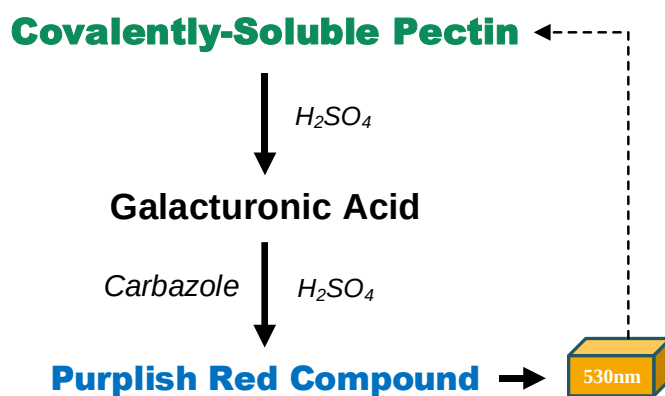




共价结合型果胶（CSP）含量检测试剂盒
Covalently-Soluble Pectin (CSP) Content Assay Kit



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



共价结合型果胶（CSP）含量检测试剂盒

Covalently-Soluble Pectin (CSP) 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，对细胞起着软化和黏合作用。果胶间以 Ca^{2+} 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）和共价结合型果胶（CSP）。

利用带有螯合剂的碱溶液提取共价结合型果胶（CSP），在稀酸溶液中可水解为可溶性果胶，进一步转化为半乳糖醛酸，半乳糖醛酸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共价结合型果胶含量。

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 200 mL×1 瓶 (自备试剂)	4°C 保存	80% (V/V) 乙醇 (160 mL 无水乙醇和 40 mL 蒸馏水充分混匀)
提取液 B	液体 100 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 C	液体 100 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 50 mL×1 瓶 (自备试剂)	RT 保存	浓硫酸 (H_2SO_4 , MW= 98.078, CAS: 7664-93-9)
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	50 µg/mL 半乳糖醛酸标准液

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

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴、浓硫酸、无水乙醇、丙酮和蒸馏水。

1.共价结合型果胶（CSP）的提取

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，5000 g 常温离心 10 min，弃上清，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，5000 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 浸提 15 h，5000 g 常温离心 10 min，弃上清，留沉淀；

④沉淀中加入 1 mL 提取液 C，充分匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液即为待测样本。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 530 nm，蒸馏水调零。

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	50	50	-	-
标准液	-	-	50	-
蒸馏水	-	50	-	50
试剂一	50	-	50	50
充分混匀				
试剂二	400	400	400	400
95℃处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温				

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，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：每个样品均需设一个对照管，空白管只需测定 1-2 次。

3.共价结合型果胶（CSP）含量计算

$$\text{共价结合型果胶含量 } (\mu\text{g/g}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{提C}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times W} = \frac{50 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

注释：C 标：半乳糖醛酸标准液浓度，50 μg/mL；V 提 C：提取过程中加入提取液 C 的体积，1 mL；W：样本质量，g； $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

四、注意事项

- ①若样品质地坚硬，可先研碎后再进行匀浆，或者使用匀浆器匀浆；
- ②浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需特别注意，90℃加热取出冷却后再打开盖子，防液体飞溅烧伤；
- ③若测定吸光值大于 1.5，建议将待测样本使用适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ④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.

