



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 28715—2012

---

## 饲料添加剂酸性、中性蛋白酶活力的测定 分光光度法

Determination of acidic and neutral protease activity in feed additives—  
Spectrophotometric method

2012-09-03 发布

2013-02-01 实施

---

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)归口。

本标准起草单位:农业部农产品及转基因产品质量安全监督检验测试中心(杭州)、浙江大学饲料科学研究所、武汉新华扬生物有限公司。

本标准主要起草人:王小骊、柳爱春、邹晓庭、吴琪、赵芸、朱加虹、陈小丽、周樱、谢红云。

# 饲料添加剂酸性、中性蛋白酶活力的测定

## 分光光度法

### 1 范围

本标准规定了饲料添加剂酸性和中性蛋白酶活力的测定方法。

本标准适用于饲料添加剂酸性、中性蛋白酶产品中酶活力的测定,以及复合酶产品中中性蛋白酶活力的测定。

本标准定量限为 500 U/g(U/mL)。

### 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**酸性、中性蛋白酶活力单位** **acidic and neutral protease active unit**

在一定温度( $40\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ )和相应的 pH 条件下(酸性蛋白酶 pH3.0,中性蛋白酶 pH7.2),在 1 min 内水解酪蛋白产生相当于  $1\text{ }\mu\text{g}$  酚基氨基酸(由酪氨酸等同物表示)的酶量,为 1 个酶活单位,以 U 表示。

### 4 原理

蛋白酶在一定的温度和 pH 条件下,水解酪蛋白底物产生含有酚基的氨基酸(如:酪氨酸、色氨酸),在碱性条件下,可将福林试剂(Folin)还原,生成钼蓝与钨蓝,其颜色的深浅与酚基氨基酸含量成正比。通过在 680 nm 测定其吸光度,得到酶解产生的酚基氨基酸的量,进而计算蛋白酶活力。

### 5 试剂和材料

除非另有说明,在分析中使用的试剂均为分析纯,水均为符合 GB/T 6682 规定的二级水。

#### 5.1 碳酸钠溶液 [ $c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 0.4\text{ mol/L}$ ]

称取无水碳酸钠( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )42.4 g,用水溶解并定容至 1 000 mL。

#### 5.2 三氯乙酸溶液 [ $c(\text{CCl}_3\text{—COOH}) = 0.4\text{ mol/L}$ ]

称取三氯乙酸 65.4 g,用水溶解并定容至 1 000 mL。