



## 离子结合型果胶含量检测试剂盒

### ISP Assay Kit

可见分光光度法

产品编号: AK497V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

| 编号      | 规格          | 储存条件  |
|---------|-------------|-------|
| AK497-A | 50mL×1 瓶    | 4℃保存; |
| AK497-B | 50mL×1 瓶    | 4℃保存; |
| AK497-C | 标准液 1mL×1 支 | 4℃保存; |
| AK497-D | 5mL×1 瓶     | 4℃保存; |

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

**意义:** 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  $\text{Ca}^{2+}$  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) 和共价结合果胶 (CSP)。

**原理:** 利用带有螯合剂的酸溶液提取离子结合型果胶 (ISP), 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。

自备用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、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。

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 AK497-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 AK497-B, 充分匀浆 (若烘干物质质地坚硬, 可先研碎后再加入 1mL AK497-B 匀浆, 或者用匀浆器匀浆)。8000g 4℃离心 10min, 取上清液待测。

测定步骤:

- 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 530nm 处, 蒸馏水调零;
- AK497-C 和 AK497-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 (ul) | 标准管 (ul) | 对照管 (ul) | 测定管 (ul) |
|-------------------------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| 待测样本                                                        |          |          | 100      | 100      |
| AK497-C                                                     |          | 100      |          |          |
| 蒸馏水                                                         | 100      |          | 100      |          |
| AK497-D                                                     | 100      | 100      |          | 100      |
| 混匀                                                          |          |          |          |          |
| 浓硫酸                                                         | 800      | 800      | 800      | 800      |
| 混匀 95℃水浴 5min 后, 冷却至室温, 吸取至玻璃比色皿中, 于 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。

**注意：**若 A 大于 2，需将待测样本用蒸馏水稀释。空白管和标准管只要做 1-2 管，每个测定管需设一个对照管。

**ISP 含量计算：**

ISP 含量(mg /g 干重)

= (C 标准×V1) ×(A4-A3)÷(A2-A1)÷(W×V1÷V2) ×稀释倍数

=0.05×(A4-A3)÷(A2-A1)÷W×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：**最低检测限为 50μg /g 干重