《酵母β-葡聚糖》行业标准（报批稿）编制说明

一、工作简况

1、任务来源

本任务被工业和信息化部列入2017年第三批行业标准制修订计划（工信厅科〔2017〕106号文），计划号为2017-1402T-QB，修订标准为《酵母β-葡聚糖》（QB/T 4572-2013），由全国食品工业标准化技术委员会工业发酵分技术委员会（TC64/SC5）提出并负责技术归口。由中国食品发酵工业研究院有限公司牵头修订，计划完成时间2019年。

2、主要起草过程

（1）起草阶段

标准任务下达后，中国食品发酵工业研究院于2018年2月启动标准修订工作，9日通知公开征集标准项目起草单位。4月25日召开标准启动会，组建标准起草工作组，讨论标准修订内容和计划。

2018年5月-2018年12月，开展酵母β-葡聚糖原料酶解方法研究、实验室比对工作及样品测定工作。

2019年1月-11月开展食品中酵母β-葡聚糖的测定方法研究、实验室比对工作及样品测定工作。2019年10月22日，召开方法讨论会。

2019年12月27日，根据分析结果完善形成标准（工作组讨论稿），开展起草单位内部讨论。根据起草工作组意见反馈情况，形成标准文本征求意见稿。

3、主要起草单位及起草人所作的工作

本标准由中国食品发酵工业研究院有限公司等单位共同负责起草。

工作组成员：略。

工作内容：中国食品发酵工业研究院有限公司负责起草，收集、整理国内外相关标准和技术资料，制定工作计划，组织开展方法研究、实验室比对及样品测定，撰写标准起草和编制说明等，以及组织、协调、审核等工作。其他起草单位

协助搜索提供资料，参与研究方案确定，参与方法比对及样品检测，对本标准各版本涵盖的全部内容提出编写和修改意见。

二、标准编制原则和主要内容

（一）标准编制原则

本标准的制定符合产业发展的原则，本着先进性，科学性，合理性和可操作性的原则，以及标准的目标性，统一性，协调性，适用性，一致性和规范性原则来进行本标准的制定工作。本标准按照 GB/T 1.1-2009 等给出的规则起草。本标准为修订 QB/T 4572-2013，通过综合分析国内外酵母 β-葡聚糖相关产品标准法规更新，并结合产品原料工艺、指标特性及市场发展需求修订相关测定方法。酵母 β-葡聚糖产品国内外相关标准法规对比（见附表 1）。

（二）标准主要内容

(1) 标准名称

维持原标准名称“酵母 β-葡聚糖”不变。

(2) 范围

根据新资源食品公告内容，规范了来源菌种为酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*），调整“其可用作为食品及食品配料”内容至定义。

(3) 规范性引用文件

根据修订内容和引用标准版本更新修改了标准号和名称。

(4) 术语和定义

维持原标准术语和定义不变，增加注：可作为食品或食品配料。

(5) 分子式、相对分子量及结构式

分子量按照 2018 年国际原子量表更新。

(6) 感官要求

考虑人员安全性，删除对味道要求。

(7) 理化要求

主要内容与原标准一致。根据测定方法标准更新，灰分指标名称改为总灰分。

(8) 污染物限量

根据 GB15203-2014 标准版本更新和内容变化，铅（以 Pb 计）限量要求维

持不变；总砷（以 As 计）的限量要求由 1.0mg/kg 降低为 0.5mg/kg，行业产品检测数据能够满足要求。同时删除了铜的限量要求，根据行业调研，加工原料和生产工艺中不会引入此类风险。

(9) 微生物要求

由于原标准引用 GB15203 最新 2014 版本，已不设置菌落总数≤3000 CFU/g、大肠菌群≤30 MPN/100g、致病菌（沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌）要求。新资源食品公告未规定微生物要求，营养强化剂公告规定了菌落总数（n=5，c=2，m=10000，M=50000）、大肠菌群（n=5，c=2，m=3，M=10）、金黄色葡萄球菌（不得检出/25g）和沙门氏菌（不得检出/25g）。美国 GRAS 规定了菌落总数（<20000 CFU/g）、大肠菌群（<10 CFU/g）和致病菌（大肠埃希氏菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌）。考虑标准通用性和产品贸易便利性，本标准污染指示菌参考营养强化剂公告要求，菌落总数（n=5,c=2,m=10000,M=50000)和大肠菌群（n=5,c=2,m=3,M=10）采用三级采样，致病菌参考营养强化剂公告，要求沙门氏菌和金黄色葡萄球菌不得检出/25g。

(10)鉴定

鉴于药典版本更新，原料红外吸收光谱测定方法直接采用相关国家标准。

(11)理化方法

蛋白质测定明确蛋白质换算系数为 6.25。水分测定明确采用直接干燥法测定。脂肪测定明确采用酸水解法。

参考 FCC，研究建立了酵母β-葡聚糖含量的酶解法作为第二法。详细方法学研究过程和实验室比对报告见第三部分。

(12)检验规则

细化抽样要求，整合了留样要求，修改了出厂检验表述，完善了判定规则。

(13)增加规范性附录 A

根据产品应用的行业需求，本次修订研究建立食品中酵母β-葡聚糖的测定方法，详细方法研究见第三部分。

（三）解决主要问题

本标准修订计划的目的是研究增订原料及食品中酵母β-葡聚糖的酶解测定方法，提升标准科学性和实用性，促进产品应用推广，解决产品质量规范问题。

三、主要试验（或验证）情况

酵母β-葡聚糖主要由葡萄糖组成的均一多糖，所以目前国内外对其含量测定多为通过检测其水解产物葡萄糖，并利用换算系数得出酵母β-葡聚糖的含量。酵母β-葡聚糖水解为葡萄糖主要采取酸解（原标准）或酶解（本次增订）两种方式，而葡萄糖的检测手段主要有高效液相色谱法（原标准）、分光光度计法（本次增订）等。

1. 酵母β-葡聚糖含量测定方法（酶解法）

酶解法（本标准增订方法）等同采用美国食品化学法典第八版（FCC8）中方法，通过多次酶解将酵母β-葡聚糖转化为葡萄糖进行测定。采用酶解法和酸解法对相同样品进行检验，两种方法检测结果无显著差异（表1）。

表1. 酸解法与酶解法检测结果对比

序号	酸解法纯度%	酶解法纯度%	方法结果相对差值
1	77.37	75.88	1.94%
2	87.39	85.89	1.73%
3	82.72	80.57	2.63%
4	83.11	83.65	0.65%
5	84.99	81.42	4.29%
6	85.49	86.38	1.04%
7	87.43	85.45	2.29%
8	90.22	92.30	2.28%
9	87.12	86.52	0.69%
10	71.85	70.57	1.80%

2. 食品中酵母β-葡聚糖含量测定方法研究

对于食品中酵母β-葡聚糖含量的测定，目前国内外研究较少，均无相关检测方法标准，文献方法主要集中在通过前处理将食品中酵母β-葡聚糖富集，去除杂质后按照酵母β-葡聚糖产品含量测定方法进行分析测定。其重点在于葡聚糖的提取与富集，以及减少基质中其他成分对于结果的干扰。由于酶法具有专一

性强的特点，食品中含有的糖类（如乳糖，蔗糖等）和稳定剂不会影响葡聚糖的测定，但食品中的蛋白质和脂肪会干扰测定结果。综合所述，本方法采用蛋白酶和脂肪酶水解去除食品中的蛋白质和脂肪，再对富集后的酵母β-葡聚糖进行酶解及测定。

2.1 主要影响因素的研究

采用蛋白酶将样品中大部分蛋白质进行水解（表 2）。采用脂肪酶将样品中大部分脂肪进行水解（表 2）。乳制品中乳糖含量较高，另外还有可能外源添加的葡萄糖、白砂糖、果糖、低聚果糖等可溶性糖，利用其可溶性本方法采用了水洗的方式有效去除了糖类的干扰（表 3）0。对于不可溶葡聚糖，添加时为了使产品整体稳定均一，在食品生产过程中可能会添加食品用稳定剂，如结冷胶、黄原胶和果胶等。经试验验证，由于酶解的专一性，以上稳定剂并不会对实验结果造成影响（表 4）。

表2. 蛋白质和脂肪的去除效果考察

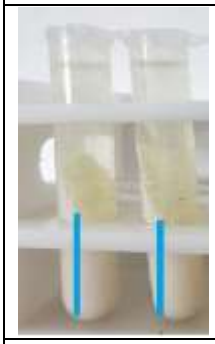
未经蛋白酶处理	蛋白酶处理	未经脂肪酶处理	脂肪酶处理
			
描述：底部蛋白质沉淀明显减少		描述：上层脂肪明显减少	

表3. 糖类的去除效果考察

主要添加的糖类	处理步骤	上清液中葡萄糖，g/L
白砂糖（酸奶）	按照 A5.3 进行处理	未检出
低聚果糖（奶粉）		未检出
葡萄糖（奶粉）		未检出

表4. 稳定剂影响情况考察

主要添加的稳定剂	处理步骤	酶解液中葡萄糖含量，g/L
结冷胶 0.4g	按照 6.2.4 处理	未检出
黄原胶 0.4g		未检出
果胶 0.4g		未检出

2.2 酶解葡聚糖的方法优化

2.2.1 对照品

由于食品中酵母β-葡聚糖添加量较低（210 mg/kg-670mg/kg），测定方法中取样量为 10g，其中酵母β-葡聚糖仅为 2.1 mg-6.7 mg，前处理过程中产生的损失将会对最终结果造成较大的影响。参考其他同类标准，引入对照品以补偿及修正前处理过程中的损失。

表5. 对照品对于前处理损失的补偿

序号	基质	添加量，g/kg	未引入对照品的回收率，%	引入对照品的回收率，%
1	牛奶	0.24	85	105
2	牛奶	0.40	82	111
3	酸奶	0.24	68	92
4	酸奶	0.40	64	98
5	奶粉	0.24	72	107
6	奶粉	0.40	77	105

2.2.2 酶的用量

FCC 中酶解葡聚糖的量为 15 mg-20 mg，本方法中富集后的葡聚糖多为 3 mg-8 mg，是 FCC 中的三分之一以下。称取 10 份 5 mg 葡聚糖样品（牛奶基质），分别按照 FCC 的酶用量和本方法的用量（表 6）进行实验，最终葡萄糖含量表明二者没有明显差别（表 7）。

表6. FCC方法和本标准酶的用量

	FCC 用量	本标准用量
溶壁酶	600μL×10 U /μL	500μL×5 U /μL

(1,6)-葡聚糖酶	300μL×1 U /300μL	300μL×1 U /300μL
(1,3)-葡聚糖酶+β-葡萄糖苷酶	390μL×(20U/mL+4U/mL)	300μL×(20U/mL+4U/mL)

表7. FCC方法和本标准测定结果对比

样品编号	FCC 酶用量测定的葡萄糖含量，g/L	本标准酶用量测定的葡萄糖含量，g/L
1	0.22	0.21
2	0.24	0.23
3	0.22	0.23
4	0.25	0.26
5	0.27	0.22
平均值	0.24	0.23

2.3 方法的线性范围、检出限和定量限

2.3.1 校准曲线

校准曲线浓度范围的设置要有一个比较大的跨度，能够涵盖所要检测的大多数样品的浓度，即样品的浓度要在校准曲线浓度范围之内，包括上限和下限。

2.3.1.1 校准曲线线性范围上限

以 GB14880-2012 中酵母β-葡聚糖允许使用量为 0.21g/kg-0.67g/kg 计算，当含量为 0.67 g/kg，取样量为 10 g，样品定容体积为 0.75 mL，酵母β-葡聚糖纯度为 100%时，样品溶液中由酵母β-葡聚糖水解为葡萄糖的浓度为 0.55 g/L。考虑到其他食品的使用情况，最终校准曲线的上限浓度定在 1.20 g/L 满足检验需要。

2.3.1.2 校准曲线线性范围下限

校准曲线一般以检出限的 3~10 倍为第一个点，本方法光度计的仪器定量限为 0.04 g/L，酵母β-葡聚糖最低添加量为 210mg/kg，理论水解葡萄糖 0.19 g/L，因此本方法以 0.12 g/L 为校准曲线的第一个点。

2.3.1.3 校准曲线各点浓度设定

校准曲线具有 5 个点，各点浓度设定为：0.12 g/L、0.25 g/L、0.50 g/L、0.80 g/L，1.00 g/L。

2.3.1.4 结果分析

标准储备液的配制：精确称取 0.2 g 葡萄糖标准品（精确至 0.1mg）至 80 mL 烧杯中，加入适量水溶解后，转移至 100 mL 容量瓶中，水定容后，摇匀。分装后保存在 4℃冰箱，使用前恢复室温。

系列标准溶液的配制：移取适量标准储备液和水，充分混匀备用。

测定：按照 6.4.2.6 和 6.4.2.7 进行测定各系列标准溶液的吸光度。

结论：结果表明，在 0.12g/L～1.00g/L 浓度范围葡萄糖的吸光度均呈线性关系，符合定量要求。相关系数达到 0.9995，线性方程 y = 1.1406x + 0.0049。

表8. 标准曲线

序号	葡萄糖储备液的体积，mL	水的体积，mL	葡萄糖浓度，g/L	吸光度
1	0.12	1.88	0.12	0.143
2	0.25	1.75	0.25	0.288
3	0.50	1.50	0.50	0.582
4	0.80	1.20	0.80	0.903
5	1.00	1.00	1.00	1.154
标准曲线		y = 1.1406x + 0.0049	相关系数	0.9995

2.3.2 方法的回收率和精密度

分别取牛奶、酸奶和奶粉空白样品，进行加标实验，按照标准文本中描述进行前处理，样品待测液按照标准中规定的方法分别进行测定，计算回收率、精密度，结果见下表。结果表明，在添加量为 224 mg/kg~600 mg/kg 之间时，回收率在 82%~113%之间，符合方法学要求。

表9. 方法回收率

样品		葡聚糖添加量（纯度以 100%计）mg/kg	计算葡聚糖含量 mg/kg	回收率%
牛奶	对照品	585	-	-
	葡聚糖	224	202.96	90.61
		248	238.78	96.28
		248	262.65	105.91
		544	585.00	107.54
		536	513.37	95.78
		488	453.67	92.97

奶粉	对照品	624	-	-
	葡聚糖	304	256.29	84.30
		272	234.00	86.03
		488	434.57	89.05
		544	445.71	81.93
酸奶	对照品	647.4	-	-
	葡聚糖	280	307.52	109.83
		312	339.89	108.94
		504	534.11	105.97
		600	679.77	113.30

表10.精密度

牛奶样品		酸奶样品		奶粉样品	
序号	葡聚糖含量 mg/kg	序号	葡聚糖含量 mg/kg	序号	葡聚糖含量 mg/kg
1	262	1	355	1	434
2	258	2	320	2	445
3	270	3	362	3	488
4	268	4	349	4	502
5	249	5	358	5	452
RSD%	3.22	RSD%	4.81	RSD%	6.30

2.3.3 方法的检出限、定量限

2.3.3.1 计算检出限和定量限

分光光度计法：对空白样测定 20 次，根据 AOAC 推荐公式 $A_L=A_b+KS_b$，计算仪器检出限和定量限分别为 0.009 g/L 和 0.025 g/L。进一步计算理论方法检出限和定量限为 14.0 mg/kg 和 39.0 mg/kg。

式中 A_L 是分析试样在检出限水平时测得的分析信号的平均值，即最小检测信号值；A_b 和 S_b 分别为在测定试样相同条件下，对空白试样进行足够多次（比如 20 次）测量所得的空白信号（噪声）的平均值和测定的标准偏差；K 是由置信水平决定的系数，IUPAC 推荐 K=3，在误差正态分布条件下，其置信度为 99.7%。A_L 它所对应的被测元素的量或浓度即为最小检出量 Q_L 和最小检出浓度 C_L，即为检出限，K=10 为定量限。

表11.分光光度计法的检出限与定量限（g/L）

测试次数	吸光度	测试次数	吸光度
1	0.001	11	0.006

2	0.004	12	0.001
3	0.008	13	0.003
4	0.001	14	0.001
5	0.002	15	0.003
6	0.000	16	0.001
7	0.003	17	0.000
8	0.002	18	0.005
9	0.000	19	0.000
10	0.000	20	0.002
平均值	标准偏差	检出限	定量限
0.00215	0.002207	0.009	0.0249

2.3.3.2 定量限的验证

分别在奶粉空白样品中添加适量葡聚糖（纯度 85%），使其浓度分别达到 33 mg/kg、99 mg/kg、165 mg/kg、264 mg/kg、330mg/kg。结果表明，虽然理论定量限为 39.0mg/kg，但在实际添加实验中，添加量达到 99mg/kg 以上时，回收率才能获得良好结果。方法实际的定量限为 99mg/kg，计算得出检出限为 33 mg/kg。

表12. 定量限验证

序号	添加量 mg/kg	测定结果 mg/kg	回收率%	评价
1	33	25	75.75	不满意
2	99	112	113.13	满意
3	165	160	96.97	满意
4	264	272	103.03	满意
5	330	351	106.36	满意

四、标准中涉及专利的情况

本标准不涉及专利问题。

五、预期达到的社会效益、对产业发展的作用等情况

本标准符合国内外产品的要求，在市场经济中占有十分重要的地位。该标准的实施，将规范酵母制品行业生产，为国内外销售及开展对外技术、经济交流提

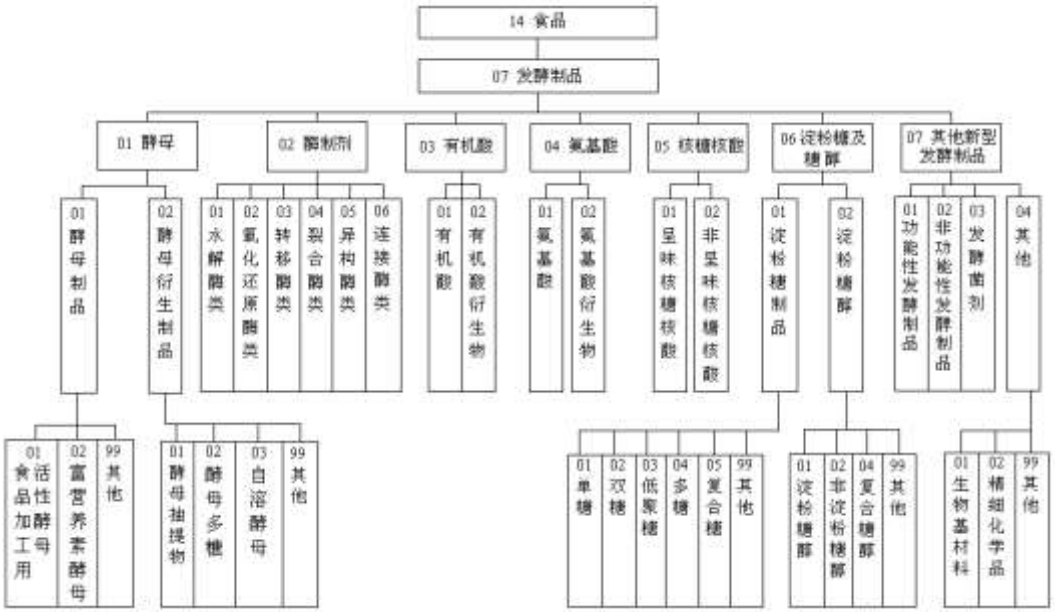
供了法规依据。

六、与国际、国外对比情况

本标准根据国内产品的实际，主要依据我国酵母β-葡聚糖的新资源食品公告（卫生部 2010 第 9 号）和营养强化剂公告（卫生部 2012 年第 6 号），也参考了美国 GRAS(notice 000239)和欧盟 2017/762/EU 指标要求，严于国际标准。标准属于国际先进水平。

七、在标准体系中的位置，与现行相关法律、法规、规章及标准，特别是强制性标准的协调性

本标准与现行法律、法规、规章和政策以及有关基础和强制性标准不矛盾。在食品工业标准体系中属于“01 酵母 02 酵母衍生制品 02 酵母多糖”。



八、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准未产生重大分歧意见。

九、标准性质的建议

建议本标准的性质为推荐性行业标准。

十、贯彻标准的要求和措施建议

本标准实施时，代替 QB/T 4572-2013 《酵母β-葡聚糖》。

十一、废止现行相关标准的建议

本标准自实施之日起，QB/T 4572-2013 自行废止。

十二、其他应予说明的事项

标准原主要起草单位“中国食品发酵工业研究院”因体制改革，2017年经北京市工商行政管理局批准，更名为“中国食品发酵工业研究院有限公司”。

表 1 国内外相关标准法规对比表

项目	本标准	原标准	新资源食品（卫生部 2010 第 9 号公告）	营养强化剂（卫生部 2012 年第 6 号公告）	美国 GRAS (notice 000239)	欧盟 2017/762/EU		
						不溶性	可溶性	不溶于水，可溶于其他液体
总碳水化合物，*w*/% ≥	/	/	/	75	80	70	75	/
β-葡聚糖含量，*w*/% ≥	70	70	70	75	70	70	75	80
蛋白质，*w*/% ≤	3.5	3.5	3.5	3.5	10	10	3.5	4
脂肪，*w*/% ≤	10	10	10	10	20	20	10	3
水分，*w*/% ≤	8	8	8	8	8	8	8	6
灰分，w/% ≤	3	3	3	3	5	12	3.5	2
铅（以 Pb 计）/（mg/kg） ≤	0.5	0.5	/	0.5	<0.5	<200		
总砷（以 As 计）/ (mg/kg) ≤	0.5	1.0	/	1.0	—	<200		
汞（以 Hg 计）/（mg/kg） ≤	/	/	/	0.05	/	<100		
镉/（mg/kg） ≤	/	/	/	/	/	<100		
菌落总数/（CFU/g）	n=5,c=2,m=10000, M=50000	≤3000	/	n=5,c=2,m=10000, M=50000	<20000	<1000		
大肠菌群/（CFU/g）	n=5,c=2,m=3,M=10	≤30MPN/100g	/	n=5,c=2,m=3,M=10	<10			
霉菌和酵母菌/（CFU/g）	/	/	/	/	≤25	均≤25		
大肠埃希氏菌/25g	/	/	/	/	不得检出	不得检出/1g		
沙门氏菌/25g	不得检出	不得检出	/	不得检	不得检出	不得检出		
金黄色葡萄球菌/25g	不得检出	不得检出	/	不得检	不得检出	不得检出/1g		
志贺氏菌/25g	/	不得检出	/	/	/	/		
蜡样芽胞杆菌/（CFU/g）	/	/	/	/	/	<100		

注：原标准微生物符合 GB15203-2003 《淀粉糖卫生标准》，最新版本 GB15203-2014 《食品安全国家标准 淀粉糖》已删除微生物和致病菌要求。

表 2 样品检验结果

标准要求	β-葡聚糖含量，w/%	蛋白质，w/%	脂肪，w/%	水分，w/%	灰分，w/%	铅（以 Pb 计）/（mg/kg）	总砷（以 As 计）/(mg/kg)	菌落总数/（CFU/g）	大肠菌群/（CFU/g）	沙门氏菌/25g	金黄色葡萄球菌/25g
	≥70	≤3.5	≤10	≤8	≤3	≤0.5	≤0.5	n=5,c=2,m=10000, M=50000	n=5,c=2,m=3,M=10	不得检出	不得检出
样品 1	75.6	2.4	0.58	2.3	1.8	0.069	＜0.01	<10	<0.3MPN/g	未检出	未检出
样品 2	78.9	2.08	0.1	3.3	1.3	≤0.5	≤0.5	40	<0.3MPN/g	未检出	未检出
样品 3	88.9	1.7	0.9	1.1	0.9	＜0.02	＜0.01	<10	<0.3MPN/g	未检出	未检出
样品 4	92.1	2.5	1.0	2.9	0.7	0.04	0.02	<10	<0.3MPN/g	未检出	未检出
样品 5	93.5	1.3	0.3	5.4	2.3	0.054	0.18	150	<0.3MPN/g	未检出	未检出
样品 6	89.2	0.44	5.51	4.61	1.24	/	/	1100	＜30	/	/
样品 7	88.7	0.48	5.23	6.55	0.94	/	/	750	＜30	/	/
样品 8	88.3	0.44	5.41	6.2	1.51	/	/	700	＜30	/	/
样品 9	87.7	0.44	5.94	5.27	1.2	/	/	800	＜30	/	/
样品 10	87.8	0.59	6.04	6.75	1.47	/	/	100	＜30	/	/
样品 11	87.3	0.4	4.77	3.81	1.88	/	/	200	＜30	/	/
样品 12	89.6	0.35	4.48	7.22	1.1	/	/	4800	＜30	/	/
样品 13	91.6	0.38	4.78	7.54	1.14	/	/	950	＜30	/	/
样品 14	90.9	0.38	7.34	2.9	1.31	/	/	250	＜30	/	/

样品15	87.5	0.39	5	3.85	1.91	/	/	600	＜30	/	/
样品16	89.7	0.44	4.91	3.22	1.94	/	/	100	＜30	/	/
样品17	90.2	0.42	5.1	4.2	1.69	/	/	100	＜30	/	/
样品18	90.4	0.51	7.7	3.97	1.96	/	/	100	＜30	/	/
样品19	88.0	0.67	5.8	3.91	1.98	/	/	100	＜30	/	/
样品20	85.9	0.44	5.84	3.69	2.57	/	/	900	＜30	/	/