

总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

果胶是一类广泛存在于植物细胞壁的初生壁和细胞中间片层的杂多糖，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。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

使用稀酸水解原果胶，与原有的可溶性果胶一起转化为半乳糖醛酸，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、酶标仪、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

$$\begin{aligned} \text{总果胶含量(mg/g 鲜重)} &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times \Delta A_2 \div \Delta A_1 \div (\text{W} \times \text{V 样} \div \text{V 样总}) \\ &= 0.25 \times \Delta A_2 \div \Delta A_1 \div \text{W} \end{aligned}$$

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，0.03mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；V 样：反应体系中加入样本体积，0.03mL；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。