

团 体 标 准

T/CHC XXXX—202X

非变性 II 型胶原蛋白（含 II 型胶原蛋白软
骨粉）

Non-denatured type II collagen (Cartilage powder containing type II collagen
protein)

（征求意见稿）

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

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。

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这些专利的责任。

本文件由安徽盛美诺生物技术有限公司提出。

本文件由中国保健协会归口。

本文件起草单位：

本文件为首次发布。

征求意见稿

非变性Ⅱ型胶原蛋白（含Ⅱ型胶原蛋白软骨粉）

1 范围

本标准规定了非变性Ⅱ型胶原蛋白（含Ⅱ型胶原蛋白软骨粉）的术语和定义、技术要求、生产加工过程的卫生要求，试验方法，检验规则和标签、包装、运输、贮存的要求。

本标准适用于以鸡胸软骨为主要原料，经清洗、消毒、粉碎后加入氯化钾、在低温条件下烘干、包装等生产工艺制成的非变性Ⅱ型胶原蛋白产品的生产控制、检验和贮运等环节。

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 191	包装储运图示标志
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/T 4789.3	食品卫生微生物学检验 大肠菌群检验
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 4789.10	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 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	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 5009.12	食品安全国家标准 食品中铅的测定
GB 23527	蛋白酶制剂
GB 5749	生活饮用水卫生标准
GB 7718	食品安全国家标准 预包装食品标签通则
GB 14881	食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范
GB 25594	食品安全国家标准 食品工业用酶制剂
JJF 1070	定量包装商品净含量计量检验规则
GB/T 6543	运输包装用单瓦楞纸箱和双瓦楞纸箱
GB/T 21302	包装用复合膜、袋通则
GB/T 28118	食品包装用塑料与铝箔复合膜、袋
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第75号令〔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 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 非变性Ⅱ型胶原蛋白（含Ⅱ型胶原蛋白软骨粉）

是以鸡胸软骨为主要原料，经清洗、消毒、粉碎后加入氯化钾，在低温条件下烘干得到的含Ⅱ型胶

原蛋白的软骨粉，产品为粉末状。

4 技术要求

4.1 原辅材料

4.1.1 原料

鸡胸软骨应符合 GB 2707 的规定。

4.1.2 辅料

- a) 水应符合 GB 5749 的规定。
- b) 蛋白酶应符合 GB 23527 的规定。

4.1.3 食品添加剂

应符合 GB 2760 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	要 求
色泽	奶黄色或淡黄色
滋味及气味	具有产品特有的滋味和气味，无其它异味
组织形态	呈粉末状、无结块
杂质	无正常视力可见的外来杂质

4.3 理化指标

应符合表2的规定。

表2 理化指标

项 目	指 标
蛋白质（以干基计）g/100g	≥ 45.0
非变性 II 型胶原蛋白，g/100g	≥ 16.0
水分，g/100g	≤ 10.0

4.4 微生物限量

应符合表3的规定。

表3 微生物限量

项 目	采样方案及限量（若非指定，均以/25g表示）			
	n	c	m	M
菌落总数，CFU/g	5	2	10 ³	10 ⁴
大肠菌群，CFU/g	5	2	10	10 ²
霉菌和酵母，CFU/g	≤50			
沙门氏菌，CFU/g	5	0	0	-
金黄色葡萄球菌，CFU/g	5	1	10 ²	10 ³

注：n为同一批次产品应采集的样品件数；c为最大可以超出m值的样品数；m为可接受水平的限量值；M为指标最高的安全限量值。样品的采样及处理按 GB 4789.1 执行。

4.5 污染物限定

污染物限量应符合 GB 2762 中（固体饮料）的规定。

4.6 净含量

符合第75号定量包装商品计量监督管理办法要求。

5 生产加工过程的卫生要求

应符合GB 14881的规定

6 试验方法

6.1 感官检验

称取约5 g样品，散放在白色搪瓷平盘中，在自然光下直接观察样品的形态、色泽和杂质。用30℃左右的水配成1%溶液进行闻味和品尝，确定其气味和滋味。

6.2 蛋白质

按GB 5009.5规定的方法测定。

6.3 非变性II型胶原蛋白

按附录A规定的方法测定。

6.4 水分

按GB 5009.3规定的方法测定。

6.5 菌落总数

按GB 4789.2规定的方法测定。

6.6 大肠菌群

按GB 4789.3规定的方法测定。

6.7 霉菌和酵母

按GB 4789.15规定的方法测定。

6.8 沙门氏菌

按GB 4789.4规定的方法测定。

6.9 金黄色葡萄球菌

按GB 4789.10规定的方法测定。

6.10 污染物限定

按GB 5009.12规定的方法测定。

6.11 净含量

按JJF 1070 规定的方法测定。

7 检验规则

7.1 检验分类

7.1.1 出厂检验

出厂检验项目包括：感官要求、蛋白质、水分、灰分、菌落总数、大肠杆菌。应逐批检验，并出具检验报告。检验合格，方可出厂。

7.1.2 型式检验

型式检验的项目包括4.2、4.3、4.4中规定的全部项目。

常年生产的产品每半年应进行一次型式检验，但有下列情况之一时也应进行型式检验：

- a) 新产品投产时；
- b) 原料、工艺有较大改变时；
- c) 长期停产后恢复生产时；
- d) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时；
- e) 国家质量监督机构提出进行型式检验要求时。

7.2 抽样

7.2.1 组批

同一批原料、同一班次生产的同一规格的产品为一批。

7.2.2 抽样数量和方法

从每批产品中随机抽取不少于3个包装，所取试样不得少于150g样品，用取样工具伸入每袋的3/4处取样。

将采取的试样混匀，装入清洁、干燥、带磨口玻璃瓶中，瓶上粘贴标签，注明生产批次、产品类别、批号、取样日期和地点。

微生物检验按照无菌操作取样。

7.3 判定规则

7.3.1 出厂检验

- a) 出厂检验项目全部符合本标准要求的产品判为合格品。
- b) 出厂检验项目中微生物指标不符合本标准或发现杂质，不得复检，判为不合格品。
- c) 出厂检验项目中除7.3.1 b)提到的指标外，其他指标不符合本标准，可在同批产品中加倍抽样，对不合格项目进行复检，复检结果仍不符合本标准规定，判为不合格品。

7.3.2 型式检验

- a) 型式检验项目全部符合本标准要求的产品判为合格品。
- b) 型式检验项目中微生物指标不符合本标准或发现杂质，不得复检，判为不合格品。
- c) 型式检验项目中除7.3.2 b)提到的指标外，其他指标有两项不符合本标准，可在同批产品中加倍抽样，对不合格项目进行复检，复检结果仍不符合本标准规定，判为不合格品。

8 标志、标签、包装、运输和贮存

8.1 标志、标签

产品标签应符合GB 7718、GB 28050的规定，外包装标志应符合GB/T 191规定。

8.2 包装

包装容器应符合食品安全的要求和相关规定。

8.3 运输

运输产品的车辆和工具应清洁、卫生、干燥，无污染物。运输产品过程中，应有遮盖，防雨防晒，不能与有毒、有害、有异味的产品混运。

8.4 贮存

产品不能露天堆放。成品仓库应清洁、干燥、通风，无鼠虫害。堆放应有垫板，离地10 cm以上，离墙20 cm以上。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。

8.5 保质期

在符合本标准规定的贮存运输条件下，本产品保质期为36个月。

征求意见稿

附录 A

附录 B (规范性)

附录 C 非变性 II 型胶原蛋白含量检测方法——高效液相色谱法

C.1 原理

将试样在酸性条件下水解,羟脯氨酸作为非变性 II 型胶原蛋白的标志性水解产物,利用液相色谱测定,以羟脯氨酸标准品的保留时间定性,外标法定量。

C.2 仪器、设备

C.2.1 分析天平,感量0.0001g。

C.2.2 离心机,转速10000r/min。

C.2.3 液相色谱(HPLC)包含梯度洗脱及检测器。

C.3 试剂

除非另有说明,所用试剂均为分析纯,水为GB/T 6682中规定的一级水

C.3.1 6 mol/L盐酸水溶液

C.3.2 6 mol/L NaOH水溶液

C.3.3 0.5 mol/L NaHCO₃缓冲液

C.3.4 0.1 mol/L DNFB

C.3.5 0.1 mol/L NaH₂PO₄(pH 7.0)

C.3.6 乙腈(色谱纯)

C.3.7 羟脯氨酸标准品

C.3.8 0.05 mol/L 乙酸钠水溶液

C.4 色谱条件

C.4.1 色谱柱: Zorbax C18 (粒径5 μm, 4.6×250 mm)。

C.4.2 流动相: A: 0.05 mol/L 乙酸钠水溶液;B: 50%乙腈水(V/V)

C.4.3 梯度洗脱程序见表B.1

表B.1 梯度洗脱程序

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0	70	30
15	45	55
25	0	100
35	70	30

45	70	30
----	----	----

C. 4. 4 流速：0.5 mL/min。

C. 4. 5 检测时间：45 min

C. 4. 6 进样量：5 μL。

C. 4. 7 柱温：32 °C。

C. 5 样品处理

C. 5. 1 强酸高温水解

取0.2 mg的样品，置于安剖瓶中，向安剖瓶中加入2 mL 6 mol/L HCl中，将该溶液置于安剖瓶内，用氮气置换瓶中空气，使用酒精喷灯密封；将安剖瓶置于烘箱内，110 °C水解12 h后冷却；加入6 mol/L NaOH，将溶液pH调至7.0；加入一定体积纯水定容至10 mL。

C. 5. 2 水解产物的衍生

取出100 μL强酸高温水解中和后的样品，加入200 μL 0.5 mol/L NaHCO₃缓冲液和10 μL DNFB (60 °C熔解至液态)，在60°C下恒温反应1 h；取出后加入1 mL 0.1 mol/L NaH₂PO₄(pH 7.0)，离心10 min,过0.22μm 滤膜后进行HPLC分析。

C. 5. 3 氨基酸标准溶液配置

准确称取一定量羟脯氨酸标准品，用配制5个不同浓度标准工作溶液。每组取出100 μL，加入200 μL 0.5 mol/L NaHCO₃缓冲液和10 μL DNFB (60°C熔解至液态)，在60°C下恒温反应1 h；取出后加入1 mL 0.1 mol/L NaH₂PO₄(pH 7.0)，离心10 min后进行HPLC分析。

C. 5. 4 空白样品

取出100 μL水，加入200 μL 0.5 mol/L NaHCO₃缓冲液和10 μL DNFB (60°C熔解至液态)，在60°C下恒温反应1 h；取出后加入1 mL 0.1 mol/L NaH₂PO₄(pH 7.0)，离心10 min后进行HPLC分析。

C. 6 羟脯氨酸标准曲线制作

根据检测结构，以标准工作溶液浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线，求出回归方程和相关系数。用标准工作曲线对样品进行定量，样品溶液中的特征氨基酸响应值均在仪器检测的线性范围内，如超出线性响应范围应稀释。

C. 7 定性及定量

将标准工作溶液和待测溶液分别注入液相色谱中，以保留时间进行定性。按照液相色谱条件测定标准工作溶液和样品，样品和标准工作溶液中待测物的保留时间偏差在±2.5%之内。定量测定时采用外标法定量，同时做空白试验

C. 8 结果计算

将A.5 制备的样品溶液在A.4 液相色谱条件下分析后，将样品的质谱数据代入标准曲线A.6中进行计算，即得到非变性II型胶原蛋白的百分含量。

试样中非变性II型胶原蛋白百分含量按式(A.1)进行计算

$$X\% = \frac{C * V * A}{m * B} * 100\% \dots\dots\dots(A.1)$$

式中：

X——试样中非变性II型胶原蛋白含量，%；

C——根据标曲计算出的羟脯氨酸浓度 μg/mL；

V——定容体积,mL；

m——称取的初始样品质量,mg；

A——羟脯氨酸与非变性II型胶原蛋白换算系数，10；

B——单位换算系数，1000；
计算结果保留小数点后二位。

征求意见稿