

## 离子结合型果胶（ISP）含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA2171

产品规格：100T/48S

### 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咔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。

### 技术指标：

最低检出限：0.0946μmol/mL

线性范围：0.1-2μmol/mL

**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。**

### 产品组成：

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。

### 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、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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，分光光度计蒸馏水调零。



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

- 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。
- 操作表：

试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	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 $\mu\text{L}$ 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。 $\Delta A$ 标准=A 标准管-A 空白管, $\Delta A$ 测定=A 测定管-A 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  $\Delta A$  标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程  $y=kx+b$ ，将  $\Delta A$  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：

离子结合型果胶含量( $\mu\text{mol/g}$  质量)= $x \times V$  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：

- 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。
- 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