



中华人民共和国国家标准

GB/T 39030—2020

酶制剂生理活性评价技术规范

Technical specification of physiological activity evaluation for
enzyme preparations

2020-07-21 发布

2021-02-01 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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国标准化研究院提出并归口。

本标准起草单位：江南大学、中国标准化研究院、北京萨姆伯科技有限公司。

本标准主要起草人：吴晓玲、胥传来、匡华、马爱进、王忠兴、刘丽强、徐丽广、马伟、郝帅。



酶制剂生理活性评价技术规范

1 范围

本标准规定了酶制剂生理活性评价基本要求、试验方法、消化促进率计算及结果表述。
本标准适用于饲料和食品添加用脂肪酶制剂、蛋白酶制剂和碳水化合物水解酶制剂的生理活性评价。

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 6432 饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法
- GB/T 6433 饲料中粗脂肪的测定
- GB/T 15672 食用菌中总糖含量的测定

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

酶制剂 enzyme preparations

从生物中提取、提纯加工后的具有生物催化能力的生物制品。

注:本标准中的酶制剂特指添加到饲料或食品中提高饲料或食品消化率的生物制品,包括脂肪酶、蛋白酶或碳水化合物水解酶等酶制剂。

3.2

体外消化模型 in vitro digestion model

在生物体外采用动物或人体内相近的消化环境和消化酶系,模拟动物或人体内消化生理过程,体外评价酶制剂对底物消化生理活性影响的体系。

3.3

酶制剂生理活性 physiological activity of enzyme preparations

酶制剂在动物或人体内消化生理环境中,受温度、pH、消化酶等因素影响表现出的对底物的消化能力。

3.4

胃模拟消化液 simulated gastric fluid

模拟动物或人体胃液中的 pH、温度、离子强度及胃蛋白酶浓度设置的消化液。

3.5

肠模拟消化液 simulated intestinal fluid

模拟动物或人体肠液中的 pH、温度、离子强度及胰酶浓度设置的消化液。

4 基本要求

4.1 按照相关法律法规和标准要求对样品进行接收、保管、交接、配制、回收、退还/销毁处理,并制定相

应的管理制度和程序。

4.2 评价使用的仪器与设备种类、数量、性能、量程、精度应能满足评价的需要。

4.3 评价实验结束后,实验材料应进行无害化处理。

5 试验方法

5.1 试验设计

应符合表 1 要求。

表 1 试验设计

项目	酶制剂产品
处理设计	试样实验组、空白对照组
酶制剂选择	根据评价目标和评价需要选择一种或多种
重复次数	不少于 3 次

5.2 样品溶液制备

5.2.1 固体酶制剂

待测生物产品若为块状固体产品应进行粉碎或充分研磨处理,过 0.25 mm 孔径筛。所检测固体酶制剂如果有使用说明,按其使用说明计算 100 g 饲料或食品中所需酶制剂的量,并准确称取(若所测酶制剂无使用说明,则准确称取 50 mg 固体酶制剂),用水溶解,定容至 100 mL,配制成 0.5 mg/mL 的工作溶液备用。

5.2.2 液体酶制剂

所检测液体酶制剂如果有使用说明,按其使用说明计算 100 g 饲料或食品中所需酶制剂的量,并准确量取(若所测酶制剂无使用说明,则准确吸取 50 μ L 液体酶制剂),用水稀释成浓度为 0.5 μ L/mL 的工作溶液备用。

5.3 体外消化试验

5.3.1 试样实验组

准确称取 3.0 g 食品模拟物(淀粉+鸡蛋白+大豆油,质量比 3:1:1)或饲料模拟物(玉米+麸皮+豆粕,质量比 1:1:1),放入 50 mL 具塞三角瓶中,加入 1 mL 待测酶制剂样品溶液和 8 mL 胃电解质溶液(参见附录 A 的 A.2 或 A.3),用 1 mol/L 盐酸溶液将 pH 值调至 2.0,混合均匀,静置 10 min,加入 1 mL 体外模拟胃液(参见 A.4),混合均匀,37 $^{\circ}$ C 生化培养箱内振荡消化(120 次/min)4 h。之后,在胃模拟消化物中再加入 9 mL 肠电解质溶液(参见附录 B 的 B.2 或 B.3),用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调整 pH 值至 7.0。加入 1 mL 体外模拟肠液(参见 B.4),混合均匀,37 $^{\circ}$ C 生化培养箱内振荡消化(120 次/min)16 h。

5.3.2 空白对照组

不加酶制剂试样,而其他处理与实验组相同。

5.4 消化残渣的处理

消化结束后,三角烧瓶静置 10 min,消化产物通过布氏漏斗过滤,吸取 15 mL 丙酮清洗瓶中剩余残渣后并过滤,用丙酮清洗 3 次并抽干,将消化残渣转移入新的三角烧瓶中,105 ℃烘箱内烘干,备用。

消化残渣处理后,根据酶制剂的特性,分别进行粗蛋白、粗脂肪或总糖含量的测定。

5.5 测定

5.5.1 粗蛋白的测定

将 5.4 中烘干的残渣分别按 GB/T 6432 规定的方法进行粗蛋白含量测定,并分别计算试样实验组残渣中粗蛋白含量 W_{1i} 和空白对照组残渣中粗蛋白含量 W_{2i} 。同时,另取 5.3.1 中的食品或饲料模拟物 3.0 g,按 GB/T 6432 规定的方法进行消化处理前模拟物中粗蛋白含量 W_{0i} 测定。

5.5.2 粗脂肪的测定

将 5.4 中烘干的残渣分别按 GB/T 6433 规定的方法进行粗脂肪含量测定,并分别计算试样实验组残渣中粗脂肪含量 W_{1j} 和空白对照组残渣中粗脂肪含量 W_{2j} 。同时,另取 5.3.1 中的食品或饲料模拟物 3.0 g,按 GB/T 6433 规定的方法进行消化处理前模拟物中粗脂肪含量 W_{0j} 测定。

5.5.3 总糖的测定

将 5.4 中烘干的残渣分别按 GB/T 15672 规定的方法进行总糖含量测定,并分别计算试样实验组残渣中总糖含量 W_{1k} 和空白对照组残渣中总糖含量 W_{2k} 。同时,另取 5.3.1 中的食品或饲料模拟物 3.0 g,按 GB/T 15672 规定的方法进行消化处理前模拟物中总糖含量 W_{0k} 测定。

6 消化促进率计算

按式(1)计算:

$$P = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- P ——消化促进率,%;
 - W_0 ——未消化的饲料或食品模拟物中粗蛋白/粗脂肪/总糖的含量,单位为毫克(mg);
 - W_1 ——试样实验组残渣中饲料或食品模拟物中粗蛋白/粗脂肪/总糖的含量,单位为毫克(mg);
 - W_2 ——空白对照组残渣中饲料或食品模拟物中粗蛋白/粗脂肪/总糖的含量,单位为毫克(mg)。
- 以平行样的平均值为最终促进消化率值,计算结果保留到小数点后两位。

7 结果表述

- 7.1 生理活性评价结果以消化促进率表示。
- 7.2 应表述出评价产品的名称,生产组织名称,酶制剂的名称,使用浓度,消化残渣的粗蛋白、粗脂肪以及总糖的含量和消化促进率。

附 录 A
(资料性附录)

胃蛋白酶活力要求及体外模拟胃液的配制

A.1 胃蛋白酶

活力为 1 : 10 000 生化级胃蛋白酶(临用前可按《中华人民共和国兽药典》中规定的方法测定胃蛋白酶活力)。

A.2 胃电解质溶液(适用于饲料模拟物)

称取 3.1 g 氯化钠、1.1 g 氯化钾、0.15 g 氯化钙、0.6 g 碳酸氢钠,溶解于 1 000 mL 水中。

A.3 胃电解质溶液(适用于食品模拟物)

称取 2.0 g 氯化钠,溶解于 1 000 mL 水中。

A.4 体外模拟胃液

称取 9.0 g 胃蛋白酶,加入 100 mL 胃电解质溶液中,混合均匀,用 1 mol/L 盐酸溶液调 pH 值至 2.0。

附 录 B
(资料性附录)

胰酶活力要求及体外模拟肠液的配制

B.1 胰酶

本标准采用的胰酶应满足 40 ℃, 5 min 内, 能将其质量的 25 倍的淀粉转化成水溶性的碳水化合物; 40 ℃, 60 min 内 (pH 7.5), 消化掉其质量 25 倍的酪蛋白; 37 ℃ (pH 9.0), 每毫克胰酶每分钟能够从橄榄油中至少水解生成 2 μmol 脂肪酸。

B.2 肠电解质溶液 (适用于饲料模拟物)

称取 5.4 g 氯化钠、0.65 g 氯化钾、0.33 g 氯化钙, 溶解于 1 000 mL 水中。

B.3 肠电解质溶液 (适用于食品模拟物)

称取 6.8 g 磷酸二氢钾, 溶解于 1 000 mL 水中。

B.4 体外模拟肠液

称取 20.0 g 胰酶加入到 100 mL 肠电解质溶液中, 混合均匀, 用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调 pH 值至 7.0。