

Q/WSY

河北省微生物研究所企业标准

Q/WSY01—2010

葡萄糖氧化酶

2010-05-18 发布

2010-05-18 实施

河北省微生物研究所

发布

前言

本标准由河北省微生物研究所提出并起草。

本标准起草人：胡常英 马清河

葡萄糖氧化酶

1 范围

本标准规定了食品添加剂葡萄糖氧化酶的技术要求、试验方法、标识、包装、运输和储存。

本标准适用于由发酵法生产、经提纯制取、用于食品、饲料、医药等方面的葡萄糖氧化酶。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 4789.2-2010	食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 菌落总数测定
GB/T 4789.3-2010	食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 大肠菌群计数
GB/T 4789.4-2010	食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 沙门氏菌检验
GB/T 5009.22-2003	食品中黄曲霉毒素 B1 的测定
GB/T 5009.75-2003	食品添加剂中铅的测定
GB/T 5009.76-2003	食品添加剂中砷的测定
GB/T 6682-2008	分析实验室用水规格和实验方法

3 定义

3.1

酶活力

在 pH6.0、温度 30℃ 的条件下，每分钟能把 1.0 μmol 的 β—D—葡萄糖氧化成 D—葡萄糖酸和 H₂O₂ 所需的酶量为一个单位。

4 技术要求

4.1 外观

浅黄色或淡橙色透明液体，无悬浮物。

4.2 理化指标

产品理化指标应符合表 1 规定。

表1 葡萄糖氧化酶理化指标

项 目	指 标
酶活力 U / mL	50±3
酶活保存率 (2—8℃, 12 个月内) % ≥	95
铅 (以 Pb 计) mg / L ≤	1
砷 (以 As 计) mg / L ≤	0.5
黄曲霉毒素 B1 μ g / L <	5
菌落总数 (杂菌总数) 个 / mL ≤	100
大肠菌群 个 / 100mL <	30
沙门氏菌 (致病菌)	不得检出

5. 实验方法

本标准中所用试剂除特殊注明外, 均为分析纯, 所用水应符合 GB6682 三级水规格。

5.1 外观

样品注入 50mL 比色管中, 目视检验。

5.2 酶活力

5.2.1 原理

在葡萄糖氧化酶的作用下, 葡萄糖和氧反应, 生成葡萄糖酸和过氧化氢, 过氧化氢和无色的还原型邻联茴香胺在过氧化物酶的作用下, 生成水和红色的氧化型邻联茴香胺。

5.2.2. 试剂和溶液

5.2.2.1 磷酸盐缓冲液 (pH6.0)

称取 16.61g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 35.82g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 溶于无 CO_2 水中, 稀释到 1000mL。两种试剂须预先在 $120 \pm 10^\circ\text{C}$ 条件下干燥两小时。

5.2.2.2 邻联茴香胺甲醇缓冲液

称取 1g 邻联茴香胺加在 100mL 甲醇中搅拌溶解备用。临用时现配。取 0.1mL 加入到上述缓冲液 12mL 中混匀。

5.2.2.3 180g / L 葡萄糖水溶液

18g 葡萄糖加在 100mL 蒸馏水中搅拌溶解。

5.2.2.4 辣根过氧化物酶溶液

配成 1mg / mL 溶液, 取 0.5mL 再加水 1mL。

5.2.3 仪器设备

721 - 分光光度计;

可调恒温水浴锅;

秒表: 精度 1 / 10s。

5.2.4 分析步骤

吸取 10mL 样品加入到 500mL 容量瓶中, 稀释至刻度摇匀, 备用。取两支洁净试管, 分别加入邻联茴香胺甲醇缓冲液(5.2.2.2) 2.5mL, 葡萄糖溶液(5.2.2.3) 0.3mL, 辣根过氧化物酶溶液(5.2.2.4) 0.1mL, 置 30℃恒温水浴中, 恒温后向其中一管加入 0.1mL 蒸馏水, 以空白管调零, 随后向样品管中加入 0.1mL 样品溶液摇匀, 立即在 460nm 波长处用 1cm 杯比色。读取初始吸光度值为 A_0 并计时, 反应 1min 时读取吸光度值为 A_1 , 得出 $\Delta A = A_1 - A_0$ 。

5.2.5 结果的表示与计算

酶活力 X_1 (U / mL) 按(1)式计算:

$$X_1 = \frac{\Delta A_{460}}{11.3 \times t \times A / B} \times f \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

11.3 ----- 消光系数;

t ----- 反应时间 (min);

A ----- 样品体积 (mL);

B ----- 反应液体积

f ----- 酶液稀释倍数

5.3 酶活力保存率

5.3.1 操作步骤

取已知酶活力的样品 100mL, 放入试剂瓶中蜡封, 在 2—8℃条件下保存 12 个月后, 按本标准 5.2 的规定测定酶活力。

5.3.2 结果的计算

酶活保存率 X_2 (%) 按(2)式计算。

$$X_2 = \frac{E_1}{E_0} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

E_1 ——储存酶活力;

E_0 ——初始酶活力。

5.4 铅

按照 GB/T5009.75 中的测定方法进行。

5.5 砷

按照 GB/T5009.76 中的测定方法进行。

5.6 黄曲霉毒素

按照 GB5009.22 进行。

5.7 菌落总数（杂菌总数）

按照 GB4789.2 进行。

5.8 大肠菌群

按照 GB4789.3 进行。

5.9 沙门氏菌

按照 GB4789.4 进行。

6. 检验规则

6.1 产品检验分出厂检和型式检验，出厂检验项目为外观、酶活力，批批必检；型式检验为全项检验。正常生产情况下，菌落总数、大肠菌群、沙门氏菌每季度检验一次，铅、砷、黄曲霉毒素 B₁、酶活力保存率一年检验一次。

6.2 该产品须由生产厂的质量检验部门按本标准检验合格并出具合格证后方可出厂。经检验如有不合格项，要从本批产品中加倍重新抽样复检，经复检全项合格则该批产品为合格产品，如仍有不合格项，则该批产品为不合格产品。

有下列情形之一时应进行型式检验：

- a) 新产品投产鉴定时或申领卫生许可证和生产许可证时；
- b) 主要原材料有变化时或生产工艺有重大改动时；
- c) 停产后又恢复生产时；
- d) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时；
- e) 用户要求时。

6.3 日常产品检验抽样按 GB/T6678 中的 7.6 确定，所采样充分混匀一是两份，分别装在 250mL 干净玻璃瓶中，贴上标签，注明厂名、产品名称、批号、采样日期、采样人，一瓶供检验另一瓶留样备查。

6.4 当供需双方对产品质量发生争议时，供需双方通过协商可委托有资格质检单位进行仲裁检验，检验费由败诉方负担。

7 标志、包装、运输、贮存

7.1 标志

包装上应有下列标志：产品名称、标准编号、生产厂名、厂址、生产批号、保质期、生产许可证号、卫生许可证号、体积、防潮、防晒、防倒置、“食品添加剂”字样。

7.2 包装

本产品采用符合卫生标准的玻璃或塑料容器包装，包装为 10kg、1kg 或根据用户要求确定包装。每批产品中应附有产品合格证和使用说明书。

7.3 运输

运输过程中应避光，最高温度不得超过 30℃（最高温度持续时间在 48 小时以内）。不得与有毒有害物品混运。

7.4 贮存

本产品应贮存在 2—8℃低温、干燥、避光环境中，不得与有毒有害物品混贮。

7.5 保质期

按规定贮存条件，保质期 12 个月。
