

总果胶含量试剂盒说明书

(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℃ 保存	
试剂一	液体 1.5mL×1 支	4℃ 保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃ 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℃水浴 10min（及时补充 80%乙醇至 1mL），取出流水冷却后，8000rpm，25℃离心 10min，弃上清，留沉淀，
- ② 向沉淀中加入 1mL 的 80%乙醇，混匀，85℃水浴 10min（及时补充 80%乙醇至 1mL），取出流水冷却后，8000rpm，25℃离心 10min，弃上清，留沉淀。
- ③ 向沉淀中加入 1mL 提取液，混匀，95℃水浴 60min，流水冷却至室温，8000rpm，25℃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：

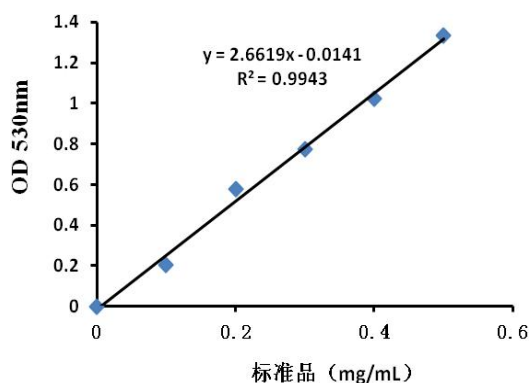
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	105	
蒸馏水		105
浓硫酸	630	630
可用封口膜缠紧，85℃水浴 15min 后， 流水冷却至室温。		
试剂一	21	21
混匀，室温（25℃）暗处反应 30min（间隔 10min 混匀一次），全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，		

于 530nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A - A_{\text{测定-A 空白}}$ 。

- 【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: $y = 2.6619x - 0.0141$; , x 为标准品浓度 (mg/mL), y 是 ΔA 。



2、总果胶含量(mg/g 重量) = $[(\Delta A + 0.0141) \div 2.6619 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D$
= $0.37 \times (\Delta A + 0.0141) \div W$

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。

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (0.5mg/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, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5. 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。