



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 24401—2009

---

## $\alpha$ -淀粉酶制剂

Alpha-amylase preparation

2009-09-30 发布

2010-03-01 实施

---

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布  
中国国家标准化管理委员会

## 前 言

本标准以 QB/T 1805.1—1993《工业用  $\alpha$ -淀粉酶制剂》和 QB/T 2306—1997《耐高温  $\alpha$ -淀粉酶制剂》为基础,首次制定。

本标准的附录 A 为规范性附录,附录 B、附录 C 为资料性附录。

本标准由全国食品工业标准化技术委员会提出。

本标准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归口。

本标准起草单位:中国食品发酵工业研究院、无锡赛德生物工程有限公司、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、江阴市百圣龙生物工程有限公司、邢台新欣翔宇生物工程有限责任公司。

本标准主要起草人:张蔚、吴炳炎、郭庆文、张晶雪、顾建龙、余波、郭新光、胡洪清、杨西江、曹振宇、陆志冲、魏坤。

## $\alpha$ -淀粉酶制剂

### 1 范围

本标准规定了 $\alpha$ -淀粉酶制剂的术语和定义、产品分类、要求、试验方法、检验规则和标志、包装、运输、贮存要求。

本标准适用于以淀粉质(或糖质)为原料,经发酵、提纯制得的 $\alpha$ -淀粉酶制剂产品的生产、检验和销售。主要用于食品工业、纺织工业等。其他来源的 $\alpha$ -淀粉酶制剂可参照相关类别使用,用作饲料添加剂的 $\alpha$ -淀粉酶制剂可参照A类产品执行。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 191 包装储运图示标志

GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 8275 食品添加剂  $\alpha$ -淀粉酶制剂

QB/T 1803—1993 工业酶制剂通用试验方法

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

#### 3.1

**$\alpha$ -淀粉酶** **alpha-amylase**

能水解淀粉分子链中的 $\alpha$ -1,4-葡萄糖苷键,将淀粉链切断成为短链糊精和少量麦芽糖和葡萄糖,使淀粉粘度迅速下降的酶。

#### 3.2

**中温 $\alpha$ -淀粉酶活力** **activity of medium temperature alpha-amylase**

1 g 固体酶粉(或 1 mL 液体酶),于 60 °C、pH 值 6.0 条件下,1 h 液化 1 g 可溶性淀粉,即为 1 个酶活力单位,以“u/g(u/mL)”表示。

#### 3.3

**耐高温 $\alpha$ -淀粉酶活力** **activity of heat-tolerant alpha-amylase**

1 g 固体酶粉(或 1 mL 液体酶),于 70 °C、pH 值 6.0 条件下,1 min 液化 1 mg 可溶性淀粉,即为 1 个酶活力单位,以“u/g(u/mL)”表示。

### 4 产品分类

#### 4.1 按产品的应用领域

A 类:食品/饲料工业用酶。

B 类:其他工业用酶。

#### 4.2 按产品的适用温度

中温 $\alpha$ -淀粉酶制剂和耐高温 $\alpha$ -淀粉酶制剂。

### 4.3 按产品形态

液体剂型酶制剂和固体剂型酶制剂。

## 5 要求

### 5.1 外观

固体剂型：白色至黄褐色固体粉末。无霉变、潮解、结块现象，无异味。易溶于水。

液体剂型：黄褐色至深褐色液体，无异味，允许有少量凝聚物。

### 5.2 理化要求

应符合表 1 的规定。

表 1  $\alpha$ -淀粉酶制剂的理化要求

项    目	液体剂型				固体剂型			
	中温 $\alpha$ -淀粉酶制剂		耐高温 $\alpha$ -淀粉酶制剂		中温 $\alpha$ -淀粉酶制剂		耐高温 $\alpha$ -淀粉酶制剂	
	A 类	B 类	A 类	B 类	A 类	B 类	A 类	B 类
酶活力 <sup>a</sup> /[u/mL(或 u/g)]     ≥	2 000		20 000		2 000		20 000	
pH 值(25 ℃)	5.5~7.0		5.8~6.8		—			
容重/(g/mL)	1.10~1.25		1.10~1.25		—			
干燥失重/%                     ≤	—				8.0			
耐热性存活率/%               ≥	—		90		—		90	
注：B类产品不得用于食品工业和饲料工业（蒸馏酒类除外）。								
<sup>a</sup> 具体规格可按供需双方合同规定的酶活力规格执行。								

### 5.3 卫生要求

B 类产品不做卫生要求，A 类产品按 GB 8275 中卫生要求执行。

## 6 试验方法

本标准中所用的水，在未注明其他要求时，均指符合 GB/T 6682 中要求的水。

本标准中所用的试剂，在未注明规格时，均指分析纯(AR)。若有特殊要求另作明确规定。

本标准中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

### 6.1 外观

称取样品 10 g(或 10 mL)，观察、嗅闻作出判断，做好记录。

### 6.2 酶活力

#### 6.2.1 原理

$\alpha$ -淀粉酶制剂能将淀粉分子链中的  $\alpha$ -1,4 葡萄糖苷键随机切断成长短不一的短链糊精、少量麦芽糖和葡萄糖，而使淀粉对碘呈蓝紫色的特性反应逐渐消失，呈现棕红色，其颜色消失的速度与酶活性有关，据此可通过反应后的吸光度计算酶活力。

#### 6.2.2 试剂和溶液

##### 6.2.2.1 碘。

##### 6.2.2.2 碘化钾。

6.2.2.3 原碘液：称取 11.0 g 碘和 22.0 g 碘化钾，用少量水使碘完全溶解，定容至 500 mL，贮存于棕色瓶中。

6.2.2.4 稀碘液:吸取原碘液 2.00 mL,加 20.0 g 碘化钾用水溶解并定容至 500 mL,贮存于棕色瓶中。

6.2.2.5 可溶性淀粉溶液(20 g/L):称取 2.000 g(精确至 0.001 g)可溶性淀粉(以绝干计)于烧杯中,用少量水调成浆状物,边搅拌边缓缓加入 70 mL 沸水中,然后用水分次冲洗装淀粉的烧杯,洗液倒入其中,搅拌加热至完全透明,冷却定容至 100 mL。溶液现配现用。

注:可溶性淀粉采用酶制剂专用可溶性淀粉。

6.2.2.6 磷酸缓冲液(pH=6.0):称取 45.23 g 磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )和 8.07 g 柠檬酸( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ),用水溶解并定容至 1 000 mL。用 pH 计校正后使用。

6.2.2.7 盐酸溶液[ $c(\text{HCl})=0.1 \text{ mol/L}$ ]:按 GB/T 601 配制。

### 6.2.3 仪器和设备

除实验室常规仪器外还有以下仪器和设备。

6.2.3.1 分光光度计。

6.2.3.2 恒温水浴:精度 $\pm 0.1^\circ\text{C}$ 。

6.2.3.3 自动移液器。

6.2.3.4 试管:25 mm $\times$ 200 mm。

6.2.3.5 秒表。

### 6.2.4 分析步骤

#### 6.2.4.1 待测酶液的制备

称取 1 g~2 g 酶粉(精确至 0.000 1 g)或准确吸取酶液 1.00 mL,用少量磷酸缓冲液(6.2.2.6)充分溶解,将上清液小心倾入容量瓶中,若有剩余残渣,再加少量磷酸缓冲液(6.2.2.6)充分研磨,最终样品全部移入容量瓶中,用磷酸缓冲液(6.2.2.6)定容至刻度,摇匀。用四层纱布过滤,滤液待用。

注:待测中温 $\alpha$ -淀粉酶酶液酶活力浓度控制在 3.4 u/mL~4.5 u/mL 范围内,待测耐高温 $\alpha$ -淀粉酶活力浓度控制在 60 u/mL~65 u/mL 范围内。

#### 6.2.4.2 测定

吸取 20.0 mL 可溶性淀粉溶液(6.2.2.5)于试管(6.2.3.4)中,加入磷酸缓冲液(6.2.2.6) 5.00 mL,摇匀后,置于  $60^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$  (耐高温 $\alpha$ -淀粉酶制剂置于  $70^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$ ) 恒温水浴中预热 8 min。

加入 1.00 mL 稀释好的待测酶液(6.2.4.1),立即计时,摇匀,准确反应 5 min。

立即用自动移液器吸取 1.00 mL 反应液,加到预先盛有 0.5 mL 盐酸溶液(6.2.2.7)和 5.00 mL 稀碘液(6.2.2.4)的试管中,摇匀,并以 0.5 mL 盐酸溶液和 5.00 mL 稀碘液为空白,于 660 nm 波长下,用 10 mm 比色皿迅速测定其吸光度(A)。根据吸光度查附录 A,求得测试酶液的浓度。

#### 6.2.4.3 计算

中温 $\alpha$ -淀粉酶制剂的酶活力按式(1)计算:

$$X_1 = c \times n \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

$X_1$ ——样品的酶活力, u/mL(或 u/g);

$c$ ——测试酶样的浓度, u/mL(或 u/g);

$n$ ——样品的稀释倍数。

所得结果表示至整数。

耐高温 $\alpha$ -淀粉酶制剂的酶活力按式(2)计算:

$$X_2 = c \times n \times 16.67 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

$X_2$ ——样品的酶活力, u/mL(或 u/g);

$c$ ——测试酶样的浓度, u/mL(或 u/g);

$n$ ——样品的稀释倍数;

16.67——根据酶活力定义计算的换算系数。

所得结果表示至整数。

### 6.2.5 允许差

平行试验相对误差不得超过5%。

### 6.3 pH 值

按 QB/T 1803—1993 中第9章执行。

### 6.4 耐高温 $\alpha$ -淀粉酶制剂耐热性存活率

#### 6.4.1 试剂和溶液

6.4.1.1 氢氧化钠溶液 [ $c(\text{NaOH})=0.1 \text{ mol/L}$ ]: 按 GB/T 601 配制。

6.4.1.2 糊精溶液: 称取糊精 100.0 g 于烧杯中, 加水 300 mL, 搅匀, 加入耐高温  $\alpha$ -淀粉酶制剂(按每克糊精 13 u 酶活力加入), 置于电炉上加热至沸腾, 冷却, 用氢氧化钠溶液(6.4.1.1)调 pH 值至 6.0~7.0, 移入 500 mL 容量瓶, 稀释, 定容, 摇匀备用。

#### 6.4.2 仪器和设备

恒温水浴: 精度  $\pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

#### 6.4.3 分析步骤

##### 6.4.3.1 待测酶液的制备

除用糊精溶液(6.4.1.2)代替磷酸缓冲溶液(6.2.2.6)外, 其余同 6.2.4.1。

##### 6.4.3.2 热处理

吸取 25 mL 待测酶液于 50 mL 比色管中, 置于 95  $^\circ\text{C}$  恒温水浴中热处理 60 min, 冷却, 补水至原酶液体积, 摇匀, 备用。

##### 6.4.3.3 酶活力测定

按 6.2.4.2 测定制备 6.4.3.1 时所用酶制剂的酶活力; 按 6.2.4.2 测定热处理后的待测酶液(6.4.3.2)的酶活力。

#### 6.4.4 计算

耐热性存活率按式(3)计算:

$$X_3 = E_1/E \times 100 \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中:

$X_3$ ——样品酶耐热性存活率, %;

$E_1$ ——样品热处理后实测的酶活力, u/mL(或 u/g);

$E$ ——样品热处理前实测的酶活力, u/mL(或 u/g)。

所得结果表示至整数。

### 6.5 容重

按 QB/T 1803—1993 执行。

### 6.6 干燥失重

按 QB/T 1803—1993 执行。

## 7 检验规则

### 7.1 批次的确定

由生产单位按照其相应的规则负责确定产品的批号, 批内产品的品质应均一。

### 7.2 取样规则和样本量

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。

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。

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。

表 2 成品抽样的样本量

批量/桶(或箱)	样本量/瓶(或袋)
≤50	2
51~500	3
>500	4
注 1: 批取样量不得少于 300 mL(或 300 g),不足者应按比例适当加取。 注 2: 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单位样本数,单位为瓶(或袋)。	

### 7.3 出厂检验

每批产品出厂时,应对外观、酶活力、pH 值、容重、干燥失重(固体),A 类产品的菌落总数等逐项进行检验。

### 7.4 型式检验

产品在正常生产情况下,每年至少进行一次型式检验,遇有下列情况之一时按本标准全部要求进行检验:

- 正常生产时,至少每年对产品检验一次;
- 正常生产时,如原料、配方或工艺有较大改变,可能影响产品质量时;
- 更换设备,或产品长期停产又恢复生产时;
- 出厂检验结果与平常记录有较大差别时;
- 国家质量监督部门提出要求时。

### 7.5 判定规则

出厂检验和(或)型式检验合格时,由质量检验部门出具产品合格证。

出厂检验和(或)型式检验不合格时,在原批次基础上加倍取样分析。如仍不合格,判定该产品为不合格品,不得出厂。

## 8 标志、包装、运输及贮存

### 8.1 标志

产品的外包装宜使用符合 GB/T 191 要求的标志。

产品的包装上应贴有牢固的标签。标识内容应包括品名、产地、厂名、卫生许可证号、规格、生产日期、批号或代号、保质期等。A 类产品的标签的内容应符合相关规定。

### 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,A 类产品应符合相应的食品包装用或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,严防雨淋和曝晒。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

产品应贮存在阴凉干燥的环境下。严禁与有毒、有害、有腐蚀性的物质同存。

### 8.5 保质期

8.5.1 在 25℃ 以下,液体酶制剂保质期不少于 90 d;固体酶制剂保质期不少于 180 d,企业应按上述要求具体标示。

8.5.2 在保质期内,实测酶活力不应低于标示酶活力。

附 录 A  
(规范性附录)

吸光度与测试  $\alpha$ -淀粉酶浓度对照表

表 A.1 吸光度与测试  $\alpha$ -淀粉酶浓度对照表

吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)
0.100	4.694	0.131	4.539	0.162	4.385
0.101	4.689	0.132	4.534	0.163	4.380
0.102	4.684	0.133	4.529	0.164	4.375
0.103	4.679	0.134	4.524	0.165	4.370
0.104	4.674	0.135	4.518	0.166	4.366
0.105	4.669	0.136	4.513	0.167	4.361
0.106	4.664	0.137	4.507	0.168	4.356
0.107	4.659	0.138	4.502	0.169	4.352
0.108	4.654	0.139	4.497	0.170	4.347
0.109	4.649	0.140	4.492	0.171	4.342
0.110	4.644	0.141	4.487	0.172	4.338
0.111	4.639	0.142	4.482	0.173	4.333
0.112	4.634	0.143	4.477	0.174	4.329
0.113	4.629	0.144	4.472	0.175	4.324
0.114	4.624	0.145	4.467	0.176	4.319
0.115	4.619	0.146	4.462	0.177	4.315
0.116	4.614	0.147	4.457	0.178	4.310
0.117	4.609	0.148	4.452	0.179	4.306
0.118	4.604	0.149	4.447	0.180	4.301
0.119	4.599	0.150	4.442	0.181	4.297
0.120	4.594	0.151	4.438	0.182	4.292
0.121	4.589	0.152	4.433	0.183	4.288
0.122	4.584	0.153	4.428	0.184	4.283
0.123	4.579	0.154	4.423	0.185	4.279
0.124	4.574	0.155	4.418	0.186	4.275
0.125	4.569	0.156	4.413	0.187	4.270
0.126	4.564	0.157	4.408	0.188	4.266
0.127	4.559	0.158	4.404	0.189	4.261
0.128	4.554	0.159	4.399	0.190	4.257
0.129	4.549	0.160	4.394	0.191	4.253
0.130	4.544	0.161	4.389	0.192	4.248

表 A.1 (续)

吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)
0.193	4.244	0.228	4.101	0.263	3.974
0.194	4.240	0.229	4.097	0.264	3.971
0.195	4.235	0.230	4.093	0.265	3.968
0.196	4.231	0.231	4.089	0.266	3.964
0.197	4.227	0.232	4.085	0.267	3.961
0.198	4.222	0.233	4.082	0.268	3.958
0.199	4.218	0.234	4.078	0.269	3.954
0.200	4.214	0.235	4.074	0.270	3.951
0.201	4.210	0.236	4.070	0.271	3.948
0.202	4.205	0.237	4.067	0.272	3.944
0.203	4.201	0.238	4.063	0.273	3.941
0.204	4.197	0.239	4.059	0.274	3.938
0.205	4.193	0.240	4.056	0.275	3.935
0.206	4.189	0.241	4.052	0.276	3.932
0.207	4.185	0.242	4.048	0.277	3.928
0.208	4.181	0.243	4.045	0.278	3.925
0.209	4.176	0.244	4.041	0.279	3.922
0.210	4.172	0.245	4.037	0.280	3.919
0.211	4.168	0.246	4.034	0.281	3.916
0.212	4.164	0.247	4.03	0.282	3.913
0.213	4.160	0.248	4.026	0.283	3.922
0.214	4.156	0.249	4.023	0.284	3.919
0.215	4.152	0.250	4.019	0.285	3.915
0.216	4.148	0.251	4.016	0.286	3.912
0.217	4.144	0.252	4.012	0.287	3.909
0.218	4.140	0.253	4.009	0.288	3.906
0.219	4.136	0.254	4.005	0.289	3.903
0.220	4.132	0.255	4.002	0.290	3.900
0.221	4.128	0.256	3.998	0.291	3.897
0.222	4.124	0.257	3.995	0.292	3.894
0.223	4.120	0.258	3.991	0.293	3.891
0.224	4.116	0.259	3.988	0.294	3.888
0.225	4.112	0.260	3.984	0.295	3.885
0.226	4.108	0.261	3.981	0.296	3.881
0.227	4.105	0.262	3.978	0.297	3.878

表 A.1 (续)

吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)
0.298	3.875	0.333	3.771	0.368	3.670
0.299	3.872	0.334	3.768	0.369	3.668
0.300	3.869	0.335	3.765	0.370	3.665
0.301	3.866	0.336	3.762	0.371	3.662
0.302	3.863	0.337	3.759	0.372	3.659
0.303	3.860	0.338	3.756	0.373	3.656
0.304	3.857	0.339	3.753	0.374	3.654
0.305	3.854	0.340	3.750	0.375	3.651
0.306	3.851	0.341	3.747	0.376	3.648
0.307	3.848	0.342	3.744	0.377	3.645
0.308	3.845	0.343	3.741	0.378	3.643
0.309	3.842	0.344	3.739	0.379	3.640
0.310	3.839	0.345	3.736	0.380	3.637
0.311	3.836	0.346	3.733	0.381	3.634
0.312	3.833	0.347	3.730	0.382	3.632
0.313	3.830	0.348	3.727	0.383	3.629
0.314	3.827	0.349	3.724	0.384	3.626
0.315	3.824	0.350	3.721	0.385	3.623
0.316	3.821	0.351	3.718	0.386	3.621
0.317	3.818	0.352	3.716	0.387	3.618
0.318	3.815	0.353	3.713	0.388	3.615
0.319	3.812	0.354	3.710	0.389	3.612
0.320	3.809	0.355	3.707	0.390	3.610
0.321	3.806	0.356	3.704	0.391	3.607
0.322	3.803	0.357	3.701	0.392	3.604
0.323	3.800	0.358	3.699	0.393	3.602
0.324	3.797	0.359	3.696	0.394	3.599
0.325	3.794	0.360	3.693	0.395	3.596
0.326	3.791	0.361	3.690	0.396	3.594
0.327	3.788	0.362	3.687	0.397	3.591
0.328	3.785	0.363	3.684	0.398	3.588
0.329	3.782	0.364	3.682	0.399	3.585
0.330	3.779	0.365	3.679	0.400	3.583
0.331	3.776	0.366	3.676	0.401	3.580
0.332	3.774	0.367	3.673	0.402	3.577

表 A.1 (续)

吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)
0.403	3.575	0.438	3.482	0.473	3.397
0.404	3.572	0.439	3.479	0.474	3.394
0.405	3.569	0.440	3.477	0.475	3.392
0.406	3.567	0.441	3.474	0.476	3.389
0.407	3.564	0.442	3.472	0.477	3.387
0.408	3.559	0.443	3.469	0.478	3.385
0.409	3.556	0.444	3.467	0.479	3.383
0.410	3.554	0.445	3.464	0.480	3.380
0.411	3.551	0.446	3.462	0.481	3.378
0.412	3.548	0.447	3.459	0.482	3.376
0.413	3.546	0.448	3.457	0.483	3.373
0.414	3.543	0.449	3.454	0.484	3.371
0.415	3.541	0.450	3.452	0.485	3.369
0.416	3.538	0.451	3.449	0.486	3.366
0.417	3.535	0.452	3.447	0.487	3.364
0.418	3.533	0.453	3.444	0.488	3.362
0.419	3.530	0.454	3.442	0.489	3.359
0.420	3.528	0.455	3.440	0.490	3.357
0.421	3.525	0.456	3.437	0.491	3.355
0.422	3.522	0.457	3.435	0.492	3.353
0.423	3.520	0.458	3.432	0.493	3.350
0.424	3.517	0.459	3.430	0.494	3.348
0.425	3.515	0.460	3.427	0.495	3.346
0.426	3.512	0.461	3.425	0.496	3.344
0.427	3.509	0.462	3.423	0.497	3.341
0.428	3.507	0.463	3.420	0.498	3.339
0.429	3.504	0.464	3.418	0.499	3.337
0.430	3.502	0.465	3.415	0.500	3.335
0.431	3.499	0.466	3.413	0.501	3.333
0.432	3.497	0.467	3.411	0.502	3.330
0.433	3.494	0.468	3.408	0.503	3.328
0.434	3.492	0.469	3.406	0.504	3.326
0.435	3.489	0.470	3.404	0.505	3.324
0.436	3.487	0.471	3.401	0.506	3.321
0.437	3.484	0.472	3.399	0.507	3.319

表 A.1 (续)

吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)
0.508	3.317	0.543	3.243	0.578	3.175
0.509	3.315	0.544	3.241	0.579	3.173
0.510	3.313	0.545	3.239	0.580	3.171
0.511	3.311	0.546	3.237	0.581	3.169
0.512	3.308	0.547	3.235	0.582	3.168
0.513	3.306	0.548	3.233	0.583	3.166
0.514	3.304	0.549	3.231	0.584	3.164
0.515	3.302	0.550	3.229	0.585	3.162
0.516	3.300	0.551	3.227	0.586	3.160
0.517	3.298	0.552	3.225	0.587	3.158
0.518	3.295	0.553	3.223	0.588	3.157
0.519	3.293	0.554	3.221	0.589	3.155
0.520	3.291	0.555	3.219	0.590	3.153
0.521	3.289	0.556	3.217	0.591	3.151
0.522	3.287	0.557	3.215	0.592	3.149
0.523	3.285	0.558	3.213	0.593	3.147
0.524	3.283	0.559	3.211	0.594	3.146
0.525	3.280	0.560	3.209	0.595	3.144
0.526	3.278	0.561	3.207	0.596	3.142
0.527	3.276	0.562	3.205	0.597	3.140
0.528	3.274	0.563	3.204	0.598	3.139
0.529	3.272	0.564	3.202	0.599	3.137
0.530	3.270	0.565	3.200	0.600	3.135
0.531	3.268	0.566	3.198	0.601	3.133
0.532	3.266	0.567	3.196	0.602	3.131
0.533	3.264	0.568	3.194	0.603	3.130
0.534	3.262	0.569	3.192	0.604	3.128
0.535	3.260	0.570	3.190	0.605	3.126
0.536	3.258	0.571	3.188	0.606	3.124
0.537	3.255	0.572	3.186	0.607	3.123
0.538	3.253	0.573	3.184	0.608	3.121
0.539	3.251	0.574	3.183	0.609	3.119
0.540	3.249	0.575	3.181	0.610	3.118
0.541	3.247	0.576	3.179	0.611	3.116
0.542	3.245	0.577	3.177	0.612	3.114

表 A.1 (续)

吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)
0.613	3.112	0.648	3.055	0.683	3.004
0.614	3.111	0.649	3.054	0.684	3.003
0.615	3.109	0.650	3.052	0.685	3.001
0.616	3.107	0.651	3.051	0.686	3
0.617	3.106	0.652	3.049	0.687	2.998
0.618	3.104	0.653	3.048	0.688	2.997
0.619	3.102	0.654	3.046	0.689	2.996
0.620	3.101	0.655	3.045	0.690	2.994
0.621	3.099	0.656	3.043	0.691	2.993
0.622	3.097	0.657	3.042	0.692	2.992
0.623	3.096	0.658	3.04	0.693	2.99
0.624	3.095	0.659	3.039	0.694	2.989
0.625	3.094	0.660	3.037	0.695	2.988
0.626	3.092	0.661	3.036	0.696	2.986
0.627	3.089	0.662	3.034	0.697	2.985
0.628	3.087	0.663	3.033	0.698	2.984
0.629	3.086	0.664	3.031	0.699	2.982
0.630	3.084	0.665	3.03	0.700	2.981
0.631	3.082	0.666	3.028	0.701	2.98
0.632	3.081	0.667	3.027	0.702	2.978
0.633	3.079	0.668	3.025	0.703	2.977
0.634	3.078	0.669	3.024	0.704	2.976
0.635	3.076	0.670	3.022	0.705	2.975
0.636	3.074	0.671	3.021	0.706	2.973
0.637	3.073	0.672	3.02	0.707	2.972
0.638	3.071	0.673	3.018	0.708	2.971
0.639	3.070	0.674	3.017	0.709	2.969
0.640	3.068	0.675	3.015	0.710	2.968
0.641	3.066	0.676	3.014	0.711	2.967
0.642	3.065	0.677	3.012	0.712	2.966
0.643	3.063	0.678	3.011	0.713	2.964
0.644	3.062	0.679	3.01	0.714	2.963
0.645	3.060	0.680	3.008	0.715	2.962
0.646	3.058	0.681	3.007	0.716	2.961
0.647	3.057	0.682	3.005	0.717	2.959

表 A.1 (续)

吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)	吸光度(A)	酶浓度(c)/(u/mL)
0.718	2.958	0.735	2.938	0.752	2.919
0.719	2.957	0.736	2.937	0.753	2.918
0.720	2.956	0.737	2.936	0.754	2.917
0.721	2.955	0.738	2.935	0.755	2.916
0.722	2.953	0.739	2.933	0.756	2.915
0.723	2.952	0.740	2.932	0.757	2.914
0.724	2.951	0.741	2.931	0.758	2.913
0.725	2.95	0.742	2.93	0.759	2.912
0.726	2.949	0.743	2.929	0.760	2.911
0.727	2.947	0.744	2.928	0.761	2.91
0.728	2.946	0.745	2.927	0.762	2.909
0.729	2.945	0.746	2.926	0.763	2.908
0.730	2.944	0.747	2.925	0.764	2.907
0.731	2.943	0.748	2.923	0.765	2.906
0.732	2.941	0.749	2.922	0.766	2.905
0.733	2.94	0.750	2.921		
0.734	2.939	0.751	2.92		

## 附录 B (资料性附录)

### 中温 $\alpha$ -淀粉酶活力的测定 目视比色法

#### B.1 原理

$\alpha$ -淀粉酶制剂能将淀粉分子链中的  $\alpha$ -1,4 葡萄糖苷键随机切断成长短不一的短链糊精、少量麦芽糖和葡萄糖,而使淀粉对碘呈蓝紫色的特性反应逐渐消失,呈现棕红色,其颜色消失的速度与酶活性有关,据此计算酶活力。

#### B.2 试剂

本附录中所用的水,在未注明其他要求时,均指符合 GB/T 6682 中要求的水。

本附录中所用的试剂,在未注明规格时,均指分析纯(AR)。若有特殊要求另作明确规定。

本附录中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

##### B.2.1 原碘液

称取结晶碘 11.0 g、碘化钾 22.0 g,先用少量蒸馏水使碘完全溶解后,再加蒸馏水定容至 500 mL,贮于棕色瓶内。

本溶液在冷藏(4℃~8℃)条件下的保存期为 2 个月。

##### B.2.2 稀碘液

取原碘液 2.00 mL,加碘化钾 20.0 g,加蒸馏水溶解定容至 500 mL,贮于棕色瓶内。

##### B.2.3 2%可溶性淀粉

称取 2.00 g 可溶性淀粉(以绝干计),用少量水调成浆状物,边搅拌边缓缓加入 70 mL 沸水中,然后用水分次冲洗装淀粉的烧杯,洗液倒入其中,搅拌加热至完全透明,冷却定容至 100 mL。此溶液当天配制当天使用。

##### B.2.4 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲溶液(pH=6.0)

称取磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )45.23 g 和柠檬酸( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )8.07 g,用蒸馏水溶解定容至 1 000 mL,配好后应以酸度计校正 pH 值为 6.0。

#### B.3 待测酶液的制备

称取酶粉 1 g~2 g(精确至 0.1 mg)或量取酶液 1.00 mL,先用少量 40℃磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲溶液(B.2.4)溶解,并用玻璃棒捣碎,将上层清液小心倾入适当的容量瓶中,沉渣部分再加入少量上述缓冲溶液,如此反复研捣 3 次~4 次,最后全部移入容量瓶中,用缓冲溶液定容至刻度,摇匀,通过四层纱布过滤,再用滤纸滤清,滤液供测定用。

#### B.4 分析步骤

于白瓷板空穴内滴入 1.5 mL 稀碘液(B.2.2)。取 2%可溶性淀粉 20 mL(B.2.3)和磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲溶液(B.2.4)5 mL 于 25 mm×200 mm 试管中,于 60℃恒温水浴中预热 4 min~5 min。随后加入预先稀释好的酶液(B.3)0.5 mL,立即计时,充分摇匀,定时用吸管取出反应液 0.5 mL,滴于预先滴有稀碘液的瓷板穴内,当穴内颜色由紫色逐渐变为红棕色,即为反应终点,记录时间。

注 1: 酶反应全部时间控制在 2 min~2.5 min 内。

注 2: 测定时照明采用日光灯。

#### B.5 结果计算

酶活力按式(B.1)计算:

$$X = \left( \frac{60}{T} \times 20 \times 2\% \times n \right) / 0.5 \quad \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:

$X$ ——酶活力单位, u/g(或 u/mL);

$T$ ——测定时间, min;

20——吸取可溶性淀粉的体积, mL;

2%——可溶性淀粉溶液浓度;

$n$ ——稀释倍数;

0.5——测定时稀酶液吸取量, mL。

结果保留至整数位。

#### B.6 允许差

平行试验相对误差不得超过 5%。

## 附录 C

(资料性附录)

 $\alpha$ -淀粉酶活力的测定 全自动生化分析仪法

## C.1 范围

本方法规定了  $\alpha$ -淀粉酶活力的测定方法。

本方法适用于用全自动生化分析仪测定  $\alpha$ -淀粉酶制剂中  $\alpha$ -淀粉酶的活力。本方法不适用于洗涤剂等产品中  $\alpha$ -淀粉酶活力的测定。

样品中所有能够分解底物的淀粉酶在本试验中均会被测定,导致结果偏大。

试样中蛋白酶的存在会使试验结果偏小。但若遵循配制步骤中所述的措施去预防,本方法仍可使用。

## C.2 原理

样品中的  $\alpha$ -淀粉酶和反应试剂中的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶能水解底物[4,6-亚乙基( $G_7$ )- $p$ -硝基苯基( $G_1$ )- $\alpha$ ,D-麦芽庚糖苷(亚乙基- $G_7$ PNP)]形成葡萄糖,并同时产生黄色的  $p$ -硝基苯酚。

$p$ -硝基苯酚的生成速度可以通过全自动生化分析仪进行检测。反应速度和酶活力成比例。反应过程见图 C.1。

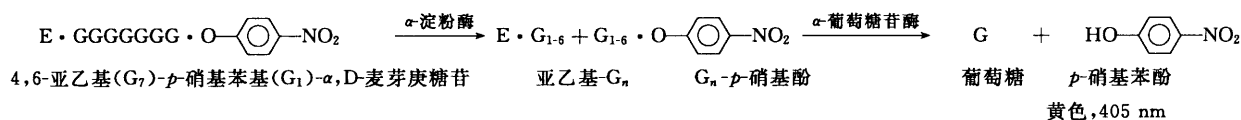


图 C.1 反应过程

## C.3 试剂

本附录中所用的水,在未注明其他要求时,均指符合 GB/T 6682 中要求的水。

本附录中所用的试剂,在未注明规格时,均指分析纯(AR)。若有特殊要求另作明确规定。

本附录中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

## C.3.1 氯化钙溶液

称取 441.0 g 二水合氯化钙到烧杯中。用一定量的水溶解后加入质量分数为 15% 的聚氧化乙烯十二烷基醚溶液 16.5 mL,搅拌均匀。最后用水定容至 1 000 mL。

本溶液在冷藏(4℃~8℃)条件下的保存期为 2 个月。

## C.3.2 稳定剂

取上述配制好的氯化钙溶液 2.5 mL,用水定容至 250 mL。

本溶液使用前配制。

## C.3.3 苯基甲基黄酰氟(PMSF)溶液

称取 5.0 g 的苯基甲基黄酰氟,用无水乙醇溶解并定容到 250 mL。

本溶液在冷藏(4℃~8℃)条件下的保质期为 1 年。

C.3.4  $\alpha$ -葡萄糖苷酶试剂和底物

$\alpha$ -葡萄糖苷酶试剂(R-1)和底物(R-2)为市售试剂,如 AMYL Roche/Hitachi, 118-76473 Roche Diagnostics。使用时参照生产厂家的说明。

## C.4 仪器

C.4.1 全自动生化分析仪:要求带有进样/搅拌系统、温度控制系统(37℃±0.3℃)和检测系统。检

测系统要求在 405 nm 下连续检测吸光度的变化。

C.4.2 分析天平:精度为 0.000 1 g。

C.4.3 酸度计:精度为 0.01 pH 单位。

## C.5 分析

### C.5.1 标准曲线的制备

称取一定量的已知活力  $\alpha$ -淀粉酶标准品,精确到 0.000 5 g。用稳定剂(C.3.2)溶解并定容在 100 mL 的容量瓶中,得到标准储备液。标准品称取量要使标准储备液中  $\alpha$ -淀粉酶的活力为 60.345 u/mL。

标准曲线的范围宜在 2.01 u/mL~6.03 u/mL。在此范围之内方法的使用者可以选择 5 个不同的浓度配制标准曲线工作溶液。标准曲线的线性相关系数需  $\geq 0.995$ 。

根据产品特性的不同,方法的使用者可以选择其他的标准曲线范围,但必须满足以上的标准曲线线性相关系数的要求。

标准储备液使用前配制,同时绘制标准曲线。

### C.5.2 标准对照品的制备

如可能,称取另一个批次已知活力的  $\alpha$ -淀粉酶作为标准对照。

标准对照溶液的配制方法同标准储备液。稀释液中的酶活力约为 25.0 mu/mL。

标准对照溶液使用前配制。

### C.5.3 空白

使用稳定剂(C.3.2)为空白。

### C.5.4 样品溶液的制备

#### C.5.4.1 $\alpha$ -淀粉酶试样

称取一定量的酶样品,用稳定剂(C.3.2)溶解和稀释。稀释的倍数要使得最终稀释液的酶活力在标准曲线的范围之内。

样品的最小稀释倍数为 20。

#### C.5.4.2 含有蛋白酶的 $\alpha$ -淀粉酶试样

对于含有蛋白酶的样品,分析中应加入苯基甲基黄酰氟溶液(C.3.3),以避免蛋白酶的干扰。

在制备含有蛋白酶的  $\alpha$ -淀粉酶试样时,应按照所使用的容量瓶体积的 0.1% 体积分数加入苯基甲基黄酰氟溶液。其他配制过程同 C.5.4.1。

### C.5.5 自动分析步骤和参数

#### C.5.5.1 步骤

- 将 200  $\mu$ L 的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 R-1(C.3.4)转移到比色皿中;
- 分别将 16  $\mu$ L 的空白、标准、标准对照或样品转移到比色皿中;
- 上述两种溶液的混合物在 37  $^{\circ}$ C 保温 300 s;
- 分别在每个比色皿中加入 20  $\mu$ L 的底物 R-2(C.3.4),混合保温 180 s 后开始测定;
- 每隔 18 s 测定一次吸光度,每个样品共测 7 次。

#### C.5.5.2 参数

##### C.5.5.2.1 保温周期

温度:37  $^{\circ}$ C;

时间:300 s;

$\alpha$ -葡萄糖苷酶 R-1 和试样:200  $\mu$ L+16  $\mu$ L。

##### C.5.5.2.2 酶反应周期

温度:37  $^{\circ}$ C;

时间:180 s;

底物 R-2; 20 μL。

#### C.5.5.2.3 测定周期

测定模式: 动力学法;

波长: 405 nm;

曲线类型: 非线性;

时间: 120 s;

读数: 7 次;

间隔: 18 s。

### C.6 结果的计算和表示

#### C.6.1 标准曲线的计算

标准曲线应为直线。其中 Y 轴单位为“OD/min”, X 轴单位为标准点的酶活力“μu/mL”。

#### C.6.2 样品酶活力的计算

从标准曲线上读出样品最终稀释液的酶活力, 单位为“μu/mL”。

然后, 按照式(C.1)计算样品的酶活力:

$$U = \frac{A \times F \times D}{m \times 1\,000} \quad \dots\dots\dots (C.1)$$

式中:

$U$ ——样品的酶活力, u/g;

$A$ ——由标准曲线得出的样品最终稀释液的活力, μu/mL;

$F$ ——溶解样品用的容量瓶体积, mL;

$D$ ——稀释倍数;

$m$ ——试料的质量, g。

#### C.6.3 结果的确认

当标准对照的试验值在可接受的范围之内, 且标准曲线为稳定上升的直线时, 样品的试验结果有效, 可计算平均值。

#### C.6.4 结果的表示

样品的测定结果用算术平均值表示。

### C.7 准确度和精密度

本方法的准确度为 99.1%, 中间精密度为 1.9% (对于最终产品)。