

可溶性果胶(WSP)含量试剂盒说明书

(货号: G0704F 分光法 48 样)

一、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等形式广泛分布于植物果实、根茎和叶中。果胶和纤维素以及金属离子等物质相结合形成不溶于水的原果胶, 在果蔬成熟过程中转变为可溶性果胶, 果实组织也变得软化、硬度下降。

本试剂盒先提取得到可溶性果胶 (WSP), 采用咪唑比色法测定可溶性果胶含量。果胶水解成半乳糖醛酸, 在硫酸溶液中与咪唑进行缩合反应, 生成紫红色物质, 经光谱扫描该物质在 530nm 处有最大吸收峰, 颜色深浅与果胶含量成正比, 进而得可溶性果胶含量。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 1.5mL×1 支	4℃ 保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃ 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

三、所需的仪器和用品:

分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (1cm 光径)、水浴锅、可调式移液器、乙醇、浓硫酸、研钵。

四、可溶性果胶(WSP)含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- ① 取 0.1g 组织(水分充足的样本可取 0.2g), 加 2 mL 80%乙醇, 研磨匀浆, 95℃水浴 25min, 取出流水冷却后, 8000rpm, 25℃离心 10min, 弃上清, 留沉淀,
- ② 向沉淀中加入 1 mL 80%乙醇混匀, 95℃水浴 25min, 取出流水冷却后, 8000rpm, 25℃离心 10min, 弃上清, 留沉淀,
- ③ 再向沉淀中加入 1 mL 蒸馏水混匀, 50℃水浴 30min, 流水冷却至室温, 8000rpm, 25℃离心 10min, 弃沉淀, 取上清液待测。

2、上机检测:

- ① 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长为 530nm, 蒸馏水调零;
- ② 在 EP 管中依次加入:

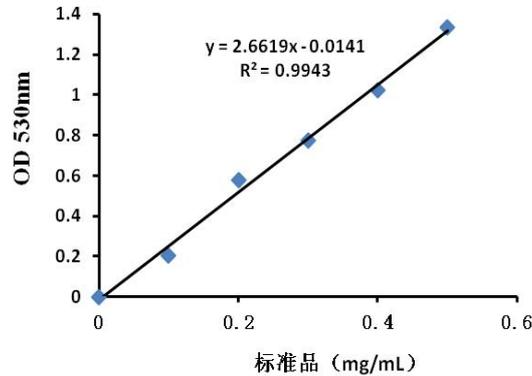
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	105	
蒸馏水		105
浓硫酸	630	630
可用封口膜缠紧, 85℃水浴 15min 后, 流水冷却至室温。		
试剂一	21	21
混匀, 室温 (25℃) 暗处反应 30min (间隔 10min 混匀一次), 全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中, 于 530nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

- 【注】: 1、浓硫酸必须是分析纯级别, 且不能长期开口放置, 否则影响显色结果。另外浓硫酸具有强腐蚀性, 操作时需特别注意, 85℃加热取出后冷却再打开盖子, 以防液体飞溅烧伤。
- 2、显色反应必须在暗处反应, 否则颜色很快消失或者变淡, 影响吸光值。

- 3、若 A 测定管值大于 1.8，可用蒸馏水稀释样本即待检测上清液，则稀释倍数 D 需代入公式计算；或若 A 值再零附近可增加样本取样质量 W。

五、结果计算：

- 1、标准曲线方程： $y = 2.6619x - 0.0141$ ；， x 为标准品浓度（mg/mL）， y 是 ΔA 。



- 2、可溶性果胶含量(mg /g 重量) $= [(\Delta A + 0.0141) \div 2.6619 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D$
 $= 0.37 \times (\Delta A + 0.0141) \div W$

W---样本重量， g；

V---加入提取液体积， 1mL；

V1---加入样本体积， 0.105mL；

D---稀释倍数。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（0.5mg/mL）：临用前向标准品中加入 2mL 蒸馏水（现配现用）。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0， 0.1， 0.2， 0.3， 0.4， 0.5. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。