



## 果胶酯酶(PE)活性检测试剂盒

中文名称：果胶酯酶(PE)活性检测试剂盒

英文名称：Pectin Esterase (PE) Activity Assay Kit

产品包装：盒装

产品规格：50T/48S

储存条件：2-8℃

检测方法：NaOH 滴定法

有效期：6个月

### 产品组成：

试剂名称	50T 规格	100T 规格	保存条件
提取液	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	室温保存
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	室温保存
试剂二	液体 1.5 mL×1 瓶	液体 3mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存

### 50T 溶液的配制：

- 1、提取液：临用前加入 100mL 蒸馏水，充分溶解；用不完的试剂 4℃避光可保存 3 个月；
- 2、试剂一：临用前加入 100mL 蒸馏水，磁力搅拌 50℃加热溶解 3 小时左右至完全溶解，转移至 250mL 容量瓶，蒸馏水定容至 250mL；用不完的试剂 4℃可保存 8 周；(因试剂一较难配制，建议客户提前制备)
- 3、试剂三工作液：临用前根据样本量取出部分试剂三，用蒸馏水稀释 16 倍得到试剂三工作液备用，现配现用，用不完的试剂 4℃可保存 1 周；



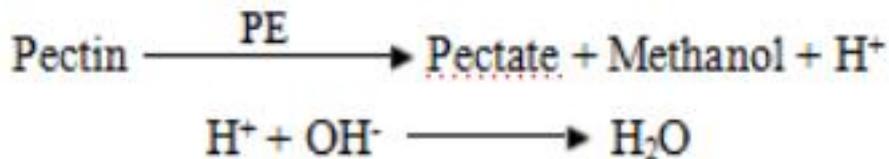
### 100T 溶液的配制:

- 1、提取液：临用前取 1 瓶加入 100 mL 蒸馏水，充分溶解；用不完的试剂 4℃避光可保存 3 个月；
- 2、试剂一：临用前加入 100mL 蒸馏水，磁力搅拌 50℃加热溶解 3 小时左右至完全溶解，转移至 500m 容量瓶，蒸馏水定容至 500mL；用不完的试剂 4℃可保存 8 周；(因试剂一较难配制，建议客户提前制备)
- 3、试剂三工作液：临用前根据样本量取出部分试剂三，用蒸馏水稀释 16 倍得到试剂三工作液备用，现配现用，用不完的试剂 4℃可保存 1 周；

### 产品说明:

果胶酯酶(Pectinesterase , PE), 又称果胶甲基酯酶、果胶氧化酶, 广泛存在于植物及微生物中。果胶是构成植物细胞壁的主要成分之一, 而果胶酯酶催化果胶的甲氧酯水解产生果胶酸和甲醇, 在植物果实成熟的细胞壁代谢过程中发挥着重要作用, 在食品工业中具有极其重要的作用和开发前景。

果胶酯酶催化果胶水解的过程中释放 H<sup>+</sup> , 反应体系 pH 值降低, 通过加入碱液维持反应体系 pH 始终维持在 7.8 维持 pH 所消耗的碱液量可反映果胶酯酶的活性。



**注意：**实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果试剂三工作液消耗量过大或过小，建议稀释或者增加样本量进行检测。



### 需自备的仪器和用品:

低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、天平、研钵/匀浆器、10mL 离心管或试管、容量瓶、冰和蒸馏水。

### 操作步骤:

#### 一、样本处理

- 1、将研钵/匀浆器与提取液置于冰上或 4°C 预冷 10min。
- 2、按照样本质量(g): 提取液体积(mL)=1:3~5 的比例(建议称取约 0.5g 样本, 加入 1.5mL 提取液)加入提取液, 冰浴匀浆后, 于 4°C , 12000g 离心 10min, 弃沉淀, 取全部上清液置于冰上待测。

#### 二、测定步骤

- 1、将试剂一置于 37°C 水浴锅中保温 10min 以上。
- 2、依次在 10mL 离心管或试管中加入 1mL 上清液、25 $\mu$ L 试剂二和 4mL 试剂一, 充分混匀, 用试剂三工作液调节 pH 至 7.8(粉红色)。
- 3、将上述离心管或试管置于 37°C 恒温培养箱/水浴锅中准确反应 60min, 每隔 20min 用试剂三工作液调节 pH, 使其维持在 7.8(粉红色), 并记录下所消耗试剂三工作液的体积, 记为 V(mL)。

#### 三、果胶酯酶活性计算

酶活单位定义: 每 g 组织样本每分钟消耗 1 $\mu$ mol NaOH 的量为一个酶活力单位。

$$PE \text{ 活性(U/g 质量)} = 25 \times V \div V_{\text{上清}} \times V_{\text{提}} \div W \div T \times F = 1.25 \times V \times F$$

V: 消耗试剂三工作液的体积, mL; V<sub>上清</sub>: 加入的上清液体积, 1mL; V<sub>提</sub>: 加入的提取液体积, 1.5mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 60min; F: 稀释倍数。



**注意事项:**

- 1、 实验中酶促反应产生 H<sup>+</sup>, 此时溶液无色透明, 需用试剂三调节 pH 到 7.8(粉红色), 即溶液会无色透明突然变为粉红色。
- 2、 建议正式实验前进行预实验, 其中测定步骤 2 中, 将样本上清液、加入试剂二和试剂一混匀后, 用试剂三工作液调节 pH 至 7.8(粉红色)时, 可适当调整每次加入试剂三工作液的体积, 防止 pH 调过。
- 3、 若样本酶活性较高, 可适当稀释样本上清液后再进行测定, 计算酶活时乘以稀释倍数即可。若样本酶活性较低, 建议客户加大样本量后重新进行测定, 注意同步修改计算公式。

**实验实例:**

1. 称取 0.51g 苹果果肉加入 1.5mL 提取液进行冰浴匀浆, 取 1mL 上清液于 10mL 离心管中按照测定步骤操作,

终计得调节 pH 所消耗试剂三工作液总体积为 0.76mL, 按样本质量计算酶活得:

PE 活性(U/g 质量)= $25 \times V \div V_{\text{上清}} \times V_{\text{提}} \div W \div T = 0.93 \text{ U/g 质量}$ 。