

中华人民共和国国家标准

食品添加剂 糖化酶制剂

Food additive
Glucoamylase preparation

UDC 661.733
: 664
GB 8276—87

本标准适用于由发酵法生产，经提纯制取，供食品生产作添加剂用的糖化酶制剂。

1 技术要求

1.1 外观：固体时，粉状，无结块。液体时，黄褐色，允许有少量凝集物。

1.2 项目和指标

表 1

项 目	指 标	
	固 体	液 体
酶活力, u/g (mL)	30 000, 40 000, 50 000, 60 000, 80 000, 100 000, 150 000, 200 000	20 000, 30 000 40 000, 50 000 60 000, 80 000
水分, %	小于	8.0
细度 (通过 40 目铜网筛), %	不低于	80
酶活力保存率 (室温, 半年), %	不低于	80
重金属 (以 Pb 计), %	不超过	0.004
铅, %	不超过	0.001
砷 (以 As 计), %	不超过	0.000 3
黄曲霉毒素 B ₁ , %	不超过	0.000 000 5
大肠菌群, 个/100g (mL)	不多于	30
沙门氏菌	不得检出	

2 试验方法

2.1 外观：用目视判定。

中华人民共和国轻工业部 1987-10-19 批准

1988-02-01 实施

2.2 酶活力测定

2.2.1 试剂

2.2.1.1 0.1N 乙酸-乙酸钠缓冲溶液 (pH4.6): 称取 6.7g 乙酸钠 ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), 吸取冰乙酸 2.6mL, 用蒸馏水溶解定容至 1 000mL, 上述缓冲溶液应以酸度计校正 pH 值。

2.2.1.2 0.05N 硫代硫酸钠溶液: 按 GB 601 《化学试剂标准溶液制备方法》中 2.7 执行。

2.2.1.3 0.1N 碘液: 按 GB 601 《化学试剂标准溶液制备方法》中 2.10 执行。

2.2.1.4 0.1N 氢氧化钠溶液: 按 GB 601 《化学试剂标准溶液制备方法》中 2.2 执行。

2.2.1.5 2N 硫酸溶液: 量取分析纯浓硫酸 (比重 1.84) 5.6mL 缓缓加入适量蒸馏水中, 冷却后用蒸馏水定容至 100mL, 摇匀。

2.2.1.6 20% 氢氧化钠溶液: 称取 20g 分析纯氢氧化钠, 用蒸馏水溶解定容至 100mL。

2.2.1.7 2% 可溶性淀粉溶液: 称取可溶性淀粉 2.00g, 然后用少量蒸馏水调匀, 徐徐倾入已沸的蒸馏水中, 煮沸至透明, 冷却, 用蒸馏水定容至 100mL, 此溶液需当天配制。

注: 可溶性淀粉应符合 HG 3—3095 质量标准要求。

2.2.2 测定程序

2.2.2.1 待测酶液的制备: 称取酶粉 2.000 0g (或 1.00mL 酶液), 倒入 50mL 烧杯中, 用少量的乙酸-乙酸钠缓冲溶液 (pH4.6) 溶解, 并用玻璃棒捣碎, 将上层清液小心倾入适当的容量瓶中, 残渣再加入少量上述缓冲溶液。如此反复捣研 3~4 次, 最后全部移入容量瓶中, 用缓冲溶液定容至刻度, 摇匀, 用 4 层纱布过滤。再用滤纸滤清, 滤液供测定用。浓缩酶液可直接吸取一定量于容量瓶中, 用缓冲溶液稀释定容至刻度。

注: 制备酶液时, 酶液浓度最好控制在消耗 0.05N 硫代硫酸钠 (空白——样品) 的差数为 3~6mL 左右 (以每毫升酶活力约 50~90 单位为宜)。

2.2.2.2 测定: 于甲、乙两支 50mL 比色管中, 分别加入 2% 可溶性淀粉溶液 25mL, 0.1M 乙酸-乙酸钠缓冲溶液 (pH4.6) 5mL, 摇匀。于 $40 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 的恒温水浴中预热 5~10min。在甲管中加入酶制备液 2.0mL (酶的总活力约 110~170 单位) 立即记时, 摇匀。在此温度下准确反应 1h 后, 立即在甲、乙两管各加 20% 氢氧化钠溶液 0.2mL, 摇匀, 将两管取出迅速用水冷却, 并于乙管中补加酶制备液 2.0mL (作为对照) 取两管中上述反应液各 5mL 放入碘量瓶中, 准确加入 0.1N 碘液 10mL, 再加 0.1N 氢氧化钠溶液 15mL (边加边摇晃), 放置暗处 15min, 加入 2N 硫酸 2mL, 用 0.05N 硫代硫酸钠溶液滴定至无色为终点。

2.2.2.3 计算

1g 酶粉或 1mL 酶液在 40°C 、pH4.6 的条件下, 1h 分解可溶性淀粉产生 1mg 葡萄糖的酶量为一个酶活力单位。

$$X = (A - B) \times N \times 90.05 \times \frac{1}{2} \times \frac{32.2}{5} \times n \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中: X ——酶活力单位, u/g (mL);

A ——空白试验消耗硫代硫酸钠溶液的毫升数;

B ——样品消耗硫代硫酸钠溶液的毫升数;

N ——硫代硫酸钠溶液的当量浓度;

n ——稀释倍数;

90.05——1mL 1N 硫代硫酸钠相当葡萄糖毫克数;

$1/2$ ——折算成 1mL 酶液的量;

32.2——反应液总体积, 毫升数;

5——吸取反应液的毫升数。

为计算方便, 可按稀释倍数参考表计算, 系数乘以滴定空白和样品所消耗 0.05N 硫代硫酸钠溶液

的差值 (A-B) 为酶活力单位。

表 2 为稀释倍数参考表。

表 2 稀释倍数参考表

稀 释 倍 数	系 数	稀 释 倍 数	系 数
原 液	14.5	35	507.5
2	29	40	580
5	72.5	45	652.5
10	145	50	725
15	217.5	100	1 450
20	290	200	2 900
25	362.5	250	3 625
30	435		

2.3 水分

2.3.1 测定程序

于已知恒重的 40mm×25mm 称量皿中,称取酶粉约 2.000 0g,在 105~110℃ 恒温干燥箱内烘 2h,移至干燥器中冷却,称重,再在干燥箱内烘干,直至恒重。

2.3.2 计算

$$X_1 = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W} \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中: X_1 ——样品中水分的含量, %;

W ——称量皿质量, g;

W_1 ——烘干前皿加样品质量, g;

W_2 ——烘干后皿加样品质量, g。

2.4 细度

2.4.1 测定程序

称取 100g 酶粉用 40 目标准分样筛(铜筛)筛分,称其未通过的酶粉质量。

2.4.2 计算

$$X_2 = \frac{M - m}{M} \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中: X_2 ——酶粉样品细度, %;

M ——原酶粉质量, g;

m ——筛后留存酶粉质量, g。

2.5 酶活力保存率

$$X_3 = \frac{E_1}{E} \times 100 \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中: X_3 ——酶活力保存率, %;

E ——原酶粉(液)活力;

E_1 ——检测酶活力。

2.6 重金属

2.6.1 试剂

2.6.1.1 硝酸: 分析纯。

2.6.1.2 硫酸: 分析纯。

2.6.1.3 盐酸：分析纯。

2.6.1.3.1 6N 盐酸：量取 500mL 盐酸，用蒸馏水稀释至 1 000mL。

2.6.1.3.2 1N 盐酸：量取 83mL 盐酸，用蒸馏水稀释至 1 000mL。

2.6.1.4 氨水：分析纯。

2.6.1.4.1 5N 氨水：量取 333mL 氨水，用蒸馏水稀释至 1 000mL。

2.6.1.4.2 1N 氨水：量取 66mL 氨水，用蒸馏水稀释至 1 000mL。

2.6.1.5 pH3.5 的乙酸盐缓冲液：称取 25.0g 乙酸铵溶于 25mL 蒸馏水中，加 6N 盐酸 45mL，用稀盐酸或稀氨水调节 pH 至 3.5，用蒸馏水稀释至 100mL。

2.6.1.6 1%酚酞指示液：按 GB 603 配制。

2.6.1.7 饱和硫化氢水：按 GB 603 配制（此溶液于使用前制备）。

2.6.1.8 铅标准溶液（每毫升含 0.01mg 铅）：按 GB 602 配制，临用前用蒸馏水稀释 10 倍。

2.6.2 测定程序

2.6.2.1 样品处理

称取 5.0g 样品置于 250mL 凯氏烧瓶或三角烧瓶中，加 10~15mL 硝酸浸润样品放置片刻（或过夜）后，缓缓加热，待作用缓和后稍冷，沿瓶壁加入 5mL 硫酸再缓缓加热，至瓶中溶液开始变成棕色，不断滴加硝酸（如有必要可滴加些高氯酸）至有机质分解完全，继续加热，至生成大量的二氧化硫白色烟雾。最后溶液应呈无色或微带黄色。冷却后将溶液移入 50mL 容量瓶中，用水洗涤三角烧瓶，将洗液并入容量瓶中，加蒸馏水至刻度，混匀，每 10mL 该溶液相当于 1g 样品。

取同样重的硝酸、硫酸按上述方法作试剂空白试验。

2.6.2.2 样品测定

2.6.2.2.1 溶液 A：吸取含铅标准液 1mL 于 50mL 纳氏比色管中，加水至 25mL 混匀，加 1 滴 1%酚酞指示液；用稀盐酸或稀氨水调节 pH 至中性（酚酞红色褪去）。加入 pH3.5 的乙酸盐缓冲液 5mL，用蒸馏水稀释至 40mL，混匀备用。

2.6.2.2.2 溶液 B：取一支与溶液 A 所配套的纳氏比色管，加入 20mL 样品液，加蒸馏水至 25mL 混匀，加 1 滴 1%酚酞指示液，用稀盐酸或稀氨水调节 pH 至中性（酚酞红色褪去），加入 pH3.5 的乙酸盐缓冲液 5mL，用蒸馏水稀释至 40mL，混匀备用。

2.6.2.2.3 溶液 C：取一支与溶液 A、B 所配套的纳氏比色管，加入与溶液 B 相同量的样品液，再加入与溶液 A 相同量的铅标准液，加蒸馏水至 25mL，混匀，加 1 滴 1%酚酞指示液，用稀盐酸或稀氨水调节 pH 至中性（酚酞红色刚褪去），加入 pH3.5 的乙酸盐缓冲液 5mL，用蒸馏水稀释至 40mL，混匀备用。

2.6.2.2.4 向各管中加入 10mL 新鲜制备的硫化氢饱和液，混匀，放置 10min 后在白色背景下观察，溶液 B 的色度不得深于溶液 A 的色度，溶液 C 的色度应与溶液 A 的色度相当或深于溶液 A 的色度。

2.7 铅

按 GB 5009.12《食品中铅的测定方法》中的双硫脲单色法执行。样品处理采用硝酸-硫酸法。

2.8 砷

按 GB 5009.11《食品中总砷的测定方法》中的银盐法执行。样品处理采用硝酸-硫酸法。

2.9 黄曲霉毒素 B₁

按 GB 5009.22《食品中黄曲霉毒素 B₁ 的测定方法》执行。

2.10 大肠菌群

按 GB 4789.3《食品卫生微生物学检验 大肠菌群测定》执行。

2.11 沙门氏菌

按 GB 4789.3《食品卫生微生物学检验 沙门氏菌检验》执行。

3 检验规则

3.1 产品需经生产厂技术部门检验，并签发合格证方可出厂。生产厂以每一生产班次或每一罐进库的量为同一批次的产品。

3.2 订货单位若需抽样检验，应从该酶制剂中抽取两份，按本标准规定的试验方法进行检验。若有一个样品或一项指标不符合标准的要求，应与生产厂协商，再取一倍量的同批样品共同进行复验，如仍不合格时，则全批产品作为不合格品，退交生产厂处理。若产品经复验合格，订货方应承担试验费用。如不合格，应由生产厂家承担试验费用。

4 标志、包装、运输、贮存

4.1 酶制剂的外包装箱，除注明品名、生产厂名、规格、注册商标外，还应注明食品添加剂，箱里并应附有产品检验合格证，合格证上印有品名、批号、数量、规格、生产日期、检验员等。

4.2 内包装为食品用塑料袋，包装分为 2kg、3kg，应印有注册商标、产品名称、规格、重量、生产厂名。

4.3 本品含有生物活性物质，对光线、温度、湿度易引起失活。在运输途中应避免日光曝晒和雨淋。贮存仓库应保持清洁、阴凉、干燥、通风。

附加说明：

本标准由中华人民共和国轻工业部、卫生部提出。

本标准由轻工业部食品发酵工业科学研究所、卫生部食品卫生监督检验所归口。

本标准由无锡酶制剂厂、轻工业部食品发酵工业科学研究所、天津市卫生防病中心、无锡市卫生防疫站负责起草。