

Water Soluble Pectin (WSP) Content Kit

可溶性果胶(WSP)含量试剂盒说明书

货号: G0704W | 方法: 微板法 | 规格: 96 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 mg×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:

酶标仪、96 孔板、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, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

A: 组织样本:

- 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,
- 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。
- 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。

B: 液体样本:

- 按照液体: 纯乙醇=2:8 的比例 (如: 0.4mL 液体加 1.6mL 的纯乙醇混匀, 乙醇占比 80%) 混匀, 8000rpm, 25°C离心 10min, 弃上清, 留沉淀。
- 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。
- 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:

- 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长为 530nm;
- 可取两个样本做适当梯度的稀释 (如 4 倍, 即 1 份上清液+3 份蒸馏水), 确定适合本次实验的稀释倍数 D。
- 在 EP 管中依次加入:

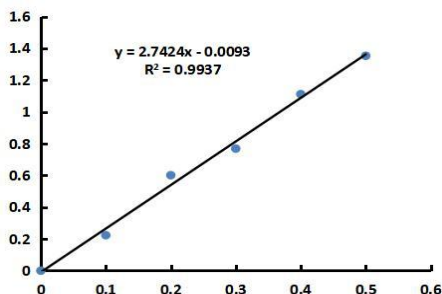
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	70	

蒸馏水		70
浓硫酸	420	420
可用封口膜缠紧，85°C水浴 15min 后，流水冷却至室温。		
试剂一	14	14
混匀，室温（25°C）暗处反应 30min（间隔 10min 混匀一次），立即取出 200μL 于 96 孔中，于 530nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A - \text{测定} - A - \text{空白}$ 。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 2.7424x - 0.0093$ ，x 为标准品浓度（mg/mL），y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{可溶性果胶含量(mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0093) \div 2.7424 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.365 \times (\Delta A + 0.0093) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按液体样本计算：

$$\begin{aligned} \text{可溶性果胶含量(mg/mL)} &= [(\Delta A + 0.0093) \div 2.7424 \times V1] \div (V \text{液} \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.365 \times (\Delta A + 0.0093) \div V \text{液} \times D \end{aligned}$$

W---样本重量，g；

V---加入提取液体积，1mL； V液---液体取样体积，mL；

V1---加入样本体积，0.07mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。