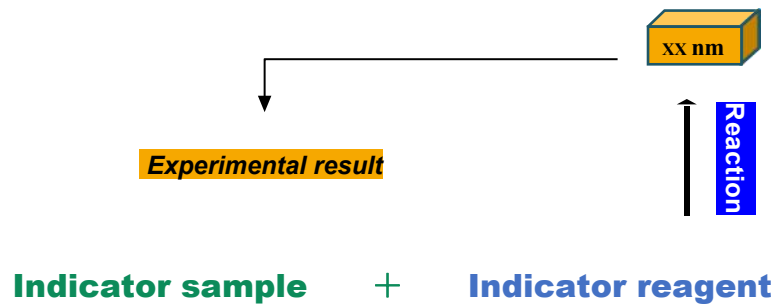


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 果胶酶活性检测试剂盒说明书

### 可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 40mL×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 40mL×1 瓶	4℃避光保存	-
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	10mg 半乳糖醛酸，临用前加入 0.943mL 蒸馏水，配成 50μmol/mL 的标准液。

产品说明：

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。

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、1mL 玻璃比色皿、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 ( $10^4$  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。

液体：直接检测。

二、测定步骤：

- 1、分光光度计预热 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 6、5、4、3、2、1 μmol/mL 的标准溶液备用。
- 3、取 125μL 样本沸水浴 10min 备用。

4、操作表：(在 1.5mL 离心管中)

	对照管	测定管	标准管	空白管
试剂一 (μL)	500	500	500	500
50°C 水浴温育 5min				
标准溶液 (μL)	-	-	125	-
样本 (μL)	-	125	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	125
煮沸样本 (μL)	125	-	-	-
混匀, 50°C 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 (μL)	500	500	500	500
试剂二 (μL)	500	500	500	500
沸水浴 5min, 冰浴冷却终止反应, 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°C, 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。

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

(2) 按样本质量计算

酶活定义: 在 50°C, 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。

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

(3) 按照细胞数量计算

酶活定义: 在 50°C, 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。

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

(4) 按液体体积计算

酶活定义: 在 50°C, 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。

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

V 提取: 提取液体积, 1mL; V 样: 加入的样品体积, 0.125mL; 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。