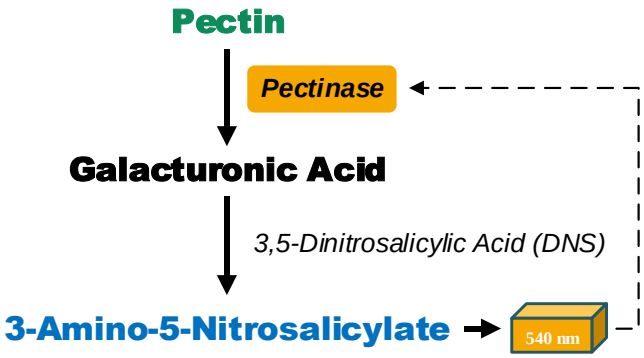
果胶酶活性检测试剂盒

Pectinase Activity Assay Kit



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

Catalog Number **AKSU018C**
Storage Temperature **2-8°C**
Size **70T/25S**

Visible Spectrophotometry

果胶酶活性检测试剂盒

Pectinase Activity Assay Kit

一、产品描述

果胶酶（Pectinase）是一种能够分解果胶质的复合酶，广泛存在于植物果实和微生物中，主要分为原果胶酶、果胶裂解酶、果胶酯酶和聚半乳糖醛酸酶，其催化作用是多种酶协同作用的结果。果胶酶可以作为食品加工领域的澄清剂，同时在饲料加工、纺织和造纸等领域具有广泛应用。

果胶酶能够水解果胶生成半乳糖醛酸，半乳糖醛酸能够与 DNS 试剂反应生成棕红色物质，产物在 540 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可表征果胶酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
基质液	液体 40 mL×1 瓶	4°C保存	**若有不溶物析出，50°C水浴溶解后使用**
显色液	液体 40 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 （10 mg 半乳糖醛酸）	4°C避光保存	**使用前加入 943 μL 蒸馏水充分溶解** （即为 50 μmol/mL 半乳糖醛酸标准液）
标准稀释液的制备：将 50 μmol/mL 半乳糖醛酸标准液使用蒸馏水稀释至 6.0、5.0、4.0、3.0、2.0、1.0 μmol/mL 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	50	50	50	50	50	50
标准液体积（μL）	120	100	80	60	40	20
蒸馏水体积（μL）	880	900	920	940	960	980
稀释后浓度（μmol/mL）	6.0	5.0	4.0	3.0	2.0	1.0

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

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（10^4 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）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②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℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③液体样品：直接检测或适当稀释后再进行测定。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 540 nm，蒸馏水调零。

②灭活粗酶液的制备：取适量粗酶液沸水浴处理 10 min（密封以防止水分散失），冷却至室温即为灭活粗酶液。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管（μL）	对照管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
基质液	500	500	500	500
50℃预热 5 min				
粗酶液	125	-	-	-
灭活粗酶液	-	125	-	-
标准稀释液	-	-	125	-
蒸馏水	-	-	-	125
①充分混匀，50℃准确反应 30 min， ②立即沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失） ③冷却至室温后，10000 g 常温离心 10 min，**取上清**				
上清液	500	500	500	500
显色液	500	500	500	500
沸水浴显色 5 min（密封以防止水分散失） 冰浴冷却至室温				

吸光值测定：测定 540 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算ΔA 测定=A 测定-A 对照，ΔA 标准=A 标准-A 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。

标准曲线的建立：以 6.0、5.0、4.0、3.0、2.0、1.0 μmol/mL 为横坐标（x），对应 ΔA 标准为纵坐标（y）绘制标准曲线，得到线性回归方程 y=kx+b，将 ΔA 测定代入方程得到 x（μmol/mL）。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.果胶酶（Pectinase）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：50℃ pH 3.5 条件下，每 mg 组织蛋白每小时生成 1 μmol 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{Pectinase（U/mg prot）} = \frac{x \times V_{提}}{Cpr \times V_{提} \times T} = \frac{2 \times x}{Cpr}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：50℃ pH 3.5 条件下，每 g 组织每小时生成 1 μmol 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{Pectinase（U/g）} = \frac{x \times V_{提}}{W \times T} = \frac{2 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：50℃ pH 3.5 条件下，每 10^4 个细菌或细胞每小时生成 1 μmol 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{Pectinase（U/}10^4\text{ cell）} = \frac{x \times V_{提}}{\text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{2 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：50℃ pH 3.5 条件下，每 mL 液体样本每小时生成 1 μmol 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{Pectinase（U/mL）} = \frac{x \times V_{样} \times D}{V_{样} \times T} = 2 \times x \times D$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，125 μL=0.125 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；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；T：反应时间：30 min=0.5 h；D：液体样本稀释倍数。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将上清液或粗酶液适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，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.