



单宁酶活性检测试剂盒

Tannase Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



单宁酶活性检测试剂盒

Tannase Activity Assay Kit

一、产品描述

单宁酶又称单宁酯酰水解酶，是对酯基具有专一性催化活性的水解酶，能够水解没食子酸单宁的酯键和缩酚羧键生成没食子酸和葡萄糖，在酿酒、饲料加工、化妆品和食品领域具有重要的应用价值。

单宁酶能够催化没食子酸丙酯 (PG) 生成没食子酸，没食子酸丙酯在 270 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化速率即可表征单宁酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
基质液	粉剂×2 支	4°C 保存	使用前每支加入 1.5 mL 无水乙醇充分溶解 (根据使用量现用现配，配制后 4°C 可保存 1 周)
标准品	粉剂×1 支 (5 mg 没食子酸丙酯)	4°C 保存	使用前加入 1.178 mL 无水乙醇充分溶解 (即为 20 μmol/mL PG 标准液)
标准应用液的制备：将 20 μmol/mL PG 标准液使用提取液稀释至 0.05 μmol/mL 即为标准应用液。			

需自备试剂：无水乙醇 (C₂H₆O, MW = 46.07, CAS: 64-17-5);

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、无水乙醇和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量 (10⁴ 个)：提取液体积 (mL) 为 (500-1000) :1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声破碎（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 270 nm，蒸馏水调零。
- ②**灭活酶液的制备**：取适量粗酶液，沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温。
- ③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
提取液	170	170	-	-
基质液	10	10	-	-
粗酶液	20	-	-	-
灭活酶液	-	20	-	-

①充分混匀，40℃准确反应 10 min

②立即沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失）

③冷却至室温，10000 g 常温离心 10 min，取上清液

在 96 孔板或离心管中依次加入下列试剂：

上清液	10	10	-	-
提取液	190	190	-	200
标准应用液	-	-	200	-

吸光值测定：测定 270 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

3.单宁酶（Tannase）活性计算

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol 没食子酸丙酯定义为一个酶活力单位。

$$\text{Tannase (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{酶促}} \times 20 \times 10^3}{\Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{1000 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol 没食子酸丙酯定义为一个酶活力单位。

$$\text{Tannase (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{酶促}} \times 20 \times V_{\text{提}} \times 10^3}{\Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{1000 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol 没食子酸丙酯定义为一个酶活力单位。

$$\text{Tannase (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 酶促} \times 20 \times V \text{ 提} \times 10^3}{\Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{1000 \times \Delta A \text{ 测定}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A \text{ 标准}}$$

注释：C 标：标准应用液浓度，0.05 $\mu\text{mol/mL}$ ；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；

V 酶促：酶促反应总体积，0.2 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；20：上清液稀释倍数， $(10+190)$

$/10=20$ ；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计； 10^3 ：单位换算系数， $1 \mu\text{mol}=10^3 \text{ nmol}$ ；T：反应时间，10 min。

四、注意事项

①若测定吸光值大于 1.2，建议将上清液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

