中 华 人 民 共 和 国 国 家 标 准

GB XXXXX—XXXX

食品安全国家标准
食品添加剂 可溶性大豆多糖
（征求意见稿）

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会

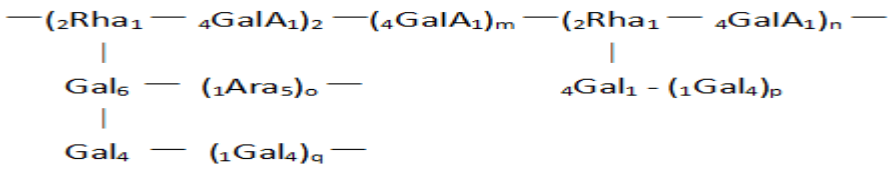
国 家 市 场 监 督 管 理 总 局 发布

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，它是由半乳糖、阿拉伯糖、半乳糖酸、鼠李糖、海藻糖、木糖以及葡萄糖等分子通过1,4-糖苷键、1,6-糖苷键相连而成的水溶性多糖类物质。

2 主成分的化学结构



Rha：鼠李糖
Gal：半乳糖
GalA：半乳糖酸
Ara：阿拉伯糖

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	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、鼻嗅的方法观察其色泽及组织状态，并嗅其味。
状态	粉末状	
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
水分/（%） ≤	7.0	GB 5009.3
灰分（以干基计）/（%） ≤	10.0	GB 5009.4

蛋白质含量（以干基计）/（%） ≤	8.0	GB 5009.5
可溶性多糖含量/（%） ≥	60.0	附录A中A.3
粘度（10%水溶液，20℃±0.5℃）/（mPa s）≤	200	附录A中A.4
成胶性（10%水溶液）/（%）	煮沸后冷却至4℃，不形成凝胶	附录A中A.4
pH（1%水溶液）	5.5±1.0	附录A中A.4
铅（Pb）/（mg/kg） ≤	5.0	GB 5009.75或GB 5009.12
总砷（以As计）/（mg/kg） ≤	2.0	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） ≤	3000	GB 4789.2
霉菌和酵母菌/（CFU/g） ≤	100	GB 4789.15

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　磷酸二氢钠。

A.2.1.2　氢氧化钠。

A.2.1.3　0.1mol/L磷酸二氢钠缓冲溶液：以1mol/L氢氧化钠溶液调节pH值至6.8。

A.2.1.4　标准分子质量对照品：普鲁兰多糖，P-5（MW5900u）、P-50（MW47300u）、P-100（MW112000u）、P-400（MW404000u）、P-800（MW788000u）。

A.2.1.5　标准分子质量溶液：分别称取标准分子质量对照品（A.2.1.4）10.0mg，加0.1 mol/L磷酸二氢钠缓冲溶液（A.2.1.3）稀释至10mL。

A.2.2　仪器和设备

A.2.2.1　高效液相色谱仪，附示差折光检测器。

A.2.2.2　分析天平，感量0.0001 g。

A.2.3　参考色谱条件

A.2.3.1　色谱柱：TSK-gelG5000PWXL7.5mm×300mm，或者满足条件的其他凝胶柱。

A.2.3.2　柱温：40℃。

A.2.3.3　流动相：0.1 mol/L磷酸二氢钠缓冲溶液（pH6.8）。

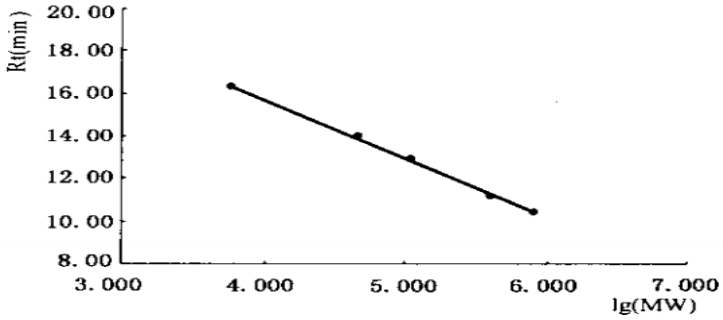
A.2.3.4　流速：0.6 mL/min。

A.2.3.5　进样量：10μL。

A.2.4　分析步骤

A.2.4.1　标准曲线

分别取20μL标准分子质量溶液（A.2.1.5）注入液相色谱仪，进行高效液相色谱分析，记录色谱峰保留时间，以lg（MW）对保留时间作标准曲线（见图A.1）



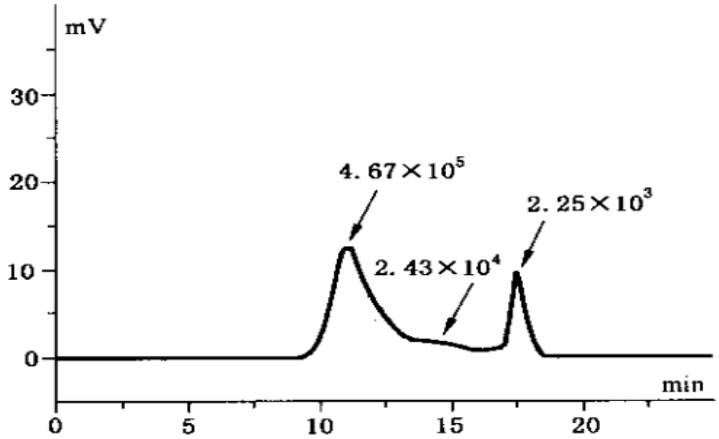
图A.1 分子量测量标准曲线示意图

A.2.5　试样溶液制备

称取样品1.0g，用0.1mol/L磷酸二氢钠缓冲溶液（A.2.1.3）定容至100mL，溶解，混匀，用0.4μm膜过滤，收集滤液，作为试样溶液。

A.2.6 测定

在相同条件下，取10μL样品处理液（A.2.5）注入液相色谱仪，进行高效液相色谱分析，记录色谱峰保留时间，根据保留时间从标准曲线上查出各峰的分子质量（见图A.2）。



图A.2 大豆多糖体高效液相色谱分析图

A.3 可溶性多糖含量的测定

A.3.1 试剂和材料

A.3.1.1 95%乙醇。

A.3.1.2 丙酮。

A.3.1.3 85%乙醇溶液：量取895mL 95%乙醇，用水稀释并定容至1000mL容量瓶中，混匀。

A.3.1.4 78%乙醇溶液：量取821mL 95%乙醇，用水稀释并定容至1000mL容量瓶中，混匀。

A.3.1.5 6mol/L氢氧化钠：称取24g氢氧化钠，用水溶解至100mL，混匀。

A.3.1.6 1mol/L氢氧化钠：称取4g氢氧化钠，用水溶解至100mL，混匀。

A.3.1.7 6mol/L盐酸溶液：量取50mL盐酸，用50mL水稀释，混匀。

A.3.1.8 2mol/L盐酸溶液：量取167mL盐酸，用水稀释至1000mL，混匀。

A.3.1.9 1mol/L盐酸溶液：量取8.33mL盐酸，用水稀释至100mL，混匀。

A.3.1.10 0.6mol/L盐酸溶液：吸取93.5mL 6mol/L盐酸溶液，加水稀释至1000mL。

A.3.1.11 MES-Tris缓冲溶液：称取19.52g 2-（N-吗琳代）乙磺酸(MES)和12.2g三羧甲基氨基甲烷(Tris)，用1700mL水溶解，根据室温用6mol/L氢氧化钠溶液调pH，20℃时调pH为8.3，24℃时调pH为8.2，28℃时调pH为8.1；20℃～28℃之间其他室温用插入法校正pH。加水定容至2000mL。

A.3.1.12 蛋白酶（CAS 9014-01-1）溶液：以新配制的MES-Tris缓冲溶液配制成50mg/mL酶溶液，酶活力为300U/mL～400U/mL，0℃～5℃保存，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.3.1.13 热稳定型α-淀粉酶(CAS 9000-85-5)溶液：酶活力为10000U/mL±1000U/mL，0℃～5℃保存，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.3.1.14 淀粉葡萄糖苷酶（CAS 9032-08-0）溶液：酶活力为2000U/mL～3300U/mL，0℃～5℃保存，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.3.1.15 重铬酸钾洗液：称取100g重铬酸钾，用200mL水溶解后，加入1800mL浓硫酸，混匀。

A.3.1.16 酸洗硅藻土：取200g硅藻土（CAS 68855-54-9）于600mL的2mol/L盐酸溶液中，浸泡过夜，过滤，用水洗至滤液为中性，置于525℃±5℃马弗炉中灼烧灰分后备用。也可选用市售。

A.3.2 仪器和设备

A.3.2.1 分析天平：感量0.0001g和0.001g。

A.3.2.2　马弗炉：525℃±5℃。

A.3.2.3　烘箱：105℃、130℃。

A.3.2.4　过滤坩埚：孔号2，孔径40μm～60μm，在马弗炉中525℃±5℃灼烧6h，炉温降至130℃以下取出，于重铬酸钾洗液中室温浸泡2h，用水冲洗干净，再用15mL丙酮冲洗后，吹干。用前，加入约1.0g硅藻土，130℃烘干2h，取出，放入干燥器内冷却0.5h后称重，再复烘30min直至恒重，记录坩埚质量(m_0)，精确至0.1mg。

A.3.2.5　真空抽滤装置：包括真空泵、抽滤瓶等。

A.3.2.6　磁力搅拌器。

A.3.2.7　恒温水浴锅：控温范围40℃～100℃,控温±1℃,附带磁力搅拌器。

A.3.2.8　高型烧杯：500mL。

A.3.2.9　移液枪。

A.3.2.10　pH计：具有温度补偿功能，精度±0.1。用前用pH4.0、pH7.0、pH10的缓冲溶液校准。

A.3.3　**操作步骤**

A.3.3.1　称量：准确称取1.000g±0.005g样品两份，分别置于500mL高型烧杯中，加入40mLpH8.2的MES-Tris缓冲溶液(A.3.1.11)，用磁力搅拌直至样品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.3.3.2　热稳定型α-淀粉酶酶解：用移液枪加入50μL热稳定型a-淀粉酶溶液（A.3.1.13），用铝箔覆盖(或加盖表面皿)后置于95℃水浴中，当水浴温度升至95℃开始计时，连续低速磁力搅拌反应30min。将烧杯取出，冷却至60℃，用刮勺轻轻将附着于烧杯内壁上胶状物刮下，并用10mL水冲洗烧杯壁和刮勺。

A.3.3.3　蛋白酶酶解：在试样溶液中加入100μL蛋白酶溶液（A.3.1.12），用铝箔覆盖(或加盖表面皿)后置于60℃水浴中，连续磁力搅拌反应30min后，加入5mL 0.6mol/L盐酸溶液，在60℃条件下，用1mol/L盐酸溶液调节样液pH至4.0～4.7。

A.3.3.4　淀粉葡萄糖苷酶酶解：加入300μL淀粉葡萄糖苷酶溶液(A.3.1.14)，用铝箔覆盖(或加盖表面皿)后，继续于带磁力搅拌器的60℃水浴中磁力搅拌反应30min。

A.3.3.5　抽滤洗涤：取已处理的过滤坩埚(A.3.2.4)，加入3mL水湿润过滤坩埚中的硅藻土，抽滤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。之后，用10mL 70℃水洗涤烧杯、残渣两次。合并滤液并转移至预先称重的500mL高型烧杯中，通过称量“烧杯+滤液”总质量，扣除烧杯质量的方法估算滤液体积。

A.3.3.6　沉淀：加入4倍于滤液体积并预热至60℃的95%乙醇，或用水将滤液调整至总质量为80g后，加入320mL 60℃的95%乙醇，室温静置1.0h。

A.3.3.7　抽滤：用15mL 78%乙醇溶液湿润已恒量的过滤坩埚(m_0)中的硅藻土，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.3.3.8　洗涤：用15mL 78%乙醇溶液洗涤残留物两次，再用15mL 95%乙醇洗涤残留物两次，之后用丙酮15mL洗涤残留物两次，抽滤去除洗涤液后，将含有残留物的坩埚置于105℃烘箱中干燥过夜，将坩埚置干燥器中冷却0.5h后，称量(m_1)，精确至0.1mg。

A.3.3.9　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)(以mg计)。另外一份试样测定灰分，即在525℃马弗炉中灼烧5h，炉温降至130℃以下取出，于干燥器中冷却0.5h后，称量(m_4)，精确至0.1mg。

A.3.4　**结果计算**

可溶性多糖(SPS)的含量X以质量分数计，数值以%表示，按式（A.1）计算：

$$X = \frac{m_2 - m_3 - m_5 - (m_2' - m_3' - m_5')}{m} \times 100 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots（A.1）$$

式中:

m_2——两份样品测定时残留物质量(m_1-m_0)的平均值[1)]，单位为 mg；

m_3——样品残留物中的蛋白质质量，单位为 mg；

m_5——样品残留物中灰分的质量(m_4-m_0)，单位为 mg；

m_2'——空白实验残留物质量的平均值，单位为 mg；

m_3'——空白实验残留物中的蛋白质质量，单位为 mg；

m_5'——空白实验残留物中灰分的质量，单位为 mg；

m——两份样品质量的平均值，单位为 mg。

计算结果保留三位有效数字。

注 1)：如两份样品酶处理后的残留物质量(m_1-m_0)相差超过 20mg，需要重新取样测定。

以重复条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

A.3.5　精密度

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过算术平均值的10%。

A.4　可溶性大豆多糖粘度、成胶性和pH的测定方法

A.4.1　仪器和设备

A.4.1.1　恒温水浴锅，控温范围40℃～100℃，控温±1℃。

A.4.1.2　旋转粘度计：量程10mPa•s～1×10^5mPa•s，精度±1%(满量程)。

A.4.1.3　pH计：精度0.05。

A.4.2　操作方法

A.4.2.1　粘度测定

称取20.00g样品，加入到180.0mL水中，搅拌均匀，制成10%的样品溶液。将待测溶液置于20℃的恒温水浴中，使样液恒温至20℃±0.5℃。

用旋转粘度计测定样液粘度，并记录粘度值。

A.4.2.2　成胶性测定

将测定过粘度后的样品液加热至100℃后，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1.00g样品，加入到99.0mL水中，搅拌均匀，制成1.0%的样品溶液。用pH计测定样液pH值。

A.4.3　结果计算

样品测定两次，取平均值。

粘度测定时，双试验绝对差值≤2mPa•s。

pH值测定时，双试验绝对差值≤0.3。