

## 可溶性果胶(WSP)含量试剂盒说明书

(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：

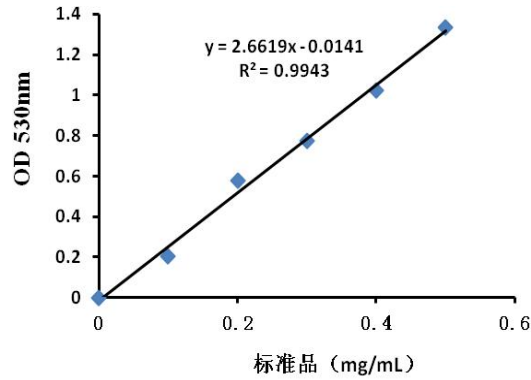
试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	105	
蒸馏水		105
浓硫酸	630	630
可用封口膜缠紧，85℃水浴 15min 后，流水冷却至室温。		
试剂一	21	21
混匀，室温（25℃）暗处反应 30min（间隔 10min 混匀一次），全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 530nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

- 【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  $\Delta A$ 。



- 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。