

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

果胶酯酶 (pectinesterase, PE) 试剂盒说明书

电位滴定法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

测定意义

果胶酯酶属果胶酶系，催化水解果胶中甲氧基生成果胶酸，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^+ ，是反应体系的pH下降，用碱液保持体系的pH始终保持在7，通过碱消耗的量反映果胶酯酶的活性。

需自备的仪器和用品

天平、研钵、常温离心机、自动电位滴定仪。

试剂的组成和配制

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前每瓶加双蒸水100mL 充分溶解
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加少量蒸馏水于50℃加热溶解，冷却后转入1L容量瓶，用蒸馏水定容。
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加少量蒸馏水溶解，转入1L容量瓶，用蒸馏水定容

样品处理

将组织样品捣碎，按照样品质量(g)和提取液体积(mL)为1: 10的比列（建议取约0.5g样品，加入5mL提取液）冰浴研磨，再于8000g、4℃离心15min，取上清液待测。

测定操作

1. 试剂一于50℃保温 10min，同时打开电位滴定仪，用蒸馏水清洗仪器。
2. 用试剂二补液，补液结束后用取50mL试剂一，用试剂二滴定到pH为7。
3. 加入待测样品5mL，将滴定延迟时间设为180s，用试剂二滴定至pH为7。
4. 滴定结束后记录消耗的试剂二体积 V (mL) 和滴定至终点所需时间 T (S)。

计算公式

酶活定义：每g组织每秒钟消耗 NaOH 的量定义为一个酶活单位。

$$PE \text{ 活性 (U/g)} = V / (T - 180) \times F / W$$

V: 滴定所消耗的 NaOH 的量, mL; T-180: 反应时间, S; F: 样品稀释倍数; W: 样品质量, g

注意事项

1. 补液结束后检查输液管中是否有气泡，有气泡要补液清除气泡后再进行样品滴定。
2. 实验前先做预实验，如果酶活力太高，滴定超过5min不能达到滴定终点，则需要将样品稀释2-5倍进行测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。