

可溶性果胶(SP)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合物,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。

Leagene 可溶性果胶(SP)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 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:

名称	编号	TC2113 25T	Storage
试剂(A):半乳糖醛酸标准(1mg/ml)		1ml	4°C 避光
试剂(B): SP Lysis buffer		4×250ml	RT
试剂(C): SP Assay buffer		3ml	4°C 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、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 0.2g,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°C 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 10ml, 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 100 μ g/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(100 μ g/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(μ g/ml)	20	40	60	80	100

- 3、SP 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	—
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、SP 测定: 加入 0.1ml SP 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)。

计算:

以 1~5 号管系列半乳糖醛酸标准(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。

$$\text{组织样品的可溶性果胶含量}(\mu\text{g/g}) = (c \times N \times V_T) / W$$

$$\text{液体样品的可溶性果胶浓度}(\mu\text{g/ml}) = c \times N$$

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

式中: c=根据标准曲线求得的测定管半乳糖醛酸浓度 (μ g/ml)

V_T =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、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
CS0201	细胞线粒体分离试剂盒
DC0032	Masson 三色染色液
DP0013	GUS 染色液(即用型)
NR0001	DEPC 处理水(0.1%)
PS0013	RIPA 裂解液(强)
TC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)