mL中含50 μg的溶液，摇匀。

5.11.2.3 供试液制备

取供试品约10 mg，精密称定，置具塞试管中，加水1.0 mL，加塞，用封口膜封口，间歇超声加速溶解（如需过夜，在2℃~8℃放置），24 h之内测定。供试液平行制备2管。

5.11.3 测定

按以下步骤进行测定：

a) 按照表 1 制备牛血清白蛋白标准液系列；

表1 牛血清白蛋白标准液系列

试管号	0	1	2	3	4	5
牛血清白蛋白标准溶液/mL	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.0
水/mL	2.0	0.9	0.8	0.6	0.2	0
牛血清白蛋白浓度/ ($\mu\text{g/mL}$)	0	5	10	20	40	50

b) 将考马斯亮蓝试液 4.0mL 加入含有 1.0mL 水（空白）、1.0mL 供试品溶液、1.0mL 对照溶液的试管中，立即混匀，5min 后，测量每个溶液在 595nm 波长处的吸光度；

c) 用标准管绘制吸光度-浓度曲线，根据样品管的吸光度从标准曲线上查得样品管蛋白浓度（ c ， $\mu\text{g/mL}$ ），计算供试液中蛋白质的含量。

5.12 微生物限度

称取供试品 5.0g，加入含透明质酸酶 45000 单位的无菌磷酸盐缓冲液（pH 7.2）100mL 中，置 42℃ 水浴振荡 30min 至溶解，制得 1:20 的溶液，作为供试液，按照《中华人民共和国药典》（2020 年版 四部）通则 1105 和 1106 规定的方法测定。

5.13 溶血性链球菌

取供试品 0.5g，置 150mL 锥形瓶中，加 0.9% 无菌氯化钠溶液 100mL，振荡至溶解作为待测溶液。分别取 0.5mL 待测溶液涂血琼脂平板 2 块，置 37℃ 培养箱培养 48h。

5.14 溶血性

取供试品 0.5g，置 150mL 锥形瓶中，加 0.9% 无菌氯化钠溶液 100mL，振荡至溶解作为待测溶液，分别取 0.5mL 待测溶液加入至 2 个试管中，再分别加入 1% 血液混悬液 0.5mL，混匀，作为供试品溶液；各取 0.9% 无菌氯化钠溶液 0.5mL，分别加入 2 个试管中，再分别加入 1% 血液悬液 0.5mL，混匀，作为空白对照溶液；取灭菌纯化水 0.5mL 同空白对照同法操作，作为阳性对照溶液。取样品溶液、空白对照溶液和阳性对照溶液置 37℃ 培养箱静放 2h，肉眼观察结果。

5.15 透明质酸钠含量

5.15.1 设备

试验用设备如下：

- 电子天平；
- 紫外分光光度计或相当设备。

5.15.2 溶液制备

5.15.2.1 0.025mol/L 硼砂硫酸溶液

称取 4.77g 硼砂，溶于浓硫酸（优级纯）500mL 中，摇匀即得。

5.15.2.2 咪唑试液

称取咪唑 0.125g 加无水乙醇 100mL，振摇使其溶解，即得。本液应置棕色玻璃瓶中，密塞，置暗处保存。

5.15.3 对照品溶液制备

精密称取经105℃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0.1g，加水制成每1mL中含50μg的溶液，摇匀。

5.15.4 供试液制备

精密称取供试品约0.10g，置100mL量瓶中，加适量水使样品溶胀，至完全溶解后加水定容至刻度，摇匀。再称取约4.0g（溶液的密度按1.000g/mL计算，即相当于4.00mL）置50mL量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，作为供试液。

5.15.5 测定

按以下步骤进行测定：

a) 按照表2制备葡萄糖醛酸标准液系列：

表2 葡萄糖醛酸（GA）标准液系列浓度

试管号	0	1	2	3	4	5
GA标准溶液/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
GA浓度/（μg/mL）	0	10	20	30	40	50

- b) 将标准液系列各试管和样品试管一起置于冰水浴中，缓慢地向每管中加入0.025mol/L硼砂硫酸溶液5.0mL，密塞，混匀，沸水浴中加热10min，冰水中冷却至室温。精密加入咪唑试液0.20mL，摇匀，沸水浴中加热15min，冰水中冷却至室温。用0号管作空白对照，用分光光度计测定530nm波长处各标准管和样品管的吸光度；
- c) 3用标准管绘制吸光度-浓度曲线，根据样品管的吸光度从标准曲线上查得样品管葡萄糖醛酸浓度。

5.15.6 计算

按式（5）计算透明质酸钠含量：

$$X = \frac{401.3 \times C_i \times 100 \times 50 \times \rho \times 100}{194.1 \times w_5 \times w_6 \times 10^6 \times (100 - h)} \times 100\% \dots\dots\dots (5)$$

式中：

X——透明质酸钠含量，%；

401.3——透明质酸钠双糖片段的分子量；

C_i ——由回归方程得到的葡萄糖醛酸的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

100——供试品第一次定容体积，单位为毫升（mL）；

50——第二次定容体积，单位为毫升（mL）；

ρ ——供试品溶液在25℃时的密度，1.000 g/mL；

w_5 ——称取供试品量，单位为克（g）；

w_6 ——第二次稀释称取样品的量，单位为克（g）；

10^6 ——克与微克的换算系数；

194.1——葡萄糖醛酸的分子量。

5.16 细菌内毒素

用细菌内毒素检测用水配成2 mg/mL透明质酸钠，按照《中华人民共和国药典》（2020年版 四部）通则1143规定的方法测定。

5.17 透皮吸收

按照GB/T 27818的规定进行测定。
