ICS 67.040
CCS X69

QB XXX

中 华 人 民 共 和 国 轻 工 行 业 标 准

QB/T 2583—XXXX
代替 QB/T2583-2003

纤维素酶制剂

Cellulase preparations

（报批稿）

XXXX - XX - XX 发布　　XXXX - XX - XX 实施

中华人民共和国工业和信息化部　发布

工业和信息化部标准报批公示

前　言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则　第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替QB/T 2583-2003《纤维素酶制剂》，与QB/T 2583-2003版相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

a）增加了“按产品应用领域”的产品分类（见4.2）；

b）删除了“净含量”（见2003年版的5.1）；

c）删除了理化要求中的“CMCA-VIS”的酶活力要求（见2003年版的表1）；

d）增加了理化要求中的“干燥失重”和“细度”（见5.2）；

e）删除了“卫生要求”和“保质期”（见2003年版的5.4、5.5）；

f）增加了“安全要求”（见5.3）；

g）删除了“净含量”的试验方法（见2003年版的6.1）；

h）删除了“羧甲基纤维素（粘度法）酶活力”的试验方法（见2003年版的6.3.3）；

i）增加了干燥失重和细度的试验方法（见6.3、6.4）；

j）删除了“重金属”、“铅”、“砷”、“菌落总数”、“大肠菌群”和“沙门氏菌”的试验方法（见2003年版的6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、6.10）；

k）更改了检验规则（见第7章，2009年版的第7章）；

l）更改了标志、包装、运输和贮存（见第8章，2003年版的第8章）；

m）增加了“纤维素酶活力的测定方法 滤纸法”中硼酸缓冲溶液（见A.2.8）；

n）删除了“羧甲基纤维素（粘度法）酶活力（CMCA-VIS）测定方法”（见2003年版的附录C）；

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国食品工业标准化技术委员会工业发酵分技术委员会（SAC/TC64/SC5）归口。

本文件起草单位：武汉新华扬生物股份有限公司、诺维信（中国）投资有限公司、安徽丰原发酵技术工程研究有限公司、中国食品发酵工业研究院有限公司、中国生物发酵产业协会、山东隆科特酶制剂有限公司、英联酶制剂贸易（上海）有限公司、白银赛诺生物科技有限公司、杰能科（中国）生物工程有限公司、湖南鸿鹰生物技术有限公司、天野酶制剂（江苏）有限公司上海分公司、安琪酶制剂（宜昌）有限公司、广州焙乐道食品有限公司、青岛蔚蓝生物集团有限公司、帝斯曼（中国）有限公司、中国科学院过程工程研究所。

本文件主要起草人：陈楠楠、詹志春、王舒、樊慧俐、王晋、钱娟娟、裴静、俞峰、齐延芳、周俊、王友谊、喻晨、高铁成、陈亮珍、杜建华、杜昱光、周樱、周娜娜、刘明、王洁、张法玲、袁琳、安娟、王健蕾、易鸣、李英玉、胡骏鹏、李斌、童远洋、管轶男、纪传侠、李晓毅、焦思明。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2003年首次发布为QB/T2583-2003；

——本次为第一次修订。

工业和信息化部标准报批公示

引　言

纤维素酶是指能协同降解纤维素，使之变为纤维寡糖、纤维二糖和葡萄糖的一组酶系，主要包括内切-β-1,4-葡聚糖酶、外切-β-1,4-葡聚糖酶和β-葡萄糖苷酶等，不同微生物来源的纤维素酶制剂产品中三种酶组分的含量比例不同。且由于天然纤维素底物结构的多样性，在多种酶的复杂协同作用下，各种中间产物及终产物的反馈抑制等因素影响，导致最终的表观酶活力存在差异。因此，各实验室应严格按照本文件规定的底物、pH、反应时间与温度等条件，以获得较好的重现性和再现性。

工业和信息化部标准报批公示

纤维素酶制剂

1 范围

本文件规定了纤维素酶制剂的感官、理化和安全等要求，描述了相应的试验方法，规定了检验规则、标签、包装、运输和贮存的内容，并给出了便于技术规定的产品分类。

本文件适用于发酵法生产的纤维素酶制剂的生产、检验和销售。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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

QB/T 1803 工业酶制剂通用试验方法

QB/T 1804 工业酶制剂通用检验规则和标志、包装、运输、贮存

GB 1886.174 食品安全国家标准 食品添加剂 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

纤维素酶 cellulase

在各种酶组分的协同作用下，能降解纤维素为纤维寡糖、纤维二糖和葡萄糖的酶。

3.2

纤维素酶制剂 cellulase preparations

以提取、纯化的纤维素酶（3.1）为主要催化活性组分，通过制剂等工艺制得的产品。

注：制剂工艺中可加入有助于产品贮存、稳定和使用的配料。

3.3

滤纸酶活力单位 filter paper active unit, FPA;

在特定条件下，1 min内水解滤纸底物产生相当于1 μmol葡萄糖的还原糖所需要的酶量。

注：以“FU”表示。

3.4

羧甲基纤维素酶活力单位 sodium carboxymethylcellulose active unit, CMCA;

在特定条件下，1 min内水解羧甲基纤维素钠底物产生相当于1 μmol葡萄糖的还原糖所需要的酶量。

注：以“CU”表示。

3.5

纤维素酶活力 cellulase activity

纤维素酶制剂的酶活力 activity of cellulase preparations

为1 g（或1 mL）纤维素酶制剂含有的滤纸酶活力单位（3.3）或羧甲基纤维素酶活力单位（3.4）。

注：以FU/g、FU/mL、CU/g或CU/mL表示。

4 产品分类

4.1 按产品形态分为固体剂型和液体剂型纤维素酶制剂。

按产品应用领域分为食品工业用和其他工业用纤维素酶制剂。

4.2 按产品适用 pH 分为酸性、中性和碱性纤维素酶制剂。

5 要求

5.1 感官要求

应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	固体剂型	液体剂型
色 泽	类白色至黄褐色，色泽均一	淡黄色至深褐色
状 态	粉末或颗粒	液态，可有少量凝聚物
气 味	有特有气味，无异味	

5.2 理化指标

应符合表2的规定。

表2 理化指标

项 目			固体剂型	液体剂型
酶活力[a]	FPA [FU/g(或 FU/mL)]	≥	50	
	CMCA [CU/g(或 CU/mL)]	≥	2000	
干燥失重/%		≤	10.0	—
细度（通过网孔尺寸 0.40 mm 的试验筛）[b]/%		≥	90	—
pH			—	4.0~7.0

[a] 也可按供需双方约定酶活力要求执行。

[b] 不适用于颗粒产品。

5.3 安全要求

食品工业用酶制剂应符合GB 1886.174规定，其他工业用应符合相关要求的规定。

6 试验方法

6.1 感官

取适量样品于洁净、干燥白瓷盘或类似容器，观察、嗅闻做出判断，做好记录。

6.2 酶活力

按照附录A或附录B进行测定。

6.3 干燥失重

按QB/T 1803中干燥失重的试验方法执行。

6.4 细度

按QB/T 1803中细度的试验方法执行，标准试验筛选择Φ200×50-0.40/0.25。

6.5 pH

按照QB/T 1803中pH的试验方法执行。

7 检验规则

7.1 批次

同原料、同工艺，同一班次或同一罐次生产的产品为一批。

7.2 抽样

抽样的样本量可按照表3执行，或由生产企业和（或）相关方确定。每个最小外包装单位的取样量应不小于300 g或300 mL，不足时按照比例适当加取。充分混合均匀后进行检验。

表 3 抽样的样本量

批量范围（最小外包装单位）	抽样的样本量（最小外包装单位）
≤50	2
51～500	3
＞500	4
注：批量范围是指批中所包含的最小外包装单位数量。抽样的样本量是指抽取样本的最小外包装单位数量。	

7.3 出厂检验

7.3.1 产品出厂前，应由生产厂的质检部门负责按本文件规定逐批进行检验。检验符合本文件后方可出厂。

7.3.2 检验项目

固体剂型的检验项目为感官要求、酶活力、干燥失重；液体剂型的检验项目为感官要求、酶活力。

7.4 型式检验

检验项目为本文件中全部要求项目。一般情况下，同一类产品的型式检验每半年至少进行一次，有下列情况之一者，亦应进行：

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）国家市场监督管理机构按有关规定需要抽检时。

7.5 判定规则

7.5.1 抽取样品经检验，所检项目全部符合要求，判该批产品符合本文件。

7.5.2 检验结果如有两项以上指标不符合要求，判定该批产品不符合本文件。如有一项至两项不符合要求，应重新自同批产品中抽取样本量的两倍进行复验，以复验结果为准。若仍有一项不符合要求，判定该批产品不符合本文件。

7.5.3 当供需双方对检验结果有异议时，可由双方协商解决，或委托有关单位进行仲裁检验，以仲裁检验结果为准。

8 标志、包装、运输和贮存

按照 QB/T 1804 中的规定执行。

工业和信息化部标准报批公示

附录A
（规范性）
纤维素酶活力的测定方法 滤纸法

A.1 原理

纤维素酶在一定温度和pH条件下，将滤纸底物水解出还原糖。在沸水浴条件下，3，5-二硝基水杨酸（DNS试剂）与还原糖发生显色反应，其吸光值与还原糖含量成正比。通过测定其540nm下的吸光值，可得到还原糖的生成量，进而计算出纤维素酶的滤纸酶活力。

A.2 试剂和溶液

除特殊说明外，所用的试剂均为分析纯，水均为符合GB/T 6682中规定的二级水。

A.2.1 葡萄糖标准储备溶液（10.0 mg/mL）

称取1.00 g（精确至0.1mg）103℃±2℃烘干2 h的无水葡萄糖，用水溶解并定容至100 mL。4℃密封保存，临用现配。

A.2.2 葡萄糖系列标准工作溶液

分别吸取0.5 mL、1.00 mL、1.50 mL、2.00 mL、2.50 mL和3.00 mL葡萄糖标准储备溶液（A.2.1）于10 mL容量瓶中，蒸馏水定容并摇匀。配制成每0.5 mL溶液中含有0.25 mg、0.50 mg、0.75 mg、1.00 mg、1.25 mg和1.50 mg的葡萄糖系列标准工作溶液。现用现配。

A.2.3 氢氧化钠溶液(200.0 mg/mL)

称取20.0 g氢氧化钠，加水溶解并定容至100 mL。

A.2.4 氢氧化钠溶液(4.0 mg/mL)

称取0.4 g氢氧化钠，加水溶解并定容至100 mL。

A.2.5 盐酸溶液（0.1 mol/L）

移取0.86 mL浓盐酸于盛有90mL蒸馏水的100mL容量瓶中，蒸馏水定容并摇匀。

A.2.6 柠檬酸缓冲液（pH4.8，适用于酸性纤维素酶制剂）

称取4.83g一水柠檬酸，溶于约800 mL水中，在搅拌情况下，加入7.94g柠檬酸三钠，用水定容至1000 mL。调节溶液的pH至4.8±0.05备用。

注：也可采用pH4.8乙酸缓冲溶液：称取三水乙酸钠8.16g，溶于约750mL水中，加入乙酸2.31mL，用水定容至1000mL。调节溶液pH至4.8±0.05。

A.2.7 磷酸缓冲液（pH6.0，适用于中性纤维素酶制剂）

分别称取2.10 g一水磷酸二氢钠1和21.9 g二水磷酸氢二钠，将其溶解在1000 mL蒸馏水中。调节溶液的pH至6.0±0.05备用。室温下可保存一个月。

A.2.8 硼酸缓冲溶液（pH10.5，适用于碱性纤维素酶制剂）

称取9.54 g硼酸钠、1.60 g氢氧化钠于烧杯中，加水900 mL，搅拌至均匀，定容至1 000 mL。调节pH至10.5±0.05。

A.2.9 滤纸底物

将滤纸底物[1]放入干燥器中平衡24h以上，将平衡后的滤纸裁制成1.0 cm×6.0 cm的无毛边滤纸条（滤纸条质量为50mg±1.0mg）。短边对折后，对称剪为32片，备用。

A.2.10 DNS试剂

称取3.15 g 3，5-二硝基水杨酸，加入500 mL蒸馏水，搅拌3s～5s，45℃水浴。然后缓慢加入100 mL氢氧化钠溶液（A.2.3），同时不断搅拌，直到全部溶解（注意：在加入氢氧化钠溶液过程中，溶液温度不超过48℃）。再缓慢加入91.0 g四水酒石酸钾钠、2.50 g苯酚

[1]沃特曼一号滤纸。给出这一信息是为了方便本文件的使用者，并不表示对这些产品的认可。如果其他产品能有相同的效果，则可使用这些等效的产品。

和2.50 g无水亚硫酸钠。期间不断搅拌，直到完全溶解。停止加热并冷却至室温后，蒸馏水定容至1000 mL。用烧结玻璃过滤器过滤。取滤液，储存在棕色瓶中，避光保存。室温下存放7天后使用，有效期为180天。

警告：处理酸碱和配制DNS试剂时，应在通风橱或通风良好的房间进行，戴上护目镜和乳胶手套，一旦皮肤或眼睛接触了上述物质，及时用大量的水冲洗。

注：也可使用商品化的DNS试剂。

A.3　仪器与设备

A.3.1　分光光度计。

A.3.2　pH计，精度0.01。

A.3.3　恒温水浴锅。

A.3.4　电子天平，感量0.1mg。

A.3.5　磁力搅拌器。

A.3.6　电炉。

A.3.7　具塞刻度试管，25 mL。

A.3.8　移液器：100 μL和1000 μL。

A.4　分析步骤

A.4.1　绘制标准曲线

分别吸取0.5 mL蒸馏水（空白）和葡萄糖标准工作溶液（A.2.2）于25 mL具塞刻度试管中，加入1.5 mL缓冲溶液（A.2.6、A.2.7或A.2.8）和3.0 mLDNS试剂（A.2.1）混匀。同时置于沸水浴中，反应10min，随后取出，流水冲洗冷却至室温，再蒸馏水定容至25 mL，盖塞，混匀。以空白为对照，在540 nm处测定吸光值。以葡萄糖质量（mg）为横坐标，以吸光度为纵坐标，绘制标准曲线。

A.4.2　样品的测定

称取1.00 g样品（精确至0.1 mg）于100 mL容量瓶中，加入相应缓冲溶液（A.2.6、A.2.7或A.2.8）溶解并定容，搅拌30 min。取适量样品溶液用相应缓冲液（A.2.6、A.2.7或A.2.8）进行稀释。以空白为对照，稀释后样品溶液的吸光值应为0.3～0.4之间。

A.4.3　操作程序

空白	样品
加入1.50 mL缓冲溶液（A.2.6、A.2.7或A.2.8）	
将32片滤纸片放入每支试管的底部，涡旋3s-5s，使其全部浸没于液面下 50 ℃±0.1 ℃平衡5 min	
/	加入0.50 mL待测酶液
50 ℃±0.1 ℃，准确反应60 min。（反应期间可在恒温水浴振荡器中保持振荡）	
加入3.0 mLDNS试剂，混匀	
加入0.50 mL待测酶液，混匀	/
沸水浴中，加热10 min，取出，迅速冷却至室温，蒸馏水定容至25 mL，摇匀	
测定540 nm波长的吸光值，记为A_B	测定540 nm波长的吸光值，记为A_E

A.5　结果计算

滤纸酶活力（FPA）按式（A.1）计算。

$$X_1 = \frac{A \times 100 \times n \times 1000}{m \times 0.5 \times 180.16 \times 60} \quad \text{（A.1）}$$

式中：

X_1——样品的滤纸酶活力（FPA），u/g；

A——根据吸光度变化（A_E-A_B）在标准曲线上查得的还原糖的质量（以葡萄糖计），单位为毫克（mg）；

100——样品溶解体积，单位为毫升（mL）；

n——酶样的稀释倍数；

1000——毫摩尔与微摩尔的换算系数；

m——样品的质量，单位为克（g）；

0.5——待测酶液的取样体积，单位为毫升（mL）；

180.16——葡萄糖的摩尔质量，单位为克每摩尔（g/mol）；

60——酶解反应时间，单位为分钟（min）。

A.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超过平均值的15%。

工业和信息化部标准报批公示

附录 B
（规范性）
纤维素酶活力的测定方法 羧甲基纤维素钠法

B.1 原理

纤维素酶在一定温度和pH条件下，将纤维素底物(羧甲基纤维素钠)水解，释放出还原糖。在碱性、煮沸条件下，3，5-二硝基水杨酸(DNS试剂)与还原糖发生显色反应，其颜色的深浅与还原糖(以葡萄糖计)含量成正比。通过在540nm测其吸光度，可得到产生还原糖的量，计算出纤维素酶的酶活力。

B.2 试剂和溶液

除特殊说明外，所用的试剂均为分析纯，水均为符合GB/T 6682中规定的二级水。除以下试剂外，其余试剂同滤纸法附录A.2

B.2.1 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)

B.2.2 CMC-Na底物溶液

称取1.50g羧甲基纤维素钠[2]（精确至0.0001 g），缓缓加入相应的缓冲液(A.2.6、A.2.7或A.2.8)约80mL并缓慢加热至沸腾，边加热边搅拌，直至CMC-Na全部溶解，冷却后，相应的缓冲液(A.2.6、A.2.7或A.2.8)定容到100mL，搅拌均匀。

B.2.3 其余试剂同滤纸法A.2

B.3 仪器与设备

同滤纸法A.3。

B.4 分析步骤

B.4.1 绘制标准曲线

同滤纸法A.4.1。

B.4.2 样品的测定

称取1.00 g样品（精确至0.1 mg）于100 mL容量瓶中，加入相应缓冲溶液（A.2.6、A.2.7或A.2.8）溶解并定容，搅拌30 min。取适量样品溶液用相应缓冲液（A.2.6、A.2.7或A.2.8）进行稀释。以空白为对照，稀释后样品溶液的吸光值应为0.33-0.35之间。

B.4.3 操作程序

空白	样品
加入2.00 mL CMC-Na底物溶液	
/	加入0.50 mL待测酶液
50 ℃±0.1 ℃，准确反应30 min	

[2] Sigma C5678。给出这一信息是为了方便本文件的使用者，并不表示对这些产品的认可。如果其他产品能有相同的效果，则可使用这些等效的产品。

加入3.0 mLDNS试剂，混匀	
加入0.50 mL待测酶液，混匀	/
沸水浴中，加热10 min，取出，迅速冷却至室温，蒸馏水定容至25 mL，摇匀	
测定540 nm波长的吸光值，记为A_B	测定540 nm波长的吸光值，记为A_E

B.5 结果计算

羧甲基纤维素钠酶活力（CMCA）按式（A.1）计算。

$$X_2 = \frac{A \times 100 \times n \times 1000}{m \times 0.5 \times 180.16 \times 30} \quad \text{(B.1)}$$

式中：

X_2——样品的羧甲基纤维素钠酶活力（CMCA），u/g；

A——根据吸光度变化（A_E-A_B）在标准曲线上查得的还原糖的质量（以葡萄糖计），单位为毫克（mg）；

100——样品溶解体积，单位为毫升（mL）

n——酶样的稀释倍数；

1000——毫摩尔与微摩尔的换算系数；

m——样品的质量，单位为克（g）；

0.5——待测酶液的取样体积，单位为毫升（mL）；

180.16——葡萄糖的摩尔质量，单位为克每摩尔（g/mol）；

30——酶解反应时间，单位为分钟（min）。

B.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超过平均值的10%。

工业和信息化部标准报批公示