

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，产物在强酸中与吡啶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

$$\text{原果胶含量(mg /g 鲜重)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A_2 \div \Delta A_1 \div (W + V_{\text{样总}}) = 0.25 \times \Delta A_2 \div \Delta A_1 \div W$$

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

$$\text{原果胶含量(mg /g 鲜重)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A_2 \div \Delta A_1 \div (W + V_{\text{样总}}) = 0.25 \times \Delta A_2 \div \Delta A_1 \div W$$

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°C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. 最低检出限为10μg/g。