

中华人民共和国轻工行业标准

QB/T XXXXX—20XX

蛋黄球蛋白

Egg yolk globulin

(征求意见稿)

20XX - XX - XX 发布

20XX - XX - XX 实施

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：。

本文件主要起草人：。

本文件为首次发布。

蛋黄球蛋白

1 范围

本文件规定了蛋黄球蛋白的技术要求，描述了相应的试验方法，规定了检验规则、标志、标签、包装、运输和贮存。

本文件适用于以鸡蛋为主要原料，经清洗、消毒、打蛋、低温提取、精制等工艺制成的蛋黄球蛋白的生产、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/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备
 - GB/T 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备
 - GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备
 - JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则
 - GB 2749 食品安全国家标准 蛋与蛋制品
 - GB 2760 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准
 - 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 5009.6 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定
 - 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 14880 食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准
 - GB 14881 食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范
 - GB 21710 食品安全国家标准 蛋与蛋制品生产卫生规范
 - GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则
- 《定量包装商品计量监督管理办法》（国家市场监督管理总局[2023]第70号令）

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 技术要求

4.1 原辅料要求

4.1.1 鸡蛋

应符合GB 2749的规定。

4.1.2 生产用水

应符合GB 5749的规定。

4.1.3 其他原辅料

应符合相关的国家标准或行业标准的规定。

4.1.4 食品添加剂

应符合GB 2760、GB 14880和产品相关的国家标准的规定。

4.2 感官要求

应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	白色至淡粉色
状态	粉末
气味	具有产品应有的气味，无异味，无异臭
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/(g/100 g)	≥ 85.0
球蛋白/(g/100 g)	≥ 50.0
γ-球蛋白占蛋白质比例/%	≥ 20.0
水分/(g/100 g)	≤ 8.0
灰分/(g/100 g)	≤ 3.0
脂肪/(g/100 g)	≤ 2.5

4.4 微生物限量

应符合表3的规定。

表3 微生物限量

项 目	指 标
菌落总数/(CFU/g)	≤ 1 000
大肠菌群/(CFU/g)	≤ 10

4.5 污染物限量、农药残留限量、兽药残留限量

应符合GB 2749的规定。

4.6 净含量

应符合《定量包装商品计量监督管理办法》的规定。

4.7 生产加工过程卫生要求

应符合GB 14881和GB 21710的规定。

5 试验方法

5.1 一般规定

本标准所用试剂和水，在未注明其他要求时，均指分析纯试剂和GB/T 6682规定的三级水。试验中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品，在未注明其他要求时，均按GB/T 601、GB/T 602和GB/T 603的规定制备。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

5.2 感官

取适量试样，置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光线下，观察其色泽与状态，闻其气味，观察有无外来杂质。

5.3 蛋白质

按照GB 5009.5凯氏定氮法进行测定，蛋白质折算系数为6.12。

5.4 球蛋白

按照附录A中A.1进行测定。

5.5 γ -球蛋白占蛋白质比例

按照附录A中A.1进行测定。

5.6 水分

按照GB 5009.3直接干燥法进行测定。

5.7 灰分

按照GB 5009.4食品中总灰分的测定进行测定。

5.8 脂肪

按照GB 5009.6索氏抽提法进行测定。

5.9 菌落总数

按照GB 4789.2进行测定。

5.10 大肠菌群

按照GB 4789.3平板计数法进行测定。

5.11 净含量

按照JJF 1070的规定执行。

6 检验规则

6.1 组批

同原料、同配方、同工艺生产的，同一班次或同一生产线连续生产的，符合质量要求的，同一品种的质量均一的产品为一批。

6.2 抽样

试样的抽取应使用清洁、干燥的取样工具，等量取样。一般取样量为全检量的3倍，如有特殊需求，根据实际情况加大取样量。将抽取的试样混匀，通过四分法分样。

6.3 检验分类

产品的检验分出厂检验和型式检验。

6.4 出厂检验

6.4.1 每批产品应经企业质检部门按本文件检验合格并附合格证后方可出厂。

6.4.2 出厂检验项目为：感官要求、蛋白质、球蛋白、 γ -球蛋白占蛋白质比例、水分、灰分、脂肪、菌落总数、大肠菌群、净含量。

6.5 型式检验

6.5.1 检验项目为本文件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。

6.5.2 有下列情况之一时，亦应进行型式检验：

- 原辅材料有较大变化时；
- 更改关键工艺或设备时；
- 新试制的产品或正常生产的产品停产3个月后，重新恢复生产时；
- 出厂检验与上次型式检验结果有较大差异时；
- 国家市场监督管理机构按有关规定需要抽检时。

6.6 判定规则

6.6.1 检验项目符合本文件的规定时，则判定该批产品合格。

6.6.2 感官要求、理化指标、污染物限量、农药残留限量和兽药残留限量有1项不合格，则应重新自该批产品中加倍取样复验，以复验结果为准；有2项或2项以上不合格，则判定该批产品不合格，不应复验。

6.6.3 微生物限量有1项不合格，则判定该批产品不合格，不应复验。

7 标志、标签、包装、运输、贮存

7.1 标志、标签

7.1.1 销售包装标签应符合GB 7718和GB 28050的规定。

7.1.2 包装储运图示应符合GB/T 191的规定。

7.2 包装

7.2.1 包装材料应符合相应的国家标准或行业标准的规定。

7.2.2 包装物和容器应整洁、卫生、无破损。

7.3 运输

运输工具应清洁卫生，运输过程中应防止日晒、雨淋、重压，不应与有毒、有害、有腐蚀性、易挥发或有异味的物品混运。

7.4 贮存

产品应贮存在通风、干燥处。产品不应与有毒、有害、有异味、易挥发、易腐蚀的物品同处贮存。

附录 A

(规范性)

检测方法

警示：使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关法规规定的条件。

A.1 球蛋白和 γ -球蛋白占蛋白质比例

A.1.1 原理

试样用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 后，用凝胶成像仪对球蛋白和 γ -球蛋白进行测定分析，计算球蛋白和 γ -球蛋白的含量。

A.1.2 试剂和材料

A.1.2.1 水：GB/T 6682，一级水。

A.1.2.2 盐酸：优级纯。

A.1.2.3 N, N-亚甲基双丙烯酰胺 ($C_7H_{10}N_2O_2$)：化学纯。

A.1.2.4 十二烷基硫酸钠 ($C_{12}H_{25}SO_4Na$)：化学纯。

A.1.2.5 盐酸溶液 (4 mol/L)：量取盐酸 36 mL，缓缓加入 50 mL 水中并定容至 100 mL，混匀。

A.1.2.6 丙烯酰胺贮备液：称取丙烯酰胺 38.0 g 和 N, N-亚甲基双丙烯酰胺 2.0 g，加水 80 mL 溶解并搅拌至溶液变澄清透明，并稀释至 100 mL，过滤，临用现配。

A.1.2.7 浓缩胶缓冲液贮备液 (1 mol/L、pH 6.8)：称取三羟甲基氨基甲烷 6.06 g，加水 40 mL 溶解，用盐酸溶液调节 pH 至 6.8，加水定容至 50 mL，临用现配。

A.1.2.8 分离胶缓冲液贮备液 (1.5 mol/L、pH 8.8)：称取三羟甲基氨基甲烷 9.08 g，加水 40 mL 溶解，用盐酸溶液调节 pH 至 8.8，加水定容至 50 mL，临用现配。

A.1.2.9 十二烷基硫酸钠溶液：100 g/L。

A.1.2.10 N, N, N', N'-四甲基乙二胺溶液：100 mL/L。

A.1.2.11 过硫酸铵溶液：100 g/L，临用现配。

A.1.2.12 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐溶液 (1 mol/L)：称取三羟甲基氨基甲烷 12.1g，加入 50 mL 水溶解后，用盐酸溶液调节 pH 至 8.0，然后加水定容至 100mL。

A.1.2.13 上样缓冲液：三羟甲基氨基甲烷盐酸盐溶液 0.1 mL、二硫苏糖醇 77.1 mg、十二烷基硫酸钠 0.1 g、甘油 1 mL，溴酚蓝 0.8 mg，混合均匀后加水稀释并定容至 5 mL，0℃~8℃保存。

A.1.2.14 电泳缓冲液 (pH 8.3)：称取三羟甲基氨基甲烷 3 g 和甘氨酸 18.8 g，加入十二烷基硫酸钠溶液 10 mL，用盐酸溶液调节 pH 至 8.3，加水定容至 1 000 mL，临用现配。

A.1.2.15 考马斯亮蓝染色液 (1 g/L)：称取考马斯亮蓝 R-250 染料 0.1 g，加入乙醇 20 mL，冰乙酸 10 mL，混匀后，加水定容至 100 mL。

A.1.2.16 脱色液：冰乙酸+甲醇+水=100+100+800。

A.1.3 仪器和设备

A.1.3.1 分析天平：感量 0.000 1 g。

A.1.3.2 磁力搅拌器。

A.1.3.3 水浴锅。

A.1.3.4 离心机。

A.1.3.5 滤纸条。

A. 1. 3. 6 微量进样器：10 μL 。

A. 1. 3. 7 电泳仪。

A. 1. 3. 8 凝胶成像仪。

A. 1. 4 分析步骤

A. 1. 4. 1 试样溶液的制备

称取试样0.1 g，精确至0.000 1 g，加适量水溶解并定容至10 mL，量取该溶液1 mL，加入上样缓冲液1 mL，沸水浴加热5 min~10 min，8000 g/min离心5 min，取上清液，-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

A. 1. 4. 2 分离胶的制备

按照表A.1制备分离胶（8%）20 mL，加入到长、短玻璃板间的缝隙内，约高60 mm~70 mm。沿长玻璃板壁缓慢注入水，进行水封。约30 min后，凝胶与水封层间出现折射率不同的界限，则表示凝胶完全聚合。倾倒水封层的水，用滤纸条吸去多余水分。

A. 1. 4. 3 浓缩胶的制备

按照表A.1制备浓缩胶（5%）10 mL，混匀后加到已聚合的分离胶上方，直至距离短玻璃板上缘约5 mm处。轻轻将试样槽模板插入浓缩胶内，约30 min后凝胶聚合，再放置20 min~30 min，使凝胶老化。

表 A. 1 SDS-PAGE 凝胶制备

贮液	分离胶（8%）	浓缩胶（5%）
丙烯酰胺贮备液	1.1 mL	0.25 mL
浓缩胶缓冲液贮备液	—	0.25 mL
分离胶缓冲液贮备液	1.3 mL	—
十二烷基硫酸钠溶液	50 μL	20 μL
水	3 mL	1.48 mL
N, N, N', N'-四甲基乙二胺溶液	4 μL	4 μL
过硫酸铵溶液	50 μL	20 μL

A. 1. 4. 4 装槽

水平取出梳子，将胶板垂直放入电泳槽中，并加入电泳缓冲液，浸没玻璃板上边缘。

A. 1. 4. 5 进样

用微量进样器加入试样溶液10 μL 。

A. 1. 4. 6 参考电泳条件

浓缩胶中浓缩80 V，分离胶中分离120 V。

A. 1. 4. 7 染色

剥出的凝胶先用水清洗三次，浸泡在盛有考马斯亮蓝染色液的器皿中，染色0.5 h~1 h。

A. 1. 4. 8 脱色

染色后凝胶先用水冲洗表面的多余染料，再用脱色液浸泡脱色，更换脱色液脱色至凝胶背景无色。

A.1.5 测定

用凝胶成像仪对凝胶进行拍照分析，根据光密度值计算球蛋白的含量和 γ -球蛋白的占比。蛋黄球蛋白SDS-PAGE图见附录B中图B.1。

A.1.6 球蛋白结果计算

球蛋白含量以质量分数 ω_1 计，数值以克每百克（g/100 g）表示，按公式（A.1）计算：

$$\omega_1 = \frac{OD_S}{OD_{Sum}} \times C_S \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

OD_S ——凝胶中 α -球蛋白、 β -球蛋白和 γ -球蛋白条带的光密度值之和；

OD_{Sum} ——凝胶中所有蛋白条带的光密度值之和；

C_S ——试样的蛋白质含量，单位为克每百克（g/100 g）。

测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

A.1.7 γ -球蛋白占蛋白质比例结果计算

γ -球蛋白占蛋白质比例以 ω_2 计，数值以%表示，按公式（A.2）计算：

$$\omega_2 = \frac{OD_{\gamma h} + OD_{\gamma l}}{OD_{Sum}} \times 100\% \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

$OD_{\gamma h}$ ——凝胶中 γ -球蛋白重链光密值；

$OD_{\gamma l}$ ——凝胶中 γ -球蛋白轻链光密值；

OD_{Sum} ——凝胶中所有蛋白条带的光密度值之和。

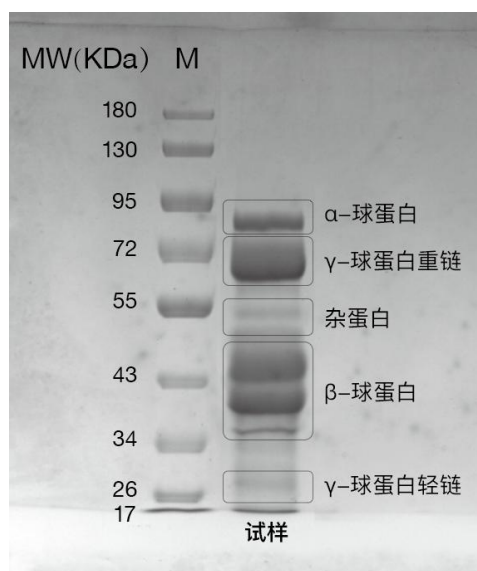
测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

A.1.8 精密度

在重复性条件下获得的两侧独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的10%。

附录 B
(资料性)
蛋黄球蛋白 SDS-PAGE 图

蛋黄球蛋白 SDS-PAGE 图见图 B.1。



图B.1 蛋黄球蛋白 SDS-PAGE 图