

T/CWDPA

团 体 标 准

T/CWDPA XXXX—XXXX

生物合成莽草酸技术要求

Technical requirements for biosynthetic shikimic acid

(征求意见稿)

2026 - XX - XX 发布

2026 - XX - XX 实施

中国西部开发促进会 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 基本信息	1
5 技术要求	2
5.1 原辅料	2
5.2 莽草酸	2
6 试验方法	2
6.1 试验条件	3
6.2 莽草酸鉴别	3
6.3 感观检验	3
6.4 莽草酸含量测定	3
6.5 水分测定	3
6.6 比旋光度测定	3
6.7 总灰分测定	3
6.8 熔程测定	3
6.9 重金属测定	3
7 检验规则	4
7.1 组批与抽样	4
7.2 出厂检验	4
7.3 型式检验	4
7.4 判定规则	5
8 标识、包装、运输与贮存	5
8.1 标识	5
8.2 包装	5
8.3 运输	5
8.4 贮存	5
8.5 其他	5
附录 A (规范性) 莽草酸含量测定方法	6
A.1 试剂与材料	6
A.2 仪器设备	6
A.3 色谱条件	6
A.4 校正曲线	6
A.5 测定	7
附录 B (资料性) 特征图谱及参考保留时间	8
B.1 莽草酸 HPLC 特征图谱	8
B.2 莽草酸 HPLC 参考保留时间	8

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。

本文件由中国西部开发促进会标准与认证工作委员会提出。

本文件由中国西部开发促进会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件首次发布。

生物合成莽草酸技术要求

1 范围

本文件规定了生物合成莽草酸的基本信息、技术要求、试验方法、检验规则、标识、包装、运输与贮存。

本文件适用于医药中间体用途的生物合成莽草酸的生产控制和质量检验，其他用途可参照执行。

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 2828.1 计数抽样检验程序 第1部分：按接收质量限(AQL)检索的逐批检验抽样计划

GB 4806.1 食品安全国家标准 食品接触材料及制品通用安全要求

GB/T 6679 固体化工产品采样通则

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 20882.1 淀粉糖质量要求 第1部分：食用葡萄糖

《中华人民共和国药典》（2025年版）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

生物合成莽草酸 biosynthetic shikimic acid

以葡萄糖为原料，采用微生物发酵（生产菌种包括但不限于重组大肠杆菌）、分离、纯化、精制、干燥等工艺制得的莽草酸产品。

3.2

对照品 reference standard

用于鉴别、含量测定、杂质检查等的标准对照物质，纯度符合相关规定。

3.3

供试品 test sample

按本文件规定抽取并用于检验的待测样品。

4 基本信息

4.1 化学名称：(3R, 4S, 5R)-3, 4, 5-三羟基-1-环己烯-1-甲酸。

4.2 CAS号：138-59-0。

4.3 分子式：C₇H₁₀O₅。

4.4 结构式：见图1。

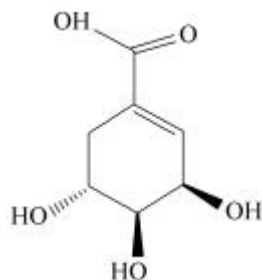


图1 莽草酸结构式

4.5 相对分子质量：174.152（按照2018年国际相对原子质量）。

5 技术要求

5.1 原辅料

葡萄糖应符合GB/T 20882.1的要求。

5.2 莽草酸

5.2.1 鉴别

供试品的红外光吸收图谱应与莽草酸对照品图谱一致。

5.2.2 感观要求

应符合表1要求。

表1 感观要求表

项目	感观要求
色泽	白色
外观	均匀粉末，无肉眼可见异物
气味	具有本品特有的气味、味酸

5.2.3 理化及安全指标

应符合表2规定。

表2 理化及安全指标表

项目	单位	理化指标
莽草酸含量	%	≥98.0
水分	%	≤0.5
比旋光度 $[\alpha]_D^{25^\circ}$	°	-184~-179
总灰分	%	≤0.5
熔程	°C	175~190
重金属（以Pb计）	mg/kg	≤10
砷（As）	mg/kg	≤2.0
单一杂质	%	≤0.15
总杂质	%	≤0.5
生产菌株DNA	ng/mg	≤10
细菌内毒素	EU/mg	≤0.5

注：细菌内毒素检查仅适用于注射级用途的莽草酸。若产品用于口服或其他非注射途径，可不要求此项。

6 试验方法

6.1 试验条件

本试验方法所用试剂除另有规定外，均为分析纯试剂；实验用水符合GB/T 6682中三级水要求。

6.2 莽草酸鉴别测定

取本品及莽草酸对照品各适量，按照《中华人民共和国药典》（2025年版）通则0402红外分光光度法，参考以下流程测定：

- a) 取供试品与对照品各适量，分别制备供试片与对照片；
- b) 置于红外分光光度计中，扫描 $4000\text{ cm}^{-1}\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 区间图谱；
- c) 对比供试品与对照品图谱，峰位、峰形、相对强度应一致。

6.3 感观检验

取试样适量，置于白纸上，在自然光线下观察色泽、外观，嗅闻气味，检查有无异物。

6.4 莽草酸含量测定

按照附录A中规定的方法进行测定，试验环境温度控制在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，特征图谱及参考保留时间参见附录B。

6.5 水分测定

按照《中华人民共和国药典》（2025年版）通则0832水分测定法第一法，参考以下流程测定：

- a) 取供试品适量，精密称定；
- b) 注入卡尔·费休水分测定仪，滴定至终点；
- c) 记录消耗体积，计算水分含量。

6.6 比旋光度测定

按照《中华人民共和国药典》（2025年版）通则0621旋光度测定法，参考以下流程测定：

- a) 取供试品适量，加水溶解并定量稀释制成规定浓度溶液；
- b) 置于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温旋光管中；
- c) 计算比旋光度 $[\alpha]_D^{25^{\circ}\text{C}}$ 。

6.7 总灰分测定

按照《中华人民共和国药典》（2025年版）通则2302总灰分测定法，参考以下流程测定：

- a) 取供试品，精密称定，置于已炽灼至恒重的坩埚中；
- b) 缓缓炽灼至完全炭化，升温至 $500\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 600\text{ }^{\circ}\text{C}$ 炽灼至恒重；
- c) 计算残渣质量与供试品质量的比值，得总灰分含量。

6.8 熔程测定

按照《中华人民共和国药典》（2025年版）通则0612熔点测定法，参考以下流程测定：

- a) 取供试品适量，研细，干燥后装入熔点管；
- b) 置于熔点测定仪，升温速率 $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ；
- c) 观察并记录供试品初熔至全熔温度范围。

6.9 重金属测定

按照《中华人民共和国药典》（2025年版）通则0821重金属测定法，参考以下流程测定：

- a) 取供试品，按规定处理制成供试液；
- b) 与标准铅溶液同法操作，制成对照液；
- c) 进行比色测定，供试液颜色不得深于对照液。

6.10 砷含量测定

按照《中华人民共和国药典》（2025年版）通则0822砷盐检查法，参考以下流程测定：
取供试品，按规定消解处理制成供试砷溶液；

- d) 取标准砷溶液同法制备对照砷溶液；
- e) 生成砷斑，供试品砷斑颜色不得深于标准砷斑。

6.11 有关杂质测定

按照附录A色谱条件，参考以下流程测定：

- a) 精密称取供试品 50 mg，置于 50 mL 容量瓶中，加 0.1%磷酸水溶液溶解并定容，作为供试品溶液；
- b) 精密量取供试品溶液 1.0 mL，置于 100 mL 容量瓶中，加 0.1%磷酸水溶液稀释定容，作为自身对照溶液；
- c) 分别取上述两种溶液各 5 μL 注入液相色谱仪，记录色谱图至主峰保留时间的 3 倍；
- d) 计算任一单个杂质峰面积及各杂质峰面积之和。

6.12 生产菌株 DNA 残留测定

按照《中华人民共和国药典》（2025年版）通则3407外源性DNA残留量测定法（定量PCR法），参考以下流程测定：

- a) 将 DNA 定量参考品（如大肠杆菌基因组 DNA）进行系列稀释，分别进行实时荧光定量 PCR 测定，以循环阈值（Ct 值）对模板 DNA 浓度的对数绘制标准曲线，相关系数（r）应不低于 0.99；
- b) 取莽草酸供试品适量，按 DNA 提取试剂盒说明书操作，提取残留 DNA，同时设阳性对照和阴性对照；
- c) 取供试品 DNA 提取液及标准品溶液，分别加入 PCR 反应体系（含特异性引物和探针），进行扩增，阳性对照应出现特异性扩增曲线，阴性对照应无扩增信号；
- d) 根据标准曲线计算供试品中宿主细胞 DNA 残留量。

6.13 细菌内毒素测定

按照《中华人民共和国药典》（2025年版）通则1143细菌内毒素检查法（凝胶法或动态显色法），参考以下流程测定：

- a) 取莽草酸供试品适量，用细菌内毒素检查用水溶解并稀释至适宜浓度；
- b) 进行供试品干扰试验，确认供试品溶液对鲎试剂无干扰作用；
- c) 根据莽草酸的预期用途选择凝胶法或动态显色法；
- d) 得到供试品溶液的细菌内毒素浓度。

7 检验规则

7.1 组批与抽样

7.1.1 组批

以同一批次投料、同一生产工艺、同一生产日期生产的产品为一批。

7.1.2 抽样

按照GB/T 2828.1及GB/T 6679规定执行，每批抽样量不少于100 g，混匀后分装为三份：一份检验、一份复检、一份留样，密封标识。

7.2 出厂检验

7.2.1 产品出厂前应由生产企业的检验人员按本文件的要求逐批进行检验，检验合格并附合格证后方可出厂。

7.2.2 出厂检验项目：本文件 5.2.2、5.2.3 中规定的全部项目。

7.3 型式检验

7.3.1 正常生产时每年检验 1 次。

7.3.2 有下列情况之一时，应进行型式检验：

- a) 原料来源变动较大时；
- b) 正式投产后，如配方、生产工艺有较大变化，可能影响产品质量时；
- c) 出厂检验与上次型式检验结果差异较大时；
- d) 停产6个月以上恢复生产时；
- e) 市场监管部门或行业主管部门提出检验要求时。

7.3.3 型式检验项目为本文件第5章全部项目。

7.4 判定规则

7.4.1 全部项目检验结果符合本文件要求时，判定该批产品合格。

7.4.2 检验结果不符合本文件要求时，可在原批次加倍抽样复检一次，以复检结果为准；复检仍有一项或多项不符合本文件要求时，判定该批产品不合格。

8 标识、包装、运输与贮存

8.1 标识

外包装应清晰标明：产品名称、批号、规格、净含量、生产单位、厂址、生产日期、保质期、执行标准号、贮存条件。

8.2 包装

包装材料应符合GB 4806.1要求，密封、防潮、无污染，便于运输与贮存。

8.3 运输

8.3.1 运输工具应清洁、干燥、防雨、防晒、防潮。

8.3.2 严禁与有毒、有害、有异味、易污染物品混运。

8.3.3 轻装轻卸，严禁挤压、抛摔。

8.4 贮存

8.4.1 产品应贮存于阴凉、干燥、避光、通风的库房内，不得与有毒、有害、易污染物品混贮，远离热源与腐蚀性物质。

8.5 其他

在符合本文件规定的贮运条件、包装完整、未开启的情况下，保质期为36个月。

附 录 A
(规范性)
莽草酸含量测定方法

A.1 试剂与材料

A.1.1 磷酸：色谱纯

A.1.2 纯化水

A.1.3 莽草酸对照品（CAS号138-59-0）：含量 $\geq 98\%$ 。

A.2 仪器设备

A.2.1 高效液相色谱仪（配紫外检测器）。

A.2.2 分析天平：精度0.0001g。

A.3 色谱条件

A.3.1 色谱柱：以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，柱长250 mm，柱内径4.6 mm，粒径5 μm 。

A.3.2 流动相：0.1%磷酸水溶液。

A.3.3 检测波长：210 nm。

A.3.4 柱温：35 $^{\circ}\text{C}$ 。

A.3.5 流速：0.8 mL/min。

A.3.6 进样量：5 μL 。

A.4 校正曲线

A.4.1 溶液配制

分别精密量取莽草酸对照品储备溶液适量，用0.1%磷酸水溶液稀释定容，配制系列不同浓度的对照品工作溶液：

- a) 储备溶液：精密称取莽草酸对照品 40 mg，置于 10 ml 容量瓶中，加 0.1%磷酸水溶液适量使溶解，稀释至刻度，摇匀，备用；
- b) 50%对照品工作溶液：精密移取储备溶液 0.5mL，置于 10 ml 容量瓶中，加 0.1%磷酸水溶液稀释至刻度，摇匀，即得；
- c) 80%对照品工作溶液：精密移取储备溶液 0.8mL，置于 10 ml 容量瓶中，加 0.1%磷酸水溶液稀释至刻度，摇匀，即得；
- d) 100%对照品工作溶液：精密移取储备溶液 1.0mL，置于 10 ml 容量瓶中，加 0.1%磷酸水溶液稀释至刻度，摇匀，即得；
- e) 120%对照品工作溶液：精密移取储备溶液 1.2mL，置于 10 ml 容量瓶中，加 0.1%磷酸水溶液稀释至刻度，摇匀，即得；
- f) 150%对照品工作溶液：精密移取储备溶液 1.5mL，置 10ml 容量瓶中，加 0.1%磷酸水溶液稀释至刻度，摇匀，即得。

A.4.2 曲线绘制

分别将A.4.1中的5级浓度对照品溶液各5 μL ，注入液相色谱仪，测定并记录色谱图，以对照品浓度与相应的峰面积绘制校正曲线。

A.4.3 系统适用性

理论塔板数按莽草酸峰计算应不低于5000，否则需更换色谱柱或调整色谱条件后重新测定。

A.5 测定

A.5.1 供试品溶液的制备：精密称取莽草酸供试品40 mg，置于100 mL容量瓶中，加0.1%磷酸水溶液适量使溶解，稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

A.5.2 测定过程：精密吸取供试品溶液5 μ L，注入高效液相色谱仪，测定，记录色谱图。

A.5.3 计算：将供试品溶液中莽草酸的峰面积代入校正曲线，计算莽草酸供试品含量，结果以干基计。

附 录 B
(资料性)
特征图谱及参考保留时间

B.1 莽草酸 HPLC 特征图谱

莽草酸HPLC特征图谱见图B.1。

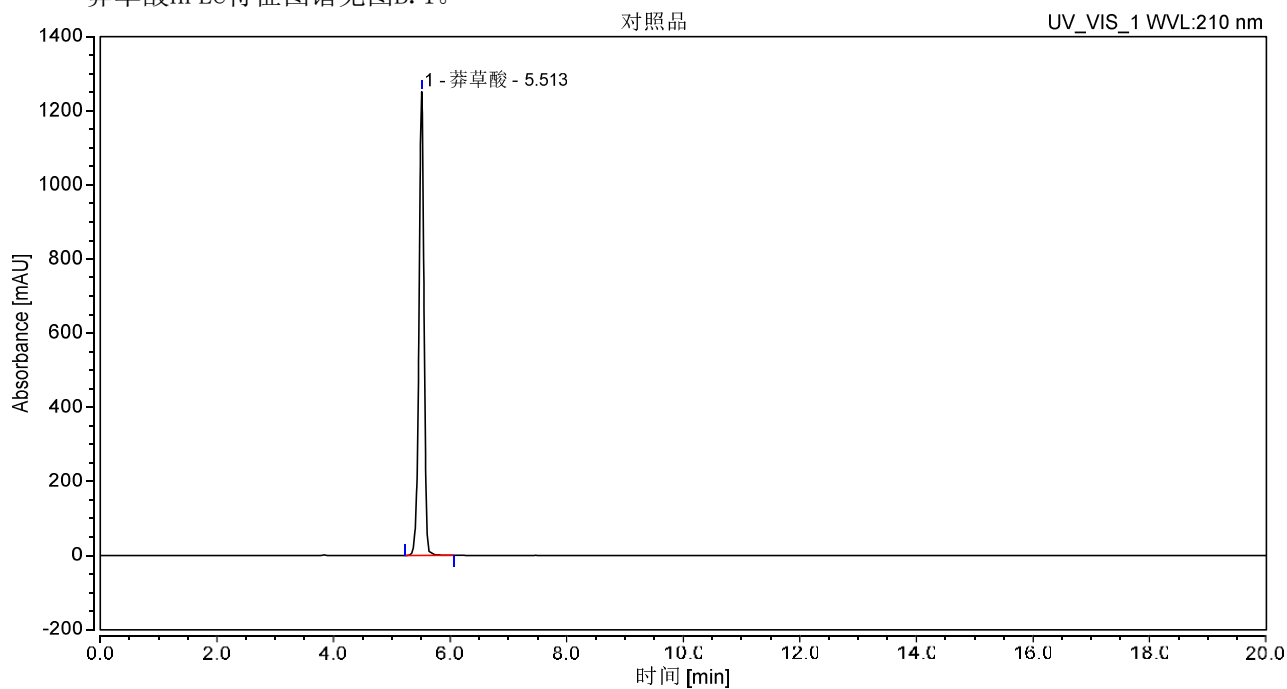


图 B.1 莽草酸 HPLC 特征图谱

B.2 莽草酸 HPLC 参考保留时间

莽草酸HPLC参考保留时间见表B.1。

表 B.1 莽草酸 HPLC 参考保留时间

组分名称	保留时间 min
莽草酸	5.513