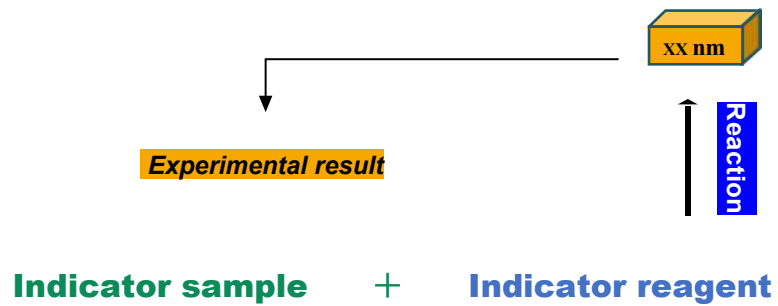


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

原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。

产品内容：

| 种类 | 试剂规格 | 储存条件 | 使用方法及注意事项 |
|------|--------------|--------|--|
| 提取液一 | 液体 100mL×1 瓶 | 4℃保存 | - |
| 提取液二 | 液体 70mL×1 瓶 | 4℃保存 | - |
| 试剂一 | 浓硫酸 60mL | - | 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 | 4℃保存 | 10mg 半乳糖醛酸，临用前加入 0.943mL 提取液二，配成 50 μmol/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。原果胶是不溶于水的物质，但可在酸、碱、盐等化学试剂及酶的作用下，加水分解转变成水溶性果胶，在食品、纺织、印染、烟草、冶金等领域具有较广泛的应用。

原果胶在稀酸中水解为可溶性果胶，并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：

酶标仪/可见分光光度计、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、原果胶的提取：

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、酶标仪/分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 530nm，蒸馏水调零。
- 2、将 50 μmol/mL 标准液用提取液二稀释为 1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125 μmol/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，95°C水浴 5min 后，冷却至室温，取 200μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中后测定 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。 $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ ， $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ 。

三、原果胶含量的计算

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 $\Delta A_{标准}$ 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 $\Delta A_{测定}$ 带入方程得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)

2、原果胶含量的计算：

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

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 0.8，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。