

共价结合型果胶(CSP)含量检测试剂盒(可见分光光度法)

产品货号: BA1146

产品规格: 50T/24S

产品简介:

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Ca2+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)。

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

产品内容:

试剂名称	规格	保存温度
试剂一:液体	50ml	2-8℃
试剂二:液体	50ml	2-8℃
试剂三:标准液	1ml	2-8℃
试剂四:液体	5ml	2-8℃

自备仪器和用品:

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1ml玻璃比色皿、80%乙醇、丙酮、浓硫酸(不允许快递)、研钵和蒸馏水。

样品的前处理:

- 1. 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1.5ml80%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试剂一(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)。
- 2. CSP的提取: 称取烘干的CWM 3mg,加入1ml试剂二,充分匀浆(若烘干物质质地坚硬,可先研碎后再加入1ml试剂二匀浆,或者用匀浆器匀浆)。8000g 4℃离心10min,取上清液待测。

测定步骤:

- 1. 分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 530nm 处,蒸馏水调零;试剂三和试剂四 37℃预热 10min 以上。
- 2. 操作表

试剂名称(μl)	空白管	标准管	对照管	测定管
待测样本			100	100
试剂三		100		
蒸馏水	100		100	
试剂四	100	100		100





混匀					
浓硫酸		800	800	800	800

混匀 95℃水浴 5min 后,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。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。

CSP 含量计算:

(CSP 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

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_{\circ}

注意: 检测限为 50μg/g 干重。