



## 离子结合型果胶含量检测试剂盒

### ISP Assay Kit

微量法

产品编号: AK497M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK497-A	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK497-B	100mL×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  $Ca^{2+}$  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/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。

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:

- 分光光度计或酶标仪预热 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			50	50
AK497-C		50		
蒸馏水	50		50	
AK497-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。

**注意：**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）。空白管和标准管只要做一管，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，0.05ml；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