



## 果胶酶活性检测试剂盒 Pectinase Assay Kit

分光光度法

产品编号：AK499V

产品规格：50T/24S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES499	30mL×1 瓶	4℃保存；
AK499-A	35mL×1 瓶	4℃保存；
AK499-B	粉剂×2 瓶	4℃保存；临用前加入12.5mL AK499-A, 50℃加热溶解，用不完的试剂4℃保存一周。
AK499-C	40mL×1 瓶	4℃避光保存；
AK499-标准品	粉剂×1 支	4℃保存；临用前加入 0.943mL 蒸馏水，配成 100μmol/mL 的标准液。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

**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。

**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。

自备用品：

可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、天平、低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

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 ES499），进行冰浴匀浆，然后 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<sup>4</sup> 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL ES499），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。

测定步骤：

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm 处，蒸馏水调零；
2. 煮沸样本：建议在沸水中煮沸 10 分钟，以将酶彻底灭活；
3. 将 100μmol/mL 标准液用蒸馏水稀释为 15、10、7.5、5、2.5、1.25 μmol/mL 的标准溶液备用；
4. 操作表（在 EP 管中依次加入）：

试剂名称	对照管 (ul)	测定管 (ul)	标准管 (ul)	空白管 (ul)
AK499-A			400	400
AK499-B	400	400		
50℃水浴温育 5min				
样本		100		
煮沸样本	100			
标准品			100	

蒸馏水				100
混匀, 50℃水浴反应 30min				
AK499-C	500	500	500	500
沸水浴 5min, 冰浴冷却终止反应, 8000g, 4℃, 离心 10min, 取上清, 蒸馏水调零, 1mL 玻璃比色皿测定 540nm 处吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ , $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。 每个测定管需设一个对照管。				

#### 酶活性计算公式:

- 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 ( $\mu\text{mol/mL}$ )。
- 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 1 $\mu\text{mol}$  半乳糖醛酸为一个酶活力单位。  
果胶酶活性 ( $\text{U/mg prot}$ ) =  $x \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 2x \div C_{\text{pr}}$
- 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 1 $\mu\text{mol}$  半乳糖醛酸为一个酶活力单位。  
果胶酶活性 ( $\text{U/g 鲜重}$ ) =  $x \times V_{\text{提取}} \div W \div T = 2x \div W$
- 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 1 $\mu\text{mol}$  半乳糖醛酸为一个酶活力单位。  
果胶酶活性 ( $\text{U}/10^4 \text{ cell}$ ) =  $x \times V_{\text{提取}} \div T \div \text{细菌数量 (万个)} = 2x \div \text{细菌数量 (万个)}$
- 细胞培养液体积计算  
**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 1 $\mu\text{mol}$  半乳糖醛酸为一个酶活力单位。  
果胶酶活性 ( $\text{U/mL}$ ) =  $x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 2x$   
**注:**  $V_{\text{样}}$ : 反应中样本体积, 0.1mL;  $V_{\text{提取}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $C_{\text{pr}}$ : 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:

- AK499-B 若有沉淀析出, 请置于 50℃ 加热溶解。
- 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。