

附件 2

分支酶等 8 种食品添加剂新品种

一、食品工业用酶制剂新品种

序号	酶	来源	供体
1	分支酶 Branching enzyme	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	<i>Rhodothermus obamensis</i>

食品工业用酶制剂的质量规格要求应符合《食品安全国家标准 食品添加剂 食品工业用酶制剂》(GB 1886.174) 的规定。

二、食品营养强化剂新品种

中文名称: β -丙氨酸

英文名称: β -Alanine

功能分类: 食品营养强化剂

用量及使用范围

食品分类号	食品名称	使用量	备注
13.05	除 13.01~13.04 外的其他特殊膳食用食品(仅限运动营养食品)	每日 2~4 g	—

质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于以葡萄糖、酵母粉等为原料或以葡萄糖、氨水、硫酸镁和丙烯酸等为原料, 经发酵法生产的

食品营养强化剂 β -丙氨酸。 β -丙氨酸的生产菌应经过安全性评估并符合附录D的要求。

2 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

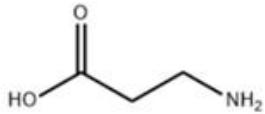
2.1 化学名称

3-氨基丙酸

2.2 分子式

$C_3H_7NO_2$

2.3 结构式



2.4 相对分子质量

89.09 (按2022年国际相对原子质量)

3 技术要求

3.1 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	白色	取适量试样，置于清

项目	要求	检验方法
状态	结晶或结晶性粉末	洁、干燥的白瓷盘中,
气味	本品特有气味, 无异味	在自然光线下, 目测 其色泽与状态。

3.2 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
β -丙氨酸含量 (以C ₃ H ₇ NO ₂ 计, 以干基计), w/%	98.0 ~ 101.0	附录A中A.3
pH (100 g/L水溶液)	6.5 ~ 7.5	GB/T 9724
干燥减量, w/%	≤ 0.20	GB/T 6284 ^a
灼烧残渣, w/%	≤ 0.20	附录A中A.4
氯化物 (以Cl ⁻ 计), w/%	≤ 0.02	附录A中A.5
铅 (Pb) / (mg/kg)	≤ 0.5	GB 5009.12或 GB 5009.75
总砷 (以As计) / (mg/kg)	≤ 0.5	GB 5009.11或 GB 5009.76

^a称取试样2 g ~ 3 g, 精确至0.0001 g, 干燥时间为3 h。

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。试验中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品，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 β -丙氨酸的鉴别

A.2.1 红外光谱法（方法一）

按照 GB/T 6040 压片法，称取试样 1 mg ~ 2 mg，加干燥的溴化钾约 200 mg，充分研磨混匀，采用溴化钾压片法，扫描并记录红外吸收光谱图，试样的红外吸收光谱图应与附录 B 基本一致。

A.2.2 高效液相色谱法（方法二）

按照 A.3.2 进行测定，试样溶液色谱图中主峰的保留时间与标准溶液色谱图中主峰的保留时间基本一致。

A.3 β -丙氨酸含量的测定

A.3.1 高氯酸电位滴定法（方法一）

A.3.1.1 试剂和材料

A.3.1.1.1 无水甲酸。

A.3.1.1.2 冰乙酸。

A.3.1.1.3 高氯酸标准滴定溶液： $c(\text{HClO}_4) = 0.1 \text{ mol/L}$ 。

A.3.1.2 仪器和设备

A.3.1.2.1 电位滴定仪：配非水相电极。

A.3.1.2.2 分析天平：感量为 0.0001 g。

A.3.1.3 分析步骤

称取试样 0.15 g，精确至 0.0001 g，置于干燥的烧杯中，加入无水甲酸 3 mL 完全溶解后，加入冰乙酸 50 mL，用高氯酸标准滴定溶液进行电位滴定。同法做空白试验。

A.3.1.4 结果计算

β -丙氨酸含量（以 $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$ 计，以干基计）以质量分数 ω_1 计，数值以百分含量（%）表示，按式（A.1）计算：

$$\omega_1 = \frac{(V-V_0) \times c \times M}{m_1 \times (1-w) \times 1000} \times 100\% \dots \dots \dots \text{ (A.1)}$$

式中：

V ——试样溶液消耗高氯酸标准滴定溶液体积的数值，单位为毫升（mL）；

V_0 ——空白溶液消耗高氯酸标准滴定溶液体积的数值，单位为毫升（mL）；

c ——高氯酸标准滴定溶液的准确浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

M —— β -丙氨酸的摩尔质量，单位为克每摩尔（g/mol）
($M=89.09$)；

m_1 ——试样质量的数值，单位为克（g）；

w ——试样干燥减量的数值，%；

1000 ——换算系数。

试验结果以平行测定结果的算术平均值表示。

A.3.1.5 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应大于算术平均值的0.5%。

A.3.2 高效液相色谱法（方法二）

A.3.2.1 原理

在选定的工作条件下，通过色谱柱使 β -丙氨酸与其它组分分离，用紫外检测器或二极管阵列检测器检测，外标法定量。

A.3.2.2 试剂和材料

A.3.2.2.1 水：GB/T 6682，一级水。

A.3.2.2.2 乙腈：色谱纯。

A.3.2.2.3 氨水：优级纯。

A.3.2.2.4 磷酸盐缓冲溶液：称取磷酸二氢钾2.72 g，溶于900 mL水中，加氨水调pH至7.0，加水定容至1000 mL。

A.3.2.2.5 β -丙氨酸对照品（C₃H₇NO₂，CAS：107-95-9）：纯度 $\geq 98.5\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

A.3.2.3 仪器和设备

A.3.2.3.1 高效液相色谱仪：配备紫外检测器或二极管阵列检测器。

A.3.2.3.2 分析天平：感量为0.0001 g。

A.3.2.3.3 微孔滤膜：0.22 μm ，水相。

A.3.2.4 分析步骤

A.3.2.4.1 对照溶液的制备

称取 β -丙氨酸对照品0.10 g, 精确至0.0001 g, 置于100 mL容量瓶中, 加流动相溶解并定容至刻度, 摆匀, 经微孔滤膜过滤。

A.3.2.4.2 试样溶液的制备

称取试样0.10 g, 精确至0.0001 g, 置于100 mL容量瓶中, 加流动相溶解并定容至刻度, 摆匀, 经微孔滤膜过滤。

A.3.2.4.3 液相色谱参考条件

A.3.2.4.3.1 色谱柱: 氨基柱(以硅胶为基质键合氨基), 250 mm×4.6 mm, 5 μ m, 或等效色谱柱。

A.3.2.4.3.2 流动相: 磷酸盐缓冲溶液+乙腈=40+60。

A.3.2.4.3.3 柱温: 30 $^{\circ}$ C。

A.3.2.4.3.4 流速: 1.0 mL/min。

A.3.2.4.3.5 进样量: 10 μ L。

A.3.2.4.3.6 检测波长: 210 nm。

A.3.2.4.4 试样溶液的测定

将对照溶液和试样溶液分别注入高效液相色谱仪中进行测定, 记录试样溶液中 β -丙氨酸的峰面积 A_1 和对照溶液中 β -丙氨酸的峰面积 A_2 。 β -丙氨酸对照品液相色谱图见附录C中图C.1。

A.3.2.5 结果计算

β -丙氨酸含量（以C₃H₇NO₂计，以干基计）的质量分数以 ω_1 计，数值以百分含量（%）表示，按式（A.2）计算：

$$\omega_1 = \frac{A_1 \times m_2 \times p}{A_2 \times m_1 \times (1-w)} \times 100\% \dots \dots \dots \text{ (A.2)}$$

式中：

A_1 ——试样溶液中 β -丙氨酸的峰面积；

m_2 —— β -丙氨酸对照品质量的数值，单位为克（g）；

p —— β -丙氨酸对照品标示的纯度，%；

A_2 ——对照溶液中 β -丙氨酸的峰面积；

m_1 ——试样质量的数值，单位为克（g）；

w ——试样干燥减量的数值，%。

试验结果以平行测定结果的算术平均值表示。

A.3.2.6 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应大于算术平均值的0.5%。

A.4 灼烧残渣的测定

A.4.1 试剂和材料

浓硫酸。

A.4.2 仪器和设备

A.4.2.1 石英坩埚或瓷坩埚。

A.4.2.2 高温炉。

A.4.2.3 干燥器（内有干燥剂）。

A.4.2.4 分析天平：感量为0.0001 g。

A.4.3 分析步骤

称取试样2 g ~ 3 g, 置于已灼烧至恒重的坩埚中, 称量, 精确至0.0001 g, 缓缓灼烧至完全炭化, 冷却至室温。于坩埚中滴加浓硫酸1 mL ~ 2 mL使试样湿润, 低温加热至硫酸蒸气逸尽。在(600±50) °C灼烧使完全灰化, 移至干燥器内, 冷却至室温, 称量, 精确至0.0001 g。再在(600±50) °C灼烧至恒重, 即得。重复灼烧至前后两次称量相差不超过0.3 mg为恒重。

A.4.4 结果计算

灼烧残渣的质量分数以 ω_2 计, 数值以百分含量(%)表示, 按式(A.3)计算:

$$\omega_2 = \frac{m_4 - m_3}{m_5 - m_3} \times 100\% \dots \dots \dots \quad (A.3)$$

式中:

m_4 —— 灼烧至恒重的坩埚和灼烧至恒重的试样的质量总和, 单位为克(g);

m_3 —— 灼烧至恒重的坩埚的质量, 单位为克(g);

m_5 —— 灼烧至恒重的坩埚和灼烧前试样的质量总和, 单位为克(g)。

试验结果以平行测定结果的算术平均值表示。

A.5 氯化物(以Cl⁻计)的测定

A.5.1 试剂和材料

A.5.1.1 硝酸溶液: 量取硝酸105 mL, 加水稀释至1000 mL。

A.5.1.2 硝酸银溶液：17 g/L。

A.5.1.3 氯化物标准溶液（0.01 mg/mL）：称取（550±50）℃灼烧至恒重的氯化钠0.165 g，精确至0.0001 g，加水溶解并定容至1000 mL，作为储备液。临用前，准确移取储备液10 mL，加水稀释并定容至100 mL。

A.5.2 仪器和设备

A.5.2.1 纳氏比色管。

A.5.2.2 分析天平：感量为0.01 g、0.0001 g。

A.5.3 分析步骤

A.5.3.1 试样溶液的制备

称取试样0.1 g，精确至0.01 g，置于50 mL纳氏比色管中，加水25 mL溶解后加硝酸溶液10 mL，加水至约40 mL，摇匀。

A.5.3.2 对照溶液的制备

准确移取氯化物标准溶液2.0 mL，按试样溶液的制备方法制备。

A.5.3.3 测定

在试样溶液和对照溶液中分别加入硝酸银溶液1 mL，加水稀释至约50 mL，摇匀，避光放置5 min。将试样溶液管和对照溶液管置于同一黑色背景上，比较所产生的浊度。

A.5.4 结果判定

试样溶液的浊度不应大于对照溶液的浊度。

附录 B β -丙氨酸对照品红外光吸收光谱图

B.1 β -丙氨酸对照品红外吸收光谱图

β -丙氨酸对照品红外吸收光谱图见图B.1。

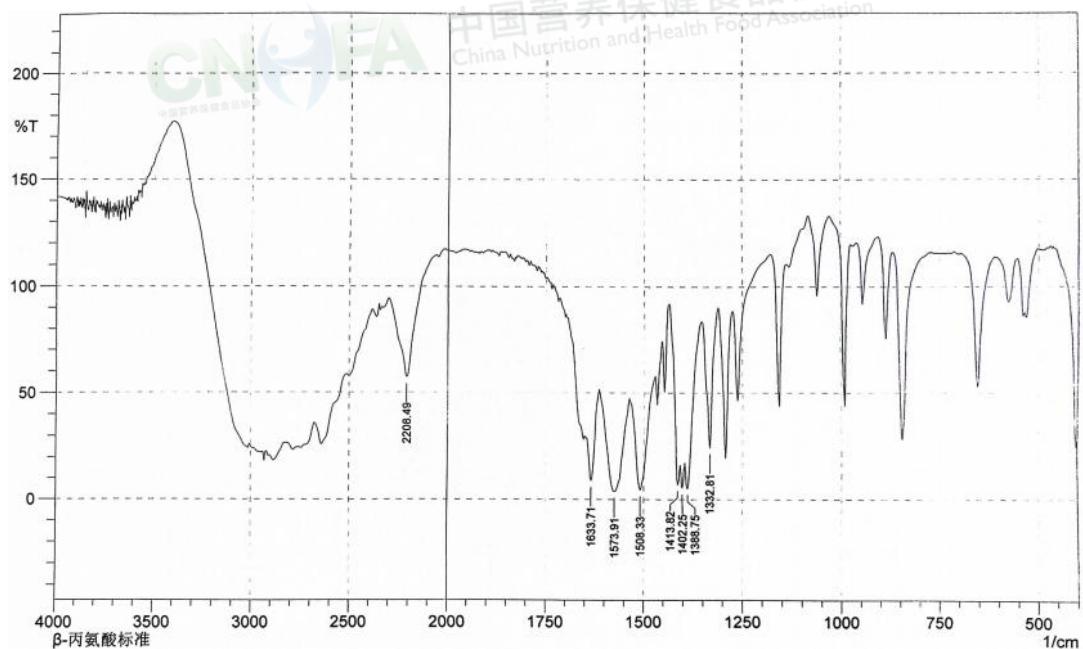


图 B.1 β -丙氨酸对照品红外吸收光谱图

附录 C β -丙氨酸对照品液相色谱图

C.1 β -丙氨酸对照品液相色谱图

β -丙氨酸对照品液相色谱图见图C.1。

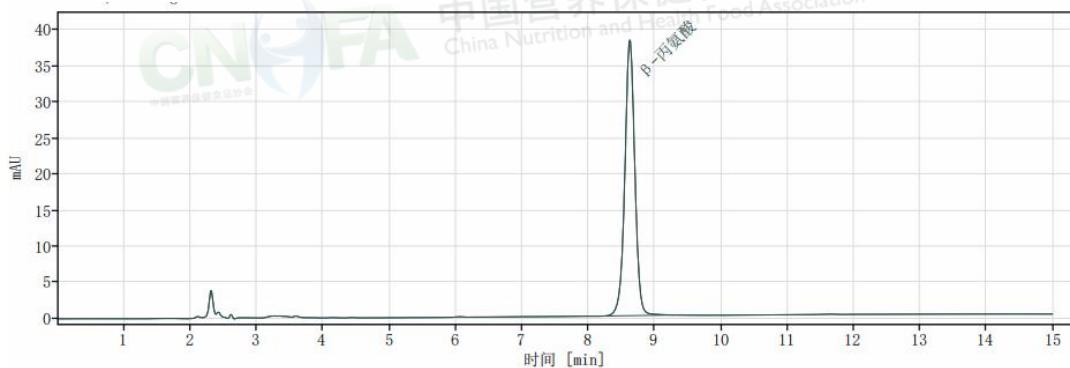


图 C.1 β -丙氨酸对照品液相色谱图

附录 D 用于生产β-丙氨酸的生产菌信息

D.1 用于生产β-丙氨酸的生产菌信息

用于生产β-丙氨酸的生产菌信息见表D.1。

表 D.1 用于生产β-丙氨酸的生产菌信息

营养强化剂	来源	供体
β-丙氨酸 β-Alanine	大肠杆菌K12 MG1655 <i>Escherichia coli</i> K12 MG1655	谷氨酸棒状杆菌 (<i>Corynebacterium glutamicum</i>) ^a 和枯草芽孢杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>) ^a
	大肠杆菌K12 MG1655 <i>Escherichia coli</i> K12 MG1655	枯草芽孢杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>) ^b

^a 为天冬氨酸脱羧酶供体。

^b 为L-天冬氨酸α-羧化酶供体。

三、扩大使用范围的食品营养强化剂

序号	名称	食品分类号	食品名称	使用量	备注
1	(6S)-5-甲基四氢叶酸, 氨基葡萄糖盐	13.05	除 13.01~13.04 外的其他特殊膳食用食品(仅限运动营养食品)	以叶酸计, 执行《食品安全国家标准 运动营养食品通则》(GB 24154) 中关于叶酸的规定	—
2	6S-5-甲基四氢叶酸钙	06.03.01	小麦粉	以叶酸计, 执行《食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准》(GB 14880) 中关于叶酸用于小麦粉的规定	—

四、增补质量规格要求的食品添加剂

1. 食品添加剂甜菊糖苷（酶转化法）

该物质的质量规格要求按照国家卫生健康委员会 2024 年第 2 号公告执行[附录 A 用于生产甜菊糖苷（酶转化法）的生产菌信息除外]，该食品添加剂新品种的生产菌信息见下表。

表 1 用于生产甜菊糖苷（酶转化法）的生产菌信息

食品添加剂	来源	供体
甜菊糖苷（酶转化法） Enzymatically produced steviol glycosides	大肠杆菌 K-12 <i>Escherichia coli</i> K-12	拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) ^a 、甜叶菊 (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) ^b 和番茄 (<i>Solanum lycopersicum</i>) ^c

^a 为蔗糖合成酶供体

^b 为 β -1,3-糖基转移酶供体

^c 为 β -1,2-糖基转移酶供体

2. 食品添加剂甜菊糖苷（发酵法）

中文名称：甜菊糖苷（发酵法）

英文名称：Steviol glycosides from fermentation

功能分类：甜味剂

用量及使用范围

序号	名称	食品分类号	食品名称	最大使用量 (g/kg)	备注
1	甜菊糖苷 (发酵法)		使用范围和使用量执行《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》(GB 2760) 及相关公告中已批准甜菊糖苷的规定，可以单独或与甜菊糖苷、甜菊糖苷(酶转化法)混合使用。		以甜菊醇当量计

质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于以葡萄糖为原料，经发酵后通过灭活、树脂处理、浓缩、结晶、干燥制得的食品添加剂甜菊糖苷（发酵法）。甜菊糖苷（发酵法）的生产菌应经过安全性评估并符合附录A的要求。

2 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

2.1 4种糖苷的分子式

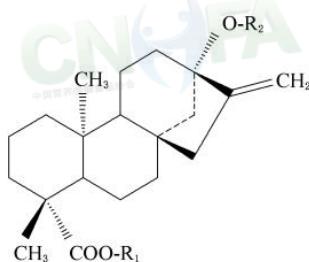
甜菊苷： $C_{38}H_{60}O_{18}$

瑞鲍迪苷A： $C_{44}H_{70}O_{23}$

瑞鲍迪昔D: C₅₀H₈₀O₂₈

瑞鲍迪昔M: C₅₆H₉₀O₃₃

2.2 4种糖昔的结构式



4种糖昔的化合物名称、R₁位取代基和R₂位取代基见表1。

甜菊醇 (R₁=R₂=H) 为甜菊糖昔配基。

表 1 4种糖昔的化合物名称、R₁位取代基和R₂位取代基

化合物名称		R ₁ 位取代基	R ₂ 位取代基
中文	英文		
甜菊昔	Stevioside	β-Glc	β-Glc-β-Glc(2→1)
瑞鲍迪昔A	Rebaudioside A	β-Glc	β-Glc-β-Glc(2→1) β-Glc(3→1)
瑞鲍迪昔D	Rebaudioside D	β-Glc-β-Glc(2→1)	β-Glc-β-Glc(2→1) β-Glc(3→1)
瑞鲍迪昔M	Rebaudioside M	β-Glc-β-Glc(2→1) β-Glc(3→1)	β-Glc-β-Glc(2→1) β-Glc(3→1)

2.3 4种糖昔的相对分子质量

甜菊昔: 804.9 (按2022年国际相对原子质量)

瑞鲍迪昔A: 967.0 (按2022年国际相对原子质量)

瑞鲍迪昔D: 1129.2 (按2022年国际相对原子质量)

瑞鲍迪昔M: 1291.3 (按2022年国际相对原子质量)

3 技术要求

3.1 感官要求

感官要求应符合表2的规定。

表 2 感官要求

项目	要求	检验方法
色泽	白色	取适量试样置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光线下观察其色泽和状态。
状态	粉末晶体	

3.2 理化指标

理化指标应符合表3的规定。

表 3 理化指标

项目	指标	检验方法
甜菊糖昔含量 (以干基计), w/%	≤ 95.0	GB 1886.355-2022 附录A中A.3
灰分, w/%	≤ 1.0	GB 5009.4
干燥减重, w/%	≤ 6.0	GB 5009.3 直接干燥法
pH	4.5~7.0	GB 1886.355-2022 附录A中A.4
铅 (Pb) / (mg/kg)	≤ 1.0	GB 5009.75或 GB 5009.12
砷 (As) / (mg/kg)	≤ 1.0	GB 5009.76或 GB 5009.11
甲醇 / (mg/kg)	≤ 200	GB 1886.355-2022 附录A中A.5

项目	指标	检验方法
乙醇 / (mg/kg)	≤ 5000	GB 1886.355-2022 附录A中A.5

3.3 微生物限量

微生物限量应符合表4的规定。

表 4 微生物限量

项目	限量	检验方法
菌落总数 / (CFU/g)	≤ 1000	GB 4789.2
霉菌 / (CFU/g)	≤ 100	GB 4789.15
酵母 / (CFU/g)	≤ 100	GB 4789.15
大肠菌群 / (CFU/g)	≤ 10	GB 4789.3
肠杆菌科 / (CFU/g)	≤ 10	GB 4789.41
金黄色葡萄球菌 / (CFU/g)	≤ 10	GB 4789.10
沙门氏菌 / (25g)	不得检出	GB 4789.4

附录 A 用于生产甜菊糖苷（发酵法）的生产菌信息

A.1 用于生产甜菊糖苷（发酵法）的生产菌信息

用于生产甜菊糖苷（发酵法）的生产菌信息见表A.1。

表 A.1 用于生产甜菊糖苷（发酵法）的生产菌信息

食品添加剂	来源	供体
甜菊糖苷（发酵法） Steviol Glycosides from fermentation	大肠杆菌 BL21(DE3) <i>Escherichia coli</i> BL21(DE3)	加拿大红豆杉 (<i>Taxus canadensis</i>) ^a 、甜叶菊 (<i>Stevia rebaudiana</i>) ^b 、拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) ^c 和水稻 (<i>Oryza sativa</i>) ^d

^a 为牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸合成酶供体

^b 为 ent-柯巴基焦磷酸合酶、内根-贝壳杉-16-烯合酶、内根-贝壳杉-16-烯氧化酶、甜菊醇-19-糖基转移酶、甜菊醇-13-糖基转移酶、 β -1,3-糖基转移酶和细胞色素 P450 氧化还原蛋白供体

^c 为细胞色素单加氧酶供体

^d 为 β -1,2-糖基转移酶供体

3. 食品营养强化剂 2'-岩藻糖基乳糖

该物质的质量规格要求按照国家卫生健康委员会 2023 年第 8 号公告执行（附录 C 用于生产 2'-岩藻糖基乳糖的生产菌信息除外），该营养强化剂新品种的生产菌信息见下表。

表 1 用于生产 2'-岩藻糖基乳糖的生产菌信息

营养强化剂	来源	供体
2'-岩藻糖基乳糖	谷氨酸棒杆菌 ATCC13032	棒杆菌
2'-fucosyllactose	<i>Corynebacterium glutamicum</i> ATCC13032	(<i>Corynebacterium</i> spp.) ^a

^a 为 α -1,2-岩藻糖基转移酶供体

4. 食品营养强化剂碳酸钙（海藻来源）

中文名称：碳酸钙（海藻来源）

英文名称：Calcium carbonate (Calcified *Lithothamnion tophiforme* source)

功能分类：食品营养强化剂

质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于以特定品种的海藻 (*Lithothamnion tophiforme*) 为原料，经从海床收割，经清洗和筛选，用含 H_2O_2 的水在 $75^{\circ}C$ 条件下加热 1 小时进行杀菌，再经干燥，过磁，研磨，过筛等处理制得的食品营养强化剂碳酸钙（海藻来源）。

2 分子式和相对分子质量

2.1 分子式

$CaCO_3$

2.2 相对分子质量

100.09 (按 2022 年国际相对原子质量)

3 技术要求

3.1 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	米白色	取适量样品置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光线下，观察其色泽和状态，嗅其气味。
状态	粉末状，无肉眼可见杂质	
气味	产品特有气味	

3.2 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
钙 (Ca) , w/% ≥	32	GB 5009.92
镁 (Mg) , w/% ≥	2.2	GB 5009.241
水分, w/% ≤	5	GB 5009.3
灰分, w/% ≥	90	GB 5009.4
pH (1%水溶液)	9 ~ 11	GB 5009.237
铅(Pb)/ (mg/kg) ≤	1.0	GB 5009.75
砷(As)/ (mg/kg) ≤	1.5	GB 5009.76
镉(Cd)/ (mg/kg) ≤	1.0	GB 5009.15
汞(Hg)/ (mg/kg) ≤	0.1	GB 5009.17

注：商品化的碳酸钙（海藻来源）产品应以符合本标准的碳酸钙（海藻来源）为原料，可添加符合相应标准的玉米淀粉、阿拉伯胶。

3.3 微生物限量

微生物限量应符合表 3 的规定。

表3 微生物限量

项目	限量	检测方法
菌落总数/ (CFU/g) ≤	10000	GB 4789.2
霉菌和酵母菌/ (CFU/g) ≤	100	GB 4789.15
大肠杆菌/(CFU/g) ≤	10	GB 4789.38
大肠菌群/ (CFU/g) ≤	10	GB 4789.3
金黄色葡萄球菌/ (25g)	不得检出	GB 4789.10
沙门氏菌/ (25g)	不得检出	GB 4789.4