

果胶酶(PG)检测试剂盒(DNS 微板法)

产品简介:

天然果胶类物质以原果胶、果胶(Pectin)、果胶酸的形态广泛存在于植物的果实、根、茎、叶中,是细胞壁的一种组成成分,它们伴随纤维素而存在,构成相邻细胞中间层粘合物,使植物组织细胞紧紧黏结在一起。果胶酶(Pectinase)是一类分解果胶质酶类的总称,实质是多聚半乳糖醛酸水解酶,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。

Yuanye 果胶酶(PG)检测试剂盒(DNS 比色法)检测原理是果胶酶水解果胶生成 β -半乳糖醛酸,与二硝基水杨酸(DNS)反应形成有色化合物,该化合物呈色强度与半乳糖醛酸浓度成正比,于酶标仪 540nm 处测定吸光度,通过与标准曲线比较计算出样品中果胶酶活性,主要用于定量检测植物组织或果实中果胶酶,反应颜色越深,吸光度越大,果胶酶的活性越强,该 50T 试剂盒可以检测约 23~24 次样本。该试盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	R30331 100T	Storage
试剂(A): 半乳糖醛酸标准(1mg/ml)	1ml	4°C 避光
试剂(B): Pectinase Lysis Buffer	250ml	4°C
试剂(C): Pectinase Assay Buffer	10ml	4°C
试剂(D): DNS 显色液	30ml	4°C 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

- 1、蒸馏水
- 2、实验材料: 桃子、李子、苹果、杏等果实或其他植物组织
- 3、电子天平、水果刀或剪刀、研钵或匀浆器、离心管或试管、离心机、水浴锅
- 4、96 孔板、酶标仪

操作步骤(仅供参考):

- 1、果胶酶提取: 取果实或其他植物组织,洗净,擦干,称取剪碎的新鲜样品 2g,置于提前 4°C 预冷的研钵或匀浆器,加入 2ml 4°C 预冷的 Pectinase Lysis Buffer,充分研磨或匀浆后转入离心管或试管,4°C 10000g 离心 10min; 留取上清液,即为果胶酶提取液,

4℃保存待用。

- 2、稀释半乳糖醛酸标准溶液：取适量的半乳糖醛酸标准(1mg/ml)，按下表进行稀释：

加入物(单位：μl)	1	2	3	4	5
半乳糖醛酸标准(1mg/ml)	20	40	60	80	100
Pectinase Lysis Buffer	80	60	40	20	0
半乳糖醛酸浓度(μg/ml)	200	400	600	800	1000

- 3、加样：按照下表设置空白管、标准管、对照管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡，小心混匀。如果样品中的果胶酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2 平行管，求平均值。

加入物(单位：ml)	空白管	标准管	对照管	测定管
Pectinase Lysis Buffer	0.3	—	—	—
半乳糖醛酸标准(1~5 号管)	—	0.3	—	—
果胶酶提取液	—	—	0.2 (提前煮沸 5min)	0.2
Pectinase Assay Buffer	—	—	0.1	0.1
	—		37℃水浴 1h。	
DNS 显色液	0.3	0.3	0.3	0.3

- 4、测定：沸水浴 5min，自来水中将离心管或试管冷却至室温，以蒸馏水稀释至 2.4ml，混匀；取上述空白管、标准管、测定管中溶液各 200μl，加至 96 孔板中，用酶标仪以空白调零，测定系列标准孔、对照孔、测定孔在 540nm 处吸光度。

计算：

以 1~5 号管系列半乳糖醛酸标准(200、400、600、800、1000μg/ml)为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，得出回归方程。以测定孔吸光度减去对照孔吸光度的差值作为测定吸光度值($A_{\text{测定}}$)，带入回归方程，可求得测定管果胶酶浓度 c ，根据下述公式计算其活性：

$$\text{组织样品的果胶酶活性}(\mu\text{g/h}\cdot\text{g})=1.5\times c\times N\times V/(W\times t)$$

$$\text{液体样品的果胶酶活性}(\mu\text{g/h}\cdot\text{ml})=1.5\times c\times N\times V_s/(1\times t)$$

式中： c =根据标准曲线求得的测定管果胶酶浓度(μg/ml)

N =稀释倍数

V =果胶酶提取液总体积(ml)

W =样品鲜重(g)

t =37℃水浴时间(h)=1

V_s =测定时所取果胶酶提取液的体积(ml)=0.1

1 =液体样品体积(ml)

注意事项:

- 1、 取样量、试剂用量应根据果胶含量适当调整。
- 2、 可溶性糖对测定结果有较大影响，应彻底去除样品中的可溶性糖。
- 3、 Pectinase Lysis Buffer 应密闭保存，避免有效成分挥发。
- 4、 37°C水浴 1h 后，应立即加入 DNS 显色液。
- 5、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 6 个月有效; 4°C运输, 4°C保存。