

GB

中华人民共和国国家标准

GB/T 23527.3—XXXX  
代替 GB/T 24401-2009

酶制剂质量要求 第3部分：淀粉酶制剂

Quality requirements for enzyme preparations—Part 3: amylase preparations

征求意见稿

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

国家市场监督管理总局  
中国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。

本文件是 GB/T 23527《酶制剂质量要求》的第3部分。GB/T 23527 已发布了以下部分：

——第1部分：蛋白酶制剂。

本文件代替 GB/T 24401-2009《 $\alpha$ -淀粉酶制剂》，与2009年版相比，除编辑性改动外，主要技术变化如下：

- 增加了“ $\beta$ -淀粉酶”、“ $\alpha$ -淀粉酶制剂”、“ $\beta$ -淀粉酶制剂”、“ $\alpha$ -淀粉酶活力单位”、“ $\beta$ -淀粉酶活力单位”、“ $\alpha$ -淀粉酶活力”、“ $\beta$ -淀粉酶活力”的术语和定义（见 3.2、3.3、3.4、3.5、3.8、3.9、3.10）；
- 更改了产品分类中“按产品应用领域”的要求（见 4.1，2009年版的 4.1）；
- 增加了“ $\beta$ -淀粉酶制剂”的理化要求（见 5.2）；
- 更改了理化要求中的“酶活力”要求（见表 2，2009年版的 5.2）；
- 增加了理化要求中的“细度”要求（见 5.2）；
- 删除了理化要求中的“pH 值”和“容重”（见 2009年版的 5.2）；
- 删除了卫生要求（见 2009年版的 5.3）；
- 增加了细度的试验方法（见 6.4）；
- 更改了出厂检验项目（见 7.3，2009年版的 7.3.1）；
- 更改了标志的内容（见 8.1，2009年版的 8.1）；
- 删除了“保质期”（见 2009年版的第 9 章）；
- 删除了“中温 $\alpha$ -淀粉酶活力的测定 目视比色法”的试验方法（见 2009年版的附录 B）；
- 增加了“ $\alpha$ -淀粉酶活力的测定 滴定法”的试验方法（见附录 B）；
- 更改了“ $\alpha$ -淀粉酶活力的测定 全自动生化分析仪法”的试验方法（见附录 C，2009年版的附录 C）；
- 增加了“ $\beta$ -淀粉酶制剂酶活力的测定 分光光度计法”的试验方法（见附录 D）；
- 增加了“ $\beta$ -淀粉酶制剂酶活力的测定 滴定法”的试验方法（见附录 E）。

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/TC 64）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：淀粉酶制剂；
- 第 4 部分：固定化葡萄糖异构酶制剂。

随着淀粉酶制剂行业产品创新发展，根据行业产品调研和征集产品种类，除了原标准范围涵盖的微生物发酵来源的 $\alpha$ -淀粉酶制剂产品，还有猪或牛的胰腺组织提取的 $\alpha$ -淀粉酶。另外， $\beta$ -淀粉酶、麦芽糖淀粉酶、葡萄糖淀粉酶等淀粉酶制剂产品。另外，根据国内外检测方法行业产品发展需要，在本次修订中，对 GB/T 24401—2009 版酶活力测定方法的测定条件进行了更新完善，并增加了 $\beta$ -淀粉酶制剂活力的测定方法。

## 酶制剂质量要求 第3部分：淀粉酶制剂

### 1 范围

本文件规定了 $\alpha$ -淀粉酶制剂和 $\beta$ -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。

本文件适用于 $\alpha$ -淀粉酶制剂和 $\beta$ -淀粉酶制剂的生产、检验和销售。

### 2 规范性引用文件

下列文件的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期的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

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

QB/T 1803 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文件。

#### 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

**$\beta$ -淀粉酶**  $\beta$ -amylase

能从淀粉分子的非还原性末端开始依次水解 $\alpha$ -1,4-葡萄糖苷键，并发生沃尔登转位反应，获得麦芽糖的酶。

#### 3.3

**$\alpha$ -淀粉酶制剂**  $\alpha$ -amylase preparations

以 $\alpha$ -淀粉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。

#### 3.4

**$\beta$ -淀粉酶制剂**  $\beta$ -amylase preparations

以 $\beta$ -淀粉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、稳定和使用的配料。

## 3.5

 **$\alpha$ -淀粉酶活力单位 active unit of alpha-amylase**

1 g 固体酶粉（或 1 mL 液体酶），在一定温度和 pH 条件下，1 h 液化 1 g 可溶性淀粉所需的酶量，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。

## 3.6

**中温 $\alpha$ -淀粉酶活力单位 active unit of alpha-amylase**

1 g 固体酶粉（或 1 mL 液体酶），在 60°C 和 pH6.0 条件下，1 h 液化 1 g 可溶性淀粉所需的酶量，即为 1 个酶活力单位，以“U”表示。

## 3.7

**耐高温 $\alpha$ -淀粉酶活力单位 active unit of alpha-amylase**

1 g 固体酶粉（或 1 mL 液体酶），在 70°C 和 pH6.0 条件下，1 min 液化 1 mg 可溶性淀粉所需的酶量，即为 1 个酶活力单位，以“U”表示。

## 3.8

 **$\beta$ -淀粉酶活力单位 active unit of beta-amylase**

1 g 固体酶粉（或 1 mL 液体酶），在 50°C，pH5.50 条件下，1 h 水解可溶性淀粉生成 1 g 麦芽糖所需的酶量，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。

## 3.9

 **$\alpha$ -淀粉酶活力 alpha-amylase activity** **$\alpha$ -淀粉酶制剂活力 activity of alpha-amylase preparations**

催化淀粉水解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能力，表示为 1 g 固体 $\alpha$ -淀粉酶制剂（或 1 mL 液体 $\alpha$ -淀粉酶制剂）含有的酶活力单位。

注：以 U/g（或 U/mL）表示。

## 3.10

 **$\beta$ -淀粉酶活力 beta-amylase activity** **$\beta$ -淀粉酶制剂活力 activity of beta-amylase preparations**

能从淀粉分子的非还原性末端开始依次水解 $\alpha$ -1,4-葡萄糖苷键，并发生沃尔登转位反应，获得 $\beta$ -麦芽糖的能力，表示为 1 g 固体 $\beta$ -淀粉酶制剂（或 1 mL 液体 $\beta$ -淀粉酶制剂）含有的酶活力单位。

注：以 U/g（或 U/mL）表示。

## 4 产品分类

4.1 按产品的应用领域分为食品工业用和其他工业用。

4.2  $\alpha$ -淀粉酶制剂按产品的适用温度分为中温 $\alpha$ -淀粉酶制剂和耐高温 $\alpha$ -淀粉酶制剂。

4.3 按产品形态分为液体剂型酶制剂和固体剂型酶制剂。

## 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	要 求	
	固体剂型	液体剂型
色 泽	白色至黄褐色	黄褐色至深褐色
状 态	粉末或颗粒，无霉变、潮解、结块现象	液体，允许有少量凝聚物
气 味	无异味，有产品固有的气味	

## 5.2 理化指标

应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

项 目		$\alpha$ -淀粉酶制剂		$\beta$ -淀粉酶制剂	
		固体剂型	液体剂型	固体剂型	液体剂型
酶活力 <sup>a</sup> /[U/mL (或 U/g)]	≥	符合声称			
细度 (通过网孔尺寸 0.40 mm 的试验筛) <sup>b</sup> /%	≥	90	-	90	-
干燥失重/%	≤	8.0	-	8.0	-
耐高温保存率 <sup>c</sup> /%	≥	90		-	

<sup>a</sup>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。  
<sup>b</sup>不适用于颗粒产品。  
<sup>c</sup>仅适用于耐高温型 $\alpha$ -淀粉酶制剂。

## 6 试验方法

### 6.1 一般要求

本方法中所用的水，在未注明其他要求时，应符合 GB/T 6682 中水的规格，所用试剂，在未注明其他规格时，均指分析纯。分析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 和 GB/T 603 的规定制备。

### 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

$\alpha$ -淀粉酶（细菌来源）活力按附录 A 进行检测， $\alpha$ -淀粉酶（真菌来源）活力按附录 B。 $\alpha$ -淀粉酶也可参考附录 C 或采用其他方法进行检测； $\beta$ -淀粉酶活力按附录 D 和附录 E 进行检测，或采用其他方法进行检测。检测结果应标明测定的方法。必要时，还应标明缓冲溶液和底物。

### 6.4 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）

### 6.5 干燥失重

按 QB/T 1803-2023 中干燥失重的试验方法执行。

### 6.6 耐高温保存率

#### 6.6.1 试剂和溶液

6.6.1.1 氢氧化钠溶液[c(NaOH)=0.1 mol/L]: 按 GB/T 601 配制。

6.6.1.2 糊精溶液: 称取 100.0 g 糊精于烧杯中, 加水 300 mL, 搅匀, 加入 1300 U 耐高温 $\alpha$ -淀粉酶制剂, 置于电炉上加热至沸腾, 冷却, 用氢氧化钠溶液(6.6.1.1)调 pH 值至 6.0~7.0, 转移至 500mL 容量瓶, 以水定容, 摇匀备用。

## 6.6.2 仪器和设备

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

## 6.6.3 分析步骤

### 6.6.3.1 待测酶液的制备

除用糊精溶液(6.6.1.2)代替磷酸缓冲溶液外, 其余同附录 A.4.2。

### 6.6.3.2 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, 冷却至室温后, 补水至 25 mL, 混匀, 备用。

### 6.6.3.3 酶活力测定

按照附录 A 分别测定热处理前后的酶活力。

## 6.6.4 计算

耐热性存活率按式(1)计算:

$$X_1 = E_1/E \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$X_1$ ——样品酶耐热性存活率, %;

$E_1$ ——样品热处理后测得的酶活力, U/mL (或 U/g);

$E$ ——样品热处理前测得的酶活力, U/mL (或 U/g)。

所得结果表示至整数。

## 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), 不足按照比例适当加取。充分混合均匀后检验。

### 7.3 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。

### 7.4 出厂检验

7.4.1 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。

#### 7.4.2 检验项目

——固体剂型的检验项目: 感官要求、酶活力、干燥失重、细度。

——液体剂型的检验项目：感官要求、酶活力。

## 7.5 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。

## 7.6 判定规则

7.6.1 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。

7.6.2 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。

7.6.3 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，不得直接钩扎包装。

### 8.4 贮存

应储存在通风、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

## (规范性)

 $\alpha$ -淀粉酶制剂酶活力 分光光度计法

## A.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。

## A.2 试剂和溶液

A.2.1 碘。

A.2.2 碘化钾。

A.2.3 原碘液：称取 11.0 g 碘和 22.0 g 碘化钾，加入少量水完全溶解，定容至 500 mL，贮存于棕色瓶中。

A.2.4 稀碘液：吸取 2.00 mL 原碘液（A.2.3），加 20.0 g 碘化钾用水溶解并定容至 500 mL，贮存于棕色瓶中。

A.2.5 可溶性淀粉溶液（20 g/L）：称取 2.00 g（精确至 0.001 g）可溶性淀粉（以干基计）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烧杯，洗液倒入其中，搅拌加热至完全透明，冷却定容至 100 mL。现配现用。

注：可溶性淀粉采用酶制剂专用可溶性淀粉。

A.2.6 磷酸缓冲液（pH6.0）：称取 45.23 g 十二水合磷酸氢二钠（ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ）和 8.07 g 一水合柠檬酸（ $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ），用水溶解并定容至 1000 mL。用 pH 计校正后使用。

A.2.7 盐酸溶液[ $c(\text{HCl})=0.1\text{mol/L}$ ]：按 GB/T601 配制。

## A.3 仪器和设备

除实验室常规仪器外还有以下仪器和设备。

A.3.1 分光光度计。

A.3.2 恒温水浴：精度 $\pm 0.1^\circ\text{C}$ 。

A.3.3 移液器。

A.3.4 试管：25mm $\times$ 200mm。

A.3.5 秒表。

## A.4 分析步骤

## A.4.1 待测酶液的制备

称取 1 g~2 g 样品（精确至 0.0001g，或 1.00 mL 酶液），用少量磷酸缓冲液充分溶解，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充分研磨，最终样品全部移入容量瓶中，用磷酸缓冲液定容至刻度，摇匀。

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。

## A.4.2 测定

吸取 20.0 mL 可溶性淀粉溶液于试管中，加入磷酸缓冲液 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 1.00mL 稀释好的待测酶液，立即计时，摇匀，准确反应 5min。

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

#### A.5 计算

中温 $\alpha$ -淀粉酶制剂的酶活力  $X_2$ ，单位为 U/mL 或 U/g，按公式 (2) 计算：

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

式中：

$X_2$ —样品的酶活力，单位为 U/mL(或 U/g)；

$c$ —根据吸光值查表获得的酶浓度，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  $X_3$ ，单位为 U/mL 或 U/g，按公式 (3) 计算：

$$X_3 = c \times n \times 16.67 \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$X_3$ —样品的酶活力，单位为 U/mL(或 U/g)；

$c$ —根据吸光值查表获得的酶浓度，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。

#### A.6 允许差

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算术平均值的 10%。

## 附 录 B

(资料性)

 $\alpha$ -淀粉酶活力的测定 滴定法

## B.1 原理

酶作用于淀粉溶液生成还原糖,然后加入费林试剂,在加热的情况下,定量生成氧化亚铜沉淀。再加入碘化钾和硫酸后,生成游离碘。用硫代硫酸钠滴定生成的游离碘可计算出还原糖的量。

注:在40℃的条件下,30min糖化可溶性淀粉生成相当于10 mg葡萄糖所需的酶量即为一个酶活力单位。

## B.2 试剂和材料

B.2.1 碘化钾溶液(30%):碘化钾150 g溶解于350 mL水,保存在褐色试剂瓶中,避免阳光直射。

B.2.2 硫酸溶液(25%):称取硫酸125 g缓慢加入375 mL水中。

B.2.3 硫代硫酸钠标准滴定液[ $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=0.05 \text{ mol/L}$ ]:按照GB/T 601配制,使用前稀释2倍。

B.2.4 乙酸溶液(1.0 mol/L):称取30.0 g冰乙酸于盛有400 mL水的500 mL容量瓶中,以水定容并混合。

B.2.5 乙酸钠溶液(1.0 mol/L):称取41.0 g乙酸钠于500 mL容量瓶中,加400 mL水溶解后以水定容并混合。

B.2.6 乙酸-乙酸钠缓冲溶液(1.0 mol/L, pH5.0):乙酸钠溶液中加入乙酸溶液调节pH至 $5.0\pm 0.05$ 。

B.2.7 可溶性淀粉溶液(5 g/L):称取0.5 g(精确至0.001 g)可溶性淀粉(以干基计)于烧杯中,用少量水调成浆状物,边搅拌边缓缓加入50 mL沸水中,然后用水分次冲洗装烧杯,洗液倒入其中,搅拌加热至完全透明,冷却后加入5 mL乙酸钠缓冲溶液,以水定容至100 mL。

B.2.8 铜溶液:硫酸铜34.66 g溶解于水中,定容至500 mL。

B.2.9 酒石酸钾钠碱溶液:酒石酸钾钠173 g和氢氧化钠50 g溶解于水中,定容至500 mL。

B.2.10 费林试剂:称取等体积混合铜溶液和酒石酸钾钠碱溶液,临用现配。

## B.3 分析步骤

## B.3.1 样品溶液的制备

用水稀释酶样品,使滴定空白溶液和样品溶液消耗硫代硫酸钠标准滴定液的体积差在2 mL~4 mL之间。

## B.3.2 测定

分别吸取10 mL可溶性淀粉溶液于两个100 mL锥形瓶中,40℃ $\pm 0.5$ ℃水浴10 min~15 min,分别加入1.0 mL水(空白)和1.0 mL样品溶液。准确反应30 min后,加入4.0 mL费林试剂终止反应。将锥形瓶置于电炉煮沸2 min后,流水冷却至室温。随后,依次加入2 mL30%碘化钾溶液和2 mL25%的硫酸溶液。混匀后,硫代硫酸钠标准滴定液溶液滴定游离出的碘,以蓝色消失为滴定终点 $T_0$ 和 $T_{30}$ (mL)。

注:空白临近终点时,加入1%可溶性淀粉溶液1滴~2滴,以蓝色消失作为滴定终点。

## B.4 结果计算

$\alpha$ -淀粉酶制剂的酶活力 $X_4$ ,单位为U/mL或U/g,按公式(4)计算:

$$X_4 = (T_0 - T_{30}) \times f \times 1.62 \times \frac{1}{10} \times n \dots \dots \dots (4)$$

式中:

$X_4$ ——样品的酶活力,单位为U/mL(或U/g);

$T_0$ ——滴定空白溶液消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积,单位为毫升(mL);

$T_{30}$ ——滴定样品溶液消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积，单位为毫升（mL）；

$f$ ——硫代硫酸钠标准滴定液的校正系数；

1.62——每毫升 0.05 mol/L 硫代硫酸钠溶液相当于 1.62 mg 葡萄糖；

1/10——根据酶活定义，10mg 葡萄糖的换算系数

$n$ ——样品的稀释倍数；

所得结果表示至整数。

#### B.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大于算术平均值的 5%。

## 附录 C

(资料性)

 $\alpha$ -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(G7)-p-硝基苯基(G1)- $\alpha$ ,D-麦芽庚糖苷(亚乙基-G7PNP)]形成葡萄糖，并同时产生黄色的对硝基苯酚。

对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。

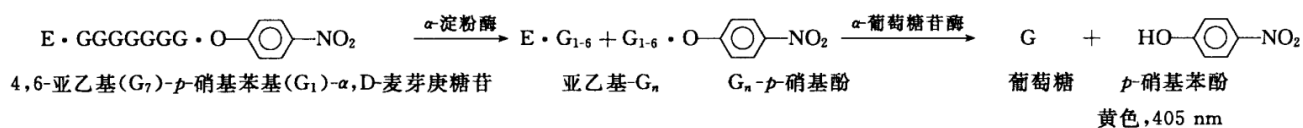


图 C.1 反应过程

## C.3 试剂

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% 的聚乙烯十二烷基醚溶液 16.5 mL，搅拌均匀。最后用水定容至 1000 mL。4°C~8°C 条件下有效期 2 个月。

C.3.2 稳定剂：氯化钙溶液 2.5 mL，用水定容至 250 mL。临用现配。

C.3.3 苯基甲基黄酰氟（PMSF）溶液（20 g/L）：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。4°C~8°C 条件下有效期为 1 年。

C.3.4  $\alpha$ -葡萄糖苷酶试剂

C.3.5 4,6-亚乙基(G7)-p-硝基苯基(G1)- $\alpha$ ,D-麦芽庚糖苷底物

## 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°C $\pm$ 0.3°C）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 0.0001g。

C.4.3 酸度计：精度为 0.01。

## C.5 分析

## C.5.1 标准曲线的制备

标准储备液：称取一定量的已知活力 $\alpha$ -淀粉酶标准品（精确至 0.0005 g）于 100 mL 容量瓶，稳定剂溶解并定容。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.3.2），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 自动分析步骤和参考参数

#### 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：180s；
- 底物 R-2：20  $\mu$ L。

##### 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：120s；
- 读数：7 次；
- 间隔：18s。

### 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“mU/mL”。

### C.6.2 样品酶活力的计算

$\alpha$ -淀粉酶制剂的酶活力  $X_5$ ，单位为 U/mL 或 U/g，按公式（5）计算：

$$X_5 = \frac{A \times f \times D}{m \times 1000} \dots\dots\dots (5)$$

式中：

- $X_5$ ——样品的酶活力，单位为 U/mL(或 U/g)；
- $A$ ——由标准曲线得出的样品最终稀释液的活力，单位为 mU/mL；
- $f$ ——溶解样品用的容量瓶体积，单位为毫升（mL）；
- $D$ ——稀释倍数；
- $m$ ——样品的质量，单位为克（g）；
- 1000——U 和 mU 的换算系数。

### 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 精密度

中间精密度为 1.9%。

## 附 录 D

(规范性)

 $\beta$ -淀粉酶制剂酶活力的测定 分光光度计法

## D.1 原理

$\beta$ -淀粉酶制剂能将淀粉分子链中的 $\alpha$ -1,4-葡萄糖苷键以两个葡萄糖残基为单位依次切断成麦芽糖和 $\beta$ -糊精，生成的麦芽糖使 3,5-二硝基水杨酸还原，生成棕红色的 3-氨基-5-硝基水杨酸。用分光光度计于波长 550 nm 下测定溶液的吸光度。酶活力与吸光度成正比，据此计算酶活力。

## D.2 试剂和溶液

D.2.1 磷酸盐缓冲液 (0.02 mol/L, pH5.5)：称取 0.14 g 十二水合磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) 和 2.35 g 磷酸二氢钠 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )，加入 950 mL 蒸馏水，磷酸氢二钠溶液或磷酸二氢钠溶液调节溶液 pH 至 5.50  $\pm$  0.05 后，蒸馏水定容至 1000 mL。

D.2.2 可溶性淀粉底物溶液 (1.1%)：称取 1.10 g (精确至 0.001 g) 可溶性淀粉 (以干基计) 于烧杯中，用少量缓冲液调成浆状物，边搅拌边缓缓加入 80 mL 沸水，搅拌加热 5 min 至完全透明，冷却定容至 100 mL。现配现用。

D.2.3 葡萄糖标准储备液 (2.0 mg/mL)：称取于 105°C~110°C 干燥 2 h 后的葡萄糖 200 mg (精确至 0.1 mg)，用磷酸盐缓冲液溶解并定容至 100 mL。临用现配。

D.2.4 葡萄糖系列标准溶液：分别吸取 1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL 和 5.0 mL 葡萄糖标准储备液于 10 mL 容量瓶中，用缓冲液定容并混匀。每 0.5 mL 系列标准溶液中葡萄糖含量分别为 0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg 和 0.5 mg。

D.2.5 DNS 溶液：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°C 水浴。然后缓慢加入 100 mL 氢氧化钠溶液 (200 g/L)，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°C)。再缓慢加入 91.0 g 四水酒石酸钾钠、2.50 g 苯酚和 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。

## D.3 仪器和设备

D.3.1 涡旋振荡器。

D.3.2 电子天平。

D.3.3 移液枪。

D.3.4 酸度计。

D.3.5 秒表。

D.3.6 电热恒温水槽。

D.3.7 电炉。

D.3.8 分光光度计，可测定 550nm 波长下的吸光度。

## D.4 标准曲线的绘制



分别移取 0.5 mL 磷酸盐缓冲液（空白）和葡萄糖系列标准溶液于比色管中，加入 1.5 mL DNS 试剂，混匀，沸水浴 15 min 后取出。流水冷却至室温后，蒸馏水定容至 10 mL，摇匀。以空白管为对照，分光光度计分别测量 550nm 下吸光值。以葡萄糖质量（mg）为横坐标，吸光值为纵坐标，绘制标准曲线。

## D.5 分析步骤

### D.5.1 样品溶液的制备

称取 1 g~2 g 样品（精确至 0.0001g，或量取 1.00 mL 酶液），用少量磷酸缓冲液充分溶解，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充分研磨，最终样品全部移入容量瓶中，用磷酸缓冲液定容至刻度，摇匀。待测酶活力浓度控制在 30 U/mL~55 U/mL 范围内。

### D.5.2 操作程序

按表 D.1 程序操作：

表 D.1 操作程序

空白	样品（三个平行）
加入9.0 mL可溶性淀粉底物溶液，50℃±0.1℃平衡5 min	
加入1.0 mL缓冲溶液，混匀	加入1.0 mL待测酶液，混匀
50℃±0.1℃，准确反应30 min	
分别移取0.5 mL反应液于预先装有1.5 mL DNS溶液的25mL比色管中，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10 mL，摇匀	
测定550 nm波长的吸光值，记为A <sub>B</sub>	测定550 nm波长的吸光值，记为A <sub>E</sub>

## D.6 计算

$\beta$ -淀粉酶活力  $X_6$ ，单位为 U/mL 或 U/g，按公式（6）计算。

$$X_6 = \frac{c \times 1.9 \times 2 \times n \times 20}{1000} \dots\dots\dots (6)$$

式中：

$X_6$ ——试样 $\beta$ -淀粉酶的酶活力，单位为 U/mL 或 U/g；

$c$ ——反应结束后，样品溶液和空白的吸光值之差在标准曲线对应的葡萄糖的质量，单位为毫克（mg）；

1.9——葡萄糖换算成麦芽糖系数；

2——30 min 和 1h 的换算系数；

$n$ ——稀释倍数；

20——吸取 0.5 mL 反应液换算成 10 mL 换算系数；

1000——毫克和克的换算系数。

## D.7 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算术平均值的 10%。

## 附 录 E

(资料性)

 $\beta$ -淀粉酶制剂酶活力的测定 滴定法

## E.1 原理

酶作用于淀粉溶液生成还原糖, 然后加入索氏试剂, 在加热的情况下, 定量生成氧化亚铜沉淀。再加入碘化钾和硫酸后, 生成游离碘。用硫代硫酸钠滴定生成的游离碘可计算出还原糖的量。

注: 在 40℃ 的条件下, 10min 糖化可溶性淀粉生成相当于 1 mg 葡萄糖所需的酶量即为一个酶活力单位。

## E.2 试剂和材料

E.2.1 葡萄糖标准储备溶液 (2 mg/mL): 同 D.2.3

E.2.2 葡萄糖标准工作溶液 (0.2 g/L): 移取 5.0 mL 葡萄糖标准储备溶液 (E.2.1) 于 50 mL 容量瓶中, 加水定容并摇匀。

E.2.3 碘化钾溶液 (25 g/L): 称取 2.5 g 碘化钾溶解于 100 mL 水, 避光保存在褐色试剂瓶中。

E.2.4 硫酸溶液 (1.5 mol/L): 移取 4.1 mL 浓硫酸, 缓慢加入盛有 40 mL 水的烧杯中, 冷却至室温后转移至 50 mL 容量瓶中, 以水定容。

E.2.5 氢氧化钠溶液 (2.0 mol/L): 称取 8.0 g 氢氧化钠于盛有 80 mL 水的 100 mL 容量瓶中, 以水定容并混合。

E.2.6 硫代硫酸钠标准滴定液 [ $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=0.005 \text{ mol/L}$ ]: 按照 GB/T 601 配制 0.1 mol/L, 使用前稀释 20 倍。

E.2.7 可溶性淀粉溶液 (12 g/L): 称取 1.2 g (精确至 0.001 g) 可溶性淀粉 (以干基计) 于烧杯中, 用少量水调成浆状物, 边搅拌边缓缓加入 50 mL 沸水中, 然后用水分次冲洗装烧杯, 洗液倒入其中, 搅拌加热至完全透明。冷却后, 2.0 mol/L 盐酸或氢氧化钠溶液调节 pH 至  $5.5 \pm 0.05$ , 以水定容至 100 mL。

E.2.8 索氏试剂: 称取 28.0 g 无水磷酸氢二钠和 40.0 g 四水酒石酸钾钠于 1 L 容量瓶中, 加入 700 mL 水充分溶解。再加入 4.0 g 氢氧化钠和 8.0 g 五水硫酸铜, 溶解后再加入 180.0 g 无水硫酸钠。最后, 加入 25 mL 碘酸钾溶液, 并加水定容至 1000 mL。20℃~25℃ 下储存 3 天后, 滤纸过滤后去除沉淀。20℃~25℃ 条件下棕色瓶密封保存。

## E.3 分析步骤

## E.3.1 样品溶液的制备

称取适量酶制剂样品, 用水溶解并稀释酶样品, 将酶活力控制在 1.5~4.0 U/mL 之间。

## E.3.2 测定

将 50 mL 可溶性淀粉溶液和 10 mL 酶溶液分别置于 40℃ $\pm$ 0.2℃ 恒温水浴中, 预热 10 min 后, 按表 E.1 程序操作。

表 E.1 操作程序

步骤	试管 A(酶空白)	试管 B(样品, 需作三个平行试样)	试管 C(水空白)	试管 D(葡萄糖)
1	加入 1.00 mL 酶溶液于 25 mL 比色管中, 煮沸 10 min	加入 1.00 mL 酶溶液于 25 mL 比色管中	加入 5.00 mL 水于 100 mL 锥形瓶中	加入 5.00 mL 葡萄糖溶液 (E.2.2) 于 100 mL 锥形瓶中
2	加入 5.0 mL 可溶性淀粉溶液			
3	/	40℃ $\pm$ 0.2℃ 条件下, 准确反应 20 min		
4	加水至 25 mL, 并混匀	沸水浴 10 min。冷却至室温后, 加水至 25 mL, 并混匀		
5	移取 5.0 mL 上述溶液于 100 mL 锥形瓶中			

6	加入5.0 mL索氏试剂后沸水浴30 min			
7	冷却至室温后，静置30 min			
8	加入2 mL 碘化钾溶液和1 mL 硫酸溶液混匀			
9	0.005 mol/L硫代硫酸钠溶液滴定游离碘			
10	记录硫代硫酸钠溶液消耗 体积 $V_B$	记录硫代硫酸钠溶液消耗体 积 $V_E$	记录硫代硫酸钠溶液消耗体 积 $V_W$	记录硫代硫酸钠溶液消耗体 积 $V_G$

#### E.4 结果计算

$\beta$ -淀粉酶制剂的酶活力  $X_7$ ，单位为 U/mL 或 U/g，按公式（7）计算：

$$X_7 = \frac{(V_B - V_E)}{(V_W - V_G)} \times \frac{25}{5} \times \frac{10}{20} \times n \dots \dots \dots (7)$$

式中：

$X_7$ ——样品的酶活力，单位为 U/mL(或 U/g)；

$V_B$ ——滴定酶空白溶液消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积，单位为毫升（mL）；

$V_E$ ——滴定样品溶液消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积，单位为毫升（mL）；

$V_W$ ——滴定水空白溶液消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积，单位为毫升（mL）；

$V_G$ ——滴定葡萄糖标准溶液消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积，单位为毫升（mL）；

10/20——根据酶活定义，10分钟与20分钟的换算系数；

$n$ ——样品的稀释倍数。

所得结果表示至整数。

#### E.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大于算术平均值的 5%。

## 附录 F

(资料性)

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	0.140	4.492	0.180	4.301
0.101	4.689	0.141	4.487	0.181	4.297
0.102	4.684	0.142	4.482	0.182	4.292
0.103	4.679	0.143	4.477	0.183	4.288
0.104	4.674	0.144	4.472	0.184	4.283
0.105	4.669	0.145	4.467	0.185	4.279
0.106	4.664	0.146	4.462	0.186	4.275
0.107	4.659	0.147	4.457	0.187	4.270
0.108	4.654	0.148	4.452	0.188	4.266
0.109	4.649	0.149	4.447	0.189	4.261
0.110	4.644	0.150	4.442	0.190	4.257
0.111	4.639	0.151	4.438	0.191	4.253
0.112	4.634	0.152	4.433	0.192	4.248
0.113	4.629	0.153	4.428	0.193	4.244
0.114	4.624	0.154	4.423	0.194	4.240
0.115	4.619	0.155	4.418	0.195	4.235
0.116	4.614	0.156	4.413	0.196	4.231
0.117	4.609	0.157	4.408	0.197	4.227
0.118	4.604	0.158	4.404	0.198	4.222
0.119	4.599	0.159	4.399	0.199	4.218
0.120	4.594	0.160	4.394	0.200	4.214
0.121	4.589	0.161	4.389	0.201	4.210
0.122	4.584	0.162	4.385	0.202	4.205
0.123	4.579	0.163	4.380	0.203	4.201
0.124	4.574	0.164	4.375	0.204	4.197
0.125	4.569	0.165	4.370	0.205	4.193
0.126	4.564	0.166	4.366	0.206	4.189
0.127	4.559	0.167	4.361	0.207	4.185
0.128	4.554	0.168	4.356	0.208	4.181
0.129	4.549	0.169	4.352	0.209	4.176
0.130	4.544	0.170	4.347	0.210	4.172
0.131	4.539	0.171	4.342	0.211	4.168
0.132	4.534	0.172	4.338	0.212	4.164
0.133	4.529	0.173	4.333	0.213	4.160
0.134	4.524	0.174	4.329	0.214	4.156
0.135	4.518	0.175	4.324	0.215	4.152
0.136	4.513	0.176	4.319	0.216	4.148
0.137	4.507	0.177	4.315	0.217	4.144
0.138	4.502	0.178	4.310	0.218	4.140
0.139	4.497	0.179	4.306	0.219	4.136

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)
0.220	4.132	0.265	3.968	0.310	3.839
0.221	4.128	0.266	3.964	0.311	3.836
0.222	4.124	0.267	3.961	0.312	3.833
0.223	4.120	0.268	3.958	0.313	3.830
0.224	4.116	0.269	3.954	0.314	3.827
0.225	4.112	0.270	3.951	0.315	3.824
0.226	4.108	0.271	3.948	0.316	3.821
0.227	4.105	0.272	3.944	0.317	3.818
0.228	4.101	0.273	3.941	0.318	3.815
0.229	4.097	0.274	3.938	0.319	3.812
0.230	4.093	0.275	3.935	0.320	3.809
0.231	4.089	0.276	3.932	0.321	3.806
0.232	4.085	0.277	3.928	0.322	3.803
0.233	4.082	0.278	3.925	0.323	3.800
0.234	4.078	0.279	3.922	0.324	3.797
0.235	4.074	0.280	3.919	0.325	3.794
0.236	4.070	0.281	3.916	0.326	3.791
0.237	4.067	0.282	3.913	0.327	3.788
0.238	4.063	0.283	3.922	0.328	3.785
0.239	4.059	0.284	3.919	0.329	3.782
0.240	4.056	0.285	3.915	0.330	3.779
0.241	4.052	0.286	3.912	0.331	3.776
0.242	4.048	0.287	3.909	0.332	3.774
0.243	4.045	0.288	3.906	0.333	3.771
0.244	4.041	0.289	3.903	0.334	3.768
0.245	4.037	0.290	3.900	0.335	3.765
0.246	4.034	0.291	3.897	0.336	3.762
0.247	4.030	0.292	3.894	0.337	3.759
0.248	4.026	0.293	3.891	0.338	3.756
0.249	4.023	0.294	3.888	0.339	3.753
0.250	4.019	0.295	3.885	0.340	3.750
0.251	4.016	0.296	3.881	0.341	3.747
0.252	4.012	0.297	3.878	0.342	3.744
0.253	4.009	0.298	3.875	0.343	3.741
0.254	4.005	0.299	3.872	0.344	3.739
0.255	4.002	0.300	3.869	0.345	3.736
0.256	3.998	0.301	3.866	0.346	3.733
0.257	3.995	0.302	3.863	0.347	3.730
0.258	3.991	0.303	3.860	0.348	3.727
0.259	3.988	0.304	3.857	0.349	3.724
0.260	3.984	0.305	3.854	0.350	3.721
0.261	3.981	0.306	3.851	0.351	3.718
0.262	3.978	0.307	3.848	0.352	3.716
0.263	3.974	0.308	3.845	0.353	3.713
0.264	3.971	0.309	3.842	0.354	3.710

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)
0.355	3.707	0.400	3.583	0.445	3.464
0.356	3.704	0.401	3.580	0.446	3.462
0.357	3.701	0.402	3.577	0.447	3.459
0.358	3.699	0.403	3.575	0.448	3.457
0.359	3.696	0.404	3.572	0.449	3.454
0.360	3.693	0.405	3.569	0.450	3.452
0.361	3.690	0.406	3.567	0.451	3.449
0.362	3.687	0.407	3.564	0.452	3.447
0.363	3.684	0.408	3.559	0.453	3.444
0.364	3.682	0.409	3.556	0.454	3.442
0.365	3.679	0.410	3.554	0.455	3.440
0.366	3.676	0.411	3.551	0.456	3.437
0.367	3.673	0.412	3.548	0.457	3.435
0.368	3.670	0.413	3.546	0.458	3.432
0.369	3.668	0.414	3.543	0.459	3.430
0.370	3.665	0.415	3.541	0.460	3.427
0.371	3.662	0.416	3.538	0.461	3.425
0.372	3.659	0.417	3.535	0.462	3.423
0.373	3.656	0.418	3.533	0.463	3.420
0.374	3.654	0.419	3.530	0.464	3.418
0.375	3.651	0.420	3.528	0.465	3.415
0.376	3.648	0.421	3.525	0.466	3.413
0.377	3.645	0.422	3.522	0.467	3.411
0.378	3.643	0.423	3.520	0.468	3.408
0.379	3.640	0.424	3.517	0.469	3.406
0.380	3.637	0.425	3.515	0.470	3.404
0.381	3.634	0.426	3.512	0.471	3.401
0.382	3.632	0.427	3.509	0.472	3.399
0.383	3.629	0.428	3.507	0.473	3.397
0.384	3.626	0.429	3.504	0.474	3.394
0.385	3.623	0.430	3.502	0.475	3.392
0.386	3.621	0.431	3.499	0.476	3.389
0.387	3.618	0.432	3.497	0.477	3.387
0.388	3.615	0.433	3.494	0.478	3.385
0.389	3.612	0.434	3.492	0.479	3.383
0.390	3.610	0.435	3.489	0.480	3.380
0.391	3.607	0.436	3.487	0.481	3.378
0.392	3.604	0.437	3.484	0.482	3.376
0.393	3.602	0.438	3.482	0.483	3.373
0.394	3.599	0.439	3.479	0.484	3.371
0.395	3.596	0.440	3.477	0.485	3.369
0.396	3.594	0.441	3.474	0.486	3.366
0.397	3.591	0.442	3.472	0.487	3.364
0.398	3.588	0.443	3.469	0.488	3.362
0.399	3.585	0.444	3.467	0.489	3.359

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)
0.490	3.357	0.535	3.260	0.580	3.171
0.491	3.355	0.536	3.258	0.581	3.169
0.492	3.353	0.537	3.255	0.582	3.168
0.493	3.350	0.538	3.253	0.583	3.166
0.494	3.348	0.539	3.251	0.584	3.164
0.495	3.346	0.540	3.249	0.585	3.162
0.496	3.344	0.541	3.247	0.586	3.160
0.497	3.341	0.542	3.245	0.587	3.158
0.498	3.339	0.543	3.243	0.588	3.157
0.499	3.337	0.544	3.241	0.589	3.155
0.500	3.335	0.545	3.239	0.590	3.153
0.501	3.333	0.546	3.237	0.591	3.151
0.502	3.330	0.547	3.235	0.592	3.149
0.503	3.328	0.548	3.233	0.593	3.147
0.504	3.326	0.549	3.231	0.594	3.146
0.505	3.324	0.550	3.229	0.595	3.144
0.506	3.321	0.551	3.227	0.596	3.142
0.507	3.319	0.552	3.225	0.597	3.140
0.508	3.317	0.553	3.223	0.598	3.139
0.509	3.315	0.554	3.221	0.599	3.137
0.510	3.313	0.555	3.219	0.600	3.135
0.511	3.311	0.556	3.217	0.601	3.133
0.512	3.308	0.557	3.215	0.602	3.131
0.513	3.306	0.558	3.213	0.603	3.130
0.514	3.304	0.559	3.211	0.604	3.128
0.515	3.302	0.560	3.209	0.605	3.126
0.516	3.300	0.561	3.207	0.606	3.124
0.517	3.298	0.562	3.205	0.607	3.123
0.518	3.295	0.563	3.204	0.608	3.121
0.519	3.293	0.564	3.202	0.609	3.119
0.520	3.291	0.565	3.200	0.610	3.118
0.521	3.289	0.566	3.198	0.611	3.116
0.522	3.287	0.567	3.196	0.612	3.114
0.523	3.285	0.568	3.194	0.613	3.112
0.524	3.283	0.569	3.192	0.614	3.111
0.525	3.280	0.570	3.190	0.615	3.109
0.526	3.278	0.571	3.188	0.616	3.107
0.527	3.276	0.572	3.186	0.617	3.106
0.528	3.274	0.573	3.184	0.618	3.104
0.529	3.272	0.574	3.183	0.619	3.102
0.530	3.270	0.575	3.181	0.620	3.101
0.531	3.268	0.576	3.179	0.621	3.099
0.532	3.266	0.577	3.177	0.622	3.097
0.533	3.264	0.578	3.175	0.623	3.096
0.534	3.262	0.579	3.173	0.624	3.095

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)
0.625	3.094	0.670	3.022	0.715	2.962
0.626	3.092	0.671	3.021	0.716	2.961
0.627	3.089	0.672	3.02	0.717	2.959
0.628	3.087	0.673	3.018	0.718	2.958
0.629	3.086	0.674	3.017	0.719	2.957
0.630	3.084	0.675	3.015	0.720	2.956
0.631	3.082	0.676	3.014	0.721	2.955
0.632	3.081	0.677	3.012	0.722	2.953
0.633	3.079	0.678	3.011	0.723	2.952
0.634	3.078	0.679	3.01	0.724	2.951
0.635	3.076	0.680	3.008	0.725	2.95
0.636	3.074	0.681	3.007	0.726	2.949
0.637	3.073	0.682	3.005	0.727	2.947
0.638	3.071	0.683	3.004	0.728	2.946
0.639	3.070	0.684	3.003	0.729	2.945
0.640	3.068	0.685	3.001	0.730	2.944
0.641	3.066	0.686	3	0.731	2.943
0.642	3.065	0.687	2.998	0.732	2.941
0.643	3.063	0.688	2.997	0.733	2.94
0.644	3.062	0.689	2.996	0.734	2.939
0.645	3.060	0.690	2.994	0.735	2.938
0.646	3.058	0.691	2.993	0.736	2.937
0.647	3.057	0.692	2.992	0.737	2.936
0.648	3.055	0.693	2.99	0.738	2.935
0.649	3.054	0.694	2.989	0.739	2.933
0.650	3.052	0.695	2.988	0.740	2.932
0.651	3.051	0.696	2.986	0.741	2.931
0.652	3.049	0.697	2.985	0.742	2.93
0.653	3.048	0.698	2.984	0.743	2.929
0.654	3.046	0.699	2.982	0.744	2.928
0.655	3.045	0.700	2.981	0.745	2.927
0.656	3.043	0.701	2.98	0.746	2.926
0.657	3.042	0.702	2.978	0.747	2.925
0.658	3.04	0.703	2.977	0.748	2.923
0.659	3.039	0.704	2.976	0.749	2.922
0.660	3.037	0.705	2.975	0.750	2.921
0.661	3.036	0.706	2.973	0.751	2.92
0.662	3.034	0.707	2.972	0.752	2.919
0.663	3.033	0.708	2.971	0.753	2.918
0.664	3.031	0.709	2.969	0.754	2.917
0.665	3.03	0.710	2.968	0.755	2.916
0.666	3.028	0.711	2.967	0.756	2.915
0.667	3.027	0.712	2.966	0.757	2.914
0.668	3.025	0.713	2.964	0.758	2.913
0.669	3.024	0.714	2.963	0.759	2.912



吸光度(A)	酶浓度(c)/(U/mL)
0.760	2.911
0.761	2.91
0.762	2.909
0.763	2.908
0.764	2.907
0.765	2.906
0.766	2.905