

## 可溶性果胶(SP)检测试剂盒(咪唑比色法)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  $\alpha$ -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(咪唑比色法)检测原理是果胶物质水解生成半乳糖醛酸，后者在硫酸溶液中咪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 25T 试剂盒可以检测 25~30 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(咪唑比色法)	25T	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	3ml	4℃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、比色杯、分光光度计

### 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 SPLysisBuffer,充分研磨或匀浆后转入 10ml 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 10ml。③沸水浴 30min,在煮沸过程中及时补加 SPLysisbuffer 至 10ml,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 4ml 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 10ml,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(ml)	1	2	3	4	5
果胶标准(1mg/ml)	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
蒸馏水	0.49	0.48	0.47	0.46	0.45
果胶含量(μg)	10	20	30	40	50

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	—	—
系列果胶标准(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
维生素 C 工作液	0.15	0.15	0.15
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,1cm 的比色杯,以空白调零,测定系列标准管、测定管在 530nm 处吸光度。

### 计算:

以 1~5 号管系列果胶标准(10、20、30、40、50 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( $\mu\text{g}$ )= $\{m \times VT\} / (W \times Vs)$

式中： $m$ =根据标准曲线求得的测定管果胶含量( $\mu\text{g}$ )

$VT$ =可溶性果胶提取液总体积( $\text{ml}$ )

$W$ =样品鲜重( $\text{g}$ )

$Vs$ =加样时所用可溶性果胶提取液的体积( $\text{ml}$ )=0.5

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

式中： $m$ =根据标准曲线求得的测定管果胶含量( $\mu\text{g}$ )

$N$ =稀释倍数

$V$ =加样时所用可溶性果胶提取液的体积( $\text{ml}$ )=0.5

**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。