原果胶(PP)检测试剂盒(咔唑比色法)

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。原果胶是一种非水溶性的物质，在未成熟的果实或植物组织中果胶物质大多与纤维素结合以原果胶的形式存在，原果胶能使果实或其他植物组织坚硬、变脆。

原果胶(PP)检测试剂盒(咔唑比色法)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，计算出样品中原果胶或可溶性果胶含量。该试剂盒主要用于定量检测植物组织或果实中原果胶含量，亦可用于定量检测植物组织或果实中可溶性果胶含量，进而计算出总果胶含量(为原果胶含量与可溶性果胶含量之和)。该 25T试剂盒可以检测 25~30 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	GCTC2123 25T	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): PP Lysis buffer	100ml	RT
试剂(D): PP Assay buffer	3ml	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、 研钵或匀浆器、比色杯、分光光度计

4、 离心管或试管、离心机、水浴锅

操作步骤(仅供参考)**:**

1、 可溶性及原果胶提取:

①取果实或其他植物组织，洗净擦干，称取剪碎的新鲜样品 0.2g，置于研钵或匀浆器。

②加入 1-2ml SP Lysis buffer，充分研磨或匀浆后转入 10ml 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 10ml。

③沸水浴 30min，在煮沸过程中及时补加 SP Lysis buffer 至 10ml，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 4ml 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试管中，加蒸馏水定容至 10ml，即为可溶性果胶提取液。

⑤向上述经蒸馏水洗涤后的沉淀物中加入 3ml PP Lysis buffer，沸水浴 1h，取出冷却至室温，8000r/min 离心 15min，加蒸馏水定容至 10ml，即为原果胶提取液。

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(ml)	1	2	3	4	5
半乳糖醛酸标准(100μg/ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
蒸馏水	0.4	0.3	0.2	0.1	0
半乳糖醛酸浓度(μg/ml)	20	40	60	80	100

3、 PP 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	0.5	—	—
系列半乳糖醛酸标准(1~5 号管)	—	0.5	—
原果胶(或可溶性果胶)提取液	—	—	0.5
浓硫酸(沿管壁小心加入)	3	3	3
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、 PP 测定：加入 0.1ml PP Assay buffer，避光静置 0.5~2h，当显色最深时以分光光度计，比色杯光径 1cm，测定系列标准管、测定管在 530nm 处吸光度(以空白调零)。如果测定原果胶含量，以原果胶提取液作为测定管；如果测定可溶性果胶含量，则以可溶性果胶作为测定管；如果测定总果胶含量，则同时以原果胶和可溶性果胶作为测定管。

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。果胶=原果胶+可溶性果胶。

组织样品的原果胶(或可溶性果胶)含量(μg/g)=(c×N×V_T}/W

液体样品的原果胶(或可溶性果胶)浓度(μg/ml)=c×N

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

果胶(%)=原果胶(%)+可溶性果胶(%)

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=原果胶(或可溶性果胶)提取液总体积(ml)=10

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、 PP 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、 如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定，但应考虑酶标仪的最大检测体积。

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
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCDZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
GCNR0001	DEPC 处理水(0.1%)
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)