
ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(EASC)

EURO-ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(EASC)



МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
31487—
2012

ПРЕПАРАТЫ ФЕРМЕНТНЫЕ

Методы определения ферментативной активности фитазы



Издание официальное

Зарегистрирован

№ 6668

18 июня 2012 г.



Минск

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации

Предисловие

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—97 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Порядок разработки, принятия, применения, обновления и отмены».

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ») и Научно-техническим центром «Лекарства и биотехнология» (НТЦ «Лекбиотех»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 24 мая 2012 г. № 41-2012)

За принятие стандарта проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Азербайджан	AZ	Азстандарт
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных (государственных) стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация также будет опубликована в сети Интернет на сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации и в каталоге «Межгосударственные стандарты»

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным (государственным) органам по стандартизации этих государств

ПРЕПАРАТЫ ФЕРМЕНТНЫЕ

Методы определения ферментативной активности фитазы

Enzyme preparations.
Methods of phytase enzyme activity determination

Дата введения — 2013—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает методы определения ферментативной активности фитазы ферментных препаратов и ферментсодержащих смесей с использованием в качестве субстрата фитата натрия.

П р и м е ч а н и е — Фермент фитаза — мио-инозит-гексафосфат 3-фосфогидролаза (3.1.3.8) [1], катализирует гидролитическое расщепление эфиров инозита и фосфорной кислоты (фитина), начиная с положения C₃, с высвобождением фосфатов.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

- ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия
- ГОСТ 199—78 Реактивы. Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия
- ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия
- ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия
- ГОСТ 3765—78 Реактивы. Аммоний молибденовокислый. Технические условия
- ГОСТ 4198—75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия
- ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия
- ГОСТ 4461—77 Реактивы. Кислота азотная. Технические условия
- ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия
- ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия
- ГОСТ 9336—75 Реактивы. Аммоний ванадиевокислый мета. Технические условия
- ГОСТ 10931—74 Реактивы. Натрий молибденовокислый 2-водный. Технические условия
- ГОСТ 13867—68 Продукты химические. Обозначения чистоты
- ГОСТ 20264.0—74 Препараты ферментные. Правила приемки и методы отбора проб
- ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования
- ГОСТ 24147—80 Аммиак водный особой чистоты. Технические условия
- ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
- 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 (и классификаторов) на территории государства по соответствующему указателю стандартов (и классификаторов), составленному по состоянию на 1 января текущего года, по соответствующим информацион-

ным 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 два более простых в присутствии молекул воды.

3.2 **ферментативный гидролиз:** Гидролиз высокомолекулярных соединений под воздействием катализаторов белковой природы — гидролитических ферментов (гидролаз, класс 3 [1]).

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

4 Метод определения ферментативной активности фитазы с образованием молибденовой сини

4.1 Характеристика метода

4.1.1 Метод основан на количественном определении содержания неорганических фосфатов (PO_4), образующихся в результате действия фермента фитазы на субстрат — фитат натрия (натриевую соль фитиновой кислоты) при определенных стандартных условиях, путем их связывания молибдатом натрия и восстановлением двуххлористым оловом с образованием окрашенного в синий цвет комплекса — молибденовой сини.

Метод используется при возникновении разногласий в качестве арбитражного.

4.1.2 За единицу фитазной активности (1 ед. ФА) принимают количество фермента, катализирующее гидролиз фитата натрия с образованием 1 мкмоль неорганического фосфата за одну минуту в стандартных условиях (температура — 37 °С, значение pH 5,5, продолжительность гидролиза — 15 мин).

4.1.3 Интенсивность окраски измеряют фотоколориметрическим методом при длине волны от 650 до 700 нм.

4.1.4 Количество выделенных неорганических фосфатов определяют по градуировочному графику, построенному как функция оптической плотности от молярной концентрации фосфатов, мкмоль/см³.

Метод позволяет определять от 0,05 до 0,40 мкмоль/см³ фосфатов. Диапазон измерений контролируемого показателя от 500 до 8000 ед. ФА.

4.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы

4.2.1 Для определения ферментативной активности фитазы используют следующие средства измерений и оборудование:

- фотоэлектроколориметр (ФЭК) любого типа, который обеспечивает измерения при длине волны от 650 до 700 нм, с погрешностью измерения коэффициента пропускания не более 1 % (не более 0,01 единицы оптической плотности);

- pH-метр с набором электродов для измерения в диапазоне от 0 до 14 pH, с пределом допускаемой погрешности в эксплуатации $\pm 0,1$ pH;

- магнитную мешалку любой марки, которая обеспечивает скорость вращения до 800 мин⁻¹;

- ультратермостат или водяной термостат с точностью регулирования температуры ± 1 °С;

- лабораторную центрифугу любого типа, которая обеспечивает скорость вращения не менее 7000 мин⁻¹;

- весы лабораторные по ГОСТ 24104, высокого класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 200 г, ценой поверочного деления 0,1 мг и пределом допускаемой погрешности в эксплуатации $\pm 0,15$ мг; с наибольшим пределом взвешивания 1 кг, ценой поверочного деления 20 мг и пределом допускаемой погрешности в эксплуатации ± 30 мг;

- водяную баню любого типа, которая обеспечивает поддержание температуры (100 ± 1) °С;

- таймер любого типа с погрешностью ± 30 с;

- шкаф сушильный, обеспечивающий температуру нагрева (120 ± 5) °С;

- вытяжной шкаф любого типа;

- механическую мельницу, обеспечивающую размалывание исследуемого образца ферментного препарата до полного прохода пробы через сито;

- сито с диаметром отверстий 1,0 мм, сделанное из металлического проволочного тканого материала.