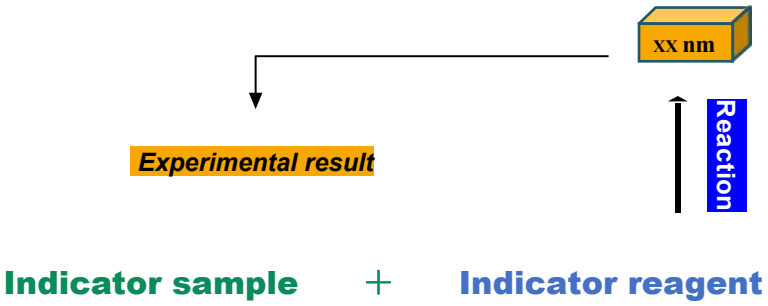
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0437　　规格：100管/48样

果胶酶检测试剂盒说明书

微量法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

测定意义

果胶酶（pectinase）是一类分解果胶质酶类的总称，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，广泛存在于植物果实和微生物中，主要用于食品、酿酒、环保、医药、纺织及日化用品行业。

测定原理

果胶酶水解果胶生成半乳糖醛酸，具有还原性醛基，与DNS试剂反应生成红棕色物质，在540nm有特征吸收峰，测定540nm处吸光值变化可计算得果胶酶活性。

自备实验用品及仪器

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、恒温水浴锅。

试剂组成和配制

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	--
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃避光保存	--

酶液提取

1. 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。10000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量（10^4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。
3. 细胞培养液等：直接检测。

测定操作表

	对照管	测定管
试剂一（μL）	80	80
50℃水浴温育 5min		
样本（μL）		20
煮沸样本（μL）	20	
混匀，50℃水浴反应 30min		
试剂二（μL）	100	100
沸水浴 5min，冰浴冷却终止反应，8000rpm，4℃，离心10min，蒸馏水调零，取上清于微量石英比色皿或96孔板测定540nm处吸光值A，△A=A测定管-A对照管。		

酶活性计算公式

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线：y=0.1544x-0.1537，R^2=0.9996

按照蛋白浓度计算

酶活性定义：在 50℃，pH3.5条件下，每毫克蛋白每小时分解果胶产生1mg半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

果胶酶活性（mg/h/mg prot）=(△A+0.1537) ÷0.1544×V 反总÷（V 样×Cpr）÷T

= 129.53×(△A+0.1537)÷Cpr

2. 按照样本质量计算

酶活性定义：在50℃，pH3.5条件下，每克样本每小时分解果胶产生1mg半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

果胶酶活性（mg/h/g）=(△A+0.1537) ÷0.1544×V 反总÷（V 样×W÷V 样总）÷T

= 129.53×(△A+0.1537)÷W

3. 按细胞数量计算

酶活性定义 ： 在50℃，pH3.5条件下，每10^4细胞每小时分解果胶产生1mg半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

果胶酶活性（mg/h /10^4cell）=(△A+0.1537) ÷0.1544×V反总÷（V样×细胞数量÷V样总）÷T=

129.53×(△A+0.1537)÷细胞数量

4. 细胞培养液

酶活性定义 ： 在50℃，pH3.5条件下，每毫升培养液每小时分解果胶产生1mg半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

果胶酶活性（mg/h/mL）=(△A+0.1537) ÷0.1544×V 反总÷V 样÷T

=129.53×(△A+0.1537)

V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应中样本体积，0.02mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W，样本质量，g；T：反应时间，0.5h

b. 用96孔板测定的计算公式如下

标准曲线：y=0.0772x-0.1537，R^2=0.9996

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：在 50℃，pH3.5条件下，每毫克蛋白每小时分解果胶产。生1mg半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

果胶酶活性（mg/h/mg prot）=(△A+0.1537) ÷0.1544×V 反总÷（V 样×Cpr）÷T

= 259.06×(△A+0.1537)÷Cpr

2. 按照样本质量计算

酶活性定义：在 50℃，pH3.5条件下，每克样本每小时分解果胶产生1mg半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

果胶酶活性（mg/h/g）=(△A+0.1537) ÷0.1544×V 反总÷（V 样×W÷V 样总）÷T

= 259.06×(△A+0.1537)÷W

3. 按细胞数量计算

酶活性定义：在 50℃，pH3.5 条件下，每 10^4细胞每小时分解果胶产生1mg半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

果胶酶活性（mg/h /10^4cell）=(△A+0.1537) ÷0.1544×V 反总÷（V样×细胞数量÷V 样总）÷T=

259.06×(△A+0.1537)÷细胞数量

4. 细胞培养液

酶活性定义 ： 在 50℃，pH3.5条件下，每毫升培养液每小时分解果胶产生1mg半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

果胶酶活性（mg/h/mL）=(△A+0.1537) ÷0.1544×V 反总÷V 样÷T

=259.06×(△A+0.1537)

V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应中样本体积，0.02mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；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. 试剂一若有沉淀析出，请置于50℃加热溶解。
2. 测定之前请先做预实验，如果吸光值较高或较低，请用提取液做适当的稀释或者加大样本量，并在计算公式中乘以稀释倍数或者以实际加入的样本体积参与计算。
3. 煮沸样本建议在沸水中煮沸10分钟，以将酶彻底灭活。