果胶酯酶（pectinesterase，PE）试剂盒说明书

(NaOH 滴定法) 50 管/48 样

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, 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。

需自备的仪器和用品

天平、 研钵、 离心机、烘箱。

试剂的组成和配制

提取液：粉剂×1 瓶， 4℃保存。 临用前每瓶加双蒸水 100mL 充分溶解。**（如有不溶现象， 磁力搅拌器 40℃加热，或者超声波清洗器超声至完全溶解）**

试剂一：粉剂×1 瓶， 4℃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。**（磁力搅拌器 40℃加热溶解 3 小时左右至完全溶解，提前制备）**

试剂二：液体×1 瓶， 4℃保存。 易挥发， 使用后及时用封口膜封口。

试剂三：液体 50mL×1 瓶， 4℃保存。

试剂四：用蒸馏水将试剂三稀释 5 倍， 得试剂四。

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℃预冷 10min，提取液提前 4℃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℃离心 15min，取全部上清液待测。

测定操作

1. 试剂一于 37℃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 50μL 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℃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 1μmol NaOH 定义为一个酶活单位 U。

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。