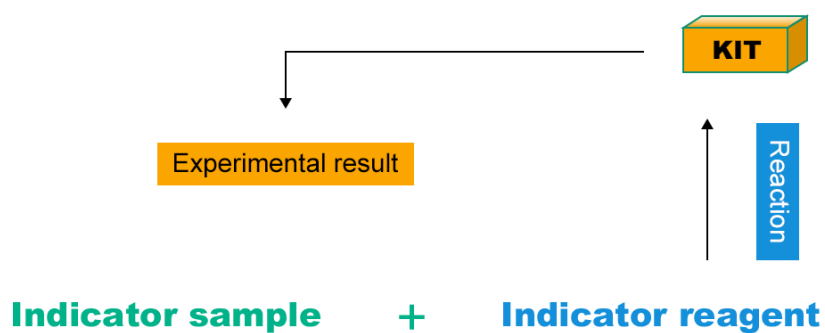


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0811

Size: 50T/24S

原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。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：

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	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、 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℃放置 10min，取出后冷却				
试剂二（μL）	—	—	100	—
试剂三（μL）	100	100	—	100
混匀，95℃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。 ΔA 标准=A 标准管-A 空白管， ΔA 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 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、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。

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。