可溶性果胶(SP)检测试剂盒(咔唑微板法)

产品简介:

天然果胶类物质以原果胶、果胶(Pectin)、果胶酸的形态广泛存在于植物的果实、根、茎、叶中，是细胞壁的一种组成成分，它们伴随纤维素而存在，构成相邻细胞中间层粘结物，使植物组织细胞紧紧黏结在一起。原果胶是不溶于水的物质，但可在酸、碱、盐等化学试剂及酶的作用下，加水分解转变成水溶性果胶。果胶(Pectin)又称多聚半乳糖醛酸，是由 D-半乳糖醛酸以α-1,4 糖苷键连接形成的直链状聚合物，本质上是一种线形的多糖聚合物，含有数百至约 1000 个脱水半乳糖醛酸残基，其相应的平均相对分子质量为 50000~150000。

可溶性果胶(SP)检测试剂盒(咔唑微板法)检测原理是果胶物质水解生成半乳糖醛酸，后者在硫酸溶液中与咔唑进行缩合反应形成紫红色的化合物，该化合物呈色强度与半乳糖醛酸浓度成正比，该化合物颜色在反应 1~2h 内呈色最深，当反应液颜色最深时在波长 530nm 处测定吸光度，通过与标准曲线比较，计算出样品中可溶性果胶含量。该试剂盒主要用于定量检测植物组织或果实中可溶性果胶含量，该 50T 试剂盒可以检测 50~60 个样品。该产品仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCTC2111 50T	Storage
试剂(A):半乳糖醛酸标准(1mg/ml)	1ml	4℃ 避光
试剂(B): SP Lysis buffer	4×250ml	RT
试剂(C): SP Assay buffer	1ml	4℃ 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、 蒸馏水、浓硫酸

2、 实验材料：桃子、李子、苹果、杏等果实或其他植物组织

3、 研钵或匀浆、96 孔板、酶标仪、离心管或试管、离心机、水浴锅

操作步骤(仅供参考):

1、 可溶性果胶提取:

①取果实或其他植物组织，洗净，擦干，称取剪碎的新鲜样品 0.1g，置于研钵或匀浆器。

②加入 1ml SP Lysis buffer，充分研磨或匀浆后转入 5ml 离心管或试管中，用 SP Lysis buffer 冲洗研钵或匀浆器并转移至离心管或试管中，补加 SP Lysis buffer 至 5ml。

③沸水浴 30min，在煮沸过程中及时补加 SP Lysis buffer 至 5ml，取出冷却至室温，8000r/min 离心 15min，弃上清；重复该步骤 2 次，以去除样品中的糖分及其他物质。④取含有沉淀的试管，加入 2ml 蒸馏水，50℃水浴 30min 以溶解果胶，取出冷却至室温，8000r/min 离心 15min，将上清液转移至新离心管或试管中，用少量蒸馏水洗涤沉淀，8000r/min 再次离心 15min，一并将上清液转移至上述新离心管或试管中，加蒸馏水定容至 5ml，即为可溶性果胶提取液。

2、稀释半乳糖醛酸标准溶液：取适量的半乳糖醛酸标准(1mg/ml)用蒸馏水稀释至 100μg/ml，然后再按下表进行梯度稀释：

加入物(μl)	1	2	3	4	5
半乳糖醛酸标准(100μg/ml)	40	80	120	160	200
蒸馏水	160	120	80	40	0
半乳糖醛酸浓度(μg/ml)	20	40	60	80	100

3、加样：按照下表设置空白管、标准管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡，小心混匀。如果样品中的果胶浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2~3 平行管，求平均值。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	0.2	—	—
系列半乳糖醛酸标准(1~5 号管)	—	0.2	—
可溶性果胶提取液	—	—	0.2
浓硫酸(沿管壁小心加入)	1.2	1.2	1.2
加盖或塞沸水浴 20min，迅速冷却至室温。			

注意：浓硫酸具有强腐蚀性，应小心操作，沿管壁缓慢加入。

4、测定：取上述空白管、标准管、测定管中溶液各 280μl，加至 96 孔板的孔中，加入 8μl SP Assay buffer，避光静置 0.5~2h，当显色最深时以酶标仪测定系列标准孔、测定孔在 530nm 处吸光度(以空白调零)。

计算：

以 1~5 号管系列半乳糖醛酸标准(20、40、60、80、100μg/ml)为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，直接计算直线回归方程。

组织样品的可溶性果胶含量(μg/g)=(c×N×V_T}/W

液体样品的可溶性果胶浓度(μg/ml)=c×N

组织样品的可溶性果胶含量(%)=(c×N×V_T}/(W×10^6) ×100%

式中：c=根据标准曲线求得的测定管半乳糖醛酸浓度（μg/ml)

V_T=可溶性果胶提取液总体积(ml)=5

W=样品鲜重(g)

N=稀释倍数

注意事项:

1、 浓硫酸具有强腐蚀性，应小心操作，沿管壁缓慢加入。

2、 取样量、试剂用量应根据果胶含量适当调整。

3、 可溶性糖对测定结果有较大影响，应彻底去除样品中的可溶性糖。

4、 SP Assay buffer 应密闭避光保存，避免有效成分挥发，其反应时间根据具体情况而定。

5、 如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但应考虑分光光度计的最小检测体积。

6、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

7、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期: 6 个月有效。低温运输，按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
GCDM0007	瑞氏-姬姆萨复合染色液
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCNR0001	DEPC 处理水(0.1%)
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)

