



原果胶含量检测试剂盒 Protopectin Assay Kit

微量法

产品编号: AK503M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES503-1	100mL×1 瓶	4℃保存
ES503-2	60mL×1 瓶	4℃保存
AK503-A	浓硫酸, 自备	室温保存
AK503-B	2mL×1 支	4℃保存
AK503-C	3mL×1 瓶	4℃避光保存
AK503-S	粉剂×1 支	4℃保存; 临用前加入0.943 mL ES503-2, 配成50umol/mL 的标准液

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

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。

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, 产物在强酸中与咪唑缩合生成紫红色化合物, 在 530 nm 处有特征吸收峰。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、天平、研钵、常温离心机、水浴锅、浓硫酸和蒸馏水。

样本处理:

将组织样品捣碎, 按照样品质量(g)和 ES503-1 体积(mL)为 1: 20 的比列(建议取约 0.05g 样品, 加入 1mL ES503-1), 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 ES503-1 重复操作一次, 离心后去上清, 沉淀中加入 1mL ES503-2, 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。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 530nm, 蒸馏水调零。
2. 将 50umol/mL 标准液用 ES503-2 稀释为 0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.2、0.1umol/mL 的标准溶液备用。
3. 操作表(在 EP 管中依次加入)

	空白管 (ul)	标准管 (ul)	对照管 (ul)	测定管 (ul)
样本			30	30
AK503-S		30		
浓硫酸	180	180	180	180
混匀、90℃水浴 10min, 取出后冷却				
AK503-B			30	
AK503-C	30	30		30
混匀, 25℃静置 30min				
蒸馏水	90	60	60	60
充分混匀, 取 200μL 置于玻璃比色皿/96 孔板中, 测定 530nm 处吸光值, 分别记为 A 空白、A 标准、A 对照和 A 测定; 计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。				

注：每个测定管都需做一个对照管，空白管和标准曲线各需做 1-2 次。

计算公式：

1. 标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的 AA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入方程得到 x (umol/mL)。

2. 原果胶含量的计算：

原果胶含量(umol/g 质量) = $x \times V \text{ 样总} \div W = x \div W$

注： V 样总：加入 ES503-2，1mL； 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℃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。