

水溶性果胶 (WSP) 含量试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

正式测定前取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义:

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组成。果胶中含有半乳糖醛酸、乳糖、阿拉伯糖、葡萄糖醛酸等, 是许多高等植物细胞壁中含量最丰富的多糖成分, 其独特的物理、化学性质影响着植物源食品的口感和品质。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)。

测定原理:

利用酸溶液提取得到 (WSP) 水溶性果胶, 采用咪唑比色法测定果胶含量。果胶水解成半乳糖醛酸, 在硫酸溶液中与咪唑试剂进行缩合反应, 生成物质在 530 nm 处有最大吸收峰。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量石英玻璃比色皿/96 孔板、80% 乙醇、丙酮、浓硫酸 (不允许快递)、研钵和蒸馏水。

试剂的组成和配制:

试剂一: 液体 100mL×1 瓶, 4℃ 保存。

试剂二: 液体 100mL×1 瓶, 4℃ 保存。

试剂三: 标准液 1mL×1 支, 4℃ 保存。

试剂四: 液体 5 mL×1 瓶, 4℃ 保存;

样品的前处理:

- 细胞壁的提取:** 取约 0.3g 样本, 加入 1mL 80% 乙醇, 室温快速匀浆, 95℃ 水浴 20min, 冷却至室温, 4000g 25℃ 离心 10min, 弃上清。沉淀加入 1.5mL 80% 乙醇和丙酮各洗一遍 (涡旋振荡 2min 左右, 4000g 25℃ 离心 10min, 弃上清即可), 沉淀即为粗细胞壁, 加入 1mL 试剂一 (去除淀粉) 浸泡 15 小时, 4000g 25℃ 离心 10min, 弃上清, 将沉淀干燥, 称重得细胞壁物质 (CWM)。
- WSP 的提取:** 称取烘干的 CWM 3mg, 加入 1mL 试剂二, 充分匀浆 (若烘干物质质地坚硬, 可先研碎后再加入 1mL 试剂二匀浆, 或者用匀浆器匀浆)。8000g 4℃ 离心 10min, 取上清液待测。

测定步骤:

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 530nm 处, 蒸馏水调零; 试剂三和试剂四 37℃ 预热 10min 以上;

2、操作表:

试剂名称 (μL)	空白管	标准管	对照管	测定管
待测样本			50	50
试剂三		50		
蒸馏水	50		50	
试剂四	50	50		50
混匀				
浓硫酸	400	400	400	400

混匀, 95℃ 水浴 5min 后, 冷却至室温, 取 200μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中, 530nm

订购电话: 0512-62956165 技术支持: 18015581827 投诉电话: 18112525205

处读取吸光值，空白管、标准管、对照管和测定管吸光值分别记为 A1、A2、A3 和 A4。若 A 大于 2，需将待测样本用蒸馏水稀释（可稀释 10 倍或 20 倍）。空白管和标准管只要做一管，每个测定管需设一个对照管。

WSP 含量计算：

$$\text{WSP 含量(mg /g 干重)} = (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times (\text{A4} - \text{A3}) \div (\text{A2} - \text{A1}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V2}) \times \text{稀释倍数} \\ = 0.05 \times (\text{A4} - \text{A3}) \div (\text{A2} - \text{A1}) \div \text{W} \times \text{稀释倍数}$$

C 标准：标准管浓度，0.05mg/mL； V1：加入样本体积，0.05mL； V2：加入提取液体积，1mL； W：样本干重，g。

注意：最低检测限为 50 μ g /g 干重