

使用说明书

Instruction Manual

共价结合型果胶含量检测试剂盒（微量法）

CSP Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

果胶是构成细胞初生壁和中胶层的主要成分，主要由原果胶、果胶酸甲酯和果胶酸组成。果胶中含有半乳糖醛酸、乳糖、阿拉伯糖、葡萄糖醛酸等，是许多高等植物细胞壁中含量最丰富的多糖成分，其独特的物理、化学性质影响着植物源食品的口感和品质。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）和共价结合果胶（CSP）。

检测原理

利用带有螯合剂的碱溶液提取共价结合型果胶（CSP），采用咪唑比色法测定果胶含量。果胶水解成半乳糖醛酸，在硫酸溶液中与咪唑试剂进行缩合反应，生成物质在 530 nm 处有最大吸收峰。

产品组成及储存条件

100T/48S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0060M-A	100mL×1 瓶	4℃保存
CB0060M-B	100mL×1 瓶	4℃保存
CB0060M-C	标准液 1mL×1 支	4℃保存
CB0060M-D	5mL×1 瓶	4℃保存

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、水浴锅、可调式移液器、80%乙醇、丙酮、浓硫酸（不允许快递）、研钵和蒸馏水。

二、酶液提取：

- 细胞壁的提取：取约 0.3g 样本，加入 1mL 80%乙醇，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 80%乙醇和丙酮各洗一遍（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 CB0060M-A（去除淀粉）浸泡 15 小时，4000g 25℃离心 10min，弃上清，将沉淀干燥，称重得细胞壁物质（CWM）。
- WSP 的提取：称取烘干的 CWM 3mg，加入 1mL CB0060M-B，充分匀浆（若烘干物质质地坚硬，可先研碎后再加入 1mL CB0060M-B 匀浆，或者用匀浆器匀浆）。8000g 4℃离心 10min，取上清液待测。

三、测定步骤：

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 530nm 处，蒸馏水调零。
- CB0060M-C 和 CB0060M-D 37℃预热 10min 以上。
- 操作表（在 EP 管中依次加入）：

试剂名称	空白管 (μL)	标准管 (μL)	对照管 (μL)	测定管 (μL)
待测样本			50	50
CB0060M-C		50		
蒸馏水	50		50	
CB0060M-D	50	50		50
混匀。				
浓硫酸	400	400	400	400
混匀，95℃水浴 5min 后，冷却至室温，取 200μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中，530nm 处读取吸光值，空白管、标准管、对照管和测定管吸光值分别记为 A1、A2、A3 和 A4。				

注：1. 若 A 大于 2，需将待测样本用蒸馏水稀释（可稀释 10 倍或 20 倍）。

2. 空白管和标准管只要做一管，每个测定管需设一个对照管。

四、CSP 含量计算：

CSP 含量(mg /g 干重)

$= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_4 - A_3) \div (A_2 - A_1) \div (W \times V_1 \div V_2) \times \text{稀释倍数}$

$= 0.05 \times (A_4 - A_3) \div (A_2 - A_1) \div W \times \text{稀释倍数}$

注：C 标准：标准管浓度，0.05mg/mL；V1：加入样本体积，0.1mL；V2：加入提取液体积，1mL；W：样本干重，g。

注意事项

1. 最低检测限为 50μg /g 干重。
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

