

ICS 07.080  
CCS A 40



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 46387—2025

## 硫酸软骨素酶活力的测定

Determination of the activity of chondroitinase

2025-10-05 发布

2026-05-01 实施

国家市场监督管理总局  
国家标准化管理委员会 发布

## 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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)提出并归口。

本文件起草单位：清华大学、河北省食品检验研究院、中国测试技术研究院、清华大学深圳国际研究生院、北京衍微科技有限公司、苏州世谱检测技术有限公司、清华大学北京清华长庚医院、苏州大学、深圳市第二人民医院、中国生化制药工业协会、中国生物发酵产业协会、中国计量测试学会。

本文件主要起草人：王怡、邢新会、张岩、周李华、张翀、张微微、苏楠、王苗苗、卢剑、杜岩、蒋绚、顾大勇、王旭、李卫峰、张真庆、徐冰、杨扬仲夫、胡文言、周斌、王晋、王洁。

# 硫酸软骨素酶活力的测定

## 1 范围

本文件描述了测定硫酸软骨素酶活力的分光光度法。

本文件适用于生化试剂硫酸软骨素酶 AC 和硫酸软骨素酶 B 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

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

#### 硫酸软骨素酶活力单位 chondroitinase activity unit

1 000  $\mu\text{L}$  底物溶液(5.2.2、5.2.3)在 30  $^{\circ}\text{C}$ 、pH 7.5 的条件下,每分钟酶解产生 1  $\mu\text{mol}$  4,5-不饱和糖醛酸所需的酶量。

注: 酶活力单位以 IU 表示,  $1 \text{ IU} = 1.667 \times 10^{-8} \text{ mol/s}$ 。

## 4 原理

硫酸软骨素酶催化底物硫酸软骨素钠或硫酸皮肤素裂解,会生成裂解产物 4,5-不饱和糖醛酸。  
4,5-不饱和糖醛酸在波长 232 nm 具有特征吸收峰。通过测定 232 nm 处的吸光度变化,结合 4,5-不饱和糖醛酸在 232 nm 的摩尔消光系数,计算酶活力。

## 5 试剂和材料

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 试剂

5.1.1 硫酸软骨素钠(CAS 号 9082-07-9): 纯度  $\geqslant 99\%$ , 或经国家认证并授予证书的标准物质/标准样品。

5.1.2 硫酸皮肤素(CAS 号 54328-33-5): 纯度  $\geqslant 99\%$ , 或经国家认证并授予证书的标准物质/标准样品。

5.1.3 盐酸(HCl)。

5.1.4 三羟基甲基氨基甲烷(Tris)。

5.1.5 氯化钙( $\text{CaCl}_2$ )。

5.1.6 氯化钠( $\text{NaCl}$ )。

## 5.2 试剂配制

### 5.2.1 盐酸溶液(6 mol/L)

准确量取盐酸(5.1.3)50 mL, 置于100 mL容量瓶中, 加水稀释定容至刻度, 摆匀。

### 5.2.2 硫酸软骨素酶 AC 反应底物溶液(硫酸软骨素钠 1 g/L, $\text{CaCl}_2$ 20 mmol/L, $\text{NaCl}$ 50 mmol/L)

准确称取 Tris(5.1.4) 0.303 g、 $\text{CaCl}_2$ (5.1.5)0.111 g、 $\text{NaCl}$ (5.1.6)0.146 g、硫酸软骨素钠(5.1.1)0.017 g, 用水溶解并转移至 50 mL 容量瓶中, 用盐酸溶液(5.2.1)调节 pH 至 7.5, 用水稀释定容至刻度, 混匀。

### 5.2.3 硫酸软骨素酶 B 反应底物溶液(硫酸皮肤素 1 g/L, $\text{CaCl}_2$ 20 mmol/L, $\text{NaCl}$ 50 mmol/L)

准确称取 Tris(5.1.4) 0.303 g、 $\text{CaCl}_2$ (5.1.5)0.111 g、 $\text{NaCl}$ (5.1.6)0.146 g、硫酸皮肤素(5.1.2)0.017 g, 用水溶解并转移至 50 mL 容量瓶中, 用盐酸溶液(5.2.1)调节 pH 至 7.5, 用水稀释定容至刻度, 混匀。

## 6 仪器和设备

6.1 紫外-可见分光光度计: 带控温比色皿槽, 波长精度 1 nm, 吸光度分辨力 0.001。

6.2 分析天平: 分度值分别为 1 mg 和 0.1 mg。

6.3 pH 计: 精度 0.01。

6.4 磁力搅拌器。

6.5 石英比色皿: 具盖, 1 cm。

6.6 容量瓶: 50 mL、100 mL。

6.7 烧杯: 50 mL、1 000 mL。

6.8 量筒: 50 mL。

6.9 移液器: 10  $\mu\text{L}$ 、100  $\mu\text{L}$ 、1 000  $\mu\text{L}$ 。

## 7 试验步骤

### 7.1 试样制备

按照样品标称酶活力, 移取硫酸软骨素酶液体样品或称取硫酸软骨素酶固体样品(精确至 0.000 1 g)适量, 用水溶解并稀释至 1.5 IU/mL~9.0 IU/mL, 待测。

### 7.2 测定

准确移取 1 000  $\mu\text{L}$  反应底物溶液于石英比色皿(6.5)中, 置于分光光度计的温控比色皿槽内, 待温度稳定于 30 ℃ ± 1 ℃后, 迅速加入 10  $\mu\text{L}$  待测液, 加盖颠倒混匀后立即放入分光光度计, 在 232 nm 扫描 20 min, 保存吸光度曲线。



## 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应超过算术平均值的 10%。

---

