

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0943

Size: 50T/24S

## 可溶性果胶（WSP）检测试剂盒说明书

### 可见分光光度法

一、\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定（如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测）。

#### 一、测定意义：

果胶(Pectin)是构成细胞初生壁和中胶层的主要成分,对细胞起着软化和黏合作用。果胶间以  $\text{Ca}^{2+}$  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)。

#### 二、测定原理：

可溶性果胶在酸性条件下水解生成半乳糖醛酸,后者在硫酸溶液中与咔唑进行缩合反应形成紫红色的化合物,生成物质在 530 nm 处有最大吸收峰。

#### 三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式低温离心机、水浴锅、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、丙酮、浓硫酸、无水乙醇和蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液一	液体 100mL × 1 瓶		80%乙醇自备，即将 80mL 无水乙醇和 20mL 蒸馏水混合。
提取液二	液体 30mL × 1 瓶	4°C 保存	
提取液三	液体 70mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂一	浓硫酸 60mL × 1 瓶	4°C 保存	自备
试剂二	液体 3mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂三	液体 5mL × 1 支	4°C 保存	
标准品	粉剂 × 1 支	4°C 保存	10mg 半乳糖醛酸，临用前加入 0.943mL 提取液三，配成 50μmol/mL 的标准液，4°C 保存。

#### 五、操作步骤：

##### ● 样本处理：

取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液一，室温快速匀浆，95°C 水浴 20min，冷却至室温，4000g，25°C 离心 10min，弃上清。沉淀加入 1.5mL 提取液一和丙酮交替各洗 2 遍（涡旋振荡 2min 左右，4000g，25°C 离心 10min，弃上清即可）沉淀即为粗细胞壁，加入 1mL 提取液二（去除淀粉）浸泡 15 小时，4000g，25°C 离心 10min，弃上清，加入 2mL 提取液三，充分匀浆。8000g，4°C 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，蒸馏水调零。

2、将 50μmol/mL 标准液用提取液三稀释为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125 μmol/mL 的标准溶液备用。

### 3、操作表：

试剂名称	空白管	标准管	对照管	测定管
样本 (μL)	-	-	100	100
标准品 (μL)	-	100	-	-
蒸馏水 (μL)	100	-	-	-
试剂一 (μL)	800	800	800	800
混匀、90℃放置 10min，取出后冷却				
试剂二 (μL)	-	-	100	-
试剂三 (μL)	100	100	-	100
混匀，25℃静置 30min 后测定 530nm 处吸光值，分别记为 A 空白管、A 标准管、A 对照管和 A 测定管。 $\Delta A_{标准}=A_{标准管}-A_{空白管}$ ， $\Delta A_{测定}=A_{测定管}-A_{对照管}$ 。				

### 六、可溶性果胶含量的计算：

#### 1、标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴,其对应的 $\Delta A_{标准}$  标准为 y 轴,绘制标准曲线,得到标准方程  $y=kx+b$ ,将 $\Delta A_{测定}$  带入方程得到 x ( $\mu\text{mol/mL}$ )

#### 2、可溶性果胶含量的计算：

可溶性果胶含量( $\mu\text{mol/g}$  鲜重) =  $x \times V_{提取液三} \div W = 2x \div W$

V 提取液三：加入提取液三的总体积，2mL；W：样本鲜重，g。

技术指标：

最低检出限：0.027 $\mu\text{mol/mL}$

线性范围：0.03125-2 $\mu\text{mol/mL}$

### 七、注意事项

1、浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需特别注意，90℃加热取出后冷却再打开盖子，以防液体飞溅烧伤。建议每次实验冷却时间保持一致。

2、若吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。