

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-S0636

Size: 50T/24S

总果胶含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*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 530nm 处有特征吸收峰。

三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、浓硫酸、1mL 玻璃比色皿、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×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, 10mg 半乳糖醛酸	4℃保存	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)	-	-	100	100
标准品 (μL)	-	100	-	-
蒸馏水 (μL)	100	-	-	-
试剂一 (μL)	800	800	800	800
混匀、90°C放置 10min, 取出后冷却				
试剂二 (μL)	-	-	100	-
试剂三 (μL)	100	100	-	100
混匀, 25°C静置 30min 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。 ΔA 标准=A 标准管-A 空白管, ΔA 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 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。

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。