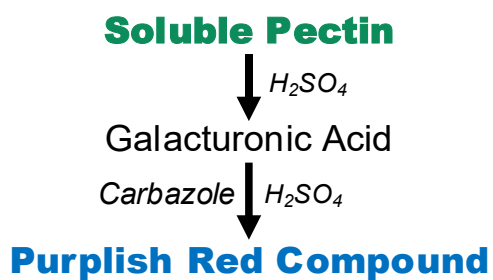




可溶性果胶含量检测试剂盒

Soluble Pectin Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



可溶性果胶含量检测试剂盒

Soluble Pectin Content Assay Kit

一、产品描述

天然果胶类物质以原果胶、果胶、果胶酸形态广泛存在于植物的果实、根、茎和叶中，是细胞壁的组成成分之一，与纤维素结合可构成相邻细胞中间层粘合物，使植物组织细胞紧密结合。在未成熟的果实或植物组织中大多以原果胶的形式存在，原果胶不溶于水，但能够在酸、碱、盐等化学试剂及酶的作用下分解为水溶性果胶或果胶酯酸。在果实成熟过程中原果胶在原果胶酶的作用下转化为可溶性果胶，使果实组织变软、硬度下降，其含量可作为果实成熟度的重要标志之一。

可溶性果胶能够在酸性条件下水解为半乳糖醛酸，进一步在强酸环境中与吡啶缩合生成紫红色化合物，产物在 530 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测可溶性果胶的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液 A	液体×1 瓶 (自备试剂)	4°C 保存	80% (v/v) 乙醇 (400 mL 无水乙醇加入 100 mL 蒸馏水充分混匀)
提取液 B	液体 120 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
提取液 C	液体 130 mL×2 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体×1 瓶 (自备试剂)	RT 保存	浓硫酸 (优级纯, MW=98.078, CAS:7664-93-9)
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体 4 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 半乳糖醛酸)	4°C 避光保存	使用前加入 943 μ L 提取液 C 充分溶解 (即为 50 μ mol/mL 半乳糖醛酸标准液)
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 50 μ mol/mL 半乳糖醛酸标准液使用提取液 C 稀释至 3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 μ mol/mL 即为标准稀释液。			

自备试剂: 浓硫酸 (H_2SO_4 , 优级纯, MW=98.078, CAS:7664-93-9);

无水乙醇 ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$, MW=46.07, CAS:64-17-5); 丙酮 (CH_3COCH_3 , MW=58.08, CAS:67-64-1);

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、浓硫酸（优级纯）、无水乙醇、丙酮和蒸馏水。

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①称取 100 mg 样本，加入 1 mL 提取液 A，室温快速匀浆，95℃浸提 20 min（密封以防止水分散失），冷却至室温后，8000 g 常温离心 10 min，弃上清液，留沉淀；

②沉淀中加入 1.5 mL 提取液 A 和丙酮交替各洗 2 遍（涡旋振荡 2 min，8000 g 常温离心 10 min，弃上清），收集沉淀即为粗细胞壁；

③粗细胞壁中加入 1 mL 提取液 B，室温浸提 15 h，8000 g 常温离心 10 min，弃上清液，留沉淀；

④沉淀中加入 2 mL 提取液 C，充分匀浆，8000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 530 nm。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	25	25	-	-
标准稀释液	-	-	25	-
蒸馏水	-	-	-	25
试剂一	200	200	200	200
充分混匀，90℃处理 10 min（密封以防止水分散失） 冰浴冷却至室温				
试剂二	-	25	-	-
试剂三	25	-	25	25
充分混匀，室温静置 30 min				

注：加入试剂一会大量放热，此步骤需置于冰上操作。

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板中，测定 530 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样本均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 $\mu\text{mol/mL}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

3.可溶性果胶含量计算

$$\text{可溶性果胶含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{提}} \times C \times D}{W} = \frac{2 \times x \times D}{W}$$

注释：V 提 C：加入提取液 C 的体积，2 mL；W：样本质量，g；D：待测样本稀释倍数。

四、注意事项

- ①若样品质地坚硬，可先研碎后再进行匀浆，或使用匀浆器匀浆；
- ②浓硫酸质量对显色体系具有一定的影响，建议使用优级纯浓硫酸，标准品显色完成后应为红色，若出现明显绿色则应该更换浓硫酸后再进行试验；
- ③浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需特别注意：应缓慢加入以防止液面沸腾烫伤及样本碳化，90℃处理结束后需冷却至室温再进行后续操作，防液体飞溅烧伤；
- ④若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用**提取液 C**适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- ⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

