

## 可溶性果胶(WSP)含量试剂盒说明书

(货号: ADS-F-GH016 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°C保存	
标准品	粉剂 1 支	4°C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 (烘干且过筛后的粉末组织可取 0.01g), 加 1.5mL 的 80%乙醇, 研磨匀浆, 85°C水浴 10min (及时补充 80%乙醇至 1.5mL), 取出流水冷却后, 8000rpm, 25°C离心 10min, 弃上清, 留沉淀,
- ② 向沉淀中加入 1mL 的 80%乙醇, 混匀, 85°C水浴 10min (及时补充 80%乙醇至 1mL), 取出流水冷却后, 8000rpm, 25°C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°C水浴 30min,流水冷却至室温, 8000rpm, 25°C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°C水浴 15min 后, 流水冷却至室温。		
试剂一	21	21
混匀, 室温 (25°C) 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°C加热取出后冷却再打开盖子, 以防液体飞溅烧伤。

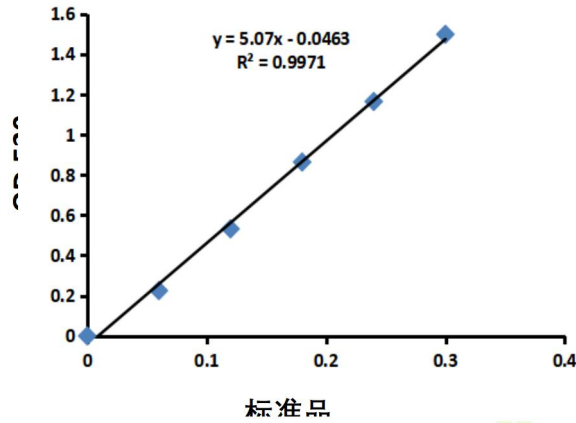
2、显色反应必须在暗处反应, 否则颜色很快消失或者变淡, 影响吸光值。

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： $y = 5.07x - 0.0463$ ；， x 为标准品浓度（mg/mL）， y 是 $\Delta A$ 。



2、可溶性果胶含量(mg/g 重量)=[ $(\Delta A + 0.0463) \div 5.07 \times V1$ ] $\div (W \times V1 \div V) \times D$   
=0.2 $\times (\Delta A + 0.0463) \div W$

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， 未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（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， 0.06， 0.12， 0.18， 0.24， 0.3. 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。