

## 共价结合型果胶（CSP）含量检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1147

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

果胶(Pectin)是构成细胞初生壁和中胶层的主要成分，对细胞起着软化和黏合作用。果胶间以Ca<sup>2+</sup>桥及其他离子键、氢键、糖苷键、酯键和苯环偶联的方式交联，通过不同的抽提方法可以提取各种形式的果胶，如水溶性果胶（WSP）、离子结合型果胶（ISP）和共价结合果胶（CSP）。

利用带有螯合剂的碱溶液提取共价结合型果胶（CSP），其在酸性条件下水解生成半乳糖醛酸，后者在硫酸溶液中与咪唑进行缩合反应形成紫红色的化合物，生成物质在530nm处有最大吸收峰。

### 产品内容：

提取液一：80%乙醇，自备。即将80mL无水乙醇和20mL蒸馏水混合。

提取液二：液体50mL×1瓶，4℃保存。

提取液三：液体70mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：浓硫酸30mL，自备。

试剂二：液体3mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：液体5mL×1瓶，4℃保存。

标准品：粉剂×1支，10mg半乳糖醛酸，4℃保存。临用前加入0.943mL提取液三，配成50μmol/mL的标准液。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、丙酮、浓硫酸、无水乙醇和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、共价结合型果胶的提取：

取约0.1g样本，加入1mL提取液一，室温快速匀浆，95℃水浴20min，冷却至室温，4000g 25℃离心10min，弃上清。沉淀加入1.5mL提取液一和丙酮交替各洗2遍（涡旋振荡2min左右，4000g 25℃离心10min，弃上清即可），沉淀即为粗细胞壁，加入1mL提取液二（去除淀粉）浸泡15小时，4000g 25℃离心10min，弃上清，加入1mL提取液三，充分匀浆。8000g 4℃离心10min，取上清液待测。

#### 二、测定步骤：

- 1、分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至530nm，蒸馏水调零。
- 2、将50μmol/mL标准液用提取液三稀释为0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.2、0.1、0.05μmol/mL的标准溶液备用。
- 3、操作表：

试剂名称（μL）	空白管	标准管	对照管	测定管
样本	-	-	25	25
标准品	-	25	-	-
蒸馏水	25	-	-	-
试剂一	200	200	200	200



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

混匀、90℃放置10min，取出后冷却				
试剂二	-	-	25	-
试剂三	25	25	-	25

混匀，25℃静置30min后吸取200 μL于微量玻璃比色皿或96孔板中测定530nm处吸光值，分别记为A空白管、A标准管、A对照管和A测定管。 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。

### 三、共价结合型果胶含量的计算：

#### 1、标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为x轴，其对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为y轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程得到x（μmol/mL）

#### 2、共价结合型果胶含量的计算：

共价结合型果胶含量(μmol /g 鲜重)=  $x \times V_{\text{提取液三}} \div W = x \div W$

V提取液三：加入提取液三的总体积，1mL；W：样本鲜重，g。

#### 注意事项：

- 1、浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需特别注意，90℃加热取出后冷却再打开盖子，以防液体飞溅烧伤。
- 2、若 $\Delta A$ 超过0.3，可将样本用提取液三进行适当稀释再进行测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com