

柠檬苦素转化酶活性试剂盒（微板法）

产品货号：BA2728

产品规格：96样

产品简介：

以柠檬苦素为代表的三萜化合物是柑橘类水果在加工过程中产生“后苦味”的主要原因，采用酶法转化使柠檬苦素的含量降低是目前较适合果汁加工业的方法。柠檬苦素转化酶的活性大小与消耗掉的柠檬苦素含量成正比，柠檬苦素与Ehrlich试剂形成稳定的红色配合物，测定其吸光度OD值变化，即可得出柠檬苦素转化酶的活性大小。

测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存温度	备注
提取液	液体110mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×1瓶	2-8℃	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部，再加4.8mL试剂二溶解备用。
试剂二	液体10mL×1瓶	2-8℃	
试剂三	三A：mg×1支 三B：液体8mL×3瓶	2-8℃	临用前甩几下使试剂落入底部，再向三A中加0.5mL水溶解备用。再向一瓶三B中加40μL的三A混匀后做为试剂三使用(该混合液有挥发性和弱酸性，操作过程可戴上手套谨慎操作)
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	若重新做标曲则用到该试剂。

所需的仪器和用品：

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、UV板、石油醚、研钵和冰。

柠檬苦素转化酶测定：

1、样本制备：

① 组织样本：称取0.1g，加入1mL石油醚进行研磨匀浆，12000rpm，25℃离心10min，弃上清(尽量保留沉淀)，再加入1mL石油醚重复以上操作，最后一步沉淀中加入1mL提取液，涡旋震荡混匀，12000rpm，4℃离心10min，取上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

② 细菌或细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约500万细菌或细胞，加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞(冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次)；12000rpm，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③ 液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热30min，调节波长到500nm。

② 所有试剂解冻至室温(25℃)：在EP管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	30	
试剂一	40	40
试剂二	30	60
混匀，室温孵育20min (间隔5min混匀一次)		
试剂三	200	200
混匀，室温孵育30min，吸取200μL至UV板中于500nm处读值， $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$ 。		

【注】1.空白管只需最后一步孵育即可。样本管加完试剂二出现分层是正常现象，按说明书继续操作即可。



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

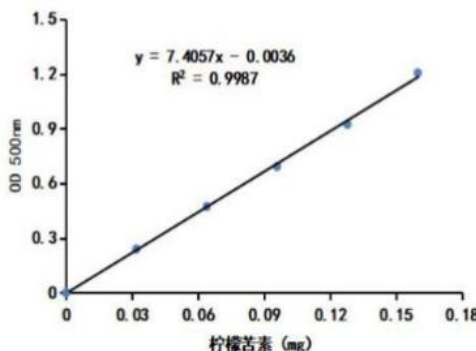
Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

2. 若 ΔA 较小，可以增加反应时间T(如从20min增至40min)，或增加样本量V1(由30 μ L增至60 μ L，则试剂二相应减少)，则改变后的T和V1需重新代入公式计算。
3. ΔA 最好控制在标准曲线的线性范围内，若 ΔA 值超过1.2，可对样本进行稀释再测定；或减少样本量V1(如减至10 μ L，则试剂二相应增加)；或减少反应时间T(如从20min减至10min)，则改变后的T、V1和稀释倍数D需重新代入公式计算。
4. 样本上清液颜色较深时可做对照管(与样本管同步增加或减少加样体积)：30 μ L样本+70 μ L试剂二+200 μ L试剂三，孵育30min，于500nm处读值， $\Delta A=A_{\text{空白}}-(A_{\text{测定}}-A_{\text{对照}})$ 。

结果计算：

1. 标准曲线方程为 $y=7.4057x-0.0036$ ；x为标准品质量(mg)，y为 ΔA 。



2. 按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每小时分解1mg柠檬苦素定义为一个酶活单位(U)。

$$\begin{aligned} \text{柠檬苦素转化酶活性}(\text{mg/h/g重量}) &= [(\Delta A + 0.0036) \div 7.4057] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 13.5 \times (\Delta A + 0.0036) \div W \times D \end{aligned}$$

3. 按照样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每小时分解1mg柠檬苦素定义为一个酶活单位(U)。

$$\begin{aligned} \text{柠檬苦素转化酶活性}(\text{mg/h/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0036) \div 7.4057] \div (Cpr \times V1) \div T \times D \\ &= 13.5 \times (\Delta A + 0.0036) \div Cpr \times D \end{aligned}$$

4. 按细胞数量计算：

酶活定义：每1万细胞数量每小时分解1mg柠檬苦素定义为一个酶活单位(U)。

$$\begin{aligned} \text{柠檬苦素转化酶活性}(\text{mg/h}/10^4\text{cell}) &= [(\Delta A + 0.0036) \div 7.4057] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 13.5 \times (\Delta A + 0.0036) \div 500 \times D \end{aligned}$$

5. 按液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体每小时分解1mg柠檬苦素定义为一个酶活单位(U)。

$$\begin{aligned} \text{柠檬苦素转化酶活性}(\text{mg/h/mL}) &= [(\Delta A + 0.0036) \div 7.4057] \div V1 \div T \times D \\ &= 13.5 \times (\Delta A + 0.0036) \times D \end{aligned}$$

W---样品质量，g；V--提取液体积，1mL；V1---上清液体积(mL)，0.03mL；T--反应时间，20min=1/3h；D---稀释倍数，未稀释即为1；500---细胞数量，万；Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的BCA蛋白质含量测定试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 标准品浓度：称取4mg标准品至E管中，加入1mL试剂二溶解成4mg/mL。
2. 把标准品稀释成以下浓度梯度的标准品：0,0.8,1.6,2.4,3.2,4mg/mL。
3. 在UV板中依次加入40 μ L标准品+60 μ L试剂二+200 μ L试剂三，孵育30min后于500nm处读取吸光值；根据结果即可制作标准曲线。



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