



青霉素 G 酰化酶

1 原理

本方法是根据青霉素 G 酰化酶在 pH8.0, 28℃ 条件下, 水解青霉素 G 钾盐时, 生成等摩尔数的苯乙酸, 用碱精确滴定苯乙酸, 测得酶的活性。

2 仪器

2. 1 恒温水浴, 温度控制在 28℃;

2. 2 pH 计

2. 3 分析天平

3 试剂和溶液

3. 1 0.1M NaOH, 按 GB601 配制, 标定。

3. 2 0.02M, pH8.0 磷酸缓冲液配制:

3. 2. 1 溶解 0.68g KH₂PO₄ 于 250ml 的蒸馏水中;

3. 2. 2 溶解 2.28g K₂HPO₄ 于 500ml 的蒸馏水中;

3. 2. 3 用溶液 3. 2. 1 来调节 3. 2. 2 的 pH 值使其达到 8.0.

3. 3 10%青霉素钾盐溶液的配制

称取青霉素钾盐溶液 50.0 克, 溶于大约 400ml 0.02M, PH8.0 的磷酸缓冲液溶液中, 并用 0.1M 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 8.0, 再用 0.02M, pH8.0 磷酸缓冲液

将青霉素钾盐溶液定容至 500ml, 在 4℃低温下保存, 在 24 小时内使用, 使用前

置 28℃水浴预热。

3. 4 0.01M pH8.0 磷酸盐缓冲液的配制

0.02M 稀释 1 倍使用。

4. 青霉素酰化酶的酶活性测定:

4.1 测定操作过程

准确量取适量青霉素 G 酰化酶 (0.1ml) 置烧杯中, 加入 0.02M 磷酸盐缓冲液 50ml, 预热至 28℃, 加入已经预热至 28℃的青霉素溶液 20ml, 保持 28℃恒温。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

0.1M 氢氧化钠滴定, 适当控制滴定速度保持 pH8.0 反应 10 分钟。并记录反应 0

到 10 分钟的氢氧化钠溶液的消耗数。

4.2 酶活性的计算

酶活性的计算取反应 0 到 10 分钟线性范围内的氢氧化钠溶液消耗数, 并按下列公式计算

$$\text{酶活性 (u/ml)} = V * N * 1000 / V_s$$

说明: (1) V 为测定时间内 NaOH 消耗的毫升数;

(2) N 为标定的 NaOH 摩尔浓度

(3) 1000 为折算摩尔浓度换算系数;

(4) T 为测定反应的时间

(5) 、V_s 为供试样品体积;

(6) 酶活性定义为: 每分钟水解青霉素 G 1 μmol 的酶活为一个单位;