

中华人民共和国国家标准

GB 1886.322—2021

食品安全国家标准

食品添加剂 可溶性大豆多糖

2021-02-22 发布

2021-08-22 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国 家 市 场 监 督 管 理 总 局 发 布

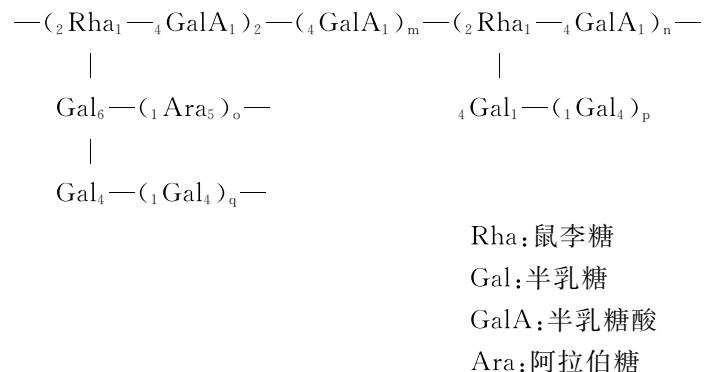
食品安全国家标准

食品添加剂 可溶性大豆多糖

1 范围

本标准适用于以大豆或大豆粕为原料,经脱脂、提取、纯化、灭菌、干燥等工艺生产的食品添加剂可溶性大豆多糖。

2 主成分的结构式



3 技术要求

3.1 感官要求

感官要求应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项 目	要 求	检 验 方 法
色 泽	白色至微黄色	
状 态	粉末状	将适量试样置于清洁、干燥的白瓷盘中,在自然光线下采用目测方法观察色泽及状态,并嗅气味
气 味	气味正常,无异味	

3.2 理化指标

理化要求应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

项 目	指 标	检验方法
可溶性多糖含量, w/%	≥ 60.0	附录 A 中 A.3
水分, w/%	≤ 7.0	GB 5009.3
灰分, w/%	≤ 10.0	GB 5009.4
蛋白质, w/%	≤ 8.0	GB 5009.5
黏度(10%水溶液, 20 °C ± 0.5 °C)/(mPa · s)	≤ 200	附录 A 中 A.4
成胶性(10%水溶液)	溶于热水和冷水, 不形成凝胶	附录 A 中 A.4
pH(1%溶液)	5.5±1.0	附录 A 中 A.4
铅(Pb)/(mg/kg)	≤ 0.5	GB 5009.75 或 GB 5009.12
总砷(以 As 计)/(mg/kg)	≤ 0.5	GB 5009.11

3.3 微生物指标

微生物指标应符合表 3 的规定。

表 3 微生物指标

项 目	指 标	检验方法
菌落总数/(CFU/g)	≤ 500	GB 4789.2
大肠菌群/(MPN/g)	< 3.0	GB 4789.3
霉菌和酵母计数/(CFU/g)	≤ 50	GB 4789.15
沙门氏菌/25 g	不得检出	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌/25 g	不得检出	GB 4789.10

附录 A

检验方法

A.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。试验中所用标准溶液、杂质测定用标准溶液、制剂和制品在未注明其他要求时,均按 GB/T 601、GB/T 602、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。

A.2 鉴别试验

A.2.1 试剂和材料

A.2.1.1 氢氧化钠。

A.2.1.2 磷酸二氢钠。

A.2.1.3 标准相对分子质量对照品:普鲁兰多糖, P-5 (MW6200Da)、P-20 (MW23000Da)、P-50 (MW48800Da)、P-400(MW348000Da)、P-800(MW805000Da)。或者在普鲁兰多糖 P-5~P-800 之间选择 5 个以上标准品制定标准曲线。

A.2.2 试剂配制

A.2.2.1 4 mol/L 氢氧化钠溶液:称取 16 g 氢氧化钠,用水溶解至 100 mL,混匀。

A.2.2.2 0.1 mol/L 磷酸二氢钠缓冲溶液:称取 15.6 g 磷酸二氢钠(A.2.1.2),用水溶解至 1 L,混匀,用 4 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 6.8。

A.2.2.3 标准相对分子质量溶液:分别称取标准相对分子质量对照品(A.2.1.3)10.0 mg,加0.1 mol/L 磷酸二氢钠缓冲溶液(A.2.2.2)溶解并定容至 10 mL。

A.2.3 仪器和设备

A.2.3.1 高效液相色谱仪,附示差折光检测器。

A.2.3.2 分析天平,感量 0.1 mg。

A.2.4 参考色谱条件

A.2.4.1 色谱柱:TSK-gel G5000 PWXL 7.8 mm×300 mm,或者满足条件的其他凝胶柱。

A.2.4.2 柱温:40 °C。

A.2.4.3 流动相:0.1 mol/L 磷酸二氢钠缓冲溶液(pH 6.8)。

A.2.4.4 流速:0.6 mL/min。

A.2.4.5 进样量:10 μL,20 μL。

A.2.5 分析步骤

A.2.5.1 标准曲线

分别取 20 μL 标准相对分子质量溶液(A.2.2.3)注入高效液相色谱仪,进行高效液相色谱分析,记录色谱峰保留时间 t_R (min)。用 $\lg(MW)$ 对色谱峰保留时间作标准曲线,见图 A.1。

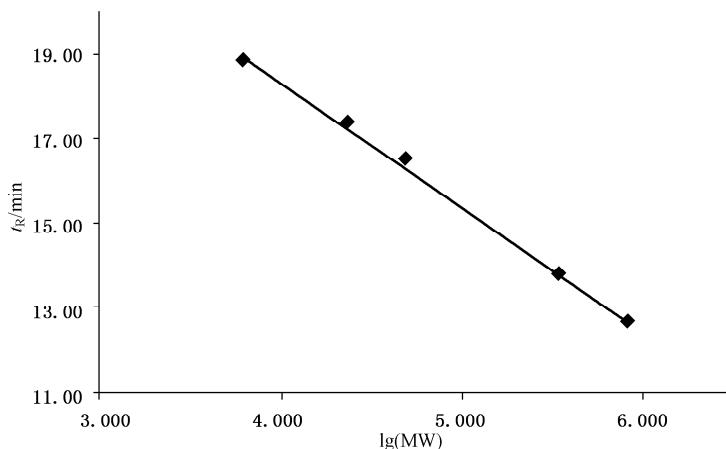


图 A.1 标准品相对分子质量与保留时间测定标准曲线示意图

A.2.5.2 试样溶液制备

称取样品 1.0 g, 用 0.1 mol/L 磷酸二氢钠缓冲溶液(A.2.2.2)溶解并定容至 100 mL, 混匀, 用 0.2 μm ~0.45 μm 水系膜过滤, 收集滤液, 作为试样溶液。

A.2.5.3 测定

在相同条件下, 取 10 μL 试样溶液(A.2.5.2)注入高效液相色谱仪, 进行高效液相色谱分析, 记录色谱峰保留时间 t_R (min)。根据保留时间 t_R (min) 在图 A.1 中查出试样液各峰 $\lg(MW)$ 并计算出 MW。

A.2.5.4 判断

可溶性大豆多糖典型高效液相色谱图见图 A.2, 其中 4 个峰相对分子质量范围分别为 4.00×10^5 ~ 6.50×10^5 、 1.00×10^5 ~ 3.00×10^5 、 1.50×10^4 ~ 3.50×10^4 、 2.00×10^3 ~ 1.00×10^4 。如果试样溶液高效液相色谱图出现 2~4 个色谱峰, 并且峰值在上述相对分子质量范围内, 则判断试样是可溶性大豆多糖。如果谱图中色谱峰是 1 个, 或者色谱峰是 2~4 个, 但峰值不在上述相对分子质量范围内, 则判断试样不是可溶性大豆多糖。

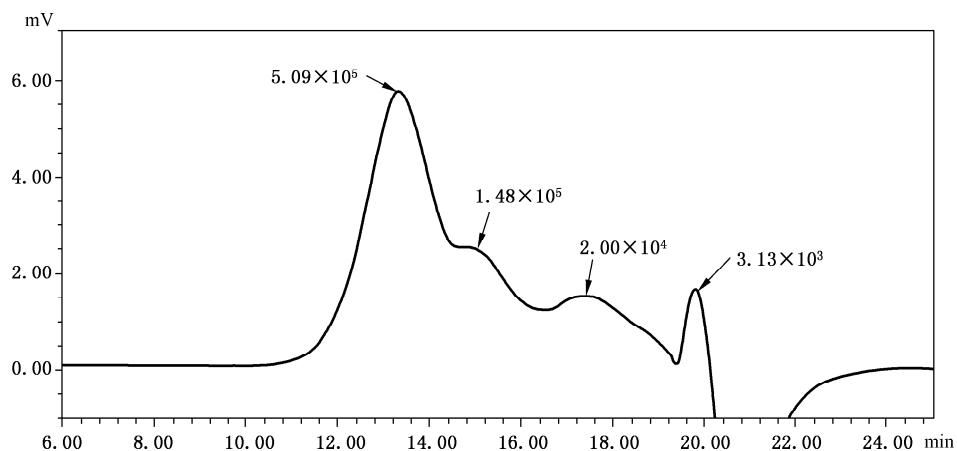


图 A.2 可溶性大豆多糖典型高效液相色谱图

A.3 可溶性多糖含量的测定

A.3.1 方法提要

试样经酶解,收集滤液并用乙醇沉淀,过滤、洗涤残渣并干燥至恒重后,减去其中蛋白质、灰分和试剂空白含量,即为试样中可溶性多糖含量。

A.3.2 试剂

A.3.2.1 氢氧化钠。

A.3.2.2 2-(N-吗啉代)乙烷磺酸(MES)。

A.3.2.3 三羟甲基氨基甲烷(TRIS)。

A.3.2.4 热稳定 α -淀粉酶液: CAS 9000-85-5, 酶活力为 $10\ 000\text{ U/mL} \pm 1\ 000\text{ U/mL}$, 于 $0\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存, 酶的活性测定及判定标准应符合 GB 5009.88—2014 附录 A 的要求。

A.3.2.5 蛋白酶液: CAS 9014-01-1, 酶活力为 $300\text{ U/mL} \sim 400\text{ U/mL}$, 于 $0\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存, 酶的活性测定及判定标准应符合 GB 5009.88—2014 附录 A 的要求。

A.3.2.6 淀粉葡萄糖苷酶液: CAS 9032-08-0, 酶活力为 $2\ 000\text{ U/mL} \sim 3\ 300\text{ U/mL}$, 于 $0\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存, 酶的活性测定及判定标准应符合 GB 5009.88—2014 附录 A 的要求。

A.3.2.7 盐酸。

A.3.2.8 硅藻土: CAS 68855-54-9。

A.3.2.9 重铬酸钾。

A.3.2.10 硫酸。

A.3.2.11 95%乙醇。

A.3.2.12 丙酮。

A.3.3 试剂配制

A.3.3.1 6 mol/L 氢氧化钠溶液: 称取 24 g 氢氧化钠, 用水稀释至 100 mL, 混匀。

A.3.3.2 0.05 mol/L MES-TRIS 缓冲液: 称取 19.52 g 2-(N-吗啉代)乙烷磺酸(MES)和 12.2 g 三羟甲基氨基甲烷(TRIS), 用 1.7 L 水溶解, 根据室温用 6 mol/L 氢氧化钠溶液调 pH, 20 °C 时调 pH 为 8.3, 24 °C 时调 pH 为 8.2, 28 °C 时调 pH 为 8.1, 20 °C ~ 28 °C 之间其他室温用插入法校正 pH。加水稀释至 2 L。

A.3.3.3 蛋白酶溶液: 用 0.05 mol/L MES-TRIS 缓冲液稀释蛋白酶液(A.3.2.5)至 50 mg/mL, 使用前现配并于 0 °C ~ 5 °C 冰箱暂存。

A.3.3.4 2 mol/L 盐酸溶液: 取 167 mL 盐酸, 用水稀释至 1 L, 混匀。

A.3.3.5 酸洗硅藻土: 取 200 g 硅藻土于 600 mL 的 2 mol/L 盐酸溶液中, 浸泡过夜, 过滤, 用水洗至滤液为中性, 置于 525 °C ± 5 °C 马弗炉中灼烧灰分后备用。

A.3.3.6 重铬酸钾洗液: 称取 100 g 重铬酸钾, 用 200 mL 水溶解, 加入 1 800 mL 浓硫酸混合。

A.3.3.7 6 mol/L 盐酸溶液: 取 50 mL 盐酸, 用 50 mL 水稀释, 混匀。

A.3.3.8 0.6 mol/L 盐酸溶液: 取 93.5 mL 6 mol/L 盐酸溶液, 用水稀释至 1 L。

A.3.3.9 1 mol/L 盐酸溶液: 取 8.33 mL 盐酸, 用水稀释至 100 mL, 混匀。

A.3.3.10 78%乙醇溶液: 取 821 mL 95%乙醇, 用水稀释并定容至 1 L 容量瓶中, 混匀。

A.3.4 仪器和设备

A.3.4.1 高型烧杯: 500 mL。

A.3.4.2 马弗炉:525 °C±5 °C。

A.3.4.3 烘箱:130 °C±3 °C,105 °C±2 °C。

A.3.4.4 过滤坩埚:孔径40 μm~60 μm,清洗后的坩埚在525 °C马弗炉中灼烧6 h,炉温降至130 °C以下取出,于重铬酸钾洗液中室温浸泡2 h,用水冲洗干净,再用15 mL丙酮冲洗后风干。用前,加入约1.0 g硅藻土(A.3.3.5),在130 °C烘箱中烘2 h,取出坩埚,置于干燥器中冷却约0.5 h,称量,再复烘0.5 h,直至恒质,记录坩埚及硅藻土质量(m_0),精确到0.1 mg。

A.3.4.5 真空抽滤装置:真空泵或有调节装置的抽吸器。备1 L抽滤瓶,侧壁有抽滤口,带有与抽滤瓶配套的橡胶塞,用于酶解液抽滤。

A.3.4.6 恒温水浴锅:控温范围25 °C~100 °C,温度波动±1 °C。

A.3.4.7 磁力搅拌器。

A.3.4.8 分析天平:感量0.1 mg和1 mg。

A.3.4.9 干燥器:装有有效的二氧化硅或同等的干燥剂。

A.3.4.10 pH计:具有温度补偿功能,精度±0.1。用前用pH 4.0、pH 7.0和pH 10的标准缓冲液校准。

A.3.5 操作步骤

A.3.5.1 称量:准确称取双份试样(m)约1 g(精确至0.1 mg),双份试样质量差≤0.005 g。将试样分别置于500 mL高型烧杯中,加入0.05 mol/L MES-TRSI缓冲溶液(A.3.3.2)40 mL,磁力搅拌直至试样完全分散在缓冲液中(搅拌均匀,避免试样结成团块,以防止试样酶解过程中不能与酶充分接触)。同时制备两个空白样液与试样液进行同步操作,用于校正试剂对测定的影响。

A.3.5.2 热稳定α-淀粉酶酶解:用移液枪向试样液中分别加入50 μL热稳定α-淀粉酶液(A.3.2.4),用铝箔覆盖(或加盖表面皿)后置于95 °C水浴锅中持续搅拌,当水浴温度升至95 °C开始计时,连续反应30 min。将烧杯取出,冷却至60 °C,打开铝箔盖,用刮勺轻轻将附着于烧杯内壁上的胶状物刮下,并用10 mL水冲洗烧杯壁和刮勺。

A.3.5.3 蛋白酶酶解:将试样溶液置于60 °C水浴中,向每个烧杯中加入100 μL蛋白酶溶液(A.3.3.3),用铝箔覆盖(或加盖表面皿)后继续搅拌,反应30 min。打开铝箔盖,边搅拌边加入5 mL 0.6 mol/L盐酸溶液,在60 °C条件下,用1 mol/L盐酸溶液调节试样溶液pH至4.0~4.7。

A.3.5.4 淀粉葡萄糖苷酶酶解:加入300 μL淀粉葡萄糖苷酶液(A.3.2.6),用铝箔覆盖(或加盖表面皿)后,继续于60 °C水浴中持续搅拌,反应30 min。

A.3.5.5 抽滤洗涤:取丙酮处理的过滤坩埚(A.3.4.4),加入1 g硅藻土(A.3.3.5),用3 mL水湿润过滤坩埚中的硅藻土,并用抽滤装置将硅藻土均匀铺在坩埚滤层上,继续抽气,将上述酶消化液转移至坩埚中抽滤。用10 mL 70 °C水洗涤烧杯、残渣两次。合并滤液并转移至预先称量的500 mL高型烧杯中,称量并记录滤液的体积。

A.3.5.6 沉淀:加入4倍于滤液体积并预热至60 °C的95%乙醇,或用水将滤液调整至总质量为80 g后,加入320 mL 60 °C的95%乙醇,室温静置1.0 h。

A.3.5.7 抽滤:用15 mL 78%乙醇溶液湿润已恒质的过滤坩埚及硅藻土(m_0)(A.3.4.4),通过抽滤将硅藻土均匀铺在坩埚滤层上,继续抽气,将经醇处理的酶消解液全部转移至过滤坩埚中抽滤,并用78%的乙醇将高型烧杯中的所有残留物转至坩埚中。

A.3.5.8 洗涤:用15 mL 78%乙醇溶液洗涤残留物两次,再用15 mL 95%乙醇洗涤残留物两次,之后用丙酮15 mL洗涤残留物两次,抽滤去除洗涤液后,将含有残留物的坩埚及硅藻土置于105 °C烘箱中干燥过夜,将坩埚置干燥器中冷却0.5 h后,称量(m_1),精确到0.1 mg。

A.3.5.9 蛋白质和灰分的测定:取两份试样中的一份按GB 5009.5测定氮(N)含量,以6.25为换算系数,计算残留物中蛋白质质量(m_3)。另外一份试样测定灰分,即在525 °C马弗炉中灼烧5 h,于干燥器

中冷却至室温后称量坩埚和残留物的质量(m_4)，精确至 0.1 mg。

A.3.6 结果计算

可溶性多糖 (SPS) 含量质量分数 w 按式(A.1)计算。

式中：

m_2 ——两份试样测定时残留物质量($m_1 - m_0$)的平均值[如两份试样酶处理后的残留物质量($m_1 - m_0$)相差超过 20 mg,需要重新取样测定],单位为毫克(mg);

m_3 ——试样残留物中的蛋白质质量, 单位为毫克(mg);

m_5 ——试样残留物中灰分的质量($m_4 - m_0$)，单位为毫克(mg)；

m_2' ——空白实验残留物质量的平均值,单位为毫克(mg);

m_3' ——空白实验残留物中的蛋白质质量, 单位为毫克(mg);

m_5' ——空白实验残留物中灰分的质量,单位为毫克(mg);

m ——两份试样质量的平均值,单位为毫克(mg)。

计算结果保留三位有效数字。

以重复条件下获得的两次独立

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超算术平均值的 10%。

在主要性状条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值，肯定过界点个数的二倍。

A.1 可溶性大亚多糖黏度、成胶性和 pH 的测定方法

1.1.1 仪器和设备

A.4.1.2 旋转黏度计：量程 $10 \sim R$ ， $1 \times 10^5 \text{ Pa}$ ，精度 $\pm 1\%$ 。

A.4.1.2 旋转黏度计：量程 $10 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ ， $\times 10^{-3} \text{ mPa} \cdot \text{s}$ ，精度 $\pm 1\%$ 。

A.4.1.3 pH 介于 6.00 到 8.00。

A.4.2 操作方法

A.4.2.1 黏度测定：称取 20.00 g 试样，加入到 180.0 mL 水中，搅拌均匀，制成 10% 的溶液。将上述溶液置于 20 °C 的低温恒温槽中，恒温至 20 °C ± 0.5 °C。用旋转黏度计测定溶液黏度，并记录黏度值。

A.4.2.2 成胶性测定：将测定黏度后的样液加热至 100 ℃，缓慢冷却至 4 ℃，观察其是否成凝胶状（需要时可用玻璃棒轻轻搅拌后观察）。

A.4.2.3 pH 测定:称取 1.00 g 试样,加入到 99.0 mL 水中,搅拌均匀,制成 1.0% 的溶液。用 pH 计测定溶液 pH。

A.4.2.4 结果计算

试样测定两次,取平均值。

黏度测定时,双试验绝对差值 $\leqslant 2 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 。

pH 测定时, 双试验绝对差值 ≤ 0.3 。