

总果胶含量试剂盒说明书

(货号：ADS-F-KY018-48 分光法 48 样)

一、产品简介：

果胶存在于植物的细胞壁和细胞内层，是植物细胞的重要组成部分，属于碳水化合物的衍生物，广泛分布于植物果实、根茎和叶中。

本试剂盒采用咔唑比色法测定总果胶含量。即总果胶在稀酸中水解为半乳糖醛酸，在硫酸溶液中与咔唑进行缩合反应，生成紫红色物质，经光谱扫描该物质在 530nm 处有最大吸收峰，颜色深浅与总果胶含量成正比，进而得出总果胶含量。

二、试剂盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 1.5mL×1 支	4°C保存	
标准品	粉剂 1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、水浴锅、可调式移液器、乙醇、浓硫酸、研钵。

四、总果胶含量测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

- ① 取 0.1g 组织（烘干且过筛后的粉末组织可取 0.01g），加 1.5mL 的 80%乙醇，研磨匀浆，85°C水浴 10min（及时补充 80%乙醇至 1.5mL），取出流水冷却后，8000rpm，25°C离心 10min，弃上清，留沉淀，
- ② 向沉淀中加入 1mL 的 80%乙醇，混匀，85°C水浴 10min（及时补充 80%乙醇至 1mL），取出流水冷却后，8000rpm，25°C离心 10min，弃上清，留沉淀。
- ③ 向沉淀中加入 1mL 提取液，混匀，95°C水浴 60min，流水冷却至室温，8000rpm，25°C离心 10min，取上清液待测。

2、上机检测：

- ① 分光光度计预热 30min 以上，调节波长为 530nm，蒸馏水调零。
- ② 可取两个样本做适当梯度的稀释（如 4 倍，即 1 份上清液+3 份蒸馏水），确定适合本次实验的稀释倍数 D。
- ③ 在 EP 管中依次加入：

试剂名称 μ L)	测定管	空白管（仅做一次）
样本	105	
蒸馏水		105
浓硫酸	630	630
可用封口膜缠紧，85°C水浴 15min 后，流水冷却至室温。		
试剂一	21	21
混匀，室温（25°C）暗处反应 30min（间隔 10min 混匀一次），全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 530nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

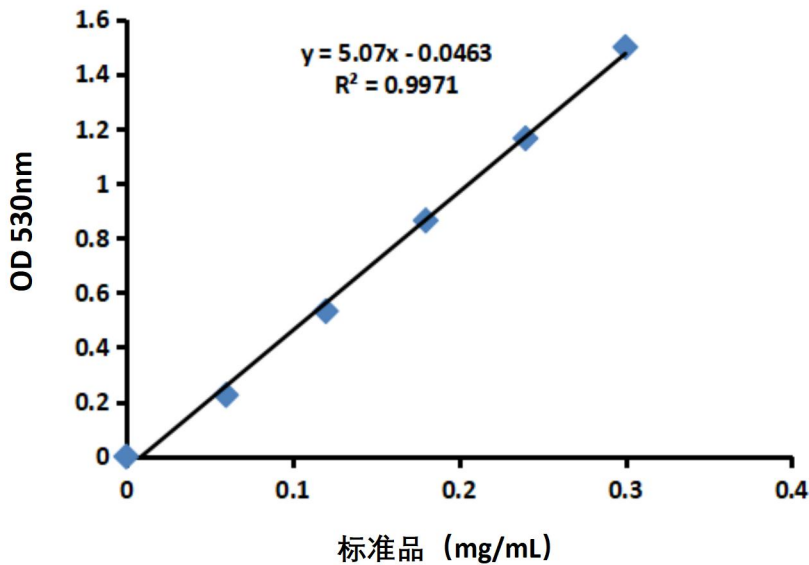
【注】：1、浓硫酸必须是分析纯级别，且不能长期开口放置，否则影响显色结果。另外浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需特别注意，85°C加热取出后冷却再打开盖子，以防液体飞溅烧伤。

2、显色反应必须在暗处反应，否则颜色很快消失或者变淡，影响吸光值。

3、若 A 测定管值大于 1.8，可用蒸馏水稀释样本即待检测上清液，则稀释倍数 D 需代入公式计算；或若 A 值再零附近可增加样本取样质量 W。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 5.07x - 0.0463$ ；， x 为标准品浓度（mg/mL）， y 是 ΔA 。



2、总果胶含量(mg/g 重量)=[$(\Delta A + 0.0463) \div 5.07 \times V1$] $\div (W \times V1 \div V) \times D$
=0.2 $\times (\Delta A + 0.0463) \div W$

W---样本重量， g；

V---加入提取液体积， 1mL；

V1---加入样本体积， 0.105mL；

D---稀释倍数， 未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（5mg/mL）：临用前向标准品中加入 2mL 蒸馏水（现配现用）。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0， 0.06， 0.12， 0.18， 0.24， 0.3. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作， 根据结果即可制作标准曲线。