

总果胶含量检测试剂盒说明书

微量法

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。

规格：100T/48S

产品内容：

提取液一：液体 110mL×2 瓶，4℃保存。

提取液二：液体 120mL×1 瓶，4℃保存。

试剂一：浓硫酸 25mL，自备。

试剂二：液体 3mL×1 瓶，4℃保存。

试剂三：液体 5mL×1 瓶，4℃避光保存。

标准品：粉剂×1 支，10mg 半乳糖醛酸，4℃保存。临用前加入 0.943mL 提取液二，配成 50μmol/mL 的标准液

产品说明：

果胶是植物细胞壁主要组成成分之一，分为水溶性果胶和不溶性果胶，不溶性果胶为原果胶（碱性果胶）。果胶是一种天然高分子化合物，具有良好的胶凝化和乳化稳定作用，已广泛用于食品、医药、日化及纺织行业。

原果胶在稀酸中水解为可溶性果胶，与原有的可溶性果胶进一步转化为半乳糖醛酸，产物在强酸中与吡啶缩合生成紫红色化合物，在 530 nm 处有特征吸收峰。

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、浓硫酸、微量玻璃比色皿/96 孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器和蒸馏水。

操作步骤：

一、总果胶的提取：

将组织样品捣碎，按照样品质量(g)和提取液一体积(mL)为 1: 20 的比列（建议取约 0.05g 样品，加入 1mL 提取液一），置于 90℃恒温水浴锅中浸提 30min，取出冷却后于 5000g、25℃离心 10min，去掉上清，沉淀中再加入 1mL 提取液一重复操作一次，离心后去上清，沉淀中加入 1mL 提取液二，置于 90℃恒温水浴锅中水解 1h，取出冷却后于 8000g、25℃离心 15min，取上清液待测。

二、测定步骤：

1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 530nm，蒸馏水调零。

2、将 50μmol/mL 标准液用提取液二稀释为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625μmol/mL 的标准溶液备用。

3、操作表：

试剂名称	空白管	标准管	对照管	测定管
样本 (μL)	-	-	25	25
标准品 (μL)	-	25	-	-
蒸馏水 (μL)	25	-	-	-
试剂一 (μL)	200	200	200	200
混匀、90°C放置 10min, 取出后冷却				
试剂二 (μL)	-	-	25	-
试剂三 (μL)	25	25	-	25
混匀, 25°C静置 30min 后吸取 200μL 于微量玻璃比色皿或 96 孔板中, 测定 530nm 处吸光值, 分别记为 A 空白管、A 标准管、A 对照管和 A 测定管。 ΔA 标准=A 标准管-A 空白管, ΔA 测定=A 测定管-A 对照管。				

三、总果胶含量的计算

1、标准曲线的绘制:

以各个标准溶液的浓度为 x 轴, 其对应的 ΔA 标准为 y 轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程 $y=kx+b$, 将 ΔA 测定带入方程得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)

2、总果胶含量的计算:

$$\text{总果胶含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = x \times V \text{ 提取液二} \div W = x \div W$$

V 提取液二: 加入提取液二的体积, 1mL; W: 样本鲜重, g。

注意事项:

- 1、浓硫酸具有强腐蚀性, 操作时需特别注意, 90°C加热、冷却后再打开盖子, 以防液体飞溅烧伤。
- 2、若吸光值超过 1, 可将样本提取液二进行适当稀释再进行测定, 并在计算公式中乘以稀释倍数。