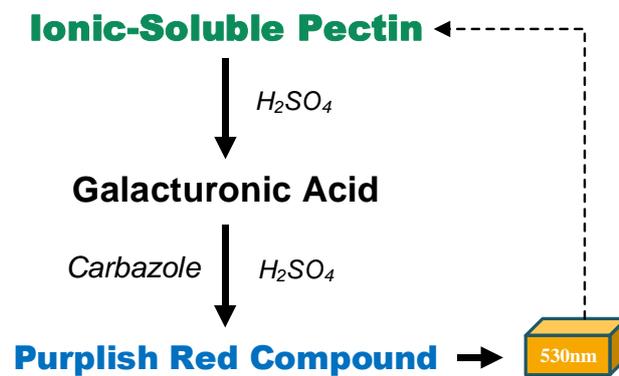




离子结合型果胶 (ISP) 含量检测试剂盒  
Ionic-Soluble Pectin (ISP) Content Assay Kit



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



## 离子结合型果胶 (ISP) 含量检测试剂盒

### Ionic-Soluble Pectin (ISP) 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  $\text{Ca}^{2+}$  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)。

利用带有螯合剂的酸性提取液提取离子结合型果胶，酸性条件下可水解生成半乳糖醛酸，半乳糖醛酸能够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离子结合型果胶的含量。

#### 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	<b>80%乙醇</b> (80 mL 无水乙醇和 20 mL 蒸馏水充分混匀)
提取液 B	液体 50 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 C	液体 70 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 30 mL×1 瓶 (自备试剂)	RT	<b>浓硫酸</b> ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ , MW = 98.078, CAS: 7664-93-9)
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 半乳糖醛酸)	4°C 保存	使用前加入 943 $\mu\text{L}$ 提取液 C 充分溶解 (即为 50 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 半乳糖醛酸标准液)
<b>标准稀释液的准备:</b> 将 50 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 半乳糖醛酸标准液使用提取液 C 稀释至 2.0、1.0、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 即为标准稀释液。			

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 ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ , MW = 58.08, CAS: 200-662-2); 浓硫酸 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 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/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. 离子结合型果胶 (ISP) 的提取 (可根据预实验结果适当调整样本量)

①称取 100 mg 样本，加入 1 mL 提取液 A，室温快速匀浆，95°C 水浴浸提 20 min (密封以防止水分散失)，冷却至室温后，4000 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，4000 g 常温离心 10 min，弃上清)，沉淀即为粗细胞壁；

③粗细胞壁中加入 1 mL 提取液 B 浸泡 15 h，4000 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°C 8000 g 离心 10 min，取上清即为待测样本。

#### 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 ( $\mu\text{L}$ )	对照管 ( $\mu\text{L}$ )	标准管 ( $\mu\text{L}$ )	空白管 ( $\mu\text{L}$ )
待测样本	25	25	-	-
标准稀释液	-	-	25	-
蒸馏水	-	-	-	25
试剂一	200	200	200	200
90°C 处理 10 min (密封以防止水分散失)，冷却至室温				
试剂二	-	25	-	-
试剂三	25	-	25	25
充分混匀，室温静置 30 min				

**吸光值测定：**吸取 200  $\mu\text{L}$  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  $\Delta A$  测定 = A 测定 - A 对照， $\Delta A$  标准 = A 标准 - A 空白。注：每个测定管均需设一个对照管，空白管只需测定 1-2 次。

**标准曲线的建立：**以 2.0、1.0、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1  $\mu\text{mol/mL}$  标准稀释液浓度为横坐标 (x)，以其对应的  $\Delta A$  标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到线性回归方程  $y=kx+b$ ，将  $\Delta A$  测定带入公式中得到 x ( $\mu\text{mol/mL}$ )。

### 3.离子结合型果胶（ISP）含量计算

$$\text{离子结合型果胶含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V \text{ 提取液 C}}{W} = \frac{x}{W}$$

**注释：** V 提取液 C：提取过程中加入提取液 C 的体积，1 mL；W：样本质量，g。

#### 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°C加热取出冷却后再打开盖子，防液体飞溅烧伤；
- ③若测定吸光值超出标准线性吸光值范围：高于最高值建议将待测样本使用提取液 C 适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，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.

