

## 原果胶含量试剂盒说明书

微量法 100T/48S

**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。

**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，即原果胶。因其具有良好的乳化、增稠和凝胶作用，在食品、纺织、印染、烟草、冶金等领域具有较广泛的应用。

**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，产物在强酸中与咪唑缩合生成紫红色化合物，在 530 nm 处有特征吸收峰。

**需自备的仪器和用品：**

天平、研钵、常温离心机、水浴锅、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、浓硫酸和蒸馏水。

**试剂的组成和配制：**

提取液一：液体 100mL×2 瓶，4℃ 保存。

提取液二：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存。

标准品：液体 1mL×1 支，4℃ 保存。

试剂一：浓硫酸，自备。

试剂二：液体 2mL×1 支，4℃ 保存。

试剂三：液体 3mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

**样品处理：**

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。

**测定操作表:**

	空白管	标准管	对照管	测定管
样本 (μL)			30	30
标准品 (μL)		30		
浓硫酸 (μL)	180	180	180	180
混匀、90℃水浴 10min, 取出后冷却				
试剂二 (μL)			30	
试剂三 (μL)	30	30		30
混匀, 25℃静置 30min				
蒸馏水 (μL)	90	60	60	60
充分混匀, 取 200μL 置于微量石英比色皿/96 孔板中, 测定 530nm 处吸光值, 分别记为 A1、A2、A3 和 A4。△A1=A2-A1, △A2=A4-A3				

**注意:** 空白管和标准管只需测定一次。

**计算公式:**
**a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下**

原果胶含量(mg/g 鲜重) = (C 标准×V 标) ×△A2÷△A1÷(W÷V 样总) = 0.25×△A2÷△A1÷W

C 标准: 标准品浓度, 0.25mg/mL; V 标: 反应体系中加入标准品体积, 0.02mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本鲜重, g。

**b. 用 96 孔板测定的计算公式如下**

原果胶含量(mg/g 鲜重) = (C 标准×V 标) ×△A2÷△A1÷(W÷V 样总) = 0.25×△A2÷△A1÷W

C 标准: 标准品浓度, 0.25mg/mL; V 标: 反应体系中加入标准品体积, 0.02mL; V 样总: 加入提取液体积, 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℃加热取出后冷却再打开盖子, 以防液体飞溅烧伤。
2. 若吸光值超过 1, 可将样本提取液进行适当稀释再进行测定, 并在计算公式中乘以稀释倍数。
3. 若在检测时吸光值仍随时间显著增大, 可静置 2h 左右直至吸光值稳定后再检测吸光值。
4. 最低检出限为 10 μg/g。