

ICS

点击此处添加中国标准文献分类号

T/CVDA
团体标准

T/CVDA XXXXX—2024

改善宠物骨密度产品的有效性检验方法和程序

Effectiveness testing methods and procedures for improving pet bone density improvement products

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中国兽药协会 发布

目 录

前 言	2
1 范围	3
2 规范性引用文件	3
3 术语和定义	3
3.1 宠物	4
3.2 骨密度	4
3.3 骨代谢	4
3.4 骨钙	4
3.5 钙吸收率	4
4 通用要求	4
4.1 受试样品及处理要求	4
4.2 受试实验动物、饲养环境及饲料要求	4
4.3 试食试验及宠物要求	5
5 实验设计	5
5.1 以补钙为主的受试样品	6
5.2 不以补钙为主或不含钙的受试样品	6
5.3 宠物试食实验设计	6
6 实验方法	6
6.1 补钙为主的受试样品	6
6.2 不含钙或不以补钙为主的受试样品	8
6.3 宠物试食试验测定指标	9
7 数据处理与结果判定	10
7.1 数据处理	10
7.2 结果判定（需要通过判定）	10
8 实验报告	10
参考文献	12

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

本文件由中国兽药协会提出并归口管理。

本文件起草单位：上海宠幸宠物用品有限公司、卫仕营养科学研究院（江苏）有限公司、江苏大学。

本文件主要起草人：马海乐、段玉清、李云亮、刘淑琴、。

1 范围

本标准规定改善宠物骨密度产品的术语和定义，并规范改善宠物gumidu 产品的功效检验方法和程序，包括受试样品及处理要求、试食宠物要求、实验设计（组别和受试样品给予）、分析测试项目和试验方法、数据处理与结果判定及实验报告。

本标准适用于声称具有化毛球的宠物饲料（宠物食品）、保健产品、宠物零食、饲料原料及添加剂的有效性评价。

本标准适用的宠物品种为犬、猫为主的伴侣动物。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB14925 实验动物 环境及设施
- GB19489 实验室 生物安全通用要求
- GB/T 27476.1 检测实验室安全第1部分:总则
- GB/T 29252 实验室仪器和设备质量检验规则
- GB/T 31190 实验室废弃化学品收集技术规范
- GB/T 35507 生化用试剂测定通则
- GB/T 35823 实验动物 动物实验通用要求
- GB/T 35892 实验动物 福利伦理审查指南
- RB/T 199 实验室设备生物安全性能评价技术规范
- SN/T 3509 实验室样品管理指南
- SN/T 3592 实验室化学药品和样品废弃物处理的标准指南
- SN/T 4835 实验室生物废弃物管理要求
- GB 16740 保健（功能）食品通用标准
- GB 26687 食品安全国家标准 复配食品添加剂通则
- GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则
- 保健食品功能检验与评价技术指导原则（2023年版）
- 保健食品功能检验与评价方法（2023年版）
- GB 10648-2013/XG1-2020 《饲料标签》国家标准第1号修改单。
- GB 13078-2017 饲料卫生标准
- GB/T 18823 饲料检测结果判定的允许误差
- DB21/T 2356-2014 饲料和饲料添加剂使用监督规范
- 《宠物饲料标签规定》，农业农村部第20号公告《宠物饲料管理办法》
- 《饲料添加剂安全使用规范》，中华人民共和国农业部公告第1224号

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 宠物 pet

家庭饲养的作为伴侣动物的犬和猫，或工作用途的犬。

[来源：GB/T31216-2014 和 GB/T31217-2014，无修改]

3.2 骨密度 bone mineral densi

指单位体积内骨骼中骨矿物质含量，以克/每立方厘米表示。

3.3 骨代谢 bone metabolism

旧骨质被吸收，新骨质形成，使骨组织不断得到更新转换，并与细胞外液不断进行钙、磷交换的过程。可以维持骨的坚韧性和弹性，并保持血液中钙离子浓度的稳定性。

3.4 骨钙 bone calcium

指骨中钙含量。

3.5 钙吸收率 dissolved hair ball products

指机体对摄入钙质的吸收程度。

4 通用要求

4.1 受试样品及处理要求

4.1.1 受试样品要求

4.1.1.1 应提供受试样品的名称、性状、规格、批号、生产日期、保质期、保存条件、申请单位名称、生产企业名称、配方、生产工艺、质量标准、营养功能以及推荐摄入量等信息。

4.1.1.2 受试样品应是规格化的定型产品，即符合既定的配方、生产工艺及质量标准。

4.1.1.3 应提供受试样品的主要成分、功效成分/标志性成分及可能的有害成分的分析报告。

4.1.1.4 申请产品审定或登记的受试物，应与拟上市的产品完全一致。

4.1.2 需前处理的受试样品

4.1.2.1 推荐量较大的受试样品。超过实验动物的灌胃量、掺入饲料的承受量等情况时，可适当减少受试样品中的非功效成分的含量，对某些推荐用量极大（如饮料等）的受试样品，还可去除部分无安全问题的功效成分（如糖等），以满足功能评价的需要。以非定型产品进行试验时，应当说明理由，并提供受试样品处理过程的详细说明和相应的证明文件，处理过程应与原产品的主要生产工艺步骤保持一致。

4.1.2.2 需要浓缩的液体受试样品。应尽可能选择不破坏其功效成分的方法。一般可选择 60-70℃减压或常压蒸发浓缩、冷冻干燥等进行浓缩。浓缩的倍数依具体实验要求而定。

4.1.2.3 冲泡形式饮用的受试样品（如袋泡剂）。可使用其水提取物进行功能实验，提取的方式应与产品推荐饮用的方式相同。如产品无特殊推荐饮用方式，则采用下述提取条件：常压，温度 80-90℃，时间 30-60min，水量为受试样品体积的 10 倍以上，提取 2 次，将其合并后浓缩至所需浓度，并标明该浓缩液与原料的比例关系。

4.2 受试实验动物、饲养环境及饲料要求

4.2.1 实验动物要求

根据各项实验的具体要求，合理选择实验动物。常用大鼠和小鼠，品系不限，应使用适用于相应功能评价的动物品系，推荐使用近交系动物。动物的性别、周龄依实验需要进行选择。实验动物的数量要求为小鼠每组 10—15 只（单一性别），大鼠每组 8—12 只（单一性别）。

4.2.2 饲养环境

动物及其实验环境应符合国家对实验动物及其实验环境的有关规定。

4.2.3 动物饲料

应提供饲料生产商等相关资料。如为定制饲料，应提供基础饲料配方、配制方法，并提供动物饲料检验报告。

4.3 试食试验及宠物要求

4.3.1 基本要求

所有评价实验应进行动物伦理审查，参照 GB/T 35892 实验动物 福利伦理审查指南进行。根据受试样品所需判定功能的要求选择适用的试验宠物。试食宠物应该按照品种遗传背景相同、年龄体重相近、泪痕程度一致性原则。试验前对试验宠物进行常规的免疫、驱虫处理。在受试宠物身上采集各种生物样本应详细记录采集样本的种类、数量、次数、采集方法和采集日期。受试宠物应当符合纳入标准和排除标准要求，以排除可能干扰试验目的的各种因素。

4.3.1.1 原则上受试样品已经通过动物实验证实（没有适宜动物实验评价方法的除外），确定其具有改善骨密度的保健功能。

4.3.1.2 原则上宠物试食试验应在动物功能学实验有效的前提下进行。

4.3.1.3 宠物试食试验受试样品必需经过动物毒理学安全性评价，并确认为安全的食品。

4.3.1.4 根据试食试验设计要求、受试样品的性质、期限等，选择一定数量的受试宠物。试食试验报告中试食组和对照组的有效例数不少于 50，且试验的脱离率一般不得超过 20%。

4.3.1.5 开始试食前要根据受试样品性质，估计试食后可能产生的反应，并提出相应的处理措施。

4.3.2 纳入标准

受试对象为低骨密度宠物，犬类骨密度低于 1.1 g/cm^3 ，猫类骨密度范围骨密度低于 1.0 g/cm^3 。（犬类和猫类正常骨密度范围分别是 $1.1-1.4 \text{ g/cm}^3$ 和 $1.0-1.2 \text{ g/cm}^3$ ）。

4.3.3 排除标准

合并有心、肝、肾和造血系统等严重疾病者；短期内服用与受试功能有关的物品，影响结果判断者；未能按标准服用受试样品，资料不全影响功效判断者。

5 实验设计

有助于改善骨密度作用检验方法根据受试样品作用原理的不同，分为补钙为主的受试样品、不含钙或不以补钙为主的受试样品两种。根据受试样品作用原理的不同，任选其一进行动物实验。所列指标均为必做项目。使用未批准用于食品的钙的化合物，除必做项目外，还必须进行钙吸收率的测定；使用属营养强化剂范围内的钙源及来自普通食品的钙源（如可食动物的骨、奶等），可以不进行钙的吸收率实

验。

5.1 以补钙为主的受试样品

机体中的钙绝大部分储存于骨骼及牙齿中，大鼠若摄入钙量不足会影响机体和骨骼的生长发育，表现为体重、身长、骨长、骨重、骨钙含量及骨密度低于摄食足量钙的正常大鼠。生长期大鼠在摄食低钙饲料的基础上分别补充碳酸钙（对照组）或受试含钙产品（实验组），比较两者在促进机体及骨骼的生长发育，增加骨矿物质含量和增加骨密度功能上的作用，从而对受试样品有助于改善骨密度的功能进行评价。

该部分以断乳大鼠为受试实验动物，通过基础饲料添加受试样品的方式，给予时间一般不少于 2-3 个月。检测骨钙含量或骨密度、钙吸收率，并与低钙对照组和碳酸钙对照组相比较，判定受试样品是否具有改善骨密度的作用。

5.2 不以补钙为主或不含钙的受试样品

雌性成年大鼠切除卵巢后，骨代谢增强，并发生骨重吸收（破骨）作用大于骨生成（成骨）作用的变化。这种变化表现为骨量丢失，经过一定时间的积累，可以造成骨密度降低模型。在建立模型的同时或模型建立之后给模型实验组大鼠补充受试样品，通过受试物抑制破骨或促进成骨等骨代谢调节作用，观察其在增加骨密度功能及骨钙含量的效果，从而对受试样品有助于改善骨密度的功能进行评价。

5.3 宠物试食实验设计

5.3.1 试验设计及分组要求

采用自身和组间两种对照设计。按受试者的骨密度水平随机分为试食组和对照组，尽可能考虑影响结果的主要因素如品种、性别、年龄、饮食等，进行均衡性检验，以保证组间的可比性。每组受试者不少于 50 例。

5.3.2 受试样品的剂量和使用方法

试食组按推荐服用方法、服用量服用受试产品，对照组可服用安慰剂或采用空白对照，也可服用具有同样作用的阳性物。受试样品给予时间 30 天，必要时可延长至 120 天。试验期间不改变原来的饮食习惯，正常饮食。

6 实验方法

6.1 补钙为主的受试样品

6.1.1 实验动物及饲料配方

6.1.1.1 实验动物 出生 4 周左右的断乳大鼠，体重约 60-75 克，同一性别，每组 8-12 只。

6.1.1.2 基础饲料 用此基础饲料配制低钙对照组以及各剂量组。

表 1 基础饲料配方（Ca²⁺计，调整 Ca²⁺为 150mg/100g 饲料）

成分	%
酪蛋白	10.0
黄豆粉	15.0
小麦面粉	54.0
玉米油或花生油	4.0

纤维素	2.0
混合盐	2.6
混合维生素	1.0
氯化胆碱	0.2
DL-蛋氨酸	0.2
淀粉	11.0

注：上述配方饲料解说说明如下：

①需高压处理后用。

②混合盐：每 kg 混合盐中各组份含量： KH_2PO_4 ，501.4g；NaCl，74.0g； MgCO_3 ，50.2g；乳酸亚铁，5.4g；乳酸锌，4.16g； MnCO_3 ，3.5g； $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ，0.605g； Na_2SeO_3 ，6.6mg；KI，7.76mg； $\text{Cr}_3\text{Cl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，0.292g；加蔗糖到 1kg。

③混合维生素：每 kg 混合维生素中各组份含量：维生素 A，400,000IU；维生素 D3，100,000IU；维生素 E，500IU；维生素 K，5mg；维生素 B1，600mg；维生素 B2，600mg；维生素 B6，700mg；维生素 B12，1mg；尼克酸，3g；叶酸，200mg；泛酸钙，1.6g；生物素，20mg；加蔗糖到 1kg。

④可根据各组待测受试物（或碳酸钙）的需用量调节淀粉用量。

6.1.2 动物分组及受试样品给予

出生 4 周的断乳大鼠经适应期一周后，禁食 12 小时，称体重，按体重随机分组，分笼饲养。饮用去离子水以避免从饮水中获得钙。实验设三个剂量组，以人体推荐量的 5 倍为其中的一个剂量组，另设二个剂量组，同时设一个低钙对照组（150mg/100g 饲料）和与相应剂量受试物钙水平相同的碳酸钙对照组（如仅设一个碳酸钙对照组，推荐设立与高剂量钙水平相同的碳酸钙对照组）。用低钙对照组（150mg/100g 饲料）饲料配制受试样品各剂量组和碳酸钙对照组。经口灌胃给予受试物，无法灌胃时将受试物掺入饲料，并记录每只动物的饲料摄入量。受试样品给予时间 3 个月。

6.1.3 分析测试指标

6.1.3.1 体重测定 禁食 12 小时后，测定体重。每周一次。

6.1.3.2 股骨重量测定 动物喂养 3 个月后处死，剥离出右侧股骨，于 105℃烤箱中烤至恒重，称量骨干重。

6.1.3.3 股骨骨密度测定 采用骨密度仪，（双能 X 线骨密度仪、或单光子骨密度仪或相关仪器）测量股骨中点及股骨远心端的骨密度。

① 在股骨远心端及股骨中点画出标记以确定测量点。股骨中点测量点的确定：测量股骨全长，通过其中点，沿横截面方向画一直线，此为股骨中点测量点（截面）。股骨远心端测量点的确定：于股骨远心端关节凹槽最下缘处确定测量点，通过此点，画一与上述股骨中点处标记平行的直线，此为股骨远心端测量点（截面）。

② 测量前用骨模型对仪器进行校准。

③ 经校准可以使用后，继续测定骨模型并与其标准值进行比较，误差不得超过 3%。

④ 双能 X 线骨密度仪或单光子骨密度仪参数设定：测定方式：精密；扫描次数：2 次；扫描方式：自动；探测域值：99%。

⑤ 测量股骨中点及股骨远心端骨密度。将待测骨放置于测量台上与骨密度仪探测头移动方向垂直；移动待测骨，令其待测点标记线与探测头移动轨迹于测量台上的垂直投影重合。开始测量，每点应重复测定两次，如两次结果不平行（误差大于 10%），应当重新测量。将两次结果取平均值，以 BW（骨宽）除 BMC（骨矿物质含量），其结果即为 BMD（骨密度）。

6.1.3.4 骨钙含量及饲料含钙量测定，采用原子吸收法测量。

①样品采集与制备。饲料样品经均匀混合并过 20 目筛，在烘箱中烘干，置干燥器中冷却后称重，磨细。注意防止在样品制备过程中的污染；

②取大鼠一侧股骨在 105℃烘箱中烘干至恒重后，置于三角瓶中进行消化。

③ 样品消化根据样品中钙的含量，准确称取 0.30-1.00 克，置于 150mL 三角瓶中，上盖小漏斗，加入混合酸（硝酸:高氯酸=4:1）15-20mL，在电热板上加热消化直至冒白烟并透明无色。酸液不够时可以再加入少量混合酸。消化液透明无色后加数毫升去离子水，煮沸以赶除剩余的酸，重复两次，最后消化液的体积不超过 1mL。消化样品时应同时作空白试验，加入与样品消化时相同体积的混合酸，在相同条件下消化。

④ 测定，按照原子吸收分光光度计仪器说明书的步骤进行。测定液、标准溶液和空白均用 0.5% 氧化镧溶液稀释，定容。

6.2 不含钙或不以补钙为主的受试样品

6.2.1 实验动物和饲料配方

Wistar 或 SD 雌性大鼠，300 克左右，实验前适应 1 周。参照 AIN93 饲料配方配制半成品饲料，用适当的物质替换饲料中来源于大豆的成分，以避免大豆异黄酮等植物雌激素对实验结果的干扰。参考配方见下表。

表 2 参考饲料配方

成分	含量 (%)
酪蛋白	23
DL-蛋氨酸	0.3
玉米淀粉	32
蔗糖	30
纤维	5
米油	5
混合矿物盐 ^a	3.5
混合维生素 ^b	1
二酒石酸胆碱	0.2

a 含有 (mg/kg 饲料): $MnSO_4$ 110, $CuSO_4$ 0.8, $FeSO_4$ 1.2, KI 18.0, $ZnSO_4$ 2960, $CaHPO_4$ 2890, $MgSO_4$ 1.25×10^4 。

b 含有 (/kg 饲料): VitA 1.4×10^4 IU, VitD 1500 IU, VitE 120mg, VitK 3mg, VitB₁ 12mg, VitB₂ 20mg, VitB₆ 12mg, VitB₁₂ 0.03mg, 烟酸 60mg, 泛酸 24mg, 叶酸 6mg, 生物素 0.54mg。

6.2.2 大鼠骨密度降低模型

采用卵巢切除术造骨密度降低模型。具体步骤如下：大鼠经腹腔注射 30 mg/kg BW 的戊巴比妥钠溶液麻醉，腹位固定后于腹中线距阴道口 3-4cm 处去毛，分别用碘酒和酒精消毒，待稍干后切开皮肤和腹肌约 2-3cm，切口视野可见白色脂肪，拨开脂肪层找到子宫后，轻轻将一侧子宫角拉出，在其末端可见被脂肪团包裹的卵巢。分离脂肪团，便可见到粉红色或黄红色的卵巢，以止血钳夹住卵巢，然后将卵巢下输卵管（包括脂肪）用丝线结扎，剪除卵巢（检查是否完全剪除），顺势将子宫角送回腹腔中，同法剪除另侧卵巢。腹肌和皮肤分层缝合后，再次消毒。最后经后肢肌肉注射 2 万 U 青霉素。也可经背部肋脊角切口行卵巢切除术。为保证手术成功，大鼠摘除卵巢后 5 天，进行阴道涂片检查（用滴管吸取少量生理盐水，轻轻插入阴道 1-2cm，冲洗数次后吸出，涂于玻片上，镜下观察），每天一次，连续 7 天，以检查大鼠卵巢是否完全摘除；如涂片呈动情反应（镜下见大量半透明、扁平的表皮细胞），表明

动物卵巢切除不完全，应弃去不用。有经验者可不进行术后筛查。

6.2.3 动物分组及受试样品给予

6.2.3.1 动物分组 大鼠经适应性饲养后分组，实验动物按体重随机分组为假手术组、切除卵巢组+溶剂组、切除卵巢+低剂量受试物组、切除卵巢+中剂量受试物组、切除卵巢+高剂量受试物组。必要时设切除卵巢+阳性对照组（具雌激素活性的物质）。每组动物 8-12 只。

6.2.3.2 受试样品剂量分组及给予时间 如果受试物为不含钙产品，实验设三个剂量组和一个阴性对照组，以人体推荐量的 5 倍为其中的一个剂量组，另设二个剂量组，必要时设阳性对照组。如果受试物是不以补钙为主（可少量含钙）的产品，在根据成人每公斤人体推荐量设置三个剂量受试物组的基础上，可再设与相应受试物钙水平相似的碳酸钙对照组。

（如仅设一个碳酸钙对照组，推荐设立与高剂量钙相同的碳酸钙对照组）各组动物手术后 3-5 天开始灌胃给予受试物或溶剂，无法灌胃时将受试物掺入饲料，并记录每只动物的饲料摄入量。要考虑饲料中是否存在大豆异黄酮对结果的影响。受试物给予时间 3 个月。

6.2.4 分析测试指标

6.2.4.1 体重

6.2.4.2 骨钙测定 ① 样品采集与制备。取大鼠一侧股骨在 105℃烘箱中烘干至恒重后，称量骨干重，置于三角瓶中进行消化。② 样品消化。根据样品中钙的含量，准确称取 0.300-1.00g，置于 150mL 三角瓶中，上盖小漏斗，加入混合酸（硝酸:高氯酸=4:1）15-20mL，在电热板上加热消化直至冒白烟并透明无色。酸液不够时可以再加入少量混合酸；消化液透明无色后加数毫升去离子水，煮沸以赶除剩余的酸，重复两次，最后消化液的体积不超过 1mL；消化样品时应同时作空白试验，加入与样品消化时相同体积的混合酸，在相同条件下消化。③ 测定。原子吸收法或化学法测定骨钙含量。

6.2.4.3 骨密度测定 用骨密度仪测定股骨中点和股骨远心端骨密度。① 在股骨远心端及股骨中点画出标记以确定测量点；股骨中点测量点的确定：测量股骨全长，通过其中点，沿横截面方向画一直线，此为股骨中点测量点（截面）；股骨远心端测量点的确定：于股骨远心端关节凹槽最下缘处确定测量点，通过此点，画一与上述股骨中点处标记平行的直线，此为股骨远心端测量点（截面）。② 测量前用骨模型对仪器进行校准。③ 经校准可以使用后，继续测定骨模型并与其标准值进行比较，误差不得超过 3%。④ 骨密度仪参数设定。测定方式：精密；扫描次数：2 次；扫描方式：自动；探测域值：99%。⑤ 测量股骨中点及股骨远心端骨密度。将待测骨放置于测量台上与骨密度仪探测头移动方向垂直；移动待测骨，令其待测点标记线与探测头移动轨迹于测量台上的垂直投影重合。开始测量，每点应重复测定两次，如两次结果不平行（误差大于 10%），应当重新测量。将两次结果取平均值，以 BW（骨宽）除 BMC（骨矿物质含量），其结果即为 BMD（骨密度）。

6.3 宠物试食试验测定指标

根据受试样品的性质和改善骨密度作用确定观察的指标，应包括一般指标和功效性指标。

6.3.1 一般指标

6.3.1.1 一般状况，包括精神、睡眠、饮食、大小便等。

6.3.1.2 血、尿、便常规检查

6.3.1.3 肝、肾功能检查

6.3.1.4 常规的血液学指标 包括血红蛋白、红细胞和白细胞计数，必要时做白细胞分类。

6.3.1.5 常规生化指标 包括转氨酶、血清总蛋白、白蛋白，尿素、肌酐、血脂、血糖等。

6.3.2 功效性指标

6.3.2.1 体重。

6.3.2.2 骨钙含量 查钙含量通常是指查人体钙含量，一般有两种检查方法，常见的一种方法是血钙检查，通过抽静脉血检测血液中的血钙含量。第二种方法是骨钙检查，通过骨密度测量的方法检查骨骼中的骨钙含量。

①血钙检查：静脉抽血测血钙含量，这种检测的方法在临床上使用较多，可以通过血液中的血钙含量来判断是否有骨质疏松、血钙过高或过低的情况。需要注意的是，患者在抽血的前一天应避免食用过于油腻和高蛋白的食物，且禁忌饮酒，以免干扰结果。如果有晕血史的患者，要提前与抽血人员说明。

②骨钙检查：如果患者发现血钙异常，还要测定骨钙的含量。可以通过骨密度测量了解骨钙密度，从而判断骨钙含量是否正常。需要注意的是骨密度检查存在一定的辐射，短时间内不宜反复检查，孕期宠物也需要避免此项检查，防止辐射对胎儿的发育造成影响。

6.3.2.3 骨密度 采用骨密度仪，（双能 X 线骨密度仪、或单光子骨密度仪或相关仪器）测量股骨中点及股骨远心端的骨密度。

7 数据处理与结果判定

7.1 数据处理

所有实验数据均应使用国家法定剂量单位。

使用数理统计软件进行统计分析，计算总实验重复数内的平均值，所有数据以平均值±标准方差表示。一般采用方差分析，但需先进行方差齐性检验，方差齐，则计算 F 值。若 F 值 $< F_{0.05}$ ，结论为各组均数间差异无显著性；若 F 值 $\geq F_{0.05}$ （即 $P \leq 0.05$ ），结论为各组均数间差异有显著性，需进一步使用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计分析。对非正态分布或方差不齐的数据需进行适当的变量转换，待满足正态分布或方差齐的要求后，用转换后的数据进行统计分析；若经变量转换仍不能达到正态分布或方差齐的目的，则改用秩和检验进行统计分析。

比较试验组自身或试验组与对照组之间的差异，差异有显著性（ $P < 0.05$ ），则实验结果阳性。

7.2 结果判定（需要通过判定）

①以补钙为主产品。骨钙含量或骨密度显著高于低钙对照组且不低于相应剂量的碳酸钙对照组，钙的吸收率不低于碳酸钙对照组，可判定该受试样品具有有助于改善骨密度的作用。

②不含钙的产品。骨钙含量或骨密度较模型对照组明显增加，且差异有显著性，可判定该受试样品具有有助于改善骨密度的作用。

③不以补钙为主（可少量含钙）的产品。骨钙含量或骨密度较模型对照组明显增加，差异有显著性，且不低于相应剂量的碳酸钙对照组，钙的吸收率不低于碳酸钙对照组，可判定该受试样品具有有助于改善骨密度的作用。

8 实验报告

实验报告应提供试验获得的所有内容、数据及可视化信息。未纳入统计分析的数据或由于数据缺乏、丢失等无法评价的情况也应报告，并说明在各组别中的平均值及误差。所有试验样品必须留样保存，宠物饲料（食品）留样 $\geq 500g$ ，宠物日化用品留样 $\geq 50mL$ 。

实验报告正文至少应包括：

- a. 实验名称;
- b. 实验目的;
- c. 实验材料, 至少包括实验用品、受试样品及处理方法、受试动物(包括宠物)要求;
- d. 实验方法, 测试指标和方法;
- e. 结果与分析, 根据数据统计结果给出平均值和标准方差、误差值及决定系数, 并以可视化的数据或图和表形式体现。
- f. 结论, 针对受试样品的实验结果给出判定。

此外, 试验过程中涉及的所有原始数据和相关可视化图表均要存档。

参考文献

- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
GB14925 实验动物 环境及设施
GB19489 实验室 生物安全通用要求
GB/T 27476.1 检测实验室安全第1部分:总则
GB/T 29252 实验室仪器和设备质量检验规则
GB/T 31190 实验室废弃化学品收集技术规范
GB/T 35507 生化用试剂测定通则
GB/T 35823 实验动物 动物实验通用要求
GB/T 35892 实验动物 福利伦理审查指南
GB 16740 保健(功能)食品通用标准
GB 26687 食品安全国家标准 复配食品添加剂通则
GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则
GB 10648-2013/XG1-2020 《饲料标签》国家标准第1号修改单。
GB 13078-2017 饲料卫生标准
GB/T 18823 饲料检测结果判定的允许误差
RB/T 199 实验室设备生物安全性能评价技术规范
SN/T 3509 实验室样品管理指南
SN/T 3592 实验室化学药品和样品废弃物处理的标准指南
SN/T 4835 实验室生物废弃物管理要求
DB21/T 2356-2014 饲料和饲料添加剂使用监督规范
保健食品功能检验与评价技术指导原则(2023年版)
保健食品功能检验与评价方法(2023年版)
《宠物饲料标签规定》,农业农村部第20号公告《宠物饲料管理办法》
《饲料添加剂安全使用规范》,中华人民共和国农业部公告第1224号
-