

指管好。

文献记载^[5]聚丙烯熔点 176℃, 静弯曲强度 675kg/cm², 压缩强度 560kg/cm², 吸水率(24h) 0.03%, 内圆光洁度 △8, 并能耐受酸、碱、氯仿等有机溶剂。我们经过几十次反复试验也证实聚丙烯离心管在 110℃, 6N HCl 密闭条件下加热 24 小时, 均未发现有变形熔化等现象, 确保样品。所以用聚丙烯离心管代替玻璃指管用于蛋白质水解是一个比较简便实用的方法。

参 考 文 献

- [1] Blackburn, S. et al.: *Amino Acid Determination Methods and Techniques*, 2nd. ed., 1978, p.61.
- [2] Beckman Instruction Company: *Beckman 119 CL Amino Acid Analyzer Instruction Manual*, 1977, P.4—2.
- [3] Beckman Instruction company: *Beckman 119 CL Amino Acid Analyzer Instruction Manual*, 1977, P.7—2, 3—1.
- [4] 方深高:《蛋白质化学讲义》, 上册, 1981, p.61.
- [5] 丁浩主编:《塑料加工基础》, 上海科学技术出版社, 1981, p.307.

[本文于 1984 年 10 月 15 日收到]

过 氧 化 物 酶 活 性 测 定

朱 展 才

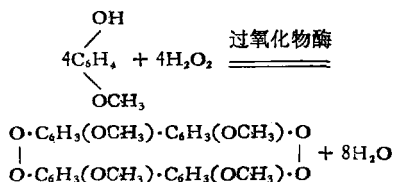
(南京粮食经济学院)

过氧化物酶是卟啉环中含有铁的蛋白质, 存在于所有的谷物中, 与谷物的呼吸作用有关, 是谷物品质变化的指标之一。

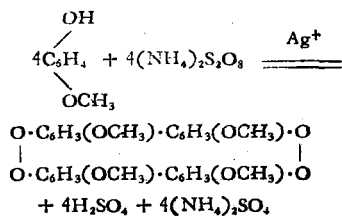
通常测定过氧化物酶活性的方法重复性不好。本文报道我们对下述方法[注1]的改进和发展, 实际应用证实, 改进的方法操作方便灵敏度高, 结果准确。

一、方 法 原 理

有过氧化物酶存在时, 愈创木酚能被过氧化氢氧化成四愈创木酚:



溶液呈橙色或橙红色。而在有银离子存在时, 愈创木酚也能被过硫酸铵氧化成四愈创木酚:



在 20℃ 条件下, 15 分钟以内, 过氧化物酶的活性和银离子的浓度是一致的, 因此, 根据银离子的标准曲线, 即可求出过氧化物酶的活性。

二、测 定 方 法

1. 标准曲线: 在一组 25ml 比色管中 (1—5 号), 分别加入硝酸银标准溶液 (0.0787g AgNO₃/100ml H₂O) 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0ml, 补加水至 8ml, 再加入 1 毫升 0.3% 愈创木酚, 混匀, 将试管浸入 20℃ 水浴中, 待试管内溶液达到 20℃ 后, 迅速地同时向各管加入 1ml 3% 过硫酸铵溶液, 立即摇匀并浸入 20℃ 水浴中, 15 分钟 (从加入过硫酸铵算起) 时, 立即同时加入 2.0 毫升 0.54N 硫酸并摇匀。在波长 475nm 处, 用 1 厘米比色槽, 以水做参比, 测定吸光度, 绘制标准曲线。

2. 过氧化物酶活性的测定: 称取 1—4 克 (视酶活性而定) 粉碎试样于 150ml 有塞三角瓶中, 加入 50ml 5% 硝酸钙 (或氯化钙) 溶液, 振荡 15 分钟后静置 20 分钟。过滤, 吸取滤液 1—8ml (视酶活性大小而定), 补加水至 8ml, 再加入 1ml 0.3% 愈创木酚, 摇匀并浸入 20℃ 的水浴中, 待试液达到 20℃ 后, 加入 1ml 0.05N 过氧化氢溶液, 立即摇匀并浸入 20℃ 水浴中, 从加入过氧化氢时算起, 15 分钟后准时立即加入 2ml 丙酮并摇匀, 然后测定吸光度 (颜色物同上述标准液一样在一段时间内稳定)。用此吸光度在标准曲线上找出相当的

(下转第72页)

表 1

	α 螺旋		β 折叠		无规卷曲	
	预 测	晶体分析	预 测	晶体分析	预 测	晶体分析
牛胰蛋白酶抑制剂	1—8	3—6	17—24	16—24	9—16	7—15
	45—52	46—56	29—36	27—36	25—28	25—26
			53—56	无	37—44	37—45
牛胰核糖核酸酶	5—12	3—13	41—48	41—48	1—4	无
	25—36	24—35	无	60—65	13—24	14—23
	49—60	50—59	69—76	69—76	37—40	36—40
			81—88	79—87	61—68	66—68
			97—112	96—110	77—80	77—78
			117—124	116—124	89—96	88—95
					113—116	111—115

对戚正武教授的支持,李世武和宣建成两同志所给予的帮助,一并致谢。

参 考 文 献

- [1] 王大成:《生物化学与生物物理进展》,1981年,1期,26页。
 [2] Chou, P. Y. and Fasman, G. D.: *Ann. Rev. Biochem.*, **47**, 251, 1978.
 [3] Chou, P. Y. and Fasman, G. D.: *Adv. Enzymology*, **47**, 45, 1978.
 [4] Blow, D. M.: *Biochem. J.*, **112**, 261, 1969.
 [5] Mathews, F. S., Levine, M. and Argos, P.: *J.*

Mol. Biol., **64**, 449, 1972.

- [6] Wyckoff, H. W., et al.: *J. Biol. Chem.*, **245**, 305, 1970.
 [7] Shotton, D. M. and Watson, H. C.: *Nature*, **225**, 811, 1970.
 [8] Chou, P. Y. and Fasman, G. D.: *Biochemistry*, **13**, 222, 1974.
 [9] Tou, J. T. and Gonzalez, R. C.: *Pattern Recognition Principles*, 1975.

[本文于1984年3月26日收到]

(上接第80页)

银量,最后按下式计算过氧化物酶的活性:

$$A = \frac{50 \times 2.53 \times C}{15 \times V \times W} = \frac{2.53 \times C}{3 \times V \times W}$$

式中 A: 20℃ 下过氧化物酶的活性(1克试样所含酶在1分钟内氧化愈创木酚的微克分子数)。

C: 从标准曲线上找出的银浓度(mg/12ml 显色液)。

V: 显色用的试样提取液毫升数。

W: 试样重量(克)。

50: 试样提取液毫升数。

15: 酶作用时间(分)。

2.53: 20℃ 下1毫克银存在时,15分钟所氧化的愈创木酚微克分子数。

三、方法精密度

取同一试样,用同样条件重复测定多次,结果见表1。

表 1: 大米中过氧化物酶的活性

测定次数	测定结果 x_i	均差 $x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	标准差 S
1	0.66	-0.02	0.0004	0.029
2	0.69	+0.01	0.0001	
3	0.66	-0.02	0.0004	
4	0.67	-0.01	0.0001	
5	0.72	+0.04	0.0016	
6	0.73	+0.05	0.0025	
7	0.66	-0.02	0.0004	
8	0.66	-0.02	0.0004	
$n = 8$	$\bar{x} = 0.68$		$\Sigma(x_i - \bar{x})^2 = 0.0059$	$S = \sqrt{\frac{0.0059}{7}}$

表1说明此法测定的结果波动性小,准确性好。

[注1]《植物生物化学分析方法》[苏] X. H. 波钦诺克著。

[本文于1984年1月9日收到]