团体标准

 T/QMHIPA 003-2022

功能性蛤蜊肽粉

Functional clam peptide powder

（征求意见稿）

2022-\*\*-\*\*发布 2022-\*\*-\*\*实施

青岛市医养健康产业促进会 发布

前 言

本标准按照GB/T1.1—2009给出的规则起草。

本标准由青岛琛蓝健康产业集团有限公司提出。

本标准由青岛市医养健康产业促进会归口。

本标准起草单位：青岛琛蓝健康产业集团有限公司、青岛市海洋营养与健康创新食品研究院、青岛博智汇力生物科技有限公司、青岛弘海生物技术有限公司

本标准主要起草人：邹圣灿、李八方、刘自民、丁伟、王尚龙、薛长湖、张斌、彭睿

本标准属首次发布。

功能性蛤蜊肽粉

1 范围

本标准规定了功能性蛤蜊肽粉的定义、技术要求、试验方法、检验规则、标志、标签、包装、贮存和运输。

本标准适用于以蛤蜊肉为原料，经复合蛋白酶酶解、过滤、干燥、包装等工艺加工制成的具有体外ACE抑制活性的功能性蛤蜊肽粉。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 191 包装储运图示标志

GB 2733 食品安全国家标准 鲜、冻动物性水产品

GB 2760 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准

GB 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量

GB 2763 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

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 大肠杆菌计数

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 4789.7 食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验

GB 4789.10 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验

GB 4806.7 食品安全国家标准 食品接触用塑料材料及制品

GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定

GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定

GB 5009.5 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定

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 5009.15 食品安全国家标准 食品中镉的测定

GB 5009.17 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定

GB 5009.26 食品安全国家标准 食品中N-亚硝胺类化合物的测定

GB 5009.123 食品安全国家标准 食品中铬的测定

GB 5009.190 食品安全国家标准 食品中指示性多氯联苯含量的测定

GB 5749 生活饮用水卫生标准

GB/T 6543 运输包装用单瓦楞纸箱和双瓦楞纸箱

GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则

GB 9683 复合食品包装袋卫生标准

GB 10136 食品安全国家标准 动物性水产制品

GB 14881 食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范

GB/T 22729 海洋鱼低聚肽粉

GB/T 23527 蛋白酶制剂

GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则

GB 28118 食品包装用塑料与铝箔复合膜、袋

GB 29921 食品安全国家标准 食品中致病菌限量

GB/T 30642 食品抽样检验通用导则

JJF 1070 定量包装商品净含量计算检验规则

国家质量监督检验检疫总局令第75号（2005）《定量包装商品计量监督管理办法》

国家质量监督检验检疫总局令（2009）第123号《国家质量监督检验检疫总局关于修改<食品标识管理规定>的决定》

3 定义

下列定义适用于本标准。

3.1功能性蛤蜊肽粉

以蛤蜊肉为原料，经蛋白酶酶解、过滤、干燥、包装等工艺加工制成的粉末状产品，该产品具有体外ACE抑制活性。

3.2蛤蜊低聚肽

以蛤蜊肉为原料，经酶解法生产的、相对分子质量低于1000U的低聚肽（短肽）为主要成分的粉末状产品。

3.3蛤蜊多肽

以蛤蜊肉为原料，经酶解法生产的、相对分子质量低于10000U的肽为主要成分的粉末状产品。

4 要求

4.1 原辅料要求

4.1.1 蛤蜊

应符合GB 2733、GB 2762及国家有关渔药残留限量规定。

4.1.2 生产用水

应符合GB 5749规定的要求。

4.1.3 蛋白酶制剂

应符合GB/T 23527规定的要求。

4.2 感官要求

产品的感官应符合表1规定。

表1 感官要求

|  |  |
| --- | --- |
| 项 目 | 要 求 |
| 色泽 | 类白色至浅黄色 |
| 形态 | 粉末状，无结块 |
| 杂质 | 无正常视力可见外来杂质 |
| 滋、气味 | 具有本品特有的气味与滋味 |

4.3 理化指标

产品的理化指标应符合表2规定。

表2 理化指标

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 | 指标 |
| 规格 | 低聚肽 | 多肽 |
| 蛋白质/（g/100g） ≥ | 55 |
| 低聚肽（以干基计）/% ≥ | 40 |
| 相对分子质量小于1000U的肽所占比例/% ≥ | 85 | — |
| 相对分子质量小于10000U的肽所占比例/% ≥ | — | 90 |
| 水分/（g/100g） ≤ | 10 |
| 灰分/（g/100g） ≤ | 10 |
| 甲基汞（以 Hg 计）/(mg/Kg) ≤ | 0.5 |
| 铅（以 Pb 计）/(mg/Kg) ≤ | 1.0 |
| 无机砷（以 As 计）/(mg/Kg) ≤ | 0.5 |
| 镉（以 Cd 计） /(mg/Kg) ≤ | 1.0 |
| 铬（以 Cr 计）/(mg/Kg) ≤ | 2.0 |
| N-二甲基亚硝胺(μg/Kg) ≤ | 4.0 |
| 多氯联苯a/(mg/Kg) ≤ | 0.5 |
| a以PCB28、PCB52、PCB101、PCB118、PCB138、PCB153和PCB180总和计。 |

4.4 微生物指标

产品的微生物指标应符合表3规定。

表3 微生物指标

|  |  |
| --- | --- |
| 指标 | 采样方案及限量（若非指定，均以/25g或25mL表示） |
| n | c | m | M |
| 菌落总数 | 5 | 2 | 5×104CFU/g | 105CFU/g |
| 大肠菌群 | 5 | 2 | 10CFU/g | 102CFU/g |
| 沙门氏菌 | 5 | 0 | 0 | — |
| 副溶血性弧菌 | 5 | 1 | 100MPN/g | 1000MPN/g |
| 金黄色葡萄球菌 | 5 | 1 | 100CFU/g | 1000CFU/g |
| 注：样品的分析及处理按照GB 4789.1执行。 |

4.5 体外ACE抑制率指标

产品的体外ACE抑制率：IC50≤2.00mg/mL。

4.6 生产加工过程

应符合GB 14881的要求。

4.7 净含量

应符合《定量包装商品计量监督管理办法》的规定。

4.8 其他污染物限量

应符合GB 2762、GB 2763的规定。

4.9 食品添加剂

4.9.1 食品添加剂质量应符合相应的标准和有关规定。

4.9.2 食品添加剂的品种和使用量应符合GB 2760有关规定。

5 试验方法

5.1 感官

在自然光下，称取10g样品平摊于清洁、干燥的白色搪瓷盘中，色泽、形态和杂质采用肉眼观察，气味采用嗅闻，滋味采用口尝。

5.2 理化

5.2.1 蛋白质

按照GB 5009.5规定的凯氏定氮法测定，蛋白换算系数为6.25，结果以干基计。

5.2.2 低聚肽

按照GB/T 22729中6.3规定的方法测定。

5.2.3 相对分子质量小于10000U的肽所占比例

按照附录B规定的方法测定。

5.2.4 相对分子质量小于1000U的肽所占比例

按照附录B规定的方法测定。

5.2.5 水分

按照GB 5009.3规定的方法测定。

5.2.6 灰分

按照GB 5009.4规定的方法测定。

5.2.7 甲基汞

按照GB 5009.17规定的方法测定。

5.2.8 铅

按照GB 5009.12规定的方法测定。

5.2.9 无机砷

按照GB 5009.11规定的方法测定。

5.2.10 镉

按照GB 5009.15规定的方法测定。

5.2.11 铬

按照GB 5009.123规定的方法测定。

5.2.12 N-二甲基亚硝胺

按照GB 5009.26规定的方法测定。

5.2.13 多氯联苯

按照GB 5009.190规定的方法测定。

5.3 微生物

5.3.1 菌落总数

按照GB 4789.2规定的方法测定。

5.3.2 大肠杆菌

按照GB 4789.3 平板计数法规定的方法测定。

5.3.3 沙门氏菌

按照GB 4789.4规定的方法测定。

5.3.4 副溶血性弧菌

按照GB 4789.7规定的方法测定。

5.3.5 金黄色葡萄球菌

按照GB 4789.10第二法规定的方法测定。

5.4 体外ACE抑制率

按照附录A规定的方法测定。

5.5 净含量

检验方法按照JJF 1070规定的方法进行。

6 检验规则

6.1 入库检验

原辅料、包装材料须经本企业质量部门检验合格或验证供货方提供的检验合格证明后方可入库。

6.2 抽样

6.2.1 组批

同一批原料、同一生产线连续产出为一个生产批次。

6.2.2 抽样方法和数量

从每批产品中随机抽取不少于5个最小包装单位样品，然后，用取样工具伸入每袋的3/4处，所取试样不应少于100g，抽样应符合GB/T 30642规定。微生物抽样按GB 4789.1规定的三级采样方案采集样品。

6.3 出厂检验

产品出厂须经本企业质量检验部门按本标准检验合格，签发合格证后方可出厂。出厂检验项目为感官指标、蛋白质、水分、灰分、相对分子质量小于10000U的肽所占比例或相对分子质量小于1000U的肽所占比例、菌落总数、大肠菌群和净含量。

6.4 型式检验

检验项目为本标准要求中规定的全部项目。一般情况下，型式检验半年进行一次。有下列情况之一时，亦应进行型式检验：

a） 产品定型投产时；

b） 停产6个月以上恢复生产时；

c） 更换主要生产设备、主要原辅材料或更改关键工艺可能影响产品质量时；

d） 出厂检验与上次型式检验差异较大时和质监部门认为有必要时；

e） 供需双方对产品质量有争议，请第三方进行仲裁时；

f） 国家食品安全监督管理部门提出要求时。

6.5 判定规则

6.5.1 所检项目的检验结果全部符合标准要求时，判该批产品合格。

6.5.2 微生物指标和污染物指标有一项不合格时，则判该批产品不合格，并不应复检。

6.5.3 感官要求及理化指标，当超过3项不合格时，则判定该批产品不合格，并不应复检；当不超过3项不合格时，可加倍抽样对不合格项目进行复检，复检结果仍有1项或1项以上项目不合格，则判该批产品不合格。

7 标志、标签、包装、运输、贮存

7.1 标志、标签

7.1.1 标志应清晰、牢固。标签应符合GB7718、GB28050和《食品标识管理规定》的规定。

7.1.2 包装储运图示标志应符合GB/T 191规定。

7.2 包装

产品内包装用PE袋或铝塑复合袋，内包装应符合GB 9683、GB 28118或GB 4806.7的规定，袋口封闭严实，外包装用纸盒、牛皮纸袋、瓦楞纸箱或纸板桶，瓦楞纸箱应符合GB/T 6543的规定。客户如另有需求，在符合运输、贮存及食品卫生要求的情况下，可按客户要求进行不同形式、材质、重量的包装。

7.3 运输

运输中应防止受潮、日晒，运输工具应干净、卫生，防止与有毒、有害、有异味物质混运。

7.4 贮存

7.4.1 产品不应露天堆放。产品仓库应清洁、干燥、通风，无鼠虫害。

7.4.2 产品堆放应有垫板，离地10cm以上，离墙20cm以上。

7.4.3 产品不应与有毒、有害、有异味、易腐败变质或潮湿的物品同仓库存放。

7.4.4 产品自生产之日起，在本标准规定的包装、运输、贮存条件下，保质期24个月。

附录A

（规范性附录）

功能性蛤蜊肽粉 ACE 抑制率IC50的测定

（高效液相色谱法）

A.1 方法提要

待测肽粉溶液参与 ACE 与 HHL 的酶解反应并可抑制 ACE 活性，反应液过滤后，采用 高效液相色谱法测定。即以多孔填料十八烷基硅胶柱为固定相，依据马尿酸（HA）在色谱柱中的特定保留时间，在 HA 的特征紫外吸收波长 228nm 条件下检测加入肽粉溶液前后HA 的生成量（外标峰面积法）来计算肽溶液对 ACE 酶活的抑制率。

A.2 试剂

A.2.1 乙腈：色谱纯

A.2.2 三氟乙酸：色谱纯

A.2.3 水：GB/T 6628 规定的一级水。

A.2.4 制备反应样液所需其他试剂及标准品：

a) 血管紧张素转化酶（angiotensin converting enzyme,ACE,酶活 0.25U）

b) 马尿酸（hippuric acid,HA, MW 179.17）

c) 马尿酰-组氨酰-亮氨酸（N-Hippuryl-His-Leu hydrate,HHL , MW 428.46）

d) 0.1M HCl 标准液

A.2.5 硼酸：分析纯

A.2.6 氯化钠：分析纯

A.3 仪器和设备

A.3.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器。

A.3.2 流动相真空抽滤脱气装置。

A.3.3 超声波振荡器。

A.3.4 分析天平：感量 0.0001 g。

A.3.5 恒温水浴锅。

A.3.6 旋涡振荡器。

A.3.7 pH计。

A.4 色谱条件与系统适应性实验

A.4.1色谱柱：ZORBAX Eclipse XDB-C18 分析用色谱柱（4.6 mm×250mm，填料粒径为 5-Micron）。

A.4.2 流动相：乙腈：水（含 0.5%三氟乙酸），体积比为 25 : 75。

A.4.3 检测波长：228nm。

A.4.4 流速：0.6 mL/min。

A.4.5 柱温：25℃ 。

A.4.6 进样体积：20μL。

A.5 样品制备

A.5.1 硼酸钠缓冲液的配制(0.1mol/L)：

精确称取 0.6180g（MH3BO3=61.8）硼酸放入烧杯内，用少量蒸馏水搅拌溶解，再加入 1.753g NaCl（0.3mol/L）搅拌溶解，转入 100ml 容量瓶，烧杯润洗液一同转入，用 0.1M

NaOH 或 HCl 溶液调 pH 至 8.3 然后定容至 100ml。

A.5.2 HA 标准品配制：

称取 179.17mg 的 HA 标准品（精确至 0.0001g）加水定容至 1.0L，配制成浓度为 1mM的标准母液，然后分别精确移取 10ml,15ml,20ml,25ml,30ml,35ml,40ml,50ml 定容至 100ml, 得到浓度为 0.1, 0.15，0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.5mM 的标准液，用于确定 HA 保留时间及绘制 HA 线性回归方程（以浓度对峰面积作图）。

A.5.3 ACE 酶液及 HHL 底物溶液的配制： ACE 和 HHL 分别用 5.1 配制的缓冲溶液溶成 0.1U/mL 和 5mM 的标准底物溶液, -20℃ 冰箱冻存。

A.5.4 肽粉溶液配制：

分别称取肽粉样品 10.0mg、50.0mg、100.0mg、200.0mg、500.0mg、800.0mg、

1000.0mg、2000.0mg（精确至 0.1mg），各自用容量瓶定容到 100ml, 得到浓度为 0.1, 0.5,

1.0, 2.0, 5.0, 8.0, 10.0, 20.0mg/ml 的肽粉溶液，备用。

A.5.5 按如下反应步骤制备待测进样液：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 试剂 | 实验组(a) | 对照组(b) | 空白组(c) |
| 5.0mmol·L- 1HHL/(μL) | 30 | 30 | 30 |
| 肽粉溶液 /(μL) | 10 | - | 10 |
| 水 | - | 10 | - |

漩涡震荡混匀， 37℃水浴， 6min

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 0.1U/mL ACE/(μL) | 30 | 30 | - |
| 水 | - | - | 30 |

漩涡震荡混匀， 37℃水浴， 30min

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 0.1mol·L HCl/(μL) | 60 | 60 | 60 |

漩涡震荡混匀， 过0.45μm 滤膜， 待进样

A.6 ACE 抑制率的计算：

$$X=\frac{B\_{S\_{HA}}-（A\_{S\_{HA}}-C\_{S\_{HA}}）}{B\_{S\_{HA}}}×100$$

式中：

*X*—试样的 ACE 抑制率， %；

*SHA*—试样图谱中的 HA 峰面积；

当平行测定符合精密度所规定的要求时，取平行测定的算术平均值作为结果，精确到 0.01%.

以待测肽粉溶液浓度为横坐标，以清除率为纵坐标，建立待测肽粉溶液浓度与清除率的线性方程，计算半数清除率IC50。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

附录B

（规范性附录）

相对分子质量小于10000U的肽所占比例的测定（高效体积排阻色谱法）

A.1 方法提要

采用高效体积排阻色谱法测定。即以多孔性填料为固定相，依据样品组分分子体积大小的差别进行分离，在肽键的紫外吸收波长220nm条件下检测，使用相对分子质量分布测定的专用数据处理软件（即GPC软件)，对标准品和样品的色谱图及其数据进行处理，根据相对分子质量校正曲线方程，计算得到胶原蛋自肽的相对分子质量大小及分布范围。

B.2 试剂

B.2.1 乙腈：色谱纯。

B.2.2 三氟乙酸：分析纯。

B.2.3 水：GB/T 6682规定的一级水。

B.2.4 相对分子质量校正曲线所用标准品：

a) 细胞色素C（cytochrome C，MW12384)；

b) 抑肽酶（aprotinin，MW6512)；

c) 杆菌酶（bacitracin，MW1423)；

d) 乙氨酸-乙氨酸-酪氨酸-精氨酸（MW451)；

e) 乙氨酸-乙氨酸-乙氨酸（MW189)。

A.3 仪器和设备

B.3.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器和含有GPC数据处理软件的色谱工作站。

B.3.2 流动相真空抽滤脱气装置。

B.3.3 超声波振荡器。

B.3.4 分析天平：感量 0.0001 g。

B.4 色谱条件与系统适应性实验

B.4.1 色谱柱：TSKge1 G2000 SWXL300mm×7.8 mm（GEL LOT 502R)或性能与此相近的同类型其他适用于测定肽的分子量分布的凝胶柱。

B.4.2 流动相：乙腈：水：三氟乙酸，体积比为40： 60：0.05。

B.4.3 检测波长：220nm。

B.4.4 流速：0.5 mL/min。

B.4.5 柱温：30℃ 。

B.4.6 进样体积：10μL。

B.4.7 为使色谱系统符合检测要求，规定在上述色谱条件下，凝胶色谱柱的柱效即理论塔板数（N) 按三肽标准品（乙氨酸-乙氨酸-乙氨酸)峰计算不低于5000，蛋自肽的分配系数（Kd )应在 0～1之间。

B.5 相对分子质量校正曲线制作

分别用流动相配制成浓度为1.0 g/L左右的上述不同相对分子质量的肽标准品溶液，用孔径为0.2μm～0.5μm聚四氟乙烯或尼龙过滤膜过滤后分别进样，得到系列标准品的色谱图。 以相对分子质量的对数（1gMW) 对保留时间作图或作线性回归得到相对分子质量校正曲线及其方程。

B.6 样品制备

用称量纸称取样品125.0 mg左右，转移至25 mL 容量瓶中，用流动相定容至刻度，超声振荡10min，使样品充分溶解混匀，用孔径为0.2μm～0.5μm聚四氟乙烯或尼龙过滤膜过滤，其滤液用于测定。

B.7 相对分子质量的计算

将B.6制备的样品溶液在B.4色谱条件下进样分析，然后使用GPC数据处理软件，根据相对分子质量校正曲线方程对样品的色谱图及其数据进行计算处理，即可得到样品中胶原蛋白肽的相对分子质量大小及分布范围。用峰面积归一化法计算相对分子质量小于10000的胶原蛋白肽的相对百分比之和。