ICS 67.040
CCS X80

中华人民共和国轻工行业标准

QB/T XXXX－XXXX

抗冻蛋白肽粉

Antifreeze peptides powder

XXXX-XX-XX 发布　　XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国工业和信息化部　　发布

工业和信息化部标准报批公示

工业和信息化部标准报批公示
工业和信息化部标准报批公示
工业和信息化部标准报批公示
工业和信息化部标准报批公示
工业和信息化部标准报批公示
工业和信息化部标准报批公示

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。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国食品工业标准化技术委员会（SAC/TC 64）归口。

本文件起草单位：福州大学、安井食品集团股份有限公司、北京工商大学、浙江工商大学、安徽国肽生物科技有限公司、上海交通大学、大连工业大学、胜田（福清）食品有限公司、福建圣农食品有限公司、福建省水产研究所、海欣食品股份有限公司。

本文件主要起草人：汪少芸、陈旭、蔡茜茜、黄建联、马爱进、王彦波、张恒、吴金鸿、杜明、胡正红、周红、刘智禹、蒋荣龙、韩金志、黄丹、马荣池、朱秋享、王旭峰。

本文件为首次发布

工业和信息化部标准报批公示

工业和信息化部标准报批公示
工业和信息化部标准报批公示
工业和信息化部标准报批公示
工业和信息化部标准报批公示
工业和信息化部标准报批公示
工业和信息化部标准报批公示

抗冻蛋白肽粉

1 范围

本文件规定了抗冻蛋白肽粉的原辅料、感官、理化、安全的要求，描述了相应的试验方法，规定了生产加工、检验规则、标签、标志、包装、运输和贮存的内容。

本文件适用于抗冻蛋白肽粉的生产、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/T 191 包装储运图示标志
GB 4789.35-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验
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/T 23527 食品安全国家标准 蛋白酶制剂
GB 31645-2018 食品安全国家标准 胶原蛋白肽

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

抗冻活性 antifreeze activity
具有抑制冰晶生长和重结晶的结构和功能，以嗜热链球菌冷冻存活率表示。

3.2

抗冻蛋白肽粉 antifreeze peptides powder
以富含胶原蛋白的动物组织（包括皮、骨、筋、腱、鳞等）为原料，经酶解、浓缩、干燥工艺生产的具有抗冻活性（3.1）的胶原蛋白肽粉。

4 要求

4.1 原辅料

4.1.1 原料

应符合 GB 31645-2018 的 3.1 规定。

4.1.2 生产用水

应符合 GB 5749 的规定。

4.1.2 蛋白酶制剂

应符合 GB/T 23527 的规定。

4.2 感官要求

应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项目	要求
色泽	白色至黄棕色，色泽均匀一致
组织形态	呈粉末状，无结块，无霉变
滋气味	具有产品应有的滋气味，无异味，无酸败味
杂质	无正常视力可见的外来杂质

4.3 理化指标

应符合GB 31645-2018中的表2的规定，同时应符合表2的规定。

表 2 理化指标

项目	指标		
	一级	二级	三级
抗冻活性(嗜热链球菌冷冻存活率)/(%) ≥	75.0	65.0	50.0

4.4 安全指标

污染物限量与微生物限量应符合GB 31645-2018的规定。

5 生产加工过程

加工操作规范应符合GB 14881的规定。

6 试验方法

6.1 感官要求、理化指标和安全指标

按 GB 31645-2018 规定的方法执行。

6.2 抗冻活性

按附录A规定的方法检测。

7 检验规则

7.1 组批

工业和信息化部标准报批公示

同一天或同一班次生产的同一规格的产品为一批。

7.2　抽样

从每批样品中随机抽取不少于3个最小包装单位样品，用取样工具伸入每袋的3/4处取样，所取试样不应少于100g。

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，注明生产班次、产品类别、批号、取样日期和地点。

微生物检验按无菌操作取样。

7.3　出厂检验

7.3.1　每批产品出厂，应经检验，检验合格后出厂。

7.3.2　出厂检验项目包括：感官要求、总氮、水分和灰分。

7.4　型式检验

7.4.1 正常生产时，每半年进行一次型式检验。有下列情况之一时，应进行型式检验：

a)　新产品试制鉴定时；
b)　原料、设备、生产工艺有较大改变，可能影响产品质量时；
c)　产品停产三个月以上，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要求时。

7.4.2 型式检验项目为本文件第 4 章规定的所有项目。

7.5　判定规则

7.5.1　每批产品出厂，应经检验，检验合格后出厂。

7.5.2　检验项目如有 1～2 项（微生物项目除外）不符合本文件，可从原批中加倍抽样进行检验，复验结果合格则判该批产品合格；复验结果如有再次出现不合格项目，则判该批产品为不合格。

7.5.3　微生物项目如有 1 项或 1 项以上不符合本文件，则判该批产品为不合格，不得复验。

7.5.4　检验项目有两项以上不符合本文件，则判该批产品为不合格，不得复验。

8　标签、标志、包装、运输和贮存

8.1　标签、标志

8.1.1　预包装产品的标签应符合 GB 7718 的规定。

8.1.2　运输包装上的标志应符合 GB/T 191 的规定。

8.2　包装

所用包装材料应洁净、无异味，应符合相关标准的规定。

8.3　运输

运输设备应清洁、卫生、干燥、无异味。运输产品过程中，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运输。

8.4　贮存

产品应贮存在通风干燥清洁的库房中。产品堆放应有垫板，离地10 cm以上，离墙20 cm以上。不应与有毒、有害、有异味的物品同处贮存。

工业和信息化部标准报批公示

附录 A
(规范性)
抗冻蛋白肽粉抗冻活性的检测方法
(平板菌落计数法)

A.1 方法提要

嗜热链球菌对低温敏感，冷冻过程中冰晶的机械应力会造成菌体损伤，甚至死亡。抗冻蛋白肽粉具有抑制冰晶生长和重结晶的结构和功能，能够提高冻融后嗜热链球菌的存活率，存活率越高，说明抗冻活性越强。因此，抗冻蛋白肽粉的抗冻活性高低可以通过测定冻融循环后嗜热链球菌的存活率高低来定量。

A.2 设备

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外，其他设备如下：

A.2.1 恒温培养箱：（36±1）℃。

A.2.2 高速离心机：10000 r/min。

A.2.3 旋涡振荡器。

A.2.4 恒温水浴锅：（36±1）℃。

A.2.5 冰箱：-20 ℃ ~4 ℃。

A.2.6 天平：感量 0.01 g。

A.2.7 电子分析天平：感量 0.01 g。

A.2.8 紫外分光光度计。

A.3 试剂和材料

A.3.1 试剂

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水。

A.3.1.1 MC 培养基（Chalmers Agar）：5.0 g 大豆蛋白胨，3.0 g 牛肉浸膏，3.0 g 酵母浸膏，20.0 g 葡萄糖，20.0 g 乳糖，10.0 g 碳酸钙，0.05 g 中性红。

A.3.2 试剂配制

A3.2.1 MC 液体培养基：称取 60.0 g MC 培养基，加入 1000 mL 蒸馏水中，加热溶解，调节 pH6.0 ± 0.2，121 ℃高压灭菌 15 min ~ 20 min。

A.3.2.2 MC 固体培养基：称取 60.0 g MC 培养基，20 g 琼脂，加入 1000 mL 蒸馏水中，加热溶解，调节 pH6.0 ± 0.2，121 ℃高压灭菌 15 min ~ 20 min。

A.3.2.3 无菌生理盐水：称取 9 g 的氯化钠（NaCl），加入 1000 mL 蒸馏水中，溶解，121 ℃高压灭菌 15 min ~ 20 min。

A.3.3 材料

A.3.3.1 无菌试管：18 mm×180 mm、15 mm×100 mm。

A.3.3.2 无菌吸管：1 mL（具 0.01 mL 刻度）、或微量移液器及吸头。

A.3.3.3 无菌锥形瓶：50 mL、500 mL。

A.3.3.4 冻存管：1.5 mL。

A.3.3.5 微孔滤膜：0.22 μm。

A.3.3.6 嗜热链球菌。

A.4 操作步骤

A.4.1 菌种活化

A.4.1.1 市售嗜热链球菌冻干粉参照说明书进行活化，制成嗜热链菌溶液（以下简称菌液）。

A.4.1.2 菌液充分混匀后，以微量移液器吸取 100 μL 菌液置于盛有 20 mL MC 液体培养基的无菌锥形瓶中，在（36±1）℃，培养（24±2）h。重复上述操作 1 次。

A.4.1.3 将上述菌液充分混匀后，以微量移液器吸取 100 μL 菌液置于盛有 20 mL MC 液体培养基的无菌锥形瓶中，在（36±1）℃，培养 8 h ~ 10 h。

A.4.1.4 将上述菌液充分混匀后，于 4 ℃，5000 r/min 离心 10 min，收集菌泥。

A.4.1.5 将上述菌泥用无菌生理盐水混匀后，于 4 ℃，5000 r/min 离心 10 min，收集菌泥。重复上述操作 1 次。

A.4.1.6 将上述菌泥用无菌生理盐水调节菌液至 600nm 波长处的吸光值（Optical Density, OD）（OD_{600}）处于 1.2 ~ 1.5。

A.4.2 抗冻蛋白肽粉溶液制备

称取 0.05 g 抗冻蛋白肽粉于 9 mL 无菌生理盐水中，用漩涡振荡器溶解，用 0.22 μm 滤膜过滤除菌。

A.4.3 样品匀液制备

A.4.3.1 以 1 mL 无菌吸管或微量移液器吸取 OD_{600} 在 1.2 ~ 1.5 的菌液 1 mL，沿管壁缓慢注于装有 9 mL 生理盐水的无菌试管中，振摇试管或换用 1 支无菌吸管反复吹打使其混合均匀，制成体积分数为 10% 的菌液。

A.4.3.2 按上述操作顺序，做 10 倍系列稀释，制成 1 : 10^5 菌液。每递增稀释一次，换用 1 次 1 mL 无菌吸管或吸头。

A.4.3.3 将上述菌液充分混匀后，以微量移液器吸取 100 μL 菌液，注入到盛有 900 μL 抗冻蛋白肽粉溶液的冻存管中，充分混匀，制成样品匀液，将样品匀液分成两份，标记为匀液 A 和匀液 B。

A.4.4 菌种冷冻解冻处理

A.4.4.1 将上述样品匀液 A 置于（-20±2）℃的冰箱冷冻处理（4±2）h 后，于（36±1）℃恒温水浴锅中解冻（10±2）min。重复上述操作 1 次。

A.4.4.2 将上述解冻后的样品匀液 A 置于-18 ℃及以下的冰箱冷冻（18±2）h，于（36±1）℃恒温水浴锅中解冻（10±2）min 后进行计数。

A.4.5 嗜热链球菌计数

将 A.5.4.2 中解冻后的样品匀液 A 和 A.5.3.3 中的样品匀液 B 按 GB 4789.35-2016 中 6.2.3.3 规定的方法进行嗜热链球菌计数。

A.5 结果计算和表述

样品匀液中嗜热链球菌的冷冻存活率按公式 (A.1)计算：

$$X = \frac{N_A}{N_B} \times 100\% \quad \text{.....(A.1)}$$

式中：

X——样品匀液中嗜热链球菌的冷冻存活率，单位为百分之百（%）；

N_A——样品匀液 A 中的嗜热链球菌菌落数；单位为 CFU/mL;

N_B——样品匀液 B 中的嗜热链球菌菌落数。单位为 CFU/mL。

A.6 精密度

计算结果表示到小数点后两位，试验结果以平行测定结果的算术平均值表示。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大于算术平均值的 5 %。

工业和信息化部标准报批公示