CheKine™ 总果胶含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1584　　规格: 48 T/24 S　96 T/48 S　　批号：见产品标签

	适用样本：植物组织
	保质期：4℃，避光保存 6 个月

01 背景与原理

果胶为植物细胞壁酸性杂多糖，主链由 D-半乳糖醛酸以α-1,4-糖苷键相连，羧基可甲酯化、乙酰化（工业可酰胺化）；侧链连鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、木糖等中性糖。果胶物质分为原果胶（不溶性）、水溶性果胶、果胶酸；具备凝胶、增稠、乳化性能，广泛用于食品、纺织、印染、烟草、冶金行业。

本试剂盒检测原理是原果胶在稀酸中水解为可溶性果胶，与原有的可溶性果胶一起进一步转化为半乳糖醛酸，半乳糖醛酸在强酸中与咔唑缩合生成紫红色化合物，在 530 nm 处有特征吸收。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer Ⅱ	60 mL	120 mL	4℃
Reagent Ⅲ	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 530 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水、浓硫酸、无水乙醇	试剂/检测体系配制用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、恒温水浴锅、制冰机、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

注意：Extraction Buffer Ⅰ、Reagent Ⅰ、Reagent Ⅱ需自备。

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer Ⅰ	即用型；95%乙醇，将 95 mL 无水乙醇和 5 mL 去离子水混合	室温保存（自备）
Extraction Buffer Ⅱ	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent Ⅰ	即用型；浓硫酸	室温保存（自备）；**Reagent Ⅰ具有强腐蚀性，请谨慎操作**
Reagent Ⅱ	即用型；无水乙醇	室温保存（自备）
Working Reagent Ⅲ	临用前配制；48 T 加入 2.1 mL 无水乙醇，96 T 加入 4.2 mL 无水乙醇，充分溶解待用	未用完的试剂 4℃避光保存可稳定 1 个月；**Working Reagent Ⅲ有毒，建议在通风橱进行实验**
Standard	临用前配制；加入 1 mL 去离子水充分溶解，配制成 5 mg/mL Standard	未用完的试剂 4℃避光保存可稳定 1 个月
Standard（0.5 mg/mL）	取 10 μL 5 mg/mL Standard 用 90 μL 去离子水稀释配制成 0.5 mg/mL Standard，进行后续检测	**每次实验，请使用新配制的标准品；配制好的标准品需要在 4 h 之内使用**

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把完整细胞或者分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从-80℃拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。如果需要同时检测总果胶与原果胶，建议将样本捣碎拌匀后再称量，以减少取样部位不同对结果的影响。

- **植物组织**：将组织样品捣碎，称取约 0.05 g 样品，加入 1 mL Extraction Buffer Ⅰ，置于 90℃恒温水浴锅中浸提 30 min，取出冷却后 5000 g，室温（25℃）离心 10 min，弃上清，沉淀中再加入 1 mL Extraction Buffer Ⅰ重复操作一次，离心后去上清。沉淀中再加入 1 mL Extraction Buffer Ⅱ，置于 90℃恒温水浴锅中水解 1 h，取出冷却后 8000 g，室温（25℃）离心 15 min，取上清液待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 530 nm。
2. **检测体系配制**：空白管和标准管只需做 1-2 次，每一个测定管都需要做一个对照管。在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作：

试剂	空白管（μL）	标准管（μL）	测定管（μL）	对照管（μL）
样本	0	0	30	30
Standard（0.5 mg/mL）	0	30	0	0
Reagent Ⅰ	180	180	180	180
混匀，90℃水浴 10 min，取出自然冷却后再打开盖子，以防液体飞溅烧伤				
Reagent Ⅱ	0	0	0	30
Working Reagent Ⅲ	30	30	30	0
混匀，25℃静置 30 min				
去离子水	90	60	60	60

3. **吸光度检测**：充分混匀，取 200 μL 至 96 孔板中，测定 530 nm 处吸光值，分别记录为 $A_{空白}$、$A_{标准}$、$A_{测定}$和 $A_{对照}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn] > 进入“**技术中心**”> 查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$

2. 样本总果胶含量计算

- 按样本质量计算

$$总果胶(mg/g)=(C_{标准}\times V_{标准})\times\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\times n=\mathbf{0.5\times\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}\div W\times n}$$

$C_{标准}$：标准品浓度，0.5 mg/mL；$V_{标准}$：反应体系中加入标准品体积，0.03 mL；$V_{样}$：反应体系中加入样品体积，0.03 mL；$V_{样总}$：加入 Extraction Buffer Ⅱ体积，1 mL；W：样本鲜重，g；n：样本稀释倍数。

07 结果展示

示例-1：取 0.0501 g 橘子皮，按照测定步骤操作，稀释 3 倍后进行检测体系配制，并用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}=0.9217-0.1383=0.7833$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}=0.4600-0.1123=0.3477$。按样本质量计算得：总果胶(mg/g)$=0.5\times\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}\div W\times n=67.449$ mg/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本$\Delta A_{测定}$过高或者过低怎么办?**

如果样本的$\Delta A_{测定}$小于 0.01，可适当增大样本量，如果$\Delta A_{测定}$大于 0.8，样本可用 Extraction Buffer Ⅱ进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1410	CheKine™ 谷丙转氨酶（ALT/GPT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1420	CheKine™ 谷草转氨酶（AST/GOT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1430	CheKine™ 脯氨酸（PRO）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1580	CheKine™ 原果胶含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 总果胶含量检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB1584）

样本处理



将组织样品捣碎，称取约0.05 g样品，加入1 mL Extraction Buffer Ⅰ，置于90℃恒温水浴锅中浸提30 min



取出冷却后5000 g，室温（25℃）离心10 min，弃上清，沉淀中再加入1 mL Extraction Buffer Ⅰ重复操作一次，离心后去上清。沉淀中再加入1 mL Extraction Buffer Ⅱ，置于90℃恒温水浴锅中水解1 h，取出冷却后8000 g，室温（25℃）离心15 min，取上清液待测



体系配置

标准品配制



样本 30 μL
Reagent Ⅰ 180 μL



样本 30 μL
Reagent Ⅰ 180 μL



Reagent Ⅰ 180 μL



Standard（0.5 mg/mL） 30 μL
Reagent Ⅰ 180 μL

混匀，90℃水浴10 min，取出自然冷却后再打开盖子，以防液体飞溅烧伤

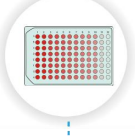
Reagent Ⅱ 30 μL | Working Reagent Ⅲ 30 μL | Working Reagent Ⅲ 30 μL | Working Reagent Ⅲ 30 μL

混匀，25℃静置30 min

去离子水 60 μL | 去离子水 60 μL | 去离子水 90 μL | 去离子水 60 μL

充分混匀，取200 μL至96孔板中

数据检测



测定530 nm吸光度
结果计算

V1.0