

中华人民共和国国家标准

GB 1886.299—2018

食品安全国家标准 食品添加剂 冰结构蛋白

2018-06-21 发布

2018-12-21 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 冰结构蛋白

1 范围

本标准主要适用于以大豆为原料,经酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)发酵培养,再经分离、浓缩、精制得到的食品添加剂冰结构蛋白。

2 技术要求

2.1 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	浅棕色	将适量试样置于清洁、干燥的烧杯中,在自然光线下,观察其色泽和状态
状态	液体	
注:测定各指标前,试样应于 4℃下解冻约 20 h,并搅拌均匀。		

2.2 理化指标

理化指标应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

项 目	指 标	检验方法
冰结构蛋白(ISP)含量/(g/L)	≥ 5	附录 A 中 A.3
灰分,ω/%	≤ 2	GB 5009.4
pH	2.5~3.5	附录 A 中 A.4
铅(Pb)/(mg/L)	≤ 2.0	GB 5009.75 或 GB 5009.12
注:测定各指标前,试样应于 4℃下解冻约 20 h,并搅拌均匀。		

2.3 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/mL)	≤ 3 000	GB 4789.2
大肠菌群/(CFU/mL)	≤ 10	GB 4789.3
霉菌和酵母菌/(CFU/mL)	≤ 100	GB 4789.15
沙门氏菌/25 mL	不得检出	GB 4789.4
单核细胞增生李斯特氏菌/25 mL	不得检出	GB 4789.30
蜡样芽孢杆菌/(CFU/mL)	≤ 100	GB 4789.14
注：测定各指标前，试样应于 4 ℃ 下解冻约 20 h，并搅拌均匀。		

3 储存条件

产品应在-18 ℃以下储存。

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 和 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 液相色谱法

在冰结构蛋白(ISP)含量测定试验中,试样溶液色谱图的主峰保留时间应和标准溶液色谱图的主峰保留时间相一致,参见附录 B 中图 B.1。

A.2.2 质谱法

分别配制 10 mg/L 的试样溶液和标准溶液,在附录 C 参考质谱条件下进行测定,两者的分子量应一致,参见附录 B 中图 B.2。

A.3 冰结构蛋白(ISP)含量的测定

A.3.1 试剂和材料

A.3.1.1 乙腈:色谱纯。

A.3.1.2 三氟乙酸:纯度 $\geq 98\%$ 。

A.3.1.3 冰结构蛋白对照品:纯度 $\geq 10\%$ 。

A.3.2 仪器和设备

A.3.2.1 高效液相色谱仪:带二极管阵列检测器。

A.3.2.2 微量进样器:100.0 μL 。

A.3.2.3 0.45 μm 水相滤膜。

A.3.3 参考色谱条件

A.3.3.1 色谱柱:C18 反相色谱柱($\phi 4.6\text{ mm} \times 15\text{ cm}$),填料直径 3.5 μm ;或其他等效的色谱柱。

A.3.3.2 检测波长:214 nm。

A.3.3.3 柱温:室温。

A.3.3.4 流速:1.0 mL/min。

A.3.3.5 进样量:20.0 μL 。

A.3.3.6 流动相 A:0.05%三氟乙酸水溶液(体积分数);流动相 B:0.05%三氟乙酸乙腈溶液(体积分数)。

A.3.3.7 流动相梯度洗脱参数见表 A.1。

表 A.1 流动相梯度洗脱程序表

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	100.0	0.0
3.00	100.0	0.0
5.00	78.0	22.0
15.00	52.0	48.0
18.00	48.0	52.0
19.00	0.0	100.0
22.00	0.0	100.0
23.00	100.0	0.0
26.00	100.0	0.0

A.3.4 分析步骤

A.3.4.1 标准溶液系列的制备

称取适量冰结构蛋白对照品溶解于水,分别配制实际浓度为 50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、200 mg/L 和 250 mg/L 的标准溶液系列,用 0.45 μm 水相滤膜过滤。

A.3.4.2 试样溶液的制备

移取搅拌均匀试样 0.5 mL,用水定容至 25 mL,用 0.45 μm 水相滤膜过滤。

A.3.4.3 测定

在 A.3.3 参考色谱条件下,分别对标准溶液系列和试样溶液进行测定,得到冰结构蛋白标准溶液浓度和响应值(峰高或峰面积)的曲线,在曲线上对应试样溶液色谱图的响应值(峰高或峰面积),得到试样溶液中冰结构蛋白的浓度。同时做空白试验。

A.3.5 结果计算

冰结构蛋白(ISP)含量 ω_1 ,单位为克每升(g/L),按式(A.1)计算:

$$\omega_1 = \frac{V_1 \times (c - c_0)}{1\,000 \times V_2} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

V_1 —— 试样溶液的体积,单位为毫升(mL);

c —— 由标准曲线获得的试样溶液中冰结构蛋白的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

c_0 —— 由标准曲线获得的空白溶液中冰结构蛋白的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

1 000 —— 体积换算系数;

V_2 —— 原始试样的体积,单位为毫升(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 2 次独立测定结果的绝对差值不大于算术平均值的 10%。

A.4 pH

取适量搅拌均匀试样,用校正好的 pH 计在室温下直接测定。

附录 B

冰结构蛋白对照品参考谱图

B.1 冰结构蛋白对照品参考液相色谱图

冰结构蛋白对照品参考液相色谱图见图 B.1。

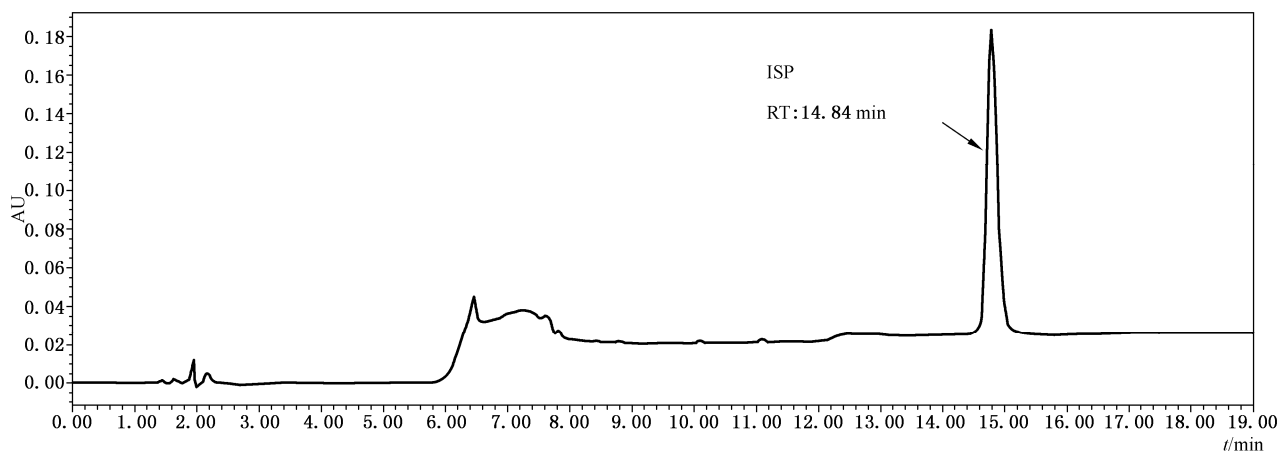


图 B.1 冰结构蛋白对照品参考液相色谱图

B.2 冰结构蛋白对照品参考质谱图

冰结构蛋白对照品参考质谱图见图 B.2。

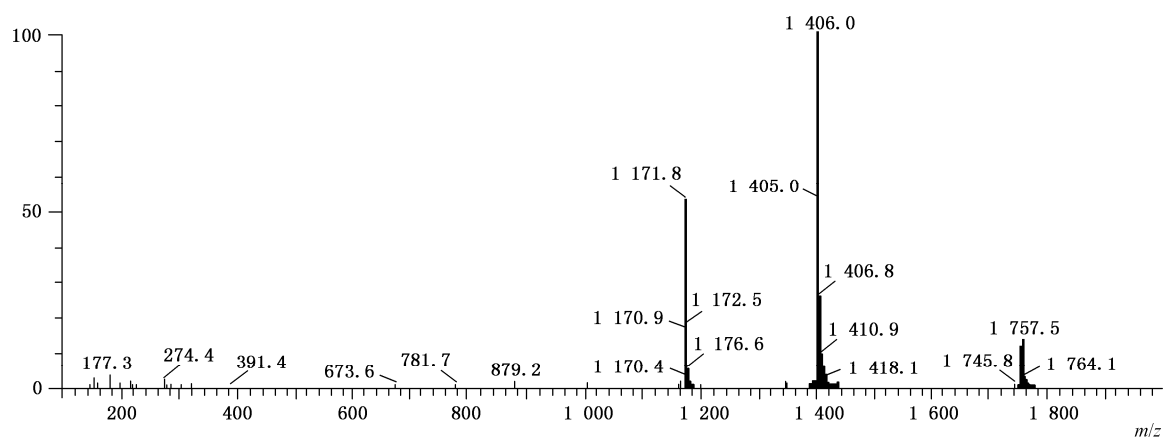


图 B.2 冰结构蛋白对照品参考质谱图

附录 C 参考质谱条件

C.1 参考质谱条件

参考质谱条件如下：

- a) 毛细管电压:3 000 V;
 - b) 锥孔电压:30 V;
 - c) 提取电压:1 V;
 - d) 透镜电压:0.1 V;
 - e) 源温:100 °C;
 - f) 脱溶剂温度:300 °C;
 - g) 脱溶剂气流速度:350 L/h;
 - h) 锥孔气流速度:20 L/h;
 - i) 低频分辨率:14.0;
 - j) 高频分辨率:14.0;
 - k) 电离方式:电喷雾(ESI);
 - l) 离子能量:1.0 eV;
 - m) 检测器倍数:650;
 - n) 低质量区: m/z 为 500;
 - o) 高质量区: m/z 为 2 000。
-