

НИФТР и СТ КЫРГЫЗСТАНДАРТ

**РАБОЧИЙ
ЭКЗЕМПЛЯР**



**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР**

ПРЕПАРАТЫ ФЕРМЕНТНЫЕ

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АМИЛОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

ГОСТ 20264.4—89

Издание официальное



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ

Москва

5 коп. БЗ 3—89/249

ПРЕПАРАТЫ ФЕРМЕНТНЫЕ**Методы определения амилолитической активности**

Enzyme preparations. Methods for the determination of amylase activity

ГОСТ**20264.4—89**

ОКСТУ 9291

Срок действия с 01.07.90
до 01.07.95**Несоблюдение стандарта преследуется по закону**

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

1. МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ

Методы отбора проб — по ГОСТ 20264.0.

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИЛОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ (АС)

2.1. Метод основан на гидролизе крахмала ферментами амилолитического комплекса до декстринов различной молекулярной массы.

Амилолитическая активность характеризует способность амилолитических ферментов катализировать гидролиз крахмала до декстринов различной молекулярной массы и выражается числом единиц указанных ферментов в 1 г препарата.

За единицу амилолитической активности (АС) принята способность фермента при определенных значениях температуры, рН и времени действия катализировать до декстринов различной молекулярной массы 1 г крахмала, что составляет 30% крахмала, введенного в реакцию.

2.2. Аппаратура, материалы, реактивы

Весы лабораторные общего назначения не ниже 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104.

Колориметр фотоэлектрический лабораторный (фотоэлектроколориметр) по ГОСТ 12083, обеспечивающий измерения в интервалах длин волн 434—450 нм и 630—670 нм с погрешностью $\pm 1\%$ абс. (по коэффициенту пропускания) или 0,01 D (по оптической плотности) или спектрофотометр.

Прибор для измерения рН среды в диапазоне 0—14 с погрешностью измерения $\pm 0,1$ рН.

Термостат или ультратермостат, обеспечивающий температуру нагрева $(30,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$.

Баня водяная.

Мешалка магнитная.

Термометры по ГОСТ 215 с пределами измерения 0—55 $^\circ\text{C}$ и ценой деления шкалы не более 0,1 $^\circ\text{C}$.

Холодильник бытовой.

Стаканчики для взвешивания по ГОСТ 25336.

Стаканы вместимостью от 100 до 2000 см³ по ГОСТ 25336.

Колбы типа Кн вместимостью от 100 до 2000 см³ по ГОСТ 25336.

Колбы мерные наливные 1 или 2-го исполнения вместимостью 100, 200, 250 и 1000 см³ по ГОСТ 1770.

Воронки типа В по ГОСТ 25336.

Пипетки 1, 2 и 3-го исполнения вместимостью от 0,5 до 20 см³ и 100 см³ по ГОСТ 20292.

Пробирки П1—21—200, или П1—16—150, или П2—19—180, или П2—16—150(180) по ГОСТ 25336.

Бюретка типа I; 1, 2 или 3-го исполнения по ГОСТ 20292.

Эксикатор по ГОСТ 25336.

Секундомер по ГОСТ 5072.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Крахмал растворимый по ГОСТ 10163.

Ацетатный буферный раствор с рН 4,7, приготовленный по ГОСТ 4919.2.

Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный по ГОСТ 4172, раствор молярной концентрацией $\frac{1}{15}$ моль/дм³.

Калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198, раствор соляной концентрацией $\frac{1}{15}$ моль/дм³.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, раствор молярной концентрацией вещества эквивалента 0,1 моль/дм³, приготовленный по ГОСТ 4919.2.

Иод по ГОСТ 4159.

Калий йодистый по ГОСТ 4232.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Примечания:

1. Все реактивы должны быть квалификации ч., х. ч. или ч. д. а.
 2. Допускается использование импортной посуды и приборов с метрологическими характеристиками и реактивов с квалификацией не ниже отечественных.

2.3. Подготовка к анализу

2.3.1. Приготовление раствора крахмала с массовой долей 1% (субстрата)

($1,00 \pm 0,01$) г крахмала, взятого с учетом влажности, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, добавляют 25 см³ воды и перемешивают. Затем добавляют в колбу еще 25 см³ воды, помещают колбу в кипящую водяную баню не менее чем на 10—15 мин, непрерывно перемешивая содержимое до полного растворения крахмала. После этого содержимое колбы охлаждают, добавляют 10 см³ ацетатного буферного раствора с рН 4,7 (для препаратов грибного происхождения), фосфатного буферного раствора с рН 6,0 (для препаратов бактериального происхождения) или фосфатного буферного раствора с рН 5,6 (для препаратов из дрожжевых микроорганизмов). Объем жидкости доводят до метки дистиллированной водой и содержимое колбы перемешивают. Раствор должен быть прозрачным.

Раствор крахмала готовят в день проведения анализа.

2.3.2. Приготовление фосфатного буферного раствора с рН 5,6 и рН 6,0

Смешивают растворы фосфорнокислого натрия и фосфорнокислого калия концентрацией $\frac{1}{15}$ моль/дм³ в соотношении 0,5 : 9,5 (для рН 5,6) и 1 : 9 (для рН 6,0).

Величину рН проверяют на приборе. В случае отклонения рН буфера от требуемого, соответствующими растворами доводят его до нормы.

2.3.3. Приготовление основного раствора йода

0,50 г йода и 5,00 г йодистого калия растворяют в бюксе с притертой крышкой в небольшом количестве воды.

Содержимое перемешивают на магнитной мешалке при плотно закрытой крышке бюкса.

Раствор после полного растворения йода переносят в мерную колбу с притертой крышкой вместимостью 200 см³ и объем доводят дистиллированной водой до метки.

Основной раствор йода хранят в течение 1 мес в склянке из темного стекла с притертой пробкой.

2.3.4. Приготовление рабочего раствора йода

2 см³ основного раствора йода разводят раствором соляной кислоты концентрацией 0,1 моль/дм³ при анализе препаратов грибного происхождения и концентрацией 0,5 моль/дм³ — препаратов бактериального происхождения с предполагаемой активностью больше 50 ед/см³ в мерной колбе вместимостью 100 см³.