原果胶（PP）含量检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

4. 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。

5. 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。最低检出限为 10 μg/g。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液一	105 mL×2	4℃	
提取液二	105 mL×1	4℃	
试剂一	38 mL×1	4℃	浓硫酸，自备
试剂二	3.2 mL×1	4℃	
试剂三	3.2 mL×1	4℃	
标准品	1 mL×1	4℃避光	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 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 0.05 g 样品，加入 1 mL 提取液一），置于 90℃恒温水浴锅中浸提 30 min，取出冷却后于 5000 g，常温离心 10 min，去掉上清，沉淀中再加入 1 mL 提取液一重复操作一次，离心后去上清。沉淀中加入 1 mL 蒸馏水，50℃水浴 30 min。

2. 冷却后 5000 g，常温离心 10 min，去掉上清。沉淀中再加入 1 mL 提取液二，置于 90℃恒温水浴锅中水解 1 h，取出冷却后于 8000 g，常温离心 15 min，取上清液待测。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 530 nm 处。

2. 在 1.5 mL 离心管中依次加入：

	测定管	对照管	标准管	空白管
样本（μL）	30	30	-	-
标准品（μL）	-	-	30	-
试剂一（μL）	180	180	180	180
充分混匀，90℃水浴 10 min，取出后冷却。				
试剂二（μL）	-	30	-	-
试剂三（μL）	30	-	30	30
充分混匀，25℃静置 30 min。				
超纯水/蒸馏水（μL）	60	60	60	90
充分混匀后，取 200 μL 置于 96 孔板中，测定 530 nm 处吸光值，记 A 测定、A 对照、A 标准、A 空白，ΔA 标准=A 标准-A 空白，ΔA 测定=A 测定-A 对照。空白管和标准管只需测 2~3 次，每个测定管需设一个对照管。				

六、计算

原果胶（PP）含量（mg/g 鲜重）=（C 标准×V 标）×ΔA 测定÷ΔA 标准÷（W×V 样÷V 提取）=0.25×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W

C 标准：标准品浓度，0.25 mg/mL；V 标：反应体系中加入标准品体积，0.03 mL；V 样：反应体系中加入样品体积，0.03 mL；V 提取：加入提取液体积，1 mL；W：样本鲜重，g。

七、产品简介

原果胶是细胞壁不溶性果胶大分子，通过离子键、共价键交联纤维素维持组织硬度。果实成熟过程中原果胶逐步降解为可溶性果胶，直接决定果蔬硬度、贮藏保鲜性能，是评价果实成熟度、质地品质的重要生理指标。