



中华人民共和国国家标准

GB/T 23535—2009

脂肪酶制剂

Lipase preparations

2009-04-27 发布

2009-11-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准以 QB 1805.4—1993《工业用脂肪酶制剂》为基础制定。

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由中国轻工业联合会提出。

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、诺维信(中国)生物技术有限公司。

本标准主要起草人：张蔚、郑海峰、郭新光、唐辰、曹振宇、康忆隆。

脂 肪 酶 制 剂

1 范围

本标准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。

本标准适用于以淀粉质(或糖质)为原料,经微生物发酵、提纯制得的中性脂肪酶制剂的生产、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 191—2008,ISO 780:1997,MOD)

GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备

GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备(GB/T 603—2002,ISO 6353-1:1982,NEQ)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

脂肪酶 lipase

能水解甘油三酯或脂肪酸酯产生单或双甘油酯和游离脂肪酸,将天然油脂水解为脂肪酸及甘油,同时也能催化酯合成和酯交换反应的酶。

3.2

脂肪酶活力 activity of lipase

脂肪酶活力以脂肪酶活力单位表示,定义为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 μmol 的可滴定的脂肪酸,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 类产品——食品工业和饲料工业用酶制剂。

B 类产品——其他工业用酶制剂。

4.2 按产品形态

固体剂型酶制剂和液体剂型酶制剂。

5 要求

5.1 外观

固体剂型:白色至黄褐色粉末或颗粒,无结块、无潮解现象。无异味。有特殊发酵气味。

液体剂型:浅黄色至棕褐色液体,允许有少量凝聚物。无异味。有特殊发酵气味。

5.2 理化要求

应符合表 1 的规定。

表 1 脂肪酶制剂的理化要求

项 目	固 体 剂 型	液 体 剂 型
酶活力 ^a /[u/mL(或 u/g)]	≥ 5 000	
干燥失重 ^b /%	≤ 8.0	—
^a 可按供需双方合同规定的酶活力规格执行。 ^b 不适用于颗粒产品。		

5.3 卫生要求

应符合国家有关规定。

6 试验方法

除非另有说明,在分析中仅使用分析纯试剂和蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。

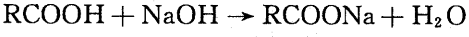
6.1 外观

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

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 计或酚酞指示液指示反应终点,根据消耗的碱量,计算其酶活力。
反应式为:



- 注 1: 酯酶的存在会使检测的脂肪酶的活力增加。蛋白酶的存在会降解脂肪酶,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。

6.2.2 仪器和设备

- 6.2.2.1 分光光度计。
- 6.2.2.2 恒温水浴:精度±0.2℃。
- 6.2.2.3 自动移液器。
- 6.2.2.4 高速匀浆机。
- 6.2.2.5 pH 计:精度为 0.01pH 单位。
- 6.2.2.6 电磁搅拌器。
- 6.2.2.7 微量滴定管:10 mL,分刻度≤0.05 mL。

6.2.3 试剂和溶液

- 6.2.3.1 聚乙烯醇(PVA):聚合度 1 750±50。
- 6.2.3.2 橄榄油:试验试剂。
- 6.2.3.3 95%(体积分数)乙醇。
- 6.2.3.4 底物溶液:

- 称取聚乙烯醇(PVA)(6.2.3.1)40 g(精确至 0.1 g),加水 800 mL,在沸水浴中加热,搅拌,直至全部溶解,冷却后定容至 1 000 mL。用干净的双层纱布过滤,取滤液备用。
- 量取上述滤液 150 mL,加橄榄油 50 mL,用高速匀浆机处理 6 min(分两次处理,间隔 5 min,每

次处理 3 min), 即得乳白色 PVA 乳化液。该溶液现用现配。

6.2.3.5 磷酸缓冲溶液(pH=7.5): 分别称取磷酸二氢钾 1.96 g 和十二水磷酸氢二钠 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 。

6.2.3.6 氢氧化钠标准溶液 [$c(\text{NaOH}) = 0.05 \text{ mol/L}$]: 按 GB/T 601 配制与标定。使用时, 准确稀释 10 倍。

6.2.3.7 酚酞指示液(10 g/L): 按 GB/T 603 配制。

6.2.4 分析步骤

6.2.4.1 待测酶液的制备

——称取酶样品 1 g~2 g, 精确至 0.000 2 g, 用磷酸缓冲液(6.2.3.5)溶解并稀释。如果样品为粉状, 可用少量磷酸缓冲液溶解后用玻璃棒捣研, 然后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, 转入高速匀浆机组织捣碎机捣研 3 min 后供测定。

——测定时控制酶液浓度, 样品与对照消耗碱量之差控制在 1 mL~2 mL 范围内。

吸取样品时, 应将酶液摇匀后再取。

6.2.4.2 测定

6.2.4.2.1 电位滴定法(第一法)

- 按 pH 计使用说明书进行仪器校正;
- 取两个 100 mL 烧杯, 于空白杯(A)和样品杯(B)中各加入底物溶液(6.2.3.4)4.00 mL 和磷酸缓冲液 5.00 mL, 再于 A 杯中加入 95%乙醇(6.2.3.3)15.00 mL, 于 $40 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中预热 5 min, 然后于 A、B 杯中各加待测酶液 1.00 mL, 立即混匀计时, 准确反应 15 min 后, 于 B 杯中立即补加 95%乙醇 15.00 mL 终止反应, 取出;
- 在烧杯中加入一枚转子, 置于电磁搅拌器上, 边搅拌, 边用氢氧化钠标准溶液(6.2.3.6)滴定, 直至 pH10.3, 为滴定终点, 记录消耗氢氧化钠标准溶液的体积。

6.2.4.2.2 指示剂滴定法(第二法)

- 取两个 100 mL 三角瓶, 分别于空白瓶(A)和样品瓶(B)中各加入底物溶液 4.00 mL 和磷酸缓冲液 5.00 mL, 再于 A 瓶中加入 95%乙醇 15.00 mL, 于 $40 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中预热 5 min, 然后于 A、B 瓶中各加待测酶液 1.00 mL, 立即混匀计时, 准确反应 15 min 后, 于 B 瓶中立即补加 95%乙醇 15.0 mL 终止反应, 取出;
- 于空白和样品溶液中各加酚酞指示液两滴, 用氢氧化钠标准溶液滴定, 直至微红色并保持 30 s 不褪色为滴定终点, 记录消耗氢氧化钠标准溶液的体积。

6.2.4.3 计算

脂肪酶制剂的酶活力按式(1)计算:

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

式中:

X_1 ——样品的酶活力, u/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;

$\frac{1}{15}$ ——反应时间 15 min, 以 1 min 计。

所得结果表示至整数。

6.2.5 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得超过算术平均值的 2%。

6.3 干燥失重

6.3.1 仪器

6.3.1.1 电热干燥箱。

6.3.1.2 分析天平:精度为 0.000 1 g。

6.3.1.3 称量瓶:50 mm×30 mm。

6.3.2 分析步骤

用烘干至恒重的称量瓶称取酶样约 2 g,精确至±0.000 2 g,置于 103℃±2℃电热干燥箱中,将盖取下,侧放在称量瓶旁,烘干 2 h,取出,加盖,放入干燥器中冷却至室温,称量。

6.3.3 计算

干燥失重按式(2)计算:

$$X_2 = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- X₂——样品的干燥失重,%;
- m₁——干燥前称量瓶加样品的质量,单位为克(g);
- m₂——干燥后称量瓶加样品的质量,单位为克(g);
- m——称量瓶的质量,单位为克(g)。

所得结果表示至一位小数。

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

- 7.2.1 取样应均匀分布在整個灌装过程中,或均匀分布于灌装后的成品中。
- 7.2.2 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。
- 7.2.3 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。批取样量不得少于 300 mL(或 300 g),不足者应按比例适当加取。

表 2 成品抽样的样本量

批量/桶或箱	样本量/桶或袋
<50	2
51~500	3
>500	4

注: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样本单位数,单位为桶或袋。

7.3 检验分类

7.3.1 出厂检验

7.3.1.1 产品出厂前,应由生产厂的质量监督检验部门按本标准规定逐批进行检验,检验合格,并附上质量合格证明的,方可出厂。

7.3.1.2 检验项目:外观、酶活力、干燥失重(固体)和 A 类产品的菌落总数。

7.3.2 型式检验

7.3.2.1 检验项目:本标准中全部要求项目。

7.3.2.2 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) 国家质量监督检验机构按有关规定需要抽检时。

7.4 判定规则

7.4.1 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。

7.4.2 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

8.1.1 产品的外包装宜使用符合 GB/T 191 要求的标志。

8.1.2 产品的包装上应贴有牢固的标签。标志内容应包括品名、产地、厂名、规格(酶活力)、生产日期、批号或代号、保质期等。

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/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。

9 保质期

9.1 在冷藏 4℃~8℃条件下,液体酶制剂保质期不少于 90 天;在 25℃下,固体酶制剂保质期不少于 180 天,企业应按上述要求具体标示。保质期内实测酶活力不应低于标示酶活力。

9.2 酶制剂是含有生物活性物质的产品。在保质期外,保存期内,酶活力可能降低,但仍具有使用价值。

附录 A

(资料性附录)

动态滴定法测定脂肪酶的酶活力

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

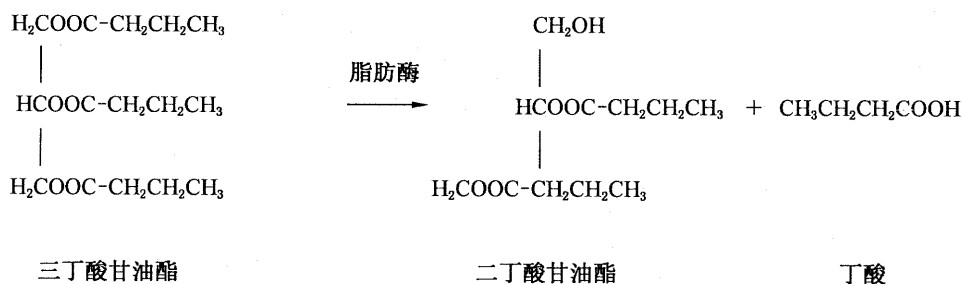
脂肪酶水解甘油三酯生成脂肪酸,使反应体系的 pH 不断下降。通过连续加入碱的方法保持反应体系的 pH 恒定。碱滴定的速率与酶活力成比例。

注 1: 酯酶的存在会使检测的脂肪酶的活力增加。蛋白酶的存在会降解脂肪酶,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: $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

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。在动态滴定仪中还要注意选择适当的 pH 电极(对 pH 值响应快)和滴定分配样品准确(特别是滴定氢氧化钠)。还要选择玻璃滴定容器(带水浴夹套)和有效的搅拌器(棒状螺旋搅拌器优于磁力搅拌),这样才构成完整的系统。

A.3.2 乳化器。

A.3.3 恒温水浴:精度 $\pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

A.3.4 温度计:精度 $\pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

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($\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_6$)。

A.4.2 氯化钠(NaCl)。

A.4.3 磷酸二氢钾(KH_2PO_4)。

A.4.4 阿拉伯胶。

A.4.5 甘氨酸($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}$)。

A.4.6 甘油[$\text{HOCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$]。

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[$c(\text{NaOH})=1\text{ mol/L}$]:按照 GB/T 601 配制。

A.4.13 氢氧化钠滴定液[$c(\text{NaOH})=0.025\text{ mol/L}$]: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[$c(\text{NaOH})=0.005\text{ mol/L}$]:取氢氧化钠滴定液(A.4.13)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 53.7 g 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 0.000 1 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,并绘制标准曲线。

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应充分搅拌均匀。

样品应最终稀释到酶活力在 1.5 u/mL~4.0 u/mL 范围内。

如可能,样品稀释完应立即测定。

A.6 分析步骤

A.6.1 系统准备

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 $30.0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

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

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 $30.0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

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。

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)。滴定曲线应有一段持续 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:

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

式中:

X_3 ——样品的酶活力,u/g;

A——稀释样品在标准曲线上读出的酶活力,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 0.14 mL/min~0.18 mL/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 的相关系数(r^2)应大于 0.999 5。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%。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
脂 肪 酶 制 剂
GB/T 23535—2009

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

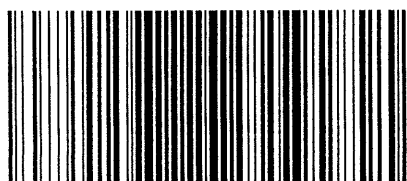
*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 19 千字
2009年7月第一版 2009年7月第一次印刷

*

书号: 155066·1-37892 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



GB/T 23535-2009

打印日期: 2009年10月14日