

可溶性果胶(SP)检测试剂盒(咔唑微板法)

产品货号: BA1636

产品规格: 50T

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、盐等化学试剂胶及酶的作用下,加水分解转变成水溶性果胶。果胶 (Pectin)由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应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,计算出样品中果胶含量。该试剂盒主要用于定量检测植物组织或果实中果胶含量,该50T试剂盒可以检测50~60左右个样品。该试盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

试剂名称	50T	保存条件
试剂(A):半乳糖醛酸标准(1mg/ml)	1ml	2-8℃,避光
试剂(B): SP Lysis buffer	4×250ml	室温
试剂(C): SP Assay buffer	1ml	2-8℃,避光

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、96孔板、酶标仪
- 4. 离心管或试管
- 5. 离心机、水浴锅

操作步骤:

- 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 用离心管或试管中, 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,8000g 离心 15min,弃上清液;重复该步骤 2 次,以去除样品中的糖分以及其他物质。
- 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 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。



上海尚宝生物科技有限公司 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号 电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520 邮箱: saintbio@126.com http://www.saint-bio.com



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 100 μ g/ml, 然后再按下表进 行梯度稀释:

加入物(μ1)	1	2	3	4	5
半乳糖醛酸标准(100 μ g/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		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 280 μ1,加至 96 孔板的孔中,加入 8 μ1 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 号管系列果胶标准(20、40、60、80、100 μ g/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($\mu g/g$)=(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(%)= $(c \times N \times V_T)/(W \times 10^6) \times 100\%$

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。
- 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

6个月有效。4℃运输,4℃保存。



地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号 电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520 邮箱: saintbio@126.com http://www.saint-bio.com