

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ
СТАНДАРТ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р
53973—
2010

**ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ
ДЛЯ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ**

Методы определения β-глюканазной активности

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2011

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом пищевой биотехнологии Россельхозакадемии (ГНУ ВНИИПБТ Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 176 «Спиртовая, дрожжевая и ликеро-водочная продукция»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 26 ноября 2010 г. № 541-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2011

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Методы определения β-глюканазной активности

Methods of determination of β -glucanase activity

Дата введения — 2012—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения β -глюканазной активности ферментных препаратов. Метод может быть использован для определения β -глюканазной активности ферментных препаратов и ферментсодержащих смесей, применяемых в пищевой промышленности.

П р и м е ч а н и е — β -глюканазную активность исследуемых ферментных препаратов (ФП) обеспечивают ферменты β -глюканазы эндо- и экзо-действия.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 83—79 Реактивы. Натрий углекислый. Технические условия

ГОСТ 199—78 Реактивы. Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия

ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензуруки, колбы, пробирки.

Общие технические условия

ГОСТ 2603—79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 3765—78 Реактивы. Аммоний молибденовокислый. Технические условия

ГОСТ 4165—78 Реактивы. Медь (II) сернокислая 5-водная. Технические условия

ГОСТ 4166—76 Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4201—79 Реактивы. Натрий углекислый кислый. Технические условия

ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 5845—79 Реактивы. Калий-натрий виннокислый 4-водный. Технические условия

ГОСТ 6038—79 Реактивы. D-глюкоза. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13867—68 Продукты химические. Обозначение чистоты

ГОСТ 18481—81 Ареометры и цилиндры стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 20264.0—74 Препараты ферментные. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

П р и м е ч а н и е — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **гидролиз**: Расщепление исходного соединения на более простые в присутствии молекул воды.

3.2 **ферментативный гидролиз**: Расщепление высокомолекулярных соединений при участии катализаторов белковой природы — гидролитических ферментов (гидропаз, класс 3 [1]).

3.3 **субстрат**: Соединение или вещество, на которое воздействует данный фермент.

3.4 **β-глюкан**: Высокомолекулярное соединение, полимер, в котором остатки глюкозы соединены гликозидными связями; с водой образует коллоидные растворы.

3.5 **системные названия ферментов**: Названия, указывающие природу химической реакции, катализируемой данным ферментом, в соответствии с современной классификацией (КФ), принятой Международной комиссией по ферментам.

П р и м е ч а н и е — Системные названия ферментов.

В группу β-D-глюканаз эндодействия, катализирующих расщепление β-D-глюканов, входит 6 ферментов:

- 1,4-(1,3:1,4)-β-D-глюкан-4-глюканогидролаза (КФ 3.2.1.4) [1] — эндо-1,4-β-глюканаза (целлюлаза) — гидролизует β-1,4-гликозидные связи в целлюзое, β-глюканах зерна;
- 1,3-(1,3:1,4)-β-D-глюкан-3(4)-глюканогидролаза (КФ 3.2.1.6) — эндо-1,3-β-глюканаза (ламинариназа) — катализирует расщепление внутренних β-1,3- или β-1,4-связей в β-D-глюканах;
- 1,3-β-D-глюканглюканогидролаза (КФ 3.2.1.39) — эндо-1,3-1,4-β-глюканаза (эндо-1,3-β-глюканаза) — гидролизует преимущественно внутренние 1,3-β-гликозидные связи;
- 1,3-1,4-β-D-глюкан-4-глюканогидролаза (КФ 3.2.1.73) — лихеназа — гидролизует β-1,4-гликозидные связи в β-D-глюканах, имеющих β-1,3- и β-1,4-связи;
- 1,6-β-D-глюканглюканогидролаза (КФ 3.2.1.75) — эндо-1,6-β-глюканаза — гидролизует β-1,6-связи внутри 1,6-β-D-глюканов;
- 1,2-β-D-глюканглюканогидролаза (КФ 3.2.1.71) — эндо-1,2-β-глюканаза — гидролизует внутренние β-1,2-гликозидные связи глюкана.

В группу β-D-глюканаз экзодействия входят ферменты β-D-глюкозидглюкогидролазы (КФ 3.22.1.21) — β-глюкозидазы; целобиоза, расщепляют последнюю с нередуцирующим конца β-1,4-связь в β-D-глюкозидах, высвобождая β-D-глюкозу.

4 Метод определения ферментативной активности β-глюканазы с субстратом β-глюкан

4.1 Характеристика метода

4.1.1 Метод основан на количественном определении редуцирующих (восстановливающих) сахаров, образующихся в результате действия фермента β-глюканазы на β-глюкан при температуре 50 °С.

4.1.2 За единицу β-глюканазной активности (1 ед. β-ГкС) принимают количество фермента, действующего на β-глюкан, из ячменя с высвобождением 1 мкмоля восстановливающих сахаров (в глюкозном эквиваленте), образующихся за 1 мин при стандартных условиях (температура 50 °С и значение pH 5,0).

4.1.3 Содержание редуцирующих сахаров, образующихся в результате ферментативной реакции, определяют колориметрическим методом, основанным на взаимодействии сахаров с реагентом Шомоди-Нельсона [2]. В результате этой реакции образуется соединение голубого цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию редуцирующих сахаров, образовавшихся в процессе ферментативной реакции. Интенсивность окраски полученных растворов измеряют на фотоэлектроколориметре при длине световой волны 610 нм; активность выражается в ед. β-ГкС/г или см³ испытуемого препарата.

4.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы, материалы

4.2.1 Для определения β-глюканазной активности используют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, лабораторную посуду, реактивы, материалы: