

# 《酶制剂质量要求 第3部分：淀粉酶制剂》国家标准编制说明 (征求意见稿)

## 一、工作简况

### 1、任务来源

本标准由全国食品工业标准化技术委员会工业发酵分委会(TC64/SC5)上报,被列入2022年国家标准制修订计划,项目编号20220126-T-469。全国食品工业标准化技术委员会工业发酵分委会(TC64/SC5)归口。

### 2、简要起草过程

GB/T 24401-2009《 $\alpha$ -淀粉酶制剂》国家标准自发布以来已实施多年,随着产品种类创新和质量提升,现有标准中某些指标、方法不再适应市场需求。为了规范行业生产、引导行业健康发展,根据行业需要,对该国家标准进行修订。

标准任务下达后,中国食品发酵工业研究院有限公司开展了淀粉酶制剂关键技术标准化基础研究攻关,组织开展《酶制剂质量要求 第3部分:淀粉酶制剂》国家标准的起草工作。

2022年5月公开发文征集起草单位、调研行业情况,筹建标准起草工作组。

2022年7月-12月,研究对比JECFA、美国、日本和韩国等国际和国外的 $\alpha$ -淀粉酶制剂和 $\beta$ -淀粉酶制剂产品规格要求和酶活力检测方法。

2023年1月-2月,起草组内开展了 $\alpha$ -淀粉酶制剂和 $\beta$ -淀粉酶制剂的活力测定方法研究。

2023年2月-6月,组织行业实验室完成淀粉酶制剂酶活力测定方法的比对工作。

2023年7月27日在山东青岛召开第一次起草工作组会议,共同研究、讨论标准修订内容,整理修改形成标准文本讨论稿,初步确定后续工作安排。

2023年8月-12月,对行业征集样品感官、细度、干燥失重等指标进行普测,了解行业产品情况,为指标设置提供依据。

2023年1月,根据起草组意见与建议,形成征求意见稿,向行业内公开征求意见。

### 3、主要起草单位及起草人

起草单位:略。

本标准主要起草人:略。

## 二、标准编制原则

## 1、以科学为依据

以科学技术和实验数据为依据，采用统计评估方法，结合行业情况和企业生产检测数据，经过科学研究而修订。

## 2、以保证食品安全、保护人民健康为原则

标准的制定以保证食品安全、保护人民健康为基本原则。制定产品标准可规范产品质量，引导行业健康发展，对项目设置和指标进行认真研究，最大限度地保证产品的安全 and 质量水平。

## 2、与国际标准接轨

我国加入 WTO 后，与国际贸易接轨，向世界先进水平靠拢是国内生产企业发展的必经之路。起草工作组通过对相关的国内外标准、技术资料的分析，结合国内产品的生产工艺、质量水平及检验水平的实际情况，本着使标准趋向科学性、先进性及合理适用的原则进行标准修订工作。

## 三. 主要内容

本标准编写符合 GB/T 1.1-2020 的规定，在 GB/T 22401-2009《 $\alpha$ -淀粉酶制剂》（以下简称原标准）基础上修订，与原标准相比主要技术变化如下：

### 1 名称

根据《国家标准化管理委员会秘书处关于征求对<食品质量国家标准清理结论（征求意见稿）>意见的函（标委秘函(2019) 32 号），市场监管总局为厘清食品质量标准和食品安全标准的关系，科学合理地构建食品质量国家标准体系，开展了我国食品质量国家标准清理工作。全国食品工业标准化技术委员会工业发酵分技术委员会秘书处(SAC/TC64/SC5)为落实有关归口标准的清理结论，组织对《蛋白酶制剂》等 10 项国家标准制修订计划征求意见（工业发酵分标委〔2020〕13 号），通过对本标准计划名称修改为“酶制剂质量要求 第 3 部分： $\alpha$ -淀粉酶制剂”。经调研，目前我国已经批准 $\alpha$ -淀粉酶制剂、 $\beta$ -淀粉酶制剂、葡糖淀粉酶和麦芽糖淀粉酶等淀粉酶制剂。其中， $\beta$ -淀粉酶制剂目前在食品工业中应用较多，但由于标准的缺失，限制了行业发展。本次修订将纳入 $\beta$ -淀粉酶制剂。标准名称修改为“酶制剂质量要求 第 3 部分：淀粉酶制剂”。

### 2 范围：

通过行业调研和样品征集，并与行业充分交流与讨论后，将原标准中的范围调整为“本文件适用于 $\alpha$ -淀粉酶制剂和 $\beta$ -淀粉酶制剂的生产、检验和销售”。

### 3 规范性引用文件

根据标准中技术要求和试验方法等引用文件更新了规范性引用文件。

### 4 术语和定义

参考国际食品添加剂联合专家委员会（JECFA）和欧盟食品接触材料、酶制剂、香料和加工助剂专家组（CER）法规关于酶制剂定义，规范了“淀粉酶活力”表述，增加了“ $\alpha$ -淀粉酶活力单位”、“ $\alpha$ -淀粉酶制剂”、“ $\alpha$ -淀粉酶制剂活力”，以及“ $\beta$ -淀粉酶活力单位”、“ $\beta$ -淀粉酶制剂”、“ $\beta$ -淀粉酶制剂活力”等定义。其中，考虑淀粉酶制剂不同的使用条件和评价方式，“活力单位”增加“注：也可根据所采用的酶活力测定方法，另行约定相应的酶活力单位”表述。

### 5 产品分类

按产品应用领域修订为“食品工业用和其它工业用酶制剂”。保留按照产品形态和产品适用温度的分类方式。

### 6 要求：

#### 6.1 感官要求

按照 GB/T1.1-2020 规范标准文本描述。色泽要求中，固体剂型明确“颗粒”的描述；气味要求中，固体剂型与液体剂型统一改为“无异味，有本品固有的气味”。

#### 6.2 理化指标

随着行业技术发展提升，传统淀粉酶制剂产品“酶活力 $\geq 2000$ ”或“酶活力 $\geq 20000$ ”要求已经不再具有行业技术门槛的意义。对比分析国内外相关标准，未对酶活力指标进行具体要求。根据行业企业产品规格和征集样品检验统计，酶制剂的产品用途和适用条件多样化、定制化等特点，单纯酶活力技术要求不适应产品规格多样化发展趋势，因此将“酶活力 $\geq 2000$ （20000） U/mL 或 U/g”更改为“符合声称”，且保留可按供需双方合同规定的酶活力规格执行，提供相应的测定方法条件。干燥失重、pH、耐高温保存率指标要求维持原标准不变。增加细度指标，并明确该指标不适用于颗粒产品。通过调研，行业不同产品的生产菌种、原辅料、配方等不同，容重和 pH 差异很大，且不具有评价酶制剂产品质量的作用，故删除原标准中的容重和 pH 要求。

#### 6.3 卫生要求

根据国家标准定位和制修订要求，删除了原标准中的卫生要求。

### 7 试验方法

明确 $\alpha$ -淀粉酶（细菌来源）活力按附录 A 进行检测。由于方法误差较大，原标准附

录 B 的目视法行业已不再使用，故删除；增加米曲霉等真菌来源 $\alpha$ -淀粉酶的活力测定方法（滴定法，附录 B）。更新资料性附录 C 自动生化分析仪法；根据标准范围，增加 $\beta$ -淀粉酶活力测定方法（附录 D 和 E），同时明确采用其他方法进行检测，并规范检测结果应标明测定的方法，必要时，还应标明缓冲溶液和底物。

干燥失重和细度的试验方法均按照 QB/T 1803-2023 中规定的相应的试验方法执行。保留耐高温保存率试验方法，并规范描述。

## 8 检验规则

根据有关法规要求更新了判定规则。

## 9 标志、包装、运输及贮存

根据有关法规要求更改了标志要求。

## 10 保质期

删除保质期要求。

## 11 附录

分别明确 $\alpha$ -淀粉酶（细菌来源）活力按附录 A 进行检测；增加米曲霉等真菌来源 $\alpha$ -淀粉酶的活力测定方法（滴定法，附录 B）；更新资料性附录 C 自动生化分析仪法；增加 $\beta$ -淀粉酶活力测定方法（附录 D、E）。原标准附录 A“吸光度与测试 $\alpha$ -淀粉酶浓度对照表”移至附录 E。

# 四. 主要试验（或验证）分析

## 1、样品及方法征集

起草工作组共征集 10 家国内外生产企业的 25 份淀粉酶样品，其中 20 份  $\alpha$ -淀粉酶，5 份  $\beta$ -淀粉酶，1 份  $\beta$ -淀粉酶为大麦来源，其余  $\alpha$ -淀粉酶和  $\beta$ -淀粉酶均为微生物来源。除 GB/T 24401-2009 外，共收集了 6 家企业反馈的 14 份淀粉酶活力测定方法，同时整理了 JECFA、FCC、日本公定书和韩国食品法典的淀粉酶活力测定方法，并对方法进行归类分析。

## 2、淀粉酶制剂活力测定方法的优化和验证

### 2.1 $\alpha$ -淀粉酶制剂

#### A 可溶性淀粉底物筛查

起草组各实验室采用 $\alpha$ -淀粉酶相应方法，选择企业生产的代表性 $\alpha$ -淀粉酶样品，分别使用 Aml-Subs-1、Aml-Subs-2 底物和自有底物平行测定 2 次酶活力值。比较分析酶活

力差异。具体结果见下表。

表 1 筛选底物与原底物的比较

实验室	Aml-Subs-1	Aml-Subs-2	内部底物	Subs-2 与内部底物的相对相差
lab01	6099	6245	6016	3.81
lab05	236920	245137	247454	-0.94
lab05	11515	11703	11786	-0.70
lab02	41269	42727	41550	2.83
lab02	1832	1920	1847	3.95
lab03	201540	206574	203541	1.49
lab03	19658	20293	20205	0.44
lab04	12210	12008	11664	2.95
lab06	21575	22770	19905	14.39

结果：新底物 Aml-Subs-2 测得的酶活与原底物具有较好的一致性；其中，8 个结果的偏差 $\leq 5\%$ ，占比 88.9%；1 个结果的的偏差 $\geq 10\%$ ，占比 11.1%，且该结果中新底物 Aml-Subs-2 的酶活高于原底物。

结论：本次筛选的可溶性淀粉底物 Aml-Subs-2 满足实验需求，适合作为 $\alpha$ -淀粉酶活力测定标准方法的底物。

#### B $\alpha$ -淀粉酶活力测定方法实验室间比对

起草组各实验室采用 $\alpha$ -淀粉酶方法，对组织方提供的 $\alpha$ -淀粉酶盲样 SCFF-Aml-S 进行酶活的测试。。具体结果见下表。

表 2 实验室间比对结果

实验室编号	Aml-Subs-1			实验室内 RSD%	平均值	实验室内 RSD%
lab01	10568	10461	10289	1.35	10439	7.65
lab02	11165	11129	11092	0.33	11129	
lab03	10085	10243	10113	0.83	10147	
lab04	11761	12181	12146	1.94	12029	
实验室编号	Aml-Subs-2			实验室内 RSD%	平均值	实验室内 RSD%
lab01	10665	10513	10610	0.73	10596	7.49
lab02	11348	11384	11314	0.31	11349	
lab03	10400	10483	10410	0.43	10431	
lab04	12104	12378	12295	1.15	12259	

## 2.2 $\beta$ -淀粉酶活力测定方法的建立与验证

### (1) 标准曲线

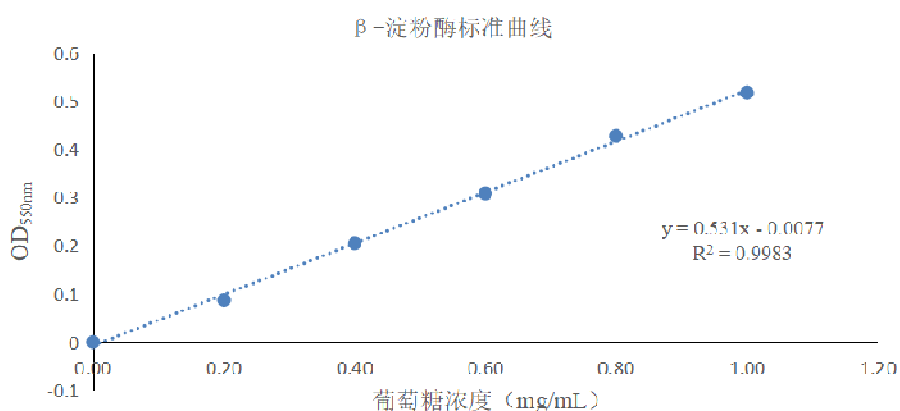


图 4-1 葡萄糖标准曲线

### (2) $\beta$ -淀粉酶最适温度的确定

采用大麦来源的 $\beta$ -淀粉酶与微生物来源的 $\beta$ -淀粉酶,分别在温度为 37°C、50°C、60°C、70°C、80°C的条件下,测定两种 $\beta$ -淀粉酶的最适温度。

#### A 测定方法

反应温度分别设置为 37°C、50°C、60°C、70°C、80°C,其余测定方法以及反应参数条件与底物比较一致。

#### B 测定结果

##### (a) 标准曲线

与底物比较一致。

##### (b) 最适温度的测定

大麦来源的 $\beta$ -淀粉酶反应温度在 37°C~70°C之间,测定酶活力随着温度的升高逐渐升高,反应温度在 70°C~80°C之间测定酶活力随着温度的升高而下降,且在 80°C失去酶活力,因此可以得知该大麦来源的 $\beta$ -淀粉酶的最适反应温度为 70°C。

微生物来源的 $\beta$ -淀粉酶反应温度在 37°C~50°C之间,测定酶活力随着温度的升高逐渐升高,反应温度在 50°C~80°C之间测定酶活力随着温度的升高而下降,且在 80°C失去酶活力,因此可以得知该微生物来源的 $\beta$ -淀粉酶的最适反应温度为 50°C。

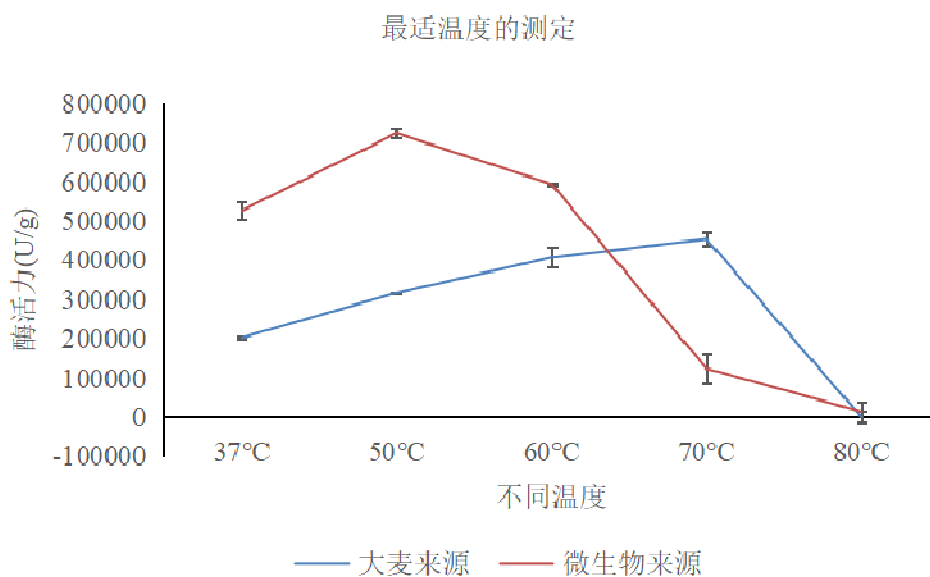


图 4-3 不同来源 $\beta$ -淀粉酶最适温度的确定

### (3) $\beta$ -淀粉酶最适测定浓度的测定

采用大麦来源的 $\beta$ -淀粉酶与微生物来源的 $\beta$ -淀粉酶, 在 pH5.50, 温度 60°C 的条件下, 测定两种来源 $\beta$ -淀粉酶的最适测定浓度。

#### A 测定方法

##### (a) 0.02 mol/L pH 5.50 的磷酸盐缓冲液

称取十二水合磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) 0.14 g, 磷酸二氢钠 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) 2.35 g, 加入 950 mL 蒸馏水, 配好后用 pH 计校正缓冲液的 pH 值为 5.50, 用磷酸氢二钠或磷酸二氢钠进行校正, 校正后用蒸馏水定容至 1000 mL。

##### (b) 1.10 % 淀粉缓冲液

煮沸约 80 mL 0.02 mol/L pH 5.50 的磷酸盐缓冲液, 加入到盛有 1.1 g 淀粉的少量磷酸盐缓冲液溶解液中, 煮沸 5 min, 冷却, 使用磷酸盐缓冲液定容至 100 mL (现用现配)。

##### (c) 标准曲线的绘制

准确称取于 105°C~110°C 干燥后的葡萄糖 100 mg, 用 0.02 mol/L pH 5.5 的磷酸盐缓冲液溶解并定容至 100 mL, 配制成 1 mg/mL 葡萄糖标准溶液, 分别吸取 1 mg/mL 葡萄糖标准溶液 0 mL, 0.1 mL, 0.2 mL, 0.3 mL, 0.4 mL 和 0.5 mL, 分别加入到 6 个试管中, 用 0.02 mol/L pH 5.5 的磷酸盐缓冲液补加至 0.5 mL, 配制成葡萄糖浓度分别为 0.0 mg/mL、0.2 mg/mL、0.4 mg/mL、0.6 mg/mL、0.8 mg/mL、1.0 mg/mL 的标准溶液。向试管中各加入 DNS 试剂 1.5 mL, 于沸水中沸腾 15 min, 取出, 迅速冷却至室温, 用

蒸馏水定容至 10 mL，混匀。用可见分光光度计在 550nm 下测量溶液的吸光度，用空白管溶液调零点，记录吸光度值，以吸光度为纵坐标，以对应的标准葡萄糖浓度为横坐标，绘制标准曲线。

表 4-5 系列标准溶液的配制

编号	葡萄糖浓度/(mg/mL)	葡萄糖液量/ml	缓冲液量/ml	DNS 液量/ml
空白	0.0	0	0.5	1.5
1	0.2	0.1	0.4	1.5
2	0.4	0.2	0.3	1.5
3	0.6	0.3	0.2	1.5
4	0.8	0.4	0.1	1.5
5	1.0	0.5	0	1.5

#### (d) 测定

取 3 支试管各加入 9 mL 1.10 % 淀粉缓冲液预热 5 min，按一定的时间间隔（每个 1 min）向 3 支样品管中分别加入 1.0 mL 稀释好的待测酶液（空白管以 0.02 mol/L pH 5.5 的磷酸盐缓冲液代替酶液），准确计时，反应 30 min 后按加入顺序依次取出 0.5 mL 反应液于装有 1.5 mL DNS 试剂的 25 mL 试管中，摇匀。将四支试管同时放入沸水浴中，加热 15min 后取出（水沸后开始计时），迅速放入冰水中冷却至室温。用蒸馏水定容至 10 mL，摇匀。以空白管中溶液（对照液）调仪器零点，用分光光度计在波长 550nm 下测量溶液的吸光度，取平均值代入公式计算酶活力。

#### (e) 酶活力的计算

$\beta$ -淀粉酶活力 X，单位为 U/mL 或 U/g。

$$X = c \times 1.9 \times 2 \times n \times 20$$

式中：

X——试样 $\beta$ -淀粉酶的酶活力，单位为 U/mL 或 U/g；

c——反应结束后，样品溶液吸光度在标准曲线对应的葡萄糖的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

1.9——葡萄糖换算成麦芽糖系数

2——反应 30 min 换算成 60 min；

n——稀释倍数；

20——吸取 0.5 mL 反应液换算成 10 mL；

试验结果以平行测定结果的算术平均值为准。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于算术平均值的 10%。



## B 测定结果

### (a) 标准曲线

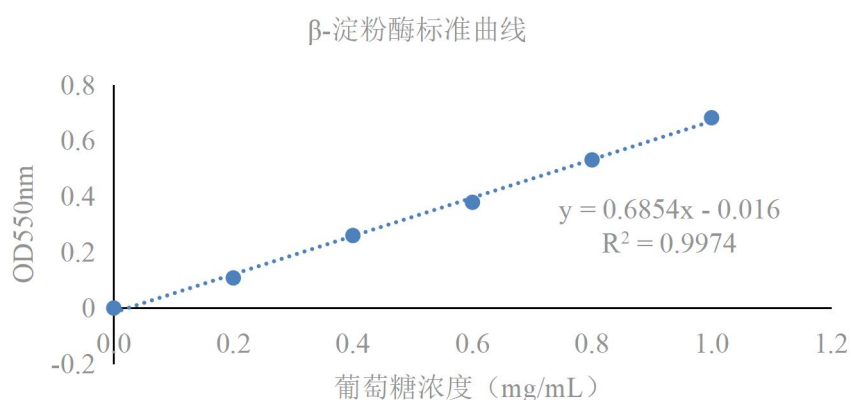


图 4-4 葡萄糖标准曲线

### (b) 大麦来源β-淀粉酶最适酶浓度测定结果

酶浓度控制在 13.31~146.26 U/mL 时，对应的吸光值在 0.104-1.303，此范围内测出的酶活极差在 216224.10，RSD 为 9.97%，但这个吸光值范围已经超出了分光光度计测定的最佳范围，并且极差与 RSD 值较高；若吸光值控制在 0.110-0.280 时，对应酶浓度在约在 13.31~33.01 U/mL，此区间内的酶活极差在 138420.39，RSD 为 7.39%，建议将吸光值控制在 0.110-0.280，即酶浓度 13.31~33.01 U/mL 之间。

表 4-6 大麦来源β-淀粉酶不同酶浓度的测定结果

稀释倍数	酶浓度 (U/mL)	净吸光值	测定酶活 (U/g)
5000	146.26	1.303	731281.00
10000	76.62	0.675	766209.51
15000	57.88	0.506	868222.94
20000	33.01	0.282	660130.34
25000	27.46	0.232	686557.73
30000	21.73	0.180	651998.83
35000	22.58	0.188	790419.22
40000	17.48	0.142	699309.41
50000	13.31	0.104	665304.93

表 4-7 大麦来源β-淀粉酶不同吸光值区间的结果

吸光值区间	0.104-1.303	0.110-0.280
最小值 (U/g)	651998.83	651998.83
最大值 (U/g)	868222.94	790419.22
极差 (U/g)	216224.10	138420.39
平均值 (U/g)	724381.55	692286.74
标准差	72254.13	51180.64

RSD	9.97%	7.39%
-----	-------	-------

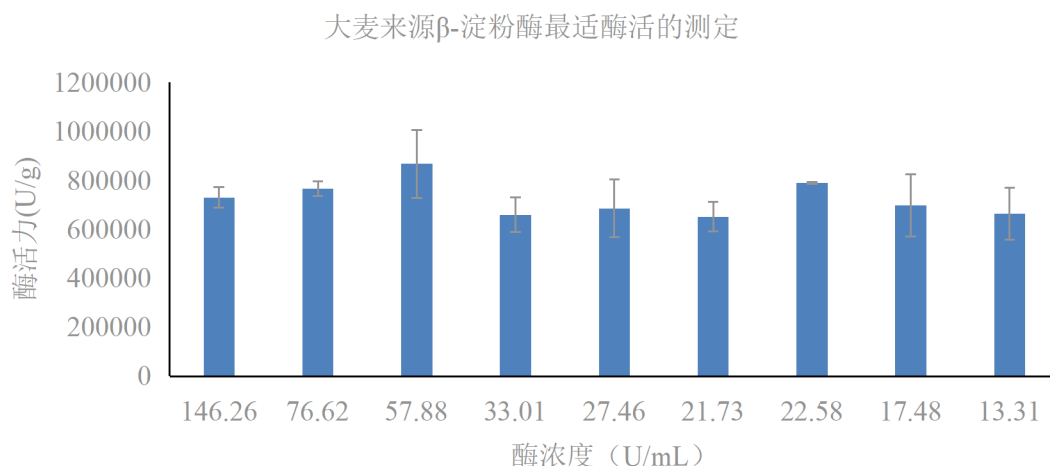


图 4-5 大麦来源的β-淀粉酶不同酶浓度的测定结果

**(c) 微生物来源β-淀粉酶最适酶浓度测定结果**

酶浓度控制在 17.19~110.88 U/mL 时，对应的吸光值在 0.139-0.984，此范围内测出的酶活极差在 266121.97，RSD 为 7.59%，此时极差与 RSD 值较高；若吸光值控制在 0.150~0.980 时，对应酶浓度在约在 18.30~110.88 U/mL，此区间内的酶活极差在 182958.86，RSD 为 6.05%，但这个吸光值范围已经超出了分光光度计测定的最佳范围；若吸光值控制在 0.250~0.500，酶活极差只有 29384.30，且 RSD 值也仅有 1.33%，所以建议将吸光值控制在 0.250~0.500，即酶浓度 29.22~57.33 U/mL 之间。

表 4-8 微生物来源β-淀粉酶不同酶浓度的测定结果

稀释倍数	酶浓度 (U/mL)	净吸光值	测定酶活 (U/g)
10000	110.88	0.984	1108841.55
20000	57.33	0.501	1146542.17
30000	37.98	0.327	1139334.70
40000	29.22	0.248	1168719.00
50000	25.84	0.217	1291800.41
60000	20.46	0.169	1227487.60
70000	18.30	0.149	1280711.99
80000	17.19	0.139	1374963.52

表 4-9 微生物来源β-淀粉酶不同吸光值区间的结果

吸光值区间	0.139-0.984	0.150-0.980	0.250-0.500
最小值 (U/g)	1108841.55	1108841.55	1139334.70
最大值 (U/g)	1374963.52	1291800.41	1168719.00
极差 (U/g)	266121.97	182958.86	29384.30
平均值 (U/g)	1217300.12	1194776.77	1151531.95
标准差	92382.42	72264.23	15314.46
RSD	7.59%	6.05%	1.33%

微生物来源 $\beta$ -淀粉酶最适酶活的测定

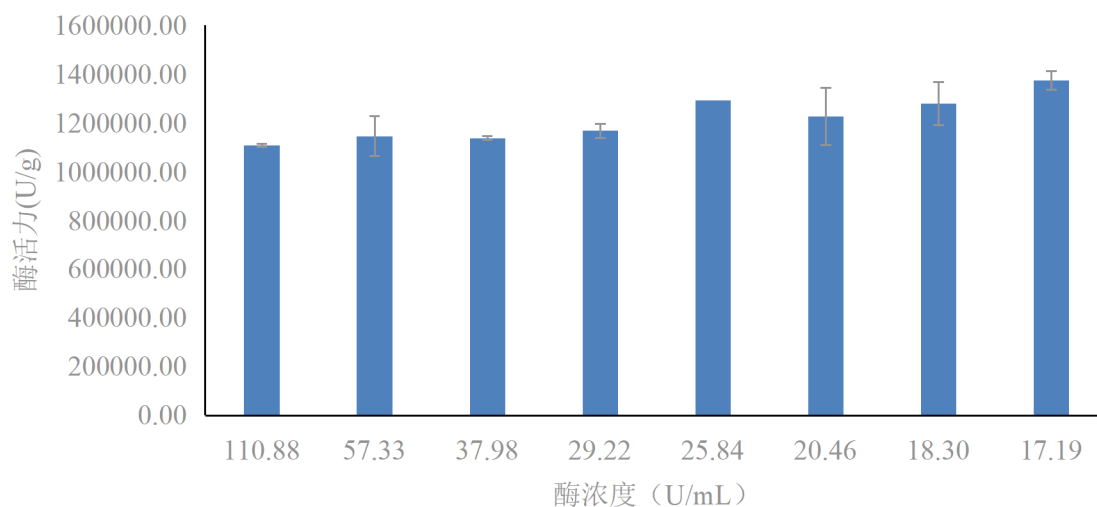


图 4-6 微生物来源的 $\beta$ -淀粉酶不同酶浓度的测定结果

(注：酶浓度为 25.84 U/mL 时平行组酶活力出现明显差别，因此将其删去，故无误差线。)

### 3、样品普查数据

采用标准中方法对征集的部分样品进行检测，结果见表 7。

表 7 淀粉酶产品酶活力测定结果

序号	样品编号	剂型	酶活	细度	干燥失重
1.	$\beta$ -淀粉酶	液体	631323	/	/
2.	$\beta$ -淀粉酶	液体	852501	/	/
3.	$\beta$ -淀粉酶	液体	756741	/	/
4.	$\beta$ -淀粉酶	液体	772719	/	/
5.	$\beta$ -淀粉酶	液体	625760	/	/
6.	$\beta$ -淀粉酶	液体	869223	/	/
7.	$\beta$ -淀粉酶	液体	617983	/	/
8.	$\beta$ -淀粉酶	液体	763845	/	/
9.	$\beta$ -淀粉酶	固体	751035	/	5.1
10.	$\beta$ -淀粉酶	固体	110597	/	4.5
11.	$\beta$ -淀粉酶	固体	750906	/	5.5
12.	$\beta$ -淀粉酶	固体	2108854	/	6.1
13.	中温 $\alpha$ -淀粉酶	液体	3333	/	/
14.	中温 $\alpha$ -淀粉酶	液体	4356	/	/
15.	中温 $\alpha$ -淀粉酶	液体	2112	/	/
16.	中温 $\alpha$ -淀粉酶	液体	3295	/	/
17.	高温 $\alpha$ -淀粉酶	液体	45313	/	/
18.	高温 $\alpha$ -淀粉酶	液体	22036	/	/
19.	高温 $\alpha$ -淀粉酶	液体	45478	/	/
20.	中温 $\alpha$ -淀粉酶	固体	2132	98%	5.3%

21.	中温 $\alpha$ -淀粉酶	固体	4289	99%	5.6%
22.	中温 $\alpha$ -淀粉酶	固体	3230	99%	5.2%
23.	高温 $\alpha$ -淀粉酶	固体	21893	98%	5.8%
24.	高温 $\alpha$ -淀粉酶	固体	44110	98%	5.0%

## 五. 产业化水平及预期的经济效果

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，将规范淀粉酶制剂行业生产，为国内外销售及开展对外技术交流提供了法规依据。

## 六. 采用国际标准和国外先进标准的情况

经查阅，目前 JECFA、FCC、日本公定书、韩国食品添加剂法典规定了微生物和动植物来源的淀粉酶制剂的质量规格要求和相应的检测方法。我国《GB2760-2014 食品添加剂使用标准》及增补公告陆续批准了微生物、动植物来源的淀粉酶制剂。本标准修订有关方法时参考上述国内外标准法规。

## 七. 与有关的现行法律、法规和强制性标准的关系

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。

## 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

本标准可作为推荐性国家标准。

## 十. 贯彻标准要求和措施建议

本标准代替 GB/T 24401-2009 《 $\alpha$ -淀粉酶制剂》。

## 十一. 废止现行有关标准的建议

本标准自实施之日起，GB/T 24401-2009 自行废止。