

## 果胶酶活性检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1132

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

果胶酶（pectinase）是分解果胶的酶类，包括原果胶酶，果胶酯酶，多聚半乳糖醛酸酶和果胶裂解酶四大类，广泛存在于高等植物果实和微生物中，是水果加工中最重要的酶。

果胶酶水解果胶生成半乳糖醛酸，半乳糖醛酸与DNS试剂反应生成在540nm有特征吸收峰的棕红色物质，测定540nm处吸光值变化可计算得果胶酶活性。

### 产品内容：

提取液：液体100mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体25mL×1瓶，4℃保存。若溶液中有不溶解物质，可以50℃水浴溶解。

试剂二：液体20mL×1瓶，4℃避光保存。

标准品：粉剂×1支，10mg半乳糖醛酸，4℃保存。临用前加入0.943mL蒸馏水，配成50μmol/mL的标准液。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、粗酶液提取：

组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆，然后10000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。

菌类：按照细胞数量（10<sup>4</sup>个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后10000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。

液体：直接检测。

#### 二、测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
2. 将50μmol/mL标准液用蒸馏水稀释为10、8、6、4、2、1μmol/mL的标准溶液备用。
3. 取40μL样本沸水浴10min备用。
4. 操作表：（在1.5mL离心管中）

试剂名称（μL）	对照管	测定管	标准管	空白管
试剂一	200	200	200	200
50℃水浴温育5min				
标准溶液	-	-	40	-
样本	-	40	-	-
蒸馏水	-	-	-	40



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

煮沸样本	40	-	-	-
混匀, 50℃水浴反应30min, 马上沸水浴5min, 冷却后8000g, 常温离心10min, 取上清。				
上清液	150	150	150	150
试剂二	150	150	150	150
沸水浴5min, 冰浴冷却终止反应, 吸取200μL于微量玻璃比色皿或96孔板中测定540nm处吸光值A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ , $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管。				

### 三、果胶酶活性计算

#### 1. 标准曲线的绘制:

以各个标准溶液的浓度为x轴, 其对应的 $\Delta A$ 标准为y轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程 $y=kx+b$ , 将 $\Delta A$ 带入方程得到x ( $\mu\text{mol/mL}$ )

#### 2. 果胶酶活性的计算:

##### (1) 按蛋白浓度计算

酶活定义: 在50℃, pH3.5条件下, 每毫克蛋白每小时分解果胶产生1 $\mu\text{mol}$ 半乳糖醛酸为1个酶活力单位。

果胶酶活性 ( $\text{U/mg prot}$ ) =  $x \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 2x \div C_{\text{pr}}$ 。

##### (2) 按样本质量计算

酶活定义: 在50℃, pH3.5条件下, 每克样品每小时分解果胶产生1 $\mu\text{mol}$ 半乳糖醛酸为1个酶活力单位。

果胶酶活 ( $\text{U/g 鲜重}$ ) =  $x \times V_{\text{提取}} \div W \div T = 2x \div W$ 。

##### (3) 按照细胞数量计算

酶活定义: 在50℃, pH3.5条件下, 每 $10^4$ 个细胞每小时分解果胶产生1 $\mu\text{mol}$ 半乳糖醛酸为1个酶活力单位。

果胶酶活 ( $\text{U}/10^4\text{cell}$ ) =  $x \times V_{\text{提取}} \div T \div \text{细胞数量 (万个)} = 2x \div \text{细胞数量 (万个)}$ 。

##### (4) 按液体体积计算

酶活定义: 在50℃, pH3.5条件下, 每mL样本每小时分解果胶产生1 $\mu\text{mol}$ 半乳糖醛酸为1个酶活力单位。

果胶酶活 ( $\text{U/mL}$ ) =  $x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 2x$ 。

V提取: 提取液体积, 1mL; V样: 加入的样品体积, 0.04mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间: 0.5h。

### 注意事项:

1. A大于1.5时, 建议将样品用提取液稀释后再进行测定。
2. 植物果实组织建议将样本稀释10倍或20倍后再测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com