

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0363

Size: 100T/48S

果胶含量检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

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，已广泛应用于食品、医药、日化及纺织行业。

二、测定原理：

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。

三、需自备的仪器和用品：

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。

四、试剂的组成和配置：

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 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	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

五、操作步骤：

● 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。

● 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 50 μmol/mL 标准液用提取液二稀释为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625 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℃放置 10min, 取出后冷却				
试剂二 (μL)	-	-	25	-
试剂三 (μL)	25	25	-	25
混匀, 25℃静置 30min 后吸取 200 μL 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。 $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$, $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ 。				

六、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 $\Delta A_{标准}$ 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、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。

七、注意事项:

1. 浓硫酸具有强腐蚀性, 操作时需特别注意, 90℃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。