

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-S0542

Size: 100T/48S

## 原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。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。

#### 二、测定原理：

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 530nm 处有特征吸收峰。

#### 三、需自备的仪器和用品：

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。

#### 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 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

#### 五、操作步骤：

##### ● 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。

##### ● 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。 $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ , $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ 。				

## 六、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  $\Delta A_{标准}$  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:

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

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°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。