

果胶酯酶(PE)活性检测试剂盒 (NaOH滴定法)

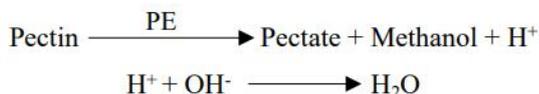
产品货号: BA2141

产品规格: 100T/96S; 50T/48S

产品简介:

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⁺, 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。

产品组成:

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

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°C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°C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°C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°C可保存1周。

100T溶液的配制:

1. 提取液: 临用前取1瓶加入100mL蒸馏水, 充分溶解; 用不完的试剂4°C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°C加热溶解3小时左右至完全溶解, 转移至500mL容量瓶, 蒸馏水定容至500mL; 用不完的试剂4°C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°C可保存1周。

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 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1. 将研钵/匀浆器与提取液置于冰上或4°C预冷10min。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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 μ 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 μ mol NaOH 的量为一个酶活力单位。

PE 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_{上清}: 加入的上清液体积, 1mL; V_提: 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⁺, 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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>