

ICS 67.180.20  
分类号: X69  
备案号: 41607-2013

**QB**

# 中华人民共和国轻工行业标准

QB/T 4481—2013

---

$\beta$ -葡聚糖酶制剂

$\beta$ -glucanase preparations

2013-07-22 发布

2013-12-01 实施

---

中华人民共和国工业和信息化部 发布

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国食品工业标准化技术委员会（SAC/TC64）归口。

本标准主要起草单位：湖南鸿鹰祥生物工程股份有限公司、白银赛诺生物科技有限公司、青岛蔚蓝生物集团有限公司、武汉新华扬生物股份有限公司、山东隆大生物工程有限公司、诺维信（中国）生物技术有限公司、大连工业大学、合肥学院、中国生物发酵产业协会。

本标准主要起草人：杜军、李晓燕、樊淳红、俞峰、陈亮珍、詹连生、郭庆文、滕智津、李宪臻、张洁、刘捷、王玉兰。

## $\beta$ -葡聚糖酶制剂

### 1 范围

本标准规定了 $\beta$ -葡聚糖酶制剂的术语和定义、产品分类、要求、试验方法、检验规则及标志、包装、运输、贮存。

本标准适用于以淀粉质或糖质为主要原料，经液体深层发酵，提取精制制得的工业用 $\beta$ -葡聚糖酶制剂。

### 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 191 包装储运图示标志（GB/T 191—2008，ISO 780：1997，MOD）

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法（GB/T 6682—2008，ISO 3696：1987，MOD）

GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则

GB/T 23527 蛋白酶制剂

GB 25594 食品安全国家标准 食品工业用酶制剂

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**$\beta$ -葡聚糖酶  $\beta$ -glucanase**

能水解 $\beta$ -葡聚糖的 $\beta$ -1,3和 $\beta$ -1,4葡萄糖苷键，产生低聚糖及葡萄糖的酶。

#### 3.2

**$\beta$ -葡聚糖酶活力 activity of  $\beta$ -glucanase**

一定时间内，催化 $\beta$ -葡聚糖溶液降解释放还原糖的能力。

注：1 g固体酶（或1 mL液体酶），于50℃、pH4.8条件下，1 min从浓度4 mg/mL的 $\beta$ -葡聚糖溶液中降解释放1  $\mu$ mol还原糖，即为1个酶活力单位，单位为u/g或u/mL。

### 4 产品分类

4.1 按产品形态分为固体剂型和液体剂型。

4.2 按产品等级分为优等品和一等品。

### 5 要求

#### 5.1 感官要求

##### 5.1.1 固体剂型

色泽均匀，粉状或颗粒状。无霉变、潮解、结块现象，有特殊发酵气味，无异味。

##### 5.1.2 液体剂型

淡黄色至深褐色液体，可有少量凝聚物，有特殊发酵气味，无异味。

#### 5.2 理化要求

应符合表1的规定。

表1 理化要求

项 目		固体剂型		液体剂型	
		优等品	一等品	优等品	一等品
酶活力 <sup>a</sup> /[u/g (或u/mL)]	≥	20 000			
干燥失重/%	≤	8.0		—	
细度 (60目标准筛通过率) <sup>a</sup> /%	≥	90	80	—	
<sup>a</sup> 如有特殊要求, 可按供需双方合同规定的酶活力规格执行。					

## 5.3 卫生

优等品应符合 GB 25594 的规定。

## 6 试验方法

本标准所用试剂和水除另有注明外, 均使用分析纯试剂和GB/T 6682中规定的水。

## 6.1 感官

称取样品10 g (或10 mL), 观察、嗅闻做出判断, 做好记录。

## 6.2 酶活力

按附录A规定的方法进行测定。

## 6.3 干燥失重

按GB/T 23527规定的方法进行测定。

## 6.4 细度

按GB/T 23527规定的方法进行测定。

## 7 检验规则

## 7.1 批次的确定

以同一次投料生产、同一规格、同一品种的均一质量的产品为一批。

## 7.2 取样规则和样本量

7.2.1 取样应均匀分布在整个灌装过程中, 或均匀分布于灌装后的成品中。

7.2.2 取样时应采用适宜的方法保证取样具有代表性, 保证取样部位和取样瓶的清洁。对用于微生物检验的取样, 应使用无菌操作。

7.2.3 成品抽样的样本量见表2。取样的样本量可按照估计的批量参照表2执行, 或由生产企业和(或)相关方确定。批取样量不应小于300 g (或300 mL), 不足按照比例适当加取。

表2 成品抽样的样本量

批量/(桶或箱)	样本量/(桶或袋)
≤50	2
51~500	3
>500	4

注: 批量是指批中所包含的单位商品数, 单位为桶或箱; 样本量是指样本中所包含的样本单位数, 单位为桶或袋。

### 7.3 出厂检验

7.3.1 每批产品应经企业质检部门检验合格并附合格证后方可出厂。

7.3.2 优等品出厂检验的检验项目为：感官、酶活力、干燥失重（固体）、细度（固体）、菌落总数、大肠菌群。一等品出厂检验项目为：感官、酶活力、干燥失重（固体）、细度（固体）。

### 7.4 型式检验

型式检验的检验项目为本标准要求中规定的全部项目。一般情况下，型式检验半年进行1次。有下列情况之一时，亦应进行型式检验：

- a) 原辅材料有较大变化时；
- b) 更改关键工艺或设备时；
- c) 新试制的产品或正常生产的产品停产3个月后，重新恢复生产时；
- d) 出厂检验与上次型式检验结果有较大差异时；
- e) 国家质量监督机构按有关规定需要抽检时。

### 7.5 判定规则

7.5.1 标志、包装不合格，可整改后复验1次，以复检结果为准。

7.5.2 感官、理化若有1项不合格，可加倍抽样进行复验，以复检结果为准。

7.5.3 卫生若有1项不合格，则该批次产品为不合格。

## 8 标志、包装、运输、贮存

### 8.1 标志

8.1.1 包装容器外标签应注明产品名称、生产厂名、厂址、酶活力、生产日期、批号、保质期、执行的标准编号。优等品应符合 GB 7718 的规定。

8.1.2 包装储运图示标志按 GB/T 191 执行。

### 8.2 包装

产品的内包装和（或）包装容器的内涂料应采用国家批准的材料。优等品的包装，应采用符合相应的食品包装用/食品容器卫生标准的材料。

### 8.3 运输

产品在运输过程中应轻拿轻放，严防雨淋和暴晒。运输工具应清洁、无毒、无污染。严禁与有毒、有害、有腐蚀性的物质混装、混运。

### 8.4 贮存

产品应贮存在阴凉、洁净、干燥的地方，不应与有害、有毒及有腐蚀性等物质混存。

附 录 A  
(规范性附录)  
酶活力的测定

### A.1 原理

$\beta$ -葡聚糖酶能将 $\beta$ -葡聚糖降解成低聚糖和单糖。具有还原性末端的低聚糖和有还原基团的单糖在沸水浴条件下可以与3,5-二硝基水杨酸(DNS)试剂发生显色反应。反应液颜色的强度与酶解产生的还原糖量成正比,而还原糖的生成量又与反应液中 $\beta$ -葡聚糖酶的活力成正比。因此,通过分光比色测定反应液颜色的强度,可以计算反应液中 $\beta$ -葡聚糖酶的活力。

### A.2 试剂与溶液

除特殊说明外,所用的试剂均为分析纯,水均为符合GB/T 6682中规定的三级水。

#### A.2.1 葡萄糖溶液 $c(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6)$ 为10.0 mg/mL

称取烘干恒重的无水葡萄糖1 g(精确至0.000 1 g),加水溶解,定容至100 mL。

#### A.2.2 磷酸氢二钠溶液 $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O})$ 标记为0.2 mol/L磷酸氢二钠

准确称取358.05 g磷酸氢二钠溶于4 000 mL新沸放冷的蒸馏水中,定容至5 000 mL。

#### A.2.3 柠檬酸溶液 $c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O})$ 标记为0.1 mol/L柠檬酸

准确称取105.05 g柠檬酸溶于4 000 mL新沸放冷的蒸馏水中,定容至5 000 mL。

#### A.2.4 氢氧化钠溶液 $c(\text{NaOH})$ 为200 g/L

称取氢氧化钠20.0 g,加水溶解,定容至100 mL。

#### A.2.5 酸性缓冲溶液(pH=4.80)

量取2 465 mL、0.2 mol/L磷酸氢二钠和2 535 mL、0.1 mol/L的柠檬酸,混合摇匀,用精密pH计测定其pH,必要时用0.2 mol/L磷酸氢二钠或0.1 mol/L的柠檬酸调pH至4.80,摇匀后标记为酸性缓冲液,同时标记pH=4.80及配制日期,并在4℃下保存。

#### A.2.6 $\beta$ -葡聚糖溶液 8 mg/mL

称取 $\beta$ -葡聚糖<sup>1)</sup>(97%,黏度310) 0.2 g,加入1.5 mL~2 mL无水乙醇,润湿 $\beta$ -葡聚糖,置于冰箱中阴干,再加入20 mL酸性缓冲溶液(A.2.5)。磁力搅拌,同时缓慢加热,直至 $\beta$ -葡聚糖完全溶解(在搅拌加热的过程中可补加适量的缓冲液,但溶液的总体积不应超过25 mL)。然后停止加热,继续搅拌至冷却,用酸性缓冲溶液(A.2.5)定容至25 mL。 $\beta$ -葡聚糖溶液能立即使用,使用前适当摇匀。4℃避光保存,有效期为24 h。

#### A.2.7 DNS试剂

称取3,5-二硝基水杨酸3.15 g,加水500 mL,搅拌5 s,水浴至45℃。然后逐步加入100 mL氢氧化钠溶液(A.2.4),同时不断搅拌,直到溶液清澈透明,注意在加入氢氧化钠过程中,溶液温度不应超过48℃。再逐步加入四水酒石酸钾钠91.0 g、苯酚2.50 g和无水亚硫酸钠2.50 g。继续45℃水浴加热,同时补加水300 mL,不断搅拌,直到加入的物质完全溶解。停止加热,冷却至室温后,用水定容至1 000 mL。用滤纸过滤,取滤液储存在棕色瓶中,避光保存。室温下存放7天后可使用,有效期为6个月。

<sup>1)</sup> 如果其他产品能有相同的效果,则可使用这些等效的产品,参考货号为PS-EA。

### A.3 仪器与设备

- A.3.1 实验室用样品粉碎机或碾钵。
- A.3.2 分样筛：孔径为0.25 mm（60目）。
- A.3.3 分析天平：感量0.000 1 g。
- A.3.4 pH计：精确至0.01。
- A.3.5 磁力搅拌器：附加加热功能。
- A.3.6 电磁振荡器。
- A.3.7 恒温水浴锅：温度控制范围在30℃~60℃之间，精度为0.1℃。
- A.3.8 秒表：每小时误差不超过5 s。
- A.3.9 分光光度计：能检测350 nm~800 nm的吸光度范围。
- A.3.10 移液器：精度为1 μL。

### A.4 标准曲线的绘制

吸取酸性缓冲液（A.2.5）2.0 mL，加入DNS试剂（A.2.7）2.5 mL，沸水浴加热5 min。用自来水冷却至室温，用水定容至12.5 mL，制成标准空白样。

分别吸取葡萄糖溶液（A.2.1）1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL、5.00 mL、6.00 mL和7.00 mL，分别用酸性缓冲液（A.2.5）定容至100 mL，配制成浓度为0.10 mg/mL~0.70 mg/mL葡萄糖标准溶液。

分别吸取上述浓度系列的葡萄糖标准溶液各1.00 mL（做两个平行），分别加入到刻度试管中，再分别加入1 mL水和2.5 mL DNS试剂（A.2.7）。摇匀，沸水浴加热5 min。然后用自来水冷却到室温，再用水定容至12.5 mL。以标准空白样为对照调零，在540 nm处测定吸光度OD值。

以葡萄糖浓度为y轴、吸光度OD值为x轴，绘制标准曲线。每次新配制DNS试剂均需重新绘制标准曲线。R不小于0.999。

### A.5 试样溶液的制备

固体试样应粉碎或充分碾碎，然后过60目筛（孔径为0.25 mm）。

称取或吸取试样两份，精确至0.001 g。加入100 mL酸性缓冲溶液（A.2.5）。搅拌30 min。吸取适量上清液，再用酸性缓冲溶液（A.2.5）做二次稀释（稀释后的待测酶液中，葡聚糖酶活力应控制在0.04 u/mL~0.08 u/mL之间）。

液体试样可直接用酸性缓冲溶液（A.2.5）进行稀释、定容（稀释后的酶液中酶活力宜控制在0.04 u/mL~0.08 u/mL之间）。如果稀释后酶液的pH偏离4.80，需用磷酸氢二钠溶液（A.2.2）或柠檬酸溶液（A.2.3）调节、校正至4.80，然后再用酸性缓冲溶液（A.2.5）做适当定容。

### A.6 测定步骤

分别吸取10 mL β-葡聚糖溶液和酶液，50℃水浴保温平衡5 min。

吸取1.00 mL经过适当稀释的酶液（已经过50℃平衡），加入到刻度试管中，再加入2.5 mL DNS试剂（A.2.7），摇匀。然后加入1.0 mL β-葡聚糖溶液（A.2.6），50℃保温30 min，沸水浴加热5 min。用自来水冷却至室温，加水定容至12.5 mL，摇匀。以标准空白样为空白对照，在540 nm处测定吸光度 $A_B$ 。

吸取1.0 mL经过适当稀释的酶液（已经过50℃平衡），加入到刻度试管中，再加入1.0 mL β-葡聚糖溶液（A.2.6）（已经过50℃平衡），电磁振荡3 s，50℃精确保温30 min。加入2.5 mL DNS试剂（A.2.7），摇匀。沸水浴加热5 min，用自来水冷却至室温，加水定容至12.5 mL，摇匀。以标准空白样为空白对照，在540 nm处测定吸光度 $A_E$ 。

#### A.7 结果计算

试样的β-葡聚糖酶活力按公式(A.1)计算。

$$X = \frac{c \times n \times 1000}{M \times t} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

$X$  —— 试样的 β-葡聚糖酶活力, 单位为 u/g (或 u/mL);

$n$  —— 稀释倍数;

$c$  —— 还原糖浓度, 单位为毫克每毫升 (mg/mL) [根据吸光度在标准曲线上查得 (或计算出) 的还原糖量, 单位为毫克 (mg)];

$M$  —— 葡萄糖的摩尔质量,  $M(C_6H_{12}O_6) = 180.2 \text{ g/mol}$ ;

$t$  —— 酶解反应时间, 单位为分钟 (min);

1 000—— 转化因子,  $1 \text{ mmol} = 1\,000 \text{ } \mu\text{mol}$ 。

#### A.8 允许差

实验结果以平行测定结果的算术平均值为准。平行测定结果的绝对差值不应超过8%。



中 华 人 民 共 和 国  
轻 工 行 业 标 准  
 $\beta$ -葡聚糖酶制剂  
QB/T 4481—2013

\*

中国轻工业出版社出版发行

地址：北京东长安街6号

邮政编码：100740

发行电话：(010)65241695

网址：<http://www.chlip.com.cn>

Email：[club@chlip.com.cn](mailto:club@chlip.com.cn)

轻工业标准化编辑出版委员会编辑

地址：北京西城区下斜街29号

邮政编码：100053

电话：(010)68049923/24/25

\*

版权所有 侵权必究

书号：155019·4047

印数：1—200册 定价：16.00元

**BZ002101990**



**QB/T 4481—2013**