
ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(EASC)

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



МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
31662–
2012

ПРЕПАРАТЫ ФЕРМЕНТНЫЕ

Методы определения ферментативной активности целлюлазы

Издание официальное



Зарегистрирован

№ 6884

" 13 " августа 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 1.2–2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила 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 по переписке (протокол от 20 июля 2012 года №50ПЕР)

За принятие 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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

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 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 целлюлазы**

Enzyme preparation.
Methods of cellulasa enzyme activity determination

Дата введения — 2014—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает методы определения ферментативной активности целлюлазы ферментных препаратов с использованием двух субстратов: хроматографической бумаги и натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы.

Методы, установленные в настоящем стандарте, могут быть также использованы для определения ферментативной активности целлюлазы ферментсодержащих смесей, в т.ч. кормовых смесей и кормов.

Примечания

1 Активность целлюлазы (целлюлолитическую активность) природных объектов обеспечивает комплекс, содержащий, в основном, три типа ферментов: эндо-1,4-β-глюканазы, экзо-1,4-β-глюканазы и β-глюкозидазы.

2 Системные названия ферментов:

- эндо-1,4-β-глюкан-4-глюканогидролазы (КФ 3.2.1.4) катализируют расщепление целлюлозы с образованием крупных фрагментов;
- экзо-1,4-β-глюканцеллобиогидролазы (КФ 3.2.1.91) отщепляют целлобиозу от нередуцирующего конца молекул целлюлозы и их фрагментов;
- экзо-1,4-β-глюкан-4-глюкогидролазы (КФ 3.2.1.74) отщепляют глюкозу от нередуцирующего конца цепей;
- β-глюкозидглюкогидролазы (КФ 3.2.1.21), или β-глюкозидазы (целлобиазы) катализируют гидролиз целлобиозы.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие 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 4206—75 Реактивы. Калий железосинеродистый. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. 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 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. 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 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1:1981) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов по указателю «Национальные стандарты», составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим 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 применяют 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).

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

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

3.5 целлюлоза: Высокомолекулярное соединение, полимер глюкозы.

3.6 целлюлолитический комплекс ферментов: Комплекс гидролитических ферментов, расщепляющий целлюлозу до конечного продукта — глюкозы.

4 Метод определения ферментативной активности целлюлазы с использованием субстрата хроматографической бумаги

4.1 Характеристика метода

4.1.1 Метод основан на количественном определении восстанавливающих сахаров, образующихся в результате гидролиза целлюлозы хроматографической бумаги под действием ферментов целлюлолитического комплекса.

Метод используется при возникновении разногласий в качестве арбитражного.

4.1.2 За единицу целлюлолитической активности (1 ед. ЦлА) принято количество ферментов, которое катализирует гидролиз целлюлозы хроматографической бумаги с образованием 1 мкмоль восстанавливающих сахаров (в пересчете на глюкозу) за 1 ч при температуре 50 °С и рН 4,7.

4.1.3 Содержание восстанавливающих сахаров, образующихся в результате ферментативной реакции, определяют колориметрическим методом с использованием реактива динитросалициловой кислоты или калия железосинеродистого (красной кровяной соли, калия феррицианида, калия гексацианоферрата) и рассчитывают по градуировочному графику, построенному для глюкозы. Диапазон измерений контролируемого показателя 0,5 — 25,0 ед. ЦлА.

4.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы

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

- фотоэлектроколориметр (ФЭК) или спектрофотометр (СФ) любого типа, которые обеспечивают измерения при длине волны 540 нм и погрешностью измерения коэффициента пропускания не более 1 % (не более 0,01 D (ед. ОП));

- рН-метр любого типа для измерения в диапазоне от 0 до 14 рН, с пределом допускаемой погрешности в эксплуатации $\pm 0,1$ ед. рН;

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

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

- весы лабораторные высокого или специального класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и ценой поверочного деления 0,1 мг по ГОСТ 24104;

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

- секундомер механический с пределом измерений 60 мин с ценой деления 0,2 с;