

《辣椒素合成酶活力的测定》中国产学研合作促进会团体标准编制说明

一、工作简况

（一）任务来源

辣椒素是辣椒中特有的一种生物碱类植物次生代谢产物，在食品、保健、医药、农业和军事等领域都具有重要应用前景。辣椒素合成酶（capsaicin synthase, CS）催化辣椒素合成过程最后一步反应，即8-甲基-6-壬烯基CoA与香兰素胺合成辣椒素，被认为是辣椒素合成调控的关键酶。研究辣椒素合成酶活力与辣椒素含量的关系，可为丰富不同辣椒类型的辣椒素合成酶的基因资源和通过基因工程方法调控辣椒素含量打下基础。

对于辣椒素合成酶活力的测定，由于缺乏统一的标准，使得在进行生化实验中难以确保实验数据的重复性、科学性和准确性。因此建立辣椒素合成酶活力检测方法标准十分重要。研制辣椒素合成酶活力的测定标准将为辣椒素合成酶的生产、流通及监管提供依据，促进我国辣椒素合成酶相关的食品、保健、医药等工业的健康发展，具有重要的现实意义。根据行业的现实需求，中国标准化研究院于2024年3月提出《辣椒素合成酶活力的测定》团体标准计划，并牵头承担标准起草任务。

2024年5月，经中国产学研合作促进会组织专家通过批准立项，立项名称为《辣椒素合成酶活力的测定》。

（二）标准的起草单位及起草人

本标准起草单位：

本标准主要起草人：

（三）主要工作过程

1. 预阶段

2024年3月至2024年5月标准起草单位组织相关技术人员对《辣椒素合成酶活力的测定》标准项目进行了预研，对辣椒素合成酶的活力测定条件进行了摸索，初步确立了辣椒素合成酶活力的测定方法。标准起草组向中国产学研合作促进会提交了标准建议书与标准草案，进行申报立项。

2. 立项阶段

2024年5月，中国产学研合作促进会正式通过本团体标准的立项。

3. 起草阶段

针对该标准项目，正式成立了标准起草工作小组，明确了任务要求，安排了工作进度，根据单位参与的人员的专业、技能、人数将任务合理分配。依据GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》对标准草案进一步完善的同时，开展技术指标的实验验证工作。

在此期间，通过线上和线下会议结合的形式开展了3次工作会议。会议就标准制定的相关问题进行了协商与研究，并对标准的框架及内容进行了认真研究和讨论。由此形成了最终的《辣椒素合成酶活力的测定》团体标准征求意见稿和编制说明。

二、确定标准主要技术内容

（一）标准编制原则

坚持严要求、适宜性与可操作性相结合的原则。严要求即标准的编制严格遵循GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》及相关法规的要求进行；适宜性既要充分考虑到本行业的发展现状与特点，又要有一个适宜的范围与程度，从而提高标准贯彻实施的可操作性。

（二）本标准主要技术内容

1. 主体内容

本标准的主体内容包括：范围、规范性引用文件、术语和定义、原理、试剂、仪器设备、试样制备和试验步骤、试验数据处理以及精密密度。

2. 范围

本文件描述了测定辣椒素合成酶活力的方法。本文件适用于生化试剂及科研试验中辣椒素合成酶活力的测定。

3. 规范性引用文件

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

GB/T 21266 辣椒及辣椒制品中辣椒素类物质测定及辣度表示方法

4. 术语和定义

对辣椒素合成酶活力单位进行了定义，是在37℃、pH 6.8的条件下，每小时生成1 μmol辣椒素所需的酶量为一个酶活力单位，其单位

为U。

5. 原理

辣椒素合成酶催化香兰素胺和8-甲基-6-壬烯酰CoA反应生成辣椒素，通过高效液相色谱测定辣椒素的生成量，来计算酶活力。

6. 试剂

本标准给出了辣椒素合成酶的测定方法中所使用的试剂的清单，包括香兰素胺、乙酰CoA、ATP、8-甲基-6-壬烯酸、磷酸钾缓冲液、盐酸溶液、氯仿、甲醇、辣椒素标准品，以及辣椒素合成酶的反应底物溶液。描述了试剂的主要特性，并给出了溶液的制备方法。

由于酶活会受到反应底物浓度、pH以及温度的影响，在测定不同反应底物浓度，不同pH以及不同温度的辣椒素合成酶活力的基础上，合理确定了辣椒素合成酶活力测定的底物溶液的相关参数。辣椒素合成酶的反应底物溶液含0.5 M磷酸钾缓冲液，pH 6.8，1 μ M MgCl₂，1 μ M ATP，5 μ M香兰素胺，5 μ M 8-甲基-6-壬烯酸和5 μ M 乙酰CoA。

7. 仪器设备

本标准给出了辣椒素合成酶活力的测定方法中所使用的仪器设备的清单，并描述了主要特性。仪器设备包括分析天平、pH计、恒温水浴锅、高效液相色谱仪以及移液器。

8. 试样制备和试验步骤

使用移液器移取适量辣椒素合成酶液体样品溶于水中进行稀释，使待测酶液活力控制在15 U/mL以下。

酶活的测定步骤为：将适量酶液加入1 mL反应底物中开始反应，

反应混合物在37℃±1℃温育2小时后，用0.5 M HCl终止反应。反应产物用氯仿萃取浓缩后溶于100 μL甲醇，以HPLC测定辣椒素的含量。辣椒素含量的测定是按照GB/T 21266中的方法进行测定。

9. 试验数据处理

试样中辣椒素合成酶活力按式（1）计算：

$$X = \frac{1000 \times C \times V_1 \times D}{M \times t \times V_2} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

- X ——辣椒素合成酶活力，单位为酶活力单位每毫升（U/mL）；
- C ——HPLC测定的辣椒素含量，单位为微克每毫升（μg/mL）；
- V_1 ——HPLC测定中用于溶解辣椒素的甲醇的体积，单位为毫升（mL）；
- V_2 ——酶活力测定中加入酶液的体积，单位为微升（μL）；
- M ——辣椒素的分子量（取值为305.4）；
- t ——反应时间，单位为小时；
- D ——稀释倍数；

以三次平行测定结果的算数平均值作为最终的酶活力测定值，计算结果保留三位有效数字。

10. 精密度

取同一样品，相同条件下连续测定3次，结果如表1所示。辣椒素合成酶活力的RSD为8.64%，说明重复性好。基于以上重复性结果，在标准文本中规定了精密度为：在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算数平均值10%。

表 1 重复性条件下的酶活测定数据

酶	酶活 1 (U/mg)	酶活 2 (U/mg)	酶活 3 (U/mg)	平均酶活 (U/mg)	RSD
辣椒素合成酶	0.18	0.19	0.16	0.18	8.64%

（三）本标准制定参考的主要依据

本标准制定过程中参考了以下相关标准：GB/T 33409-2016《β-半乳糖苷酶活力检测方法 分光光度法》、GB/T 34222-2017《核糖核酸酶活力检测方法》、GB/T 35538-2017《工业酶制剂测定技术导则》。

三、主要试验（验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果；

（一）主要试验（验证）的分析

起草组依据标准草案中拟定的辣椒素合成酶的活力检测方法开展了验证实验。对不同的辣椒素合成酶样品A、B进行了活性检测，根据检测结果分析，辣椒素合成酶A、B的酶活力测定结果分别为0.50 U/mg和0.12 U/mg。

（二）技术经济评估

本标准主要描述了辣椒素合成酶活力的测定方法，这将填补我国在辣椒素合成酶活力的测定方法标准的空白，为检测辣椒素合成酶活力提供一个切实可行的参考依据和评判标准。本标准的贯彻实施将规范行业的技术应用，产生良好的社会效益与经济效益。

四、采用国际标准或国外文件的程度及水平的简要说明；

本标准在制定过程中未采用国际标准或国外文件。

五、重大分歧意见的处理经过和依据；

本标准在制定过程中无重大分歧性意见。

六、贯彻团体标准的要求和措施建议(包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容);

(一) 组织措施

在中国产学研合作促进会的组织协调下,以标准起草组成员为主,成立标准宣贯小组。

(二) 技术措施

组织撰写标准宣贯材料,组织标准宣贯培训,争取标准颁布实施后尽快在中国产学研合作促进会推广。

七、其他应予说明的事项。

无。

标准起草组

2024年7月