

可溶性果胶（WSP）含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: AC10641

规格: 50T/24S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体 100 mL×1 瓶 (自备)	2-8°C保存
提取液二	液体 30 mL×1 瓶	2-8°C保存
提取液三	液体 70 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	液体 60mL×1 瓶 (自备)	2-8°C保存
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 支	2-8°C保存

溶液的配制:

- 1、提取液一: 80%乙醇, 自备。即将 80 mL 无水乙醇和 20 mL 蒸馏水混合。
- 2、试剂一: 浓硫酸, 自备。
- 3、标准品: 10 mg 半乳糖醛酸。临用前加入 0.943 mL 提取液三, 配成 50 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 的标准液, 4°C保存。

产品说明:

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 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)。

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 530nm 处有最大吸收峰。

技术指标:

最低检出限: 0.027 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 线性范围: 0.03125-2 $\mu\text{mol}/\text{mL}$

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。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。

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。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

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。

二、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°C放置10min，取出后冷却				
试剂二（μL）	-	-	100	-
试剂三（μL）	100	100	-	100
混匀，25°C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。ΔA 标准=A 标准管-A 空白管，ΔA 测定=A 测定管-A 对照管。				

三、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ΔA标准为y轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将ΔA测定带入方程得到x（μmol/mL）。

2、可溶性果胶含量的计算：

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

V提取液三：加入提取液三的总体积，2mL；W：样本质量，g。

注意事项

- 1、浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需特别注意，90°C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、如果测定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。

实验实例：

- 1、取0.1g杨树叶加入1mL 提取液一，进行样本处理，取上清液稀释5倍之后按照测定步骤操作，测得计算ΔA测定=A测定管-A对照管=0.079-0.031=0.048，带入标准曲线 $y=0.7536x+0.0022$ 得出 $x=0.0608$ ，计算得：
可溶性果胶含量(μmol/g 质量)= $2x \div W \times 5=6.08 \mu\text{mol/g 质量}$ 。

相关系列产品：

- AC10303/AC10304 总果胶含量检测试剂盒
- AC10477/AC10478 果胶酶活性检测试剂盒