

可溶性果胶(SP)检测试剂盒(咔唑微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

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，计算出样品中果胶含量，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。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	规格	保存条件
可溶性果胶(SP)检测试剂盒(咔唑微板法)	50T	4℃避光
试剂(A):果胶标准(1mg/ml)	1ml	4℃避光
试剂(B):SPLysisBuffer	4×250ml	RT
试剂(C):SPAssayBuffer	1ml	RT 避光
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

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
- 4、离心管或试管
- 5、离心机、水浴锅

6、96 孔板、酶标仪

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 SPLysisBuffer，充分研磨或匀浆后转入 5ml 离心管或试管中，用 SPLysisBuffer 冲洗研钵或匀浆器并转移至离心管或试管中，补加 SPLysisBuffer 至 5ml。
- ③沸水浴 30min，在煮沸过程中及时补加 SPLysisBuffer 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，8000g 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，8000g 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、稀释果胶标准溶液：取适量的果胶标准(1mg/ml)，按下表进行稀释：

加入物(μl)	1	2	3	4	5
果胶标准(1mg/ml)	4	8	12	16	20
蒸馏水	196	192	188	184	180
果胶含量(μg)	4	8	12	16	20

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	—	—
系列果胶标准(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)	1.8	1.8	1.8
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 200 μl，加至 96 孔板的孔中，加入 6 μl ISPAAssayBuffer，避光静置 0.5~2h，当显色最深时用酶标仪以空白调零，测定系列标准孔、测定孔在 530nm 处吸光度。

计算：

以 1~5 号管系列果胶标准(4、8、12、16、20 μg)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。

组织样品的果胶(μg)= $\{m \times VT \times 2\} / (W \times Vs \times 0.2)$

式中：m=根据标准曲线求得的测定管果胶含量(μg)

VT=可溶性果胶提取液总体积(ml)

2=加入浓硫酸后反应液体积(ml)

Vs=加样时所用可溶性果胶提取液的体积(ml)=0.2

W=样品鲜重(g)

0.2=加入反应液体积(ml)

液体样品的果胶($\mu\text{g/ml}$)= $m \times N \times 2 / V \times 0.2$

式中：m=根据标准曲线求得的测定管果胶含量(μg)

N=稀释倍数

2=加入浓硫酸后反应液体积(ml)

V=加样时所用可溶性果胶提取液的体积(ml)=0.2

0.2=加入反应液体积(ml)

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、SPAssayBuffer 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。