

《乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）制剂》行业标准（征求意见稿） 编制说明

一、工作简况

（一）、任务来源

本项目被工业和信息化部列入 2021 年第二批行业标准制修订和外文版项目计划（工信厅科函〔2021〕159 号），项目编号为 2021-0788T-QB，由中国食品发酵工业研究院有限公司等牵头，全国食品工业标准化技术委员会工业发酵分技术委员会归口。

（二）、主要工作过程

（1）起草阶段：

2021 年 7 月标准任务下达后，中国食品发酵工业研究院积极开展调研工作，并于 2021 年 9 月公开发文征集起草单位，组建了标准起草工作组。

2021 年 10 月至 2023 年 6 月起草组针对乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）活力检测方法开展相关研究工作，分别对反应温度、pH 等条件进行了优化。

2023 年 7 月在青岛召开第一次起草工作组会议，针对前期收集整理的文献资料，研讨标准修订思路，分析讨论标准制定关键问题。根据会议讨论情况，整理形成标准草案、启动会会议纪要、后续项目进度及分工安排等材料。

2023 年 8 月至 2023 年 10 月，起草组征集行业乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）样品，并对细度、干燥失重等指标进行了测试分析。

2023 年 11 月至 2024 年 1 月，组织起草工作组组对标准讨论稿中的各项内容进行了交流讨论，并形成标准讨论稿。

2024 年 3 月起草组交流总结前期工作内容，结合样品数据讨论完善技术要求内容和实验方法，形成讨论征求意见稿。

（三）、主要参加单位及工作组成员所作的工作

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：暂略。

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，制定研究方案，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技术资料并研究分析，方法验证比对，样品检测及数据整理，参与研究方案确定，

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

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。

3、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。

（二）、本标准主要内容的论据、解决的主要问题

1. 范围

规定了乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）制剂的术语和定义、产品分类、要求、试验方法、检验规则、标签、包装、运输、贮存，并明确本标准适用于经微生物发酵制得的乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）制剂。

2. 规范性引用文件

确定了本标准中涉及引用的标准等相关文件。

3. 术语和定义

设置了“乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）”、“乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）制剂”的术语和定义，其中“乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）制剂”体现了乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）形成制剂化产品过程中的工艺、原辅料、配料等内容；并设置了“乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）活力单位、乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）制剂酶活力”的术语和定义，明确并区分了“酶活力”和“酶活力单位”。

4. 产品分类

分类方式上设置了按产品形态、产品应用领域、产品适用 pH 三种。

5. 要求和试验方法

(1) 感官要求

产品感官特性与生产原料、产品类型、生产工艺有关，本标准根据征集到的产品样品实际情况给出产品基本的感官要求。

(2) 理化要求

综合对比分析国内外标准法规要求，根据标准会议讨论意见，结合产品实际检测情况，理化要求设置了酶活力、干燥失重、细度指标。

(3) 安全要求

明确食品工业用酶制剂应符合 GB 1886.174 规定，其它工业用应符合相关要求的规定。

(4) 检验规则

按照最新标准要求规范表述。明确了抽样方法、检验规则等内容。

(5) 标志、包装、运输、贮存

按照最新标准要求规范表述。明确要求标签需注明产品类型和酶活力。

(6) 附录：乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）活力的测定方法

起草组对比分析了《美国食品与化学品法典（FCC）》、《GB/T 35538-2017 工业用酶制剂测定技术导则》、《GB 33409-2016 β -半乳糖苷酶活性检测方法 分光光度法》中酶活力测定方法（具体差异详见附表 2），并对方法中的不同 pH 条件的标准曲线、反应时间、pH 和温度进行了比较和分析，具体见第三部分。

三、主要试验（或验证）情况

1. 不同 pH 条件下乳糖酶活力标准曲线的绘制

标准储备液（2.0 mmol/L）：精确称量 139mg 邻硝基苯酚于 100mL 烧杯中，加入 10mL 的 95%的乙醇溶解，并转移至 500mL 的容量瓶，加水定容，充分摇匀。

分别吸取 1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL、5.00 mL、6.00 mL 标准储备液于 100 mL 容量瓶中，加入 25mL 碳酸钠溶液，使用相应的缓冲液定容（pH4.5、pH5.0、pH5.8、pH6.5、pH6.8、pH7.3），该标准系列邻硝基苯酚的浓度分别为 0.02 mmol/L、0.04 mmol/L、0.06 mmol/L、0.08 mmol/L、0.10 mmol/L、0.12 mmol/L 邻硝基苯酚系列标准工作溶液。现用现配。

以水做空白，420nm 处分别测定系列标准溶液的吸光度，以邻硝基苯酚的浓度为横坐标，吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

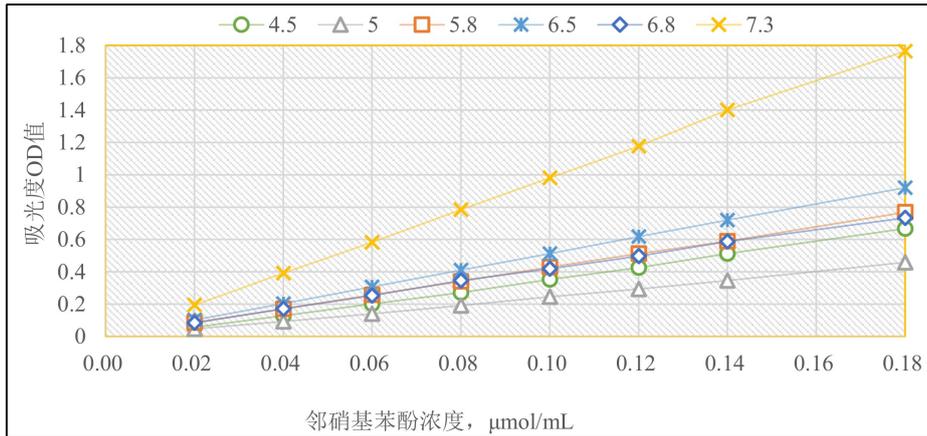


图 1 不同 pH 条件下的标准曲线

结果表明，在 0.02~0.18 mmol/L 浓度范围内，不同 pH 条件下的标准曲线的线性均满足方法学要求，线性良好，但斜率差异较大。所以，在酸性乳糖酶和中性乳糖酶的酶活力测试中，应采用与酶活反应一致的缓冲溶液配制标准曲线。

2. 摩尔消光系数的计算

乳糖酶活力测定采用分光光度法，利用水解产物邻硝基苯酚分浓度和吸光度成正比，计算酶活力。邻硝基苯酚的消光系数虽为物理常数，但溶剂不同时，同一物质的摩尔吸光系数也不同。起草组分别测定了 0.02~0.18mmol/L 浓度范围内不同 pH 条件下邻硝基苯酚的摩尔消光系数（公式 1），由表 1 所示，不同 pH 条件下，消光系数在 2.4~9.8 之间。

$$\epsilon = \frac{\sum_{i=1}^8 (A_i/C_i)}{8} \dots\dots\dots (1)$$

表 1 不同 pH 条件下邻硝基苯酚的消光系数

pH 值	摩尔消光系数
4.5	2.403
5.0	2.419
5.8	4.268
6.5	4.622
6.8	5.197
7.3	9.803

3. 最适反应时间和反应温度的确定

选取不同来源的乳糖酶制剂样品，在其他条件一致的条件下，分别比较不同反应时间（5min、10min、15min、20min）和不同反应温度（30℃、37℃、40℃、50℃）条件下的乳糖酶活力。结果表明，

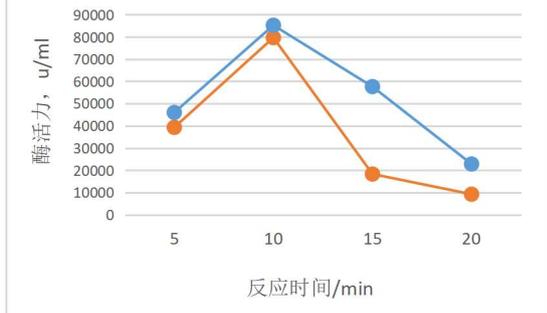


图 2 不同反应时间下乳糖酶的酶活

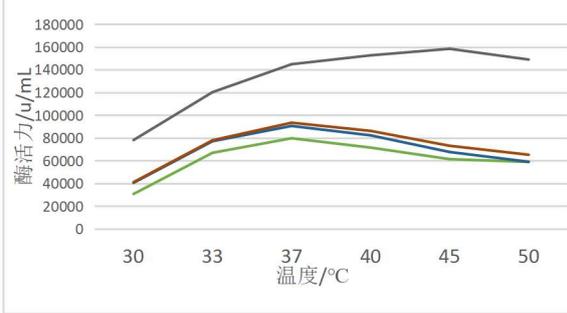


图 3 不同反应温度下乳糖酶的酶活

4. 不同 pH 条件下乳糖酶的酶活力

分别选取具有代表性的中性和酸性乳糖酶制剂样品，保持其他条件不变，分别在 pH4.5、pH5.0、pH5.8、pH6.5、pH7.3 条件下测定酶活力，结果表明，中性乳糖酶的最适 pH 在 6.5 左右，酸性乳糖酶在 4.5 左右。

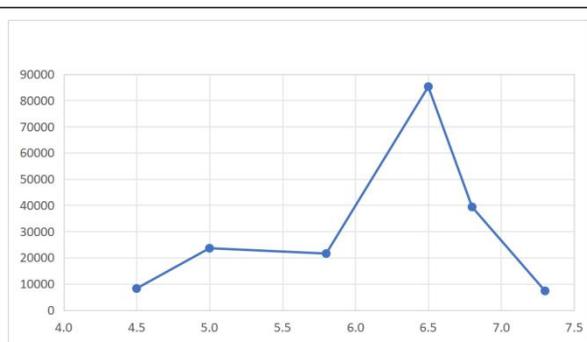


图 4 不同 pH 条件下中性乳糖酶的酶活

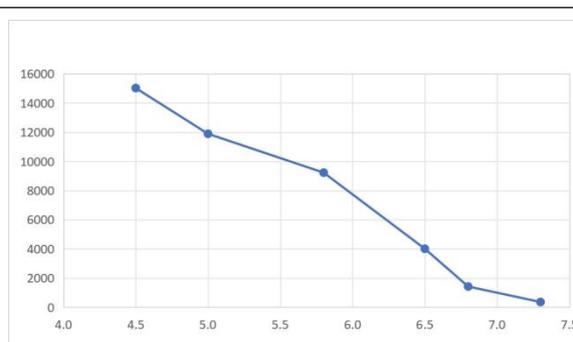


图 5 不同 pH 条件下酸性乳糖酶的酶活

5. 行业样品普查

本次共检测乳糖酶（β-半乳糖苷酶）制剂样品 20 份，按照本标准规定的检验项目和试验方法进行检验，全部达到标准要求，抽样检测结果见附件。

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

食品工业用酶制剂（生物食品制造）在 90 年代被列入国家战略新兴产业目录。环境保护和经济发展更需要寻求两者的“再平衡”，形成绿色增长模式，实现“碳达峰”和“碳中和”。其中，通过绿色技术和创新实现产业的转型升级就是重要的途径，乳糖酶（β-半乳糖苷酶）在功能食品、低乳糖食品加工等食品领域应用效果良好，越来越多的企业采用酶制剂作为各行业节能减排、提高生产效率和经济效益的重要举措。

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，本标准通过深入研究和市场调研确定了产品的各项质量指标。本标准的制定和实施，可以有利于提高乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）制剂行业产品品质提升，带动整个产业升级。通过本标准的实施，进一步深入下游食品工业对绿色、安全和环保意识的不断增强，有效改善环境污染，节能减排，提质增效，保障食品安全，促进产业健康可持续发展，具有显著的社会效益。

六、与国际、国外对比情况

本标准没有采用国际标准。

本标准综合对比分析了 FCC 第 12 版、日本公定书及收集到的部分国内企业标准，并结合市场上乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）产品实际情况确定。

本标准制定过程中未测试国外的样品、样机。

本标准水平为国内先进水平。

七、在标准体系中的位置，与现行相关法律、法规、规章及相关标准，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“02 酶制剂 03 水解酶制剂”。

八、重大分歧意见的处理经过和依据

无。

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

建议本标准批准发布 6 个月后实施。

十一、废止现行相关标准的建议

无。

十二、其他应予说明的事项

无。

附表 1 乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）制剂相关标准法规酶活力测定方法对比表

	本标准	美国食品化学法典 FCC	GB/T 33538-2017	GB33409-2016	AOAC 998.04
酶活定义	在特定反应条件下，1 min 内催化邻硝基苯- β -D-半乳糖苷（ONPG）生成 1 μ mol 邻硝基苯酚所需的酶量。	中性：在测定条件下每分钟能释放 1.30mmol 邻硝基苯酚的酶的量。 酸性：在测定条件下，每分钟催化转化 1mmol ONPG 的酶量	在测定条件下，单位时间释放 1 μ mol 邻硝基苯酚的酶量。	在测定条件下，每分钟催化转化 1 μ mol ONPG 的酶量	/
缓冲液体系	pH4.5 磷酸盐缓冲液 pH6.5 磷酸盐缓冲液	pH4.5 醋酸盐缓冲液 pH6.5 磷酸盐缓冲液	pH6.5 磷酸盐缓冲液	pH4.5 磷酸盐缓冲液 pH6.5 磷酸盐缓冲液 pH7.3 磷酸盐缓冲液	pH6.5 磷酸盐缓冲液
标准曲线的绘制	0.02~0.12 mmol/L	（酸性）0.10~0.18 mmol/L （中性）0.02 ~0.14 μ mol/mL	（中性） 0.02~0.14 μ mol/mL	（中性、酸性）0.02~0.12 mmol/L	（中性） 0.02~0.14 μ mol/mL
邻硝基苯酚溶液浓度	2.50 mg/mL	酸性：3.70mg/mL 中性：2.50mg/mL	2.50 mg/mL	2.50 mg/mL	
样品的制备	0.032 U/mL~0.080 U/mL	酸性：0.15~0.65U/mL 中性：0.027~0.095U/mL	/	0.035u/mL~0.120U/mL	0.027~0.095 U/mL
反应温度	37 $^{\circ}$ C	（中性）30 $^{\circ}$ C （酸性）37 $^{\circ}$ C	30 $^{\circ}$ C	37 $^{\circ}$ C 55 $^{\circ}$ C（米曲霉和黑曲霉来源）	
反应时间	10min	（中性）10 min （酸性）15 min	10min	10min	10min
检测波长	420nm	420nm	420nm	420nm	420nm

附表 2 乳糖酶（ β -半乳糖苷酶）制剂样品检测结果

样品编号	剂型	酶活力（U/g 或 U/mL）	细度	干燥失重
1	液体	10889	/	/
2	液体	6843	/	/
3	液体	5250	/	/
4	液体	3284	/	/
5	粉末	12460	98%	5.8%
6	固体	6542	/	3.8%
7	粉末	162372	98%	5.2%
8	固体	89700	/	3.2%
9	粉末	118766.4	$\geq 90\%$	5.7%
10	粉末	211346.8	$\geq 90\%$	$\leq 10\%$
11	粉末	100000	95%	6.3%
12	粉末	17300	96%	5.0%
13	粉酶	5000	通过 0.45mm 孔径筛 $\geq 90\%$	$\leq 10\%$
14	粉酶	5000	通过 0.45mm 孔径筛 $\geq 90\%$	$\leq 10\%$
15	粉酶	5000	通过 0.45mm 孔径筛 $\geq 90\%$	$\leq 10\%$