ICS 67.220.20
CCS X60

中 华 人 民 共 和 国 国 家 标 准

GB/T 23527.2－20XX

代替GB/T 23535－2009

酶制剂质量要求
第 2 部分：脂肪酶制剂

Quality requirements for enzyme preparations

—Part 2:Lipase preparations

（征求意见稿）

××××-×-××发布　　××××-××-××实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会　　发布

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。

本文件规定了食品质量相关技术要求，食品安全相关要求见有关法律法规、政策和食品安全标准等文件。

本文件是GB/T 23527《酶制剂质量要求》的第2部分。GB/T 23527已经发布了以下部分：

——第1部分：蛋白酶制剂。

——第2部分：脂肪酶制剂。

本文件代替了GB/T 23535—2009《脂肪酶制剂》，与GB/T 23535—2009相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

——增加了术语“脂肪酶制剂”“脂肪酶活力单位”（见3.2、3.3）；

——更改了“脂肪酶活力”的定义（见3.4，2009年版的3.2）；

——更改了“产品分类”（见4.1、见4.2，2009年版的4.1、4.2）；

——将“外观”更改为“感官要求”（见5.1，2009年版的5.1）；

——更改了理化要求中的“酶活力”要求（见表2，2009年版的表1）；

——增加了理化要求“细度”指标（见表2）；

——删除了“卫生要求”（见2009年版的5.3）；

——更改了酶活力与和干燥失重的试验方法（见6.3、6.4，2009年版的6.2、6.3）；

——增加了细度的试验方法（见6.5）；

——更改了出厂检验项目（见7.3，2009年版的7.3）；

——删除了“保质期”（见2009年版的第9章）；

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国食品工业标准化技术委员会（SAC/TC64）提出并归口。

本文件起草单位：暂略。

本文件主要起草人：暂略。

本文件及所代替文件的历次版本发布情况为：

——本文件于2009年首次发布；

——本次为第一次修订。

引 言

随着酶制剂工业的迅速发展，酶制剂种类向多元化发展，产品质量提高到一个新的水平，行业从技术到品种都有了长足的进步与发展。制定GB/T 23527《酶制剂质量要求》，是对酶制剂的产品质量和检测方法的规范化和标准化，是规范酶制剂及相关产品行业秩序、促进产业发展的基础性工作。

GB/T 23527《酶制剂质量要求》拟由四个部分构成：

——第1部分：蛋白酶制剂；

——第2部分：脂肪酶制剂；

——第3部分：*α*-淀粉酶制剂；

——第4部分：固定化葡萄糖异构酶制剂。

随着脂肪酶制剂行业产品创新发展，根据行业调研和产品征集，结合国内外检测方法的进展，以及产业发展需要，在本次修订中，修订完善了 GB/T 23535-2009 版酶活力测定方法和测定条件。

酶制剂质量要求 第2部分：脂肪酶制剂

1 范围

本文件规定了脂肪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。

本文件适用于微生物发酵生产的脂肪酶制剂产品的生产、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

GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备

GB/T 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备

GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备

QB/T 1803-2023 工业酶制剂通用试验方法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

脂肪酶 lipase

能水解甘油三酯（含天然油脂）或脂肪酸酯产生单或双甘油酯或甘油和游离脂肪酸，在特定条件下也能催化酯合成和酯交换反应的酶。

3.2

脂肪酶制剂 lipase preparations

以脂肪酶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、稳定和使用的辅料。

3.3

脂肪酶活力单位 activity unit of lipase

1 g 固体酶粉（或1 mL液体酶），在一定温度和pH条件下，1 min水解底物产生1 μ mol的可滴定的脂肪酸，即为1个酶活力单位，以U表示。

注：也可根据所采用的酶活力测定方法，另行约定相应的酶活力单位。

3.4

脂肪酶活力 lipase activity

脂肪酶制剂的酶活力 activity of lipase preparations

催化甘油酯水解为甘油和脂肪酸的能力，表示为1 g固体脂肪酶制剂（或1 mL液体脂肪酶制剂）含有的酶活力单位，以U/g（或U/mL）表示。

4 产品分类

4.1 按产品的应用领域

食品工业用和其它工业用脂肪酶制剂。

4.2 按产品的形态

固体剂型酶制剂（含固定化剂型）和液体剂型酶制剂。

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
状　　态	粉末或颗粒，无结块、无潮解现象	液体，允许有少量凝聚物
色　　泽	白色至黄褐色，色泽均一	浅黄色至棕褐色，色泽均一
气　　味	无异味，有本品固有的发酵气味	

5.2 理化要求

应符合表2的规定。

表2 理化要求

项目		固体剂型	液体剂型
酶活力[a]/（U/g或U/mL）	≥	符合声称	
干燥失重[b]/%	≤	8.0	—
细度（通过网孔尺寸0.40 mm的试验筛）[c]/%	≥	90	—
[a]可按供需双方合同规定的酶活力规格执行，提供相应的测定方法条件。 [b]不适用于固定化剂型产品。 [c]不适用于颗粒产品。			

6 试验方法

6.1 一般要求

本文件所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和符合 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，在没有注明其他要求时，均按 GB/T 601、GB/T 602、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。

6.2 感官要求

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，并嗅其气味。

6.3 酶活力

6.3.1 原理

脂肪酶在一定条件下，能使甘油三酯水解成脂肪酸、甘油二酯、甘油单酯和甘油，所释放的脂肪酸可用标准碱溶液进行中和滴定，用 pH 计指示反应终点，根据消耗的碱量，计算其酶活力。

反应式为:

$$RCOOH+NaOH \rightarrow RCOONa+H_2O$$

6.3.2 试剂和材料

6.3.2.1 聚乙烯醇：聚合度 1750±50。

6.3.2.2 橄榄油：试验试剂。
6.3.2.3 无水乙醇。
6.3.2.4 磷酸二氢钾。
6.3.2.5 十二水磷酸氢二钠。
6.3.2.6 氢氧化钠。

6.3.3 溶液配制

6.3.3.1 聚乙烯醇溶液（2%）：称取聚乙烯醇（6.3.2.1）10 g（精确至 0.1g），加水 500 mL，在沸水浴中加热，搅拌，直至全部溶解，冷却定容至 500 mL。
6.3.3.2 底物溶液：称量聚乙烯醇溶液（6.3.3.1）128 g，加橄榄油（6.3.2.2）32 g，用高速匀浆机 10000 r/min 处理 6 min（分两次处理，间隔 5 min，每次处理 3 min），水浴控制温度，处理过程中温度维持在 60℃，处理结束后常温下磁力搅拌 20 min。底物溶液显微镜观察应有 80%以上的液滴直径小于或等于 3 μm。该溶液现配现用。
6.3.3.3 磷酸缓冲溶液（pH=7.5）：分别称取磷酸二氢钾（6.3.2.4）1.96 g 和十二水磷酸氢二钠（6.3.2.5）39.62 g，用水溶解并定容到 500 mL。如需要，调节溶液的 pH 到 7.5±0.05。
6.3.3.4 氢氧化钠标准溶液[c(NaOH)=0.05 mol/L]：按 GB/T 601 配制与标定。使用时，准确稀释 10 倍。
6.3.3.5 乙醇溶液（95%）。

6.3.4 仪器和设备

6.3.4.1 磁力搅拌水浴锅。
6.3.4.2 电子天平：感量 0.1 mg。
6.3.4.3 移液枪。
6.3.4.4 酸度计。
6.3.4.5 秒表。
6.3.4.6 高速匀浆机。
6.3.4.7 电位滴定仪。
6.3.4.8 光学显微镜。

6.3.5 分析步骤

6.3.5.1 称取酶样品 1.00 g（精确到 0.1 mg），加入适量磷酸缓冲溶液（6.3.3.3）磁力搅拌溶解 15 min 并稀释，稀释酶液采用玻璃器皿，测定时控制酶液浓度，样品与对照消耗碱量之差控制在 1.640 mL~2.430 mL 范围内，吸取样品时，应将酶液摇匀后再取。
注：酶会附着在塑料上，因此应用玻璃器皿溶解稀释，同时也应用玻璃器皿滴定。在溶液的转移中如果时间很短，且选择适当的塑料材质，可以使用塑料移液枪头。
6.3.5.2 按电位滴定仪使用说明书对仪器进行校正（若使用酸度计进行试验，则按照酸度计说明书对酸度计进行校正）。
6.3.5.3 取四个 100 mL 烧杯，于空白杯（A）和样品杯（B1、B2、B3）中各加入底物溶液（6.3.3.2）5.0 mL，磷酸缓冲溶液（6.3.3.3）3.0 mL，再于 A 杯中加入 95%乙醇（6.3.3.5）15.00 mL，于 40℃±0.2℃水浴中磁力搅拌预热 5 min，然后于空白杯（A）和样品杯（B1、B2、B3）中各加待测酶液 1.00 mL，准确反应 15 min 后，于样品杯（B1、B2、B3）中立即补加 95%乙醇（6.3.3.5）15.00 mL 终止反应。
6.3.5.4 在每个烧杯中加蒸馏水 25 mL，从水浴锅中取出，将烧杯放在电位滴定仪上（若使用酸度计，则将酸度计电极放入烧杯中），边搅拌，边用氢氧化钠标准溶液（6.3.3.4）滴定，直至 pH 10.3，为滴定终点，记录消耗氢氧化钠标准溶液的体积。

6.3.6 计算

脂肪酶制剂的酶活力按式（1）计算：

$$X_1=\frac{(V_1-V_2)\times c\times 50\times n_1}{0.05\times 15} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

X_1——样品的酶活力，单位为酶活力单位每克（μ/g）；

V_1——滴定样品时消耗氢氧化钠标准溶液的体积，单位为毫升（mL）；

V_2——滴定空白时消耗氢氧化钠标准溶液的体积，单位为毫升（mL）；

c——氢氧化钠标准溶液浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

50——0.05 mol/L 氢氧化钠溶液 1.00 mL 相当于脂肪酸 50 μmol；

n_1——样品的稀释倍数；

0.05——氢氧化钠标准溶液浓度换算系数；

15——反应时间 15 min，以 1 min 计。

6.3.7 结果表示

所得结果表示至整数。

6.3.8 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得超过算术平均值的 10%。

6.4 干燥失重

按QB/T 1803-2023中干燥失重的试验方法执行。

6.5 细度（通过网孔尺寸 0.40 mm 的试验筛）

按QB/T 1803-2023中细度的试验方法执行，标准试验筛为网孔尺寸为0.40 mm的试验金属丝编织网筛（SSW 0.40/0.250 mm，相当于39目）。

7 检验规则

7.1 批次

同原料、同配方、同工艺、同生产线连续生产的，质量均一的产品为一批。

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。批取样量应不小于300 g（或300 mL），不足按照比例适当加取。充分混合均匀后检验。

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（含）	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标准规定逐批进行检验。检验符合本文件后方可出厂。

7.3.2 检验项目

——固体剂型：感官要求、酶活力、干燥失重、细度。

——液体剂型：感官要求、酶活力。

7.4 型式检验

检验项目：本标准中全部要求项目。一般情况下，同一类产品的型式检验每年至少进行一次，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；

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） 国家监督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检，以复检结果为准。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、贮存

8.1 标志

8.1.1 销售包装使用标签时，应标注产品类型和酶活力。

8.1.2 包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的要求。

8.2 包装

包装容器应整洁、无破损。

8.3 运输

运输工具应清洁卫生。不得与有毒、有害、有腐蚀性和含有异味的物品混装、混运，应避免受潮、受压、暴晒。装卸时，应轻拿轻放，不应直接钩扎包装。

8.4 贮存

应贮存在通风、干燥、清洁的环境中，严防日晒雨淋，严禁火种。不得与有毒、有害、有腐蚀性和含有异味的物品混放。

附录 A
（资料性）
动态滴定法测定脂肪酶的活力

A.1 范围

本方法适用于测定含有或混有脂肪酶/酯酶样品中的脂肪酶活力。

特殊的脂肪酶或特殊的成品制剂在样品制备阶段需采用特殊的稳定或抽提手段以保证检测到所有的脂肪酶活力。

A.2 原理

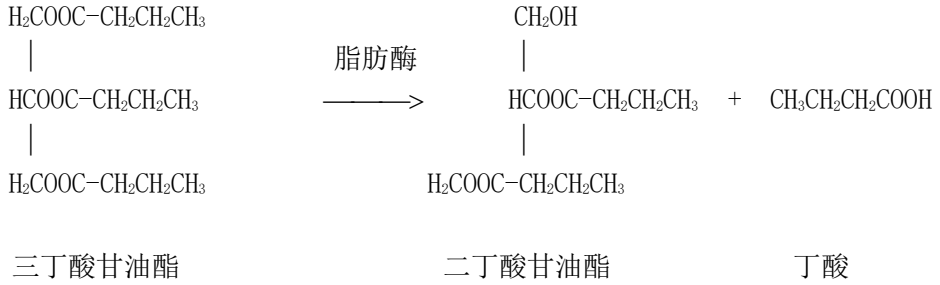
脂肪酶水解甘油三酯生成脂肪酸，使反应体系的pH不断下降。通过连续加入碱的方法保持反应体系的 pH 恒定。碱滴定的速率与酶活力成比例。

注1.酯酶的存在会使检测的脂肪酶的活力增加。蛋白酶的存在降解脂肪酶，从而使检测到的脂肪酶的活力减小。

注2.洗涤剂的存在会严重影响本方法。依不同洗涤剂的类型和浓度不同，这种影响表现为从完全抑制到激活。

注3.酶会附着在塑料上，因此应用玻璃器皿溶解稀释，同时也应用玻璃器皿滴定。在溶液的转移中如果时间很短，且选择适当的塑料材质，可以使用塑料移液枪头。

A.2.1 反应式



A.2.2 反应条件

——温度：30℃±1℃。

——pH：7.00。

——底物浓度：0.16 mol/L的三丁酸甘油酯。

——反应时间：至少1.5 min（只有线性反应区用于计算斜率）。

A.2.3 分析范围

样品的分析范围是 0.2 u/mL～4.0 u/mL。如果可能，所有样品应在 1.5 u/mL～4.0 u/mL 的范围内被分析。

A.2.4 检测限

对于液体样品检测限为 20 u/g，相当于 2.5 g 样品溶解在 10 mL 溶液中，然后再稀释 25 倍。对于固体样品检测限为 50 u/g ，相当于 1.0 g 样品溶解在 10 mL 溶液中，然后再稀释 25 倍。

A.3 仪器和设备

A.3.1 具有动态滴定（pH-stat）功能的滴定仪。

A.3.2 乳化器。

A.3.3 恒温水浴：精度 ±0.2°C。

A.3.4 温度计：精度 ±0.2°C。

A.3.5 自动移液器。

A.4 试剂

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。

A.4.1 三丁酸甘油酯（$C_{15}H_{26}O_6$）

A.4.2 氯化钠（NaCl）

A.4.3 磷酸二氢钾（KH2PO4）

A.4.4 阿拉伯胶

A.4.5 甘氨酸（H2NCH2COOH）

A.4.6 甘油 [HOCH2CH(OH)CH2OH]

A.4.7 氢氧化钠片剂（NaOH）

A.4.8 电极校正液（pH 7.0）

A.4.9 电极校正液（pH 4.01）

A.4.10 96%乙醇

A.4.11 氮气（N_2）

A.4.12 氢氧化钠溶液 [c(NaOH) = 1 mol/L]:按照 GB/T 601 配制。

A.4.13 氢氧化钠滴定液 [c(NaOH) = 0.025 mol/L]:取上述溶液 25 mL，用水稀释并定容到 1 000 mL。

配好后需用适宜的设备脱气。

A.4.14 氢氧化钠滴定液 [c(NaOH) = 0.005 mol/L]:取氢氧化钠溶液（A4.13）25 mL，用水稀释并定容到 5 000 mL。

A.4.15 乳化剂

分别称取阿拉伯胶30.0 g，氯化钠53.7g和磷酸二氢钾1.20 g。量取甘油1 620 mL。

将大约180 mL去离子水倒入400 mL的烧杯中,加入搅拌子，开始高速搅拌，将阿拉伯胶缓慢倒入水中，不断搅拌直至全部溶解。将称好的氯化钠和磷酸二氢钾转入到3 L容量瓶中，加350 mL水充分搅拌直至完全溶解，将甘油全部加入。将阿拉伯胶溶液转入容量瓶中，充分搅拌后用水定容。

A.4.16 底物乳剂

称取三丁酸甘油酯62.5 g，分别量取乳化剂（A.4.15）200 mL和水940 mL，混合。将混合液匀浆器处理3 min（7 000 r/min）。匀浆后的溶液先用普通的磁力搅拌搅拌至少20 min，然后调节pH到4.75±0.05。

不同来源和批号的三丁酸甘油酯和阿拉伯胶对试验结果有影响，在更换产品或批号前需进行有效性确认。

A.4.17 甘氨酸缓冲液 1(7.51 g/L)

称取甘氨酸37.54 g和氢氧化钠片剂18.5 g，用水溶解并定容到5 L。如需要，调节溶液的pH到10.8±0.05。

A.4.18 甘氨酸缓冲液 2(0.75 g/L)

取100 mL上述甘氨酸缓冲液1，用水定容到1 000 mL。如需要，调节溶液的pH到10.8±0.05。

A.5 标准曲线和样品处理

A.5.1 标准曲线

称取一定量的已知活力酶标准品，精确到0.0001 g。然后用甘氨酸缓冲液2（A.4.18）溶解并稀释，制成标准储备液。标准储备液的浓度为20 u/mL。然后按照表A.1配制溶液，并配制标准曲线。

表 A.1 标准曲线

标准点	脂肪酶活力/（u/mL）	标准储备液所用体积/mL	用水定容至/mL

1	0.200	1.00	100
2	0.500	2.50	100
3	1.000	5.00	100
4	2.000	10.0	100
5	3.000	15.0	100
6	4.000	20.0	100

A.5.2 标准对照

可使用已知活力的样品作为标准对照。标准对照的处理同样品。

A.5.3 样品处理

不同的样品需做不同的预处理，以激活或保护在样品基质中的脂肪酶。

可考虑采用甘氨酸缓冲液1（A.4.17）和水来分别溶解和稀释样品的方法，或甘氨酸缓冲液2来溶解和稀释样品的方法，或直接用水溶解和稀释样品的方法，以求得到最好的效果。样品的溶解液和稀释液必须充分搅拌均匀。

样品应最终稀释到酶活力在 1.5u/mL～4.0u/mL 范围内。

如可能，样品稀释完应该立即测定。

A.6 分析步骤

A.6.1 系统准备

A.6.1.1 按照无水乙醇、适当的肥皂水、热水、去离子水、底物的顺序清洗滴定容器和管路。保证水浴的温度在30.0℃±0.5℃。

A.6.1.2 校正pH电极：每天使用前要校正pH电极的灵敏度在95%～102%；pH7.00应在6.985～6.989之间；pH4.01应在4.009～4.012之间。如果达不到此标准，按照pH电极使用说明进行冲洗并再次校正。

A.6.2 分析

A.6.2.1 pH电极用后浸泡在饱和的氯化钾（KCl）溶液中，使用前冲洗。在反应溶液表面用氮气吹充，以防止空气中二氧化碳的干扰。分析前一定要保证底物的温度为30.0℃±0.5℃。在分析每个样品前要用0.005 mol/L的氢氧化钠溶液（A.4.14）冲洗滴定皿和管路。

A.6.2.2 试验步骤如下：

——将15 mL的底物加入到滴定皿中。滴定前pH电极的读数应小于7.0。

——加1 mL样品稀释液加入到滴定皿中。反应体系的pH在滴定过程中保持在7.0。记录为保持恒定pH而加入的滴定液的量。

——滴定结束后滴定仪打印出滴定曲线线性范围的平均斜率（如果使用不同的设备，数据可能以其他形式输出）。滴定曲线必须有一段持续1.5 min的线性输出

——先分析标准曲线（每个标准点分析1次），然后分析一个标准对照，再分析样品（每个样品分析1次）。重要的是一天之中非一次运行的样品不能使用相同的标准曲线。事先应知道每一次运行的样品的个数。如果样品在当天晚些时候分析，标准溶液要重新分析。

——每个样品分析前和最后一个样品完成分析后，系统将进行冲洗。排空底物容器和管路，并用乙醇冲洗。如果系统将会在1周以上时间不再使用，则需要用去离子水进行冲洗并用氢氧化钠溶液（A.4.14）或相同浓度的盐酸溶液充满敏感部件，避免出现盐类结晶。

A.7 计算

A.7.1 结果计算

利用标准点的测定值作标准曲线，其中X轴为标准品酶活力，Y轴为相应的滴定反应的平均斜率（mL/min）。标准曲线应该是一条直线。样品稀释液的活力从标准曲线中读出，然后按式（A.1）计算：

$$X_3 = \frac{A \times V_3 \times n_2}{m_3} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots \text{（A.1）}$$

式中：

X_3——样品的酶活力，单位为酶活力单位每克（u/g）；

A—— 稀释样品在标准曲线上读出的酶活力，单位为酶活力单位每毫升（u/mL）；

V_3—— 样品溶解用的容量瓶体积，单位为毫升（mL）；

n_2—— 第二次稀释的倍数；

m_3—— 样品的质量，单位为克（g）。

A.7.2 结果的确认

当满足以下条件时可以确认本次分析有效：

——标准对照的检测值在本方法所规定的可接受偏差范围内；

——标准曲线的斜率应满足：1）标准点 1小于0.02 mL/min；2）标准点 6在0.14mL/min～0.18mL/min之间；

——标准曲线的相关系数（r^2）大于等于 0.995；

——标准点3～点6相关系数（r^2）应大于0.9995。标准点1～2的r^2大于0.995是可接受的。如果达不到此条件，应检查分析系统。

A.7.3 结果的表示

结果给出3位有效数字。如果结果低于检测限，则表示为＜20 u/g（液体）或＜50 u/g（固体）。

A.8 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得超过算术平均值的5%。