

20264.2-88

НИФТР и СТ КЫРГЫЗСТАНДАРТ  
**РАБОЧИЙ  
ЭКЗЕМПЛЯР**



**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ  
СОЮЗА ССР**

## **ПРЕПАРАТЫ ФЕРМЕНТНЫЕ**

**МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ  
АКТИВНОСТИ**

**ГОСТ 20264.2—88**

Издание официальное

БЗ 1—88/33

Цена 5 коп.



**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ**  
Москва

**ПРЕПАРАТЫ ФЕРМЕНТНЫЕ**

Методы определения протеолитической активности

**ГОСТ**Enzyme preparations. Methods for determination  
of proteolytic activity**20264.2—88**

ОКСТУ 9291

Срок действия с 01.01.89  
до 01.01.94

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на ферментные препараты и устанавливает методы определения протеолитической активности ферментных препаратов микробного происхождения.

**1. МЕТОД ОТБОРА ПРОБ — по ГОСТ 20264.0—74.****2. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ (ПС)  
(модифицированный метод Ансона)**

2.1. Метод основан на гидролизе казеината натрия исследуемым ферментным препаратом до пептидов и аминокислот с последующим их определением.

За единицу протеолитической активности принята способность фермента превращать за 1 мин при температуре 30°C казеинат натрия в неосаждаемое трихлоруксусной кислотой состояние в количестве, соответствующем 1 мкмолью тирозина.

Протеолитическую активность выражают числом указанных единиц в 1 г испытуемого препарата.

Активность грибных и бактериальных протсиназ определяют при значениях рН в следующих диапазонах:

2,5±0,2 и 5,5±0,2 — кислые протеиназы;

7,2±0,2 — нейтральные протеиназы;

9,5±0,2 — щелочные протеиназы.



2.2. Аппаратура, материалы, реактивы, растворы

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104—80:

2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г;

1-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г или 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 20 г.

Прибор для определения рН среды в диапазоне от 0 до 14 с погрешностью измерения  $\pm 0,1$  единиц рН.

Мешалка магнитная любого типа, обеспечивающая 3000 об/мин.

Термостат любого типа, обеспечивающий температуру нагрева  $40 \pm 0,2^\circ\text{C}$ .

Колориметр фотоэлектрический лабораторный по ГОСТ 12083—78, обеспечивающий измерения в интервалах длин волн 630—670 нм с погрешностью  $\pm 1\%$  (по коэффициенту пропускания) или  $0,01 D$  (по оптической плотности).

Секундомер по ГОСТ 5072—79.

Термометры  $0—150^\circ\text{C}$  по ГОСТ 215—73 с ценой деления  $1^\circ\text{C}$ .

Холодильник бытовой любой марки.

Электроплитка с терморегулятором по ГОСТ 14919—83.

Баня водяная любого типа.

Холодильник ХСВО 10 ХС по ГОСТ 25336—82.

Стаканы любого типа и исполнения вместимостью 100, 250, 600, 1000 и 2000 см<sup>3</sup> по ГОСТ 25336—82.

Стаканчики для взвешивания СВ-19/9 или СВ-24/10 по ГОСТ 25336—82.

Колбы типов П и Кн любого исполнения вместимостью 100, 250, 500, 1000 см<sup>3</sup> по ГОСТ 25336—82.

Колбы типов К-1—2000—45/40 ТС, К-2—200—45/40 ТС по ГОСТ 25336—82.

Колбы мерные исполнения 1 или 2, любого класса точности, наливные вместимостью 50, 100, 200, 250, 500, 1000 и 2000 см<sup>3</sup> по ГОСТ 1770—74.

Пробирки П1—16—150 ХС, П2—16—180 ХС по ГОСТ 25336—82.

Цилиндры любого исполнения вместимостью 50 и 100 см<sup>3</sup> по ГОСТ 1770—74.

Пипетки любого исполнения вместимостью 1, 2, 5 и 10 см<sup>3</sup> по ГОСТ 20292—74.

Бюретки по ГОСТ 20292—74.

Воронки стеклянные типа В по ГОСТ 25336—82.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026—76.

Кислота уксусная по ГОСТ 61—75, раствор концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>.

Кислота ортофосфорная по ГОСТ 6552—80, раствор с массовой долей кислоты 85% и раствор концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>.

Кислота борная по ГОСТ 9656—75, раствор концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>.

Натрий вольфрамвокислый 2-водный по ГОСТ 18289—78.

Натрий молибденовокислый по ГОСТ 10931—74.

Литий сероокислый.

Кислота соляная по ГОСТ 3118—77, концентрированная, раствор концентрацией 1 моль/дм<sup>3</sup> и 0,2 моль/дм<sup>3</sup>.

Бром по ГОСТ 4109—79.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328—77, раствор концентрацией 1 моль/дм<sup>3</sup> и 0,1 моль/дм<sup>3</sup>.

Натрий казеиновокислый (казеинат натрия).

Натрий углекислый по ГОСТ 83—79, раствор концентрацией 0,5 моль/дм<sup>3</sup>.

Тирозин.

Кислота трихлоруксусная (ТХУ).

Фенолфталеин по ГОСТ 5850—72.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72.

#### Примечания:

1. Все реактивы должны быть марки х. ч. или ч. д. а., кроме трихлоруксусной кислоты, которая используется марки ч.

2. Допускается использование импортной посуды и приборов с аналогичными техническими характеристиками.

### 2.3. Подготовка к испытанию

2.3.1. *Приготовление универсального буферного раствора Уб<sub>1</sub> концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>.*

Для приготовления универсального буферного раствора Уб<sub>1</sub> готовят растворы концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>: уксусной кислоты (раствор А), ортофосфорной кислоты (раствор В) и борной кислоты (раствор С) и смешивают их в равных соотношениях. Получают буферный раствор с рН 1,8. Добавляя к этой смеси различные объемы раствора гидроокиси натрия концентрацией 1 моль/дм<sup>3</sup> получают буферные растворы:

а) рН реакционной смеси  $2,5 \pm 0,2$  и  $5,5 \pm 0,2$  (для кислых протеиназ);

б) рН реакционной смеси  $7,2 \pm 0,2$  (для нейтральных протеиназ);

в) рН реакционной смеси  $9,5 \pm 0,2$  (для щелочных протеиназ).

2.3.2. *Приготовление универсального буферного раствора Уб<sub>2</sub> концентрацией 0,5 моль/дм<sup>3</sup>.*

Для приготовления универсального буферного раствора Уб<sub>2</sub> готовят растворы А, В и С концентрацией 0,5 моль/дм<sup>3</sup> и смешивают их в равных соотношениях.

2.3.3. *Приготовление универсального буферного раствора Уб<sub>3</sub> концентрацией 0,01 моль/дм<sup>3</sup>*