

植物总果胶含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHE3-M48	植物总果胶含量检测试剂盒	48T	微量法
PYHE3-M96		96T	

一、测定意义

天然果胶类物质以原果胶、果胶、果胶酸形态广泛存在于植物的果实、根、茎和叶中，是细胞壁的组成成分之一，与纤维素结合可构成相邻细胞中间层粘结物，使植物组织细胞紧密结合。在未成熟的果实或植物组织中大多以原果胶的形式存在，原果胶不溶于水，但能够在酸、碱、盐等化学试剂及酶的作用下分解为水溶性果胶或果胶酯酸，在食品、纺织、印染、冶金等领域具有较广泛的应用。

二、测定原理

原果胶在稀酸溶液中水解为可溶性果胶，与原有的可溶性果胶进一步转化为半乳糖醛酸，半乳糖醛酸在强酸环境中与吡啶缩合生成紫红色化合物，产物在 530 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测总果胶的含量。

三、试剂组成

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液 A	液体 100 mL×1 瓶	液体 100 mL×2 瓶	2-8℃保存
提取液 B	液体 60 mL×1 瓶	液体 110 mL×1 瓶	2-8℃避光保存
试剂一（浓硫酸）	液体 15 mL×1 瓶	液体 30 mL×1 瓶	自备、常温保存
试剂二	液体 2 mL×1 瓶	液体 4 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 2 mL×1 瓶	液体 4 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品 (10 mg 半乳糖醛酸)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃避光保存
标准品的配制： 使用前加入 943 μL 提取液 B 充分溶解，即为 50 μmol/mL 半乳糖醛酸标准液。			

四、操作步骤

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- (1) 取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，称取 0.1 g 组织样本于 1mL EP 管中，加入 1 mL **提取液 A**，破碎匀浆，90℃处理 30 min，冷却至室温，8000 g 常温离心 10 min，弃上清，留沉淀；（注：水浴加热过程中离心管盖有爆开的可能，建议使用胶带封口或使用带卡扣的离心管）；

- (2) 沉淀中加入 1 mL **提取液 A**，涡旋振荡混匀，8000 g 常温离心 10 min，弃上清，留沉淀；
- (3) 沉淀中加入 1 mL **提取液 B** 充分混匀，90°C 水解 1 h（密封以防止水分散失），冷却至室温，8000 g 常温离心 15 min，取上清液即为待测样本。

二、测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 530nm，蒸馏水调零；
- 2、标准稀释液的制备（现配现用）：使用前将 50 μmol/mL 半乳糖醛酸标准液使用 **提取液 B** 稀释至 1.5、1.0、0.5、0.25、0.125、0.0625 μmol/mL 即为标准稀释液。
- 3、操作表（在离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样本（μL）	25	25	-	-
标准液（μL）	-	-	25	-
蒸馏水（μL）	-	-	-	25
试剂一（μL）	200	200	200	200
充分混匀，90°C 处理 3 min（密封以防止水分散失）冰浴冷却				
试剂二（μL）	-	25	-	-
试剂三（μL）	25	-	25	25
充分混匀，25°C 水浴显色 40 min，吸取 200 μL 反应液至 96 孔板中，测定 530 nm 处吸光值，记为 A _{测定} 、A _{对照} 、A _{标准} 和 A _{空白} ；计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。注：加入试剂一会大量放热，此步骤需置于冰上操作；每个样品均需设一个对照管，标曲和空白管只需测定 1-2 次。				

五、总果胶含量计算：

标准曲线的建立：根据标准管的浓度（y，μmol/mL）和吸光度 $\Delta A_{标准}$ （x， $\Delta A_{标准}$ ），建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{测定}$ （x， $\Delta A_{测定}$ ）带入公式计算样本浓度（y，μmol/mL）。

$$\text{纤维素含量} (\mu\text{mol/g}) = y \times V_{\text{提B}} \times F \div W = y \times F \div W$$

$V_{\text{提B}}$ ：加入提取液 B 体积，1 mL；W：称取的样本质量，g；F：待测样本稀释倍数。

六、注意事项：

- 1、若样品质地坚硬，可先研碎后再进行匀浆，或使用匀浆器匀浆；
- 2、浓硫酸质量对显色体系具有一定的影响，建议使用优级纯或分析纯浓硫酸，标准品显色完成后应为红色，若出现明显绿色则应该更换浓硫酸后再进行试验；
- 3、浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需特别注意：应缓慢加入以防止液面沸腾烫伤及样本碳化，90°C 处理结束后需冷却至室温再进行后续操作，以防液体飞溅烧伤；

- 4、若测定吸光值超出标准线性吸光值范围：高于最高值建议将待测样本使用提取液 B 适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- 5、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。