

ICS 07.080

CCS A40

团 体 标 准

T/ CAB

辣椒素合成酶活力的测定

Determination of the activity of
capsaicin synthase

(征求意见稿)

20XX-XX-XX 发布

20XX-XX-XX 实施

中国产学研合作促进会 发布



版权保护文件

版权所有归属于该标准的发布机构。除非有其他规定，否则未经许可，此发行物及其章节不得以其他形式或任何手段进行复制、再版或使用，包括电子版，影印件，或发布在互联网及内部网络等。使用许可可于发布机构获取。

目 次

前 言	III
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 原理.....	1
5 试剂.....	1
6 仪器设备.....	2
7 试样制备和试验步骤.....	2
7.1 试样酶液的制备.....	2
7.2 辣椒素合成酶活力的测定.....	2
7.3 辣椒素含量的测定.....	2
8 试验数据处理.....	3
9 精密度.....	3

前 言

本文件按照 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》的规定起草。

本文件由中国标准化研究院提出。

本文件由中国产学研合作促进会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

辣椒素合成酶活力的测定

1 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。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件。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

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

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

辣椒素合成酶活力单位 capsaicin synthase activity unit

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，单位为U。

4 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。

5 试剂

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的二级水。

5.1 香兰素胺：CAS 号 7149-10-2，纯度≥98%。

5.2 乙酰 CoA：CAS 号 102029-73-2，纯度≥93%。

5.3 ATP：CAS 号 987-65-5，纯度≥98%。

T/ CAB

- 5.4 8-甲基-6-壬烯酸：CAS 号 59320-77-3，分析纯。
- 5.5 磷酸钾缓冲液：500 mmol/L，pH 6.8。
- 5.6 盐酸溶液：500 mmol/L。
- 5.7 氯仿：色谱纯。
- 5.8 甲醇：色谱纯。
- 5.9 辣椒素标准品：纯度 \geq 95%。
- 5.10 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。

使用分析天平准确称取 0.095 mg MgCl₂、0.551 mg ATP、0.948 mg 香兰素胺、0.851 mg 8-甲基-6-壬烯酸和4.378 mg 乙酰CoA溶解在950 mL的磷酸钾缓冲液（5.5）中，转移至1 L 容量瓶定容，充分混匀，现用现配。

6 仪器设备

- 6.1 分析天平：感量为 0.001 mg。
- 6.2 pH 计：精度为 0.01。
- 6.3 恒温水浴锅：温度精度为 1 °C。
- 6.4 高效液相色谱仪（HPLC）：配备紫外检测器。
- 6.5 移液器：1 000 μ L。

7 试样制备和试验步骤

7.1 试样酶液的制备

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。

7.2 辣椒素合成酶活力的测定

将适量酶液加入1 mL反应底物溶液中开始反应，反应混合物在37 °C \pm 1 °C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 μ L甲醇，以HPLC测定辣椒素的含量。

7.3 辣椒素含量的测定

按照GB/T 21266中的方法测定辣椒素的含量。

8 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。

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过算数平均值的10%。