

果胶酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1254

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织、细菌、细胞培养液等液体样本

产品简介

测定原理

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。主要用于食品、酿酒、环保、医药、纺织及日化用品行业。本试剂盒提供了一种简单的检测方法，可检测样本中果胶酶活性，其原理是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

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	100mL×1 瓶	100mL×2 瓶	4℃保存
试剂一	10mL	20mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃保存
DNS 试剂	10mL	20mL	4℃避光保存
标准品	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）及水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：临用前每瓶加入 7.5mL 试剂一，50℃加热溶解，用不完的试剂 4℃保存一周。

DNS 试剂：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

标准品：10mg 半乳糖醛酸，使用时加入 0.943mL 去离子水，配成 50 μmol/mL 的标准贮备液。取 10 μL 50 μmol/mL 的标准贮备液，加入 40 μL 去离子水，充分混匀，配制成 10 μmol/mL 标准液使用，现用现配。

样本制备

组织：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆。10000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

细菌：收集 500 万细菌细胞加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 3min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s）；然后 10000g，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。

细胞培养液等：直接检测。

产品说明书

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用BCA法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热30min以上，调节波长到540nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 煮沸样本的准备：取200μL样本至新的EP管中，沸水浴5min，冷却至室温后，8000g 4℃离心10min，取上清作为对照管的煮沸样本待测。
3. 操作表（在EP管中按照如下方式加样）：

	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)	对照管 (μL)
试剂二	0	0	120	120
50℃水浴5min				
去离子水	150	120	0	0
标准液	0	30	0	0
样本	0	0	30	0
煮沸样本（沸水浴5min）	0	0	0	30
混匀 50℃水浴反应30min				
DNS试剂	150	150	150	150

充分混匀，沸水浴5min，冰浴冷却终止反应，8000g，4℃，离心10min，取200μL于到96孔板或微量玻璃比色皿中测定540nm处吸光度，空白孔记为A_空，标准孔记为A_标，测定孔记为A_测。计算 $\Delta A_{测}=A_{测}-A_{对}$ ， $\Delta A_{标}=A_{标}-A_{空}$ （空白管和标准管只需测定1次，每个测定管需设一个对照管）。

注意：。实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{测}$ 小于0.001可适当加大样本量。如果 ΔA 大于1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

果胶酶活性的计算：

1. 按样本质量计算

酶活定义：在50℃，pH3.5条件下，每克样本在反应体系中每小时分解果胶产生1μmol半乳糖醛酸为1个酶活力单位。

果胶酶活性 (U/g 质量) = $C_{标} \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \times V_{反总} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 100 \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \div W$

2. 按照细菌数量计算

酶活定义：在50℃，pH3.5条件下，每10⁴个细菌在反应体系中每小时分解果胶产生1μmol半乳糖醛酸为1个酶活力单位。

果胶酶活性 (U/10⁴ cell) = $C_{标} \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \times V_{反总} \div (500 \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 0.2 \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标})$

3. 按蛋白浓度计算

酶活定义：在50℃，pH3.5条件下，每毫克蛋白在反应体系中每小时分解果胶产生1μmol半乳糖醛酸为1个酶活力单位。

果胶酶活性 (U/mg prot) = $C_{标} \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \times V_{反总} \div (Cpr \times V_{样}) \div T = 100 \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \div Cpr$

4. 按液体体积计算

酶活定义：在50℃，pH3.5条件下，每mL样本在反应体系中每小时分解果胶产生1μmol半乳糖醛酸为1个酶活力单位。

果胶酶活性 (U/mL) = $C_{标} \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \times V_{反总} \div V_{样} \div T = 100 \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标})$

C_标：标准液浓度，10μmol/mL；V_{反总}：反应体系总体积，0.15mL；V_样：加入的样本体积，0.03mL；V_{样总}：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，0.5h；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；500：细菌数量，500万。

产品说明书

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1250 可溶性果胶（WSP）检测试剂盒（微量法）
- PMK1253 原果胶检测试剂盒（微量法）
- PMK1255 果胶裂解酶检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

