

离子结合性果胶（ISP）含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1209

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Ca²⁺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）。

利用带有螯合剂的酸性提取液提取离子结合型果胶（ISP），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。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体200mL×1瓶（自备）	2-8℃
提取液二	液体50mL×1瓶	2-8℃
提取液三	液体70mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体30mL×1瓶（自备）	2-8℃
试剂二	液体3mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体5mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 提取液一：80%乙醇，自备。即将80mL无水乙醇和20mL蒸馏水混合。提供一个125mL空瓶。
2. 试剂一：浓硫酸30mL，自备。
3. 标准品：10mg半乳糖醛酸。临用前加入0.943mL提取液三，配成50μmol/mL的标准液。

技术指标：

最低检出限：0.0946μmol/mL

线性范围：0.1-2μmol/mL

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、样品处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 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。



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

二、测定操作

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至530nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 将50 $\mu\text{mol/mL}$ 标准液用提取液三稀释为2、1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1 $\mu\text{mol/mL}$ 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
混匀、90 $^{\circ}\text{C}$ 放置10min，取出后冷却				
试剂二	-	-	25	-
试剂三	25	25	-	25
混匀，25 $^{\circ}\text{C}$ 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、离子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（ $\mu\text{mol/mL}$ ）。

2. 离子结合型果胶含量的计算：

$$\text{离子结合型果胶含量}(\mu\text{mol/g质量}) = x \times V_{\text{提取液三}} \div W = x \div W$$

V提取液三：加入提取液三的总体积，1mL；W：样本质量，g。

注意事项：

1. 浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需特别注意，90 $^{\circ}\text{C}$ 加热取出后冷却再打开盖子，以防液体飞溅烧伤。建议每次实验冷却时间保持一致。
2. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。



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