

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。

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。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称	编号	ADS063TE0	Storage
		100T	
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	RT 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2ml4°C预冷的Pectinase Lysis Buffer，充分研磨或

匀浆后转入离心管或试管，4℃ 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
蒸馏水	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
蒸馏水	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($A_{测定}$)，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：

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

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

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)

$t=37^{\circ}\text{C}$ 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

l =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。低温运输，按要求保存。