

菠萝蛋白酶检测试剂盒（福林微板法）

产品货号: BA1567

产品规格: 100T

产品简介:

菠萝蛋白酶(Bromelain)简称菠萝酶, 亦称凤梨酶、凤梨酵素等, 是存在于菠萝植株中的蛋白水解酶, 可从菠萝果茎、叶、皮提取出来, 经精制、提纯、浓缩、酶固定化、冷冻干燥而得到, 菠萝蛋白酶已被广泛应用于食品、医药等行业。利用吸附力、离子键、共价键等不同的联结方式, 将酶与不溶性载体联结, 制成固定化酶, 可以很好的避免酶的失活, 易于储存运输。

菠萝蛋白酶检测试剂盒(福林微板法)检测原理是通过蛋白酶催化底物酪蛋白水解生成酪氨酸, 酪氨酸含有酚羟基, 可与福林试剂发生福林反应, 即福林试剂在碱性条件下容易定量的被酚类化合物还原, 生成钨蓝和钼蓝的混合物, 呈现不同深浅的蓝色。于酶标仪680nm处检测吸光度, 吸光度的大小与酪氨酸含量的多少有关, 吸光大说明酪氨酸含量高, 也就是说菠萝蛋白酶分解的酪蛋白多, 酶活性高。该试剂盒主要用于检测植物组织尤其是菠萝匀浆液中菠萝蛋白酶活性。该试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

产品名称	100T	保存条件
试剂(A): 组织匀浆液	500ml	4°C
试剂(B): Bromelain Lysis buffer	500ml	4°C, 避光
试剂(C): Bromelain洗脱液	100ml	4°C
试剂(D): 酪氨酸标准(0.1mg/ml)	1ml	4°C, 避光
试剂(E): 酪蛋白溶液	10ml	4°C
试剂(F): 酪蛋白终止液	30ml	室温, 避光
试剂(G): Bromelain Assay buffer	20ml	室温
试剂(H): 福林试剂	4ml	4°C, 避光

自备材料:

1. 蒸馏水
2. 研钵或匀浆器、离心管、低温离心机、试管
3. 酶标板、酶标仪、水浴锅或恒温箱

操作步骤(仅供参考):

1. 准备样品:

①植物样品: 取10g菠萝肉或植物组织, 切碎后在研钵或匀浆器中加入等体积组织匀浆液进行研磨或匀浆, 4°C静置30min, 滤纸或4~6层纱布过滤, 留取滤液, 边搅拌边加入10ml Bromelain Lysis buffer, 搅拌约10min, 4°C静置1h, 4°C4000r/min离心7~10min, 弃上清液, 收集沉淀, 加入2~3倍体积的Bromelain洗脱液, 搅拌洗脱20min。再次4°C4000r/min离心7~10min, 取上清液, -20°C冻存, 用于菠萝蛋白酶的检测。

②固定化酶: 称取适量的固定化酶, 溶解于0.5ml组织匀浆液, 混匀, -20°C冻存待用。

③高活性样品: 如果样品中含有较高活性的菠萝蛋白酶, 可以使用蒸馏水或组织匀浆液进行恰当的稀释。

2. 处理待测样品: 取两支离心管, 按下表顺序依次操作。含有测定液和对照液的离心管室温放置15min, 3000r/min离心7~10min, 分别取上清液待用。



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

单位: ml	样品对照孔
待测样品 (提前40°C孵育)	0.1
酪蛋白终止液 (提前40°C孵育)	0.3
摇匀灭活。	
酪蛋白溶液 (提前40°C孵育)	0.1
混匀后40°C准确孵育10min。	

单位: ml	样品测定孔
待测样品 (提前40°C孵育)	0.1
酪蛋白溶液 (提前40°C孵育)	0.1
混匀后40°C准确孵育10min。	
酪蛋白终止液 (提前40°C孵育)	0.3
摇匀灭活。	

3. 稀释系列酪氨酸标准: 取适量的酪氨酸标准(0.1mg/ml), 按下表配制不同浓度的酪氨酸标准备用。

加入物质(μl)	1	2	3	4	5
酪氨酸标准(0.1mg/ml)	10	20	30	40	50
蒸馏水	40	30	20	10	0
酪氨酸浓度(mg/ml)	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1

4. Bromelain加样: 取96孔板, 按照下表设置空白孔、标准孔、样品对照孔、样品测定孔, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。如果样品中的菠萝蛋白酶活性过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定, 样品的检测最好能设置2平行管, 求平均值。

加入物质(μl)	空白孔	标准孔	样品对照孔	样品测定孔
蒸馏水	35	-	-	-
系列酪氨酸标准(1~5号)	-	35	-	-
对照液	-	-	35	-
测定液	-	-	-	35
Bromelain Assay buffer	175	175	175	175
福林试剂	35	35	35	35

5. Bromelain测定: 充分混匀, 40°C孵育显色15min, 以对照孔调零, 酶标仪测定680nm处测定孔的吸光度; 同时以空白孔调零, 酶标仪测定680nm处系列酪氨酸标准(1~5号)孔的吸光度。

计算:

以系列酪氨酸标准(1~5号)浓度(mg/ml)为横坐标, 对应的吸光度值为纵坐标, 绘制酪氨酸标准曲线, 通过样品测定管的吸光度, 在标准曲线上查得各测定孔中酪氨酸浓度。菠萝蛋白酶活性单位的定义: 在40°CpH7.0时, 每分钟水解酪蛋白产生1μg酪氨酸所需的酶量为一个活性单位。其比活力定义: 每毫克蛋白所含蛋白酶活力单位的数量。

$$\text{菠萝蛋白酶(U)} = (\text{测定液的酪氨酸浓度} \times 1000) / 15$$

式中: 测定管的酪氨酸浓度单位为mg/ml

1000=μg与mg的单位换算

15=孵育时间15min



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

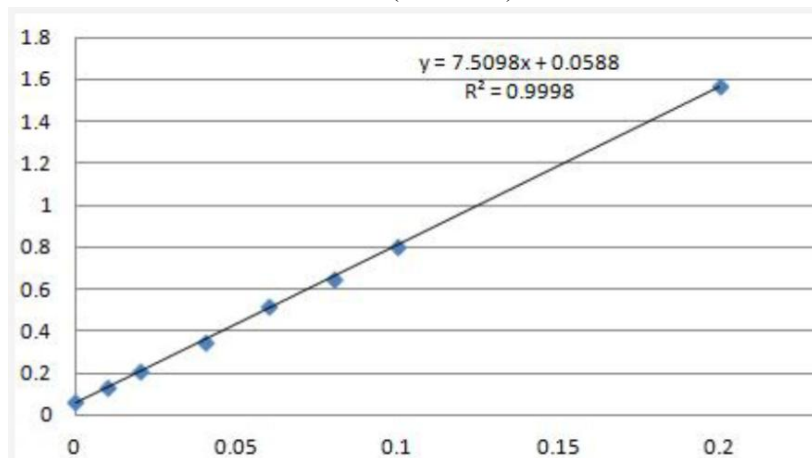
邮箱: zzlybio@126.com

注意事项:

1. 待测样品中不能含有酶抑制剂, 同时需避免反复冻融。
2. 菠萝蛋白酶提取时, 注意低温操作, 防止酶活性, 亦可-20°C保存。
3. 如果没有酶标仪, 也可以使用分光光度计测定。每次检测指标不宜过多, 否则操作时间不一, 有可能导致样本间的差异。
4. 离心时最好采用低温离心机, 常温离心机也可。
5. 酪蛋白终止液有一定腐蚀性, 请小心操作。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 6个月有效。4°C运输, 4°C保存。

附录: 标准曲线制作: 乐业参考说明书操作, 用酶标仪630nm对系列酪氨酸标准(0、0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.20mg/ml)进行吸光度的测定, 其标准曲线如下(仅供参考):



注意: 由于检测仪器和操作手法等条件的不同, 标准曲线会有差异, 该值仅供参考, 根据乐业测定经验显示酪氨酸标准浓度在0.002mg/ml以下, 0.30mg/ml以上, 标准曲线会有偏差。



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