

## 果胶酯酶 (pectinesterase, PE) 试剂盒说明书

(NaOH 滴定法) 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义:

果胶酯酶, 属果胶酶系, 亦称为果胶酶、果胶甲酯酶、果胶氧化酶。催化水解果胶长链上的甲氧酯水解产生小分子物质果胶酸和甲醇, 从而增加果胶在水中的溶解度。广泛存在于高等植物和可以降解细胞壁的细菌和真菌中, 起内源调控植物细胞壁上及细胞之间果胶含量的作用, 在食品工业中具有及其重要的作用和开发前景。

### 测定原理:

果胶酯酶催化水解果胶分子释放  $H^+$ , 使反应体系的 pH 下降, 用碱液维持体系的 pH 始终保持在 7.8(酚酞指示剂维持在粉红色), 通过碱消耗的 NaOH 量反映果胶酯酶的活性。

### 试剂的组成和配制:

产品名称	PCS013-50T/48S	Storage
提取液: 粉剂	1 瓶	4°C
试剂一: 粉剂	1 瓶	4°C
试剂二: 液体	1 瓶	4°C
试剂三: 液体	50ml	4°C
试剂四: 液体	--	--
说明书	一份	

提取液: 粉剂×1 瓶, 4°C保存。临用前每瓶加双蒸水 100ml 充分溶解。

试剂一: 粉剂×1 瓶, 4°C保存。临用前加少量蒸馏水溶解, 然后转入 500ml 容量瓶, 用蒸馏水定容至 500ml。

试剂二: 液体×1 瓶, 4°C保存。易挥发, 使用后及时用封口膜封口。

试剂四: 用蒸馏水将试剂三稀释 5 倍, 得试剂四。

### 需自备的仪器和用品:

天平、研钵、离心机、烘箱。

### 样品处理:

称取 1g 组织样品, 加入 2ml 提取液冰浴充分研磨(研钵提前-20°C预冷 10min, 提取液提前 4°C预冷。可以根据客户自己的样本特殊性, 自行按比例调整), 12000g、4°C离心 15min, 取全部上清液待测。

最终解释权所有 © 伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司, 保留一切权利



### 测定步骤：

- 1、试剂一于 37°C 烘箱保温 10min，样本全部提取上清（约 2ml）分别转移至 15 ml 离心管或者试管中。
- 2、向样本上清中分别加入 50 $\mu$ l 试剂二，混匀。然后每管加入 8 ml 试剂一混匀，并用试剂四调节 pH 至 7.8（粉红色）。
- 3、将上述各离心管或试管放置 37°C 烘箱 60 分钟。每隔 20 分钟用试剂四调节 pH，使 pH 维持在 7.8（粉红色）。记录所消耗的试剂四的体积 V（ml）。

### 计算公式：

酶活定义：每 g 组织每分钟消耗 1 $\mu$ mol NaOH 定义为一个酶活单位 U。

$$\text{PE 活性 (U/g)} = 20VF/(TW) = VF/(3W)$$

V：滴定所消耗的试剂四的量，ml；T：反应时间，60 min；F：样品稀释倍数；W：样品质量，g

### 注意事项

- 1、试剂一提前预热，保证酶反应速率。
- 2、实验前先做预实验，如果酶活力太高，适当调整样本稀释倍数，如将样品稀释 2-5 倍进行测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。

