

CheKine™ 共价结合型果胶（CSP）含量检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB3015

Size: 48 T/48 S

96 T/96 S

	共价结合型果胶（CSP）含量检测试剂盒（微量法）		
REF	货号：KTB3015	LOT	批号：见产品标签
	检测范围：0.5-5 mg/mL		灵敏度：0.5 mg/mL
	适用样本：植物组织		
	保质期：4℃避光保存 6 个月		

原理

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）和共价结合型果胶（CSP）。CheKine™ 共价结合型果胶（CSP）含量检测试剂盒（微量法）提供了一种简单、方便、快速的 CSP 含量检测方法，适用于植物组织样本。其原理是利用带有螯合剂的碱溶液提取共价结合型果胶（CSP），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。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Reagent I	60 mL	120 mL	4℃，避光保存
Reagent II	60 mL	120 mL	4℃
Reagent III	4 mL	8 mL	4℃
Standard	1 mL	1 mL	4℃，避光保存

注意：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。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计（能测 530 nm 处的吸光度）
- 恒温水浴锅、分析天平、制冰机、低温离心机
- 96 孔板或微量玻璃比色皿，可调节式移液枪及枪头
- 去离子水、80%乙醇、丙酮、浓硫酸
- 匀浆器

试剂准备

Reagent I: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

Reagent II: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

Reagent III: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

注意：Reagent I 和 Reagent III 有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验。

Standard: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 细胞壁的提取：取约 0.3 g 样本，加入 1 mL 80%乙醇，室温快速匀浆，95℃水浴 20 min，冷却至室温，4,000 g，25℃离心 10 min，弃上清。沉淀加入 1.5 mL 80%乙醇和丙酮各洗一遍（涡旋振荡 2 min 左右，4,000 g，25℃离心 10 min，弃上清即可），沉淀即为粗细胞壁，加入 1 mL Reagent I（去除淀粉）浸泡 15 h，4,000 g，25℃离心 10 min，弃上清，将沉淀干燥，称重得细胞壁物质（CWM）。

2. CSP 的提取：称取烘干的 3 mg CWM，加入 1 mL Reagent II，充分匀浆（若烘干物质质地坚硬，可先研碎后再加入 1 mL Reagent II 匀浆，或者用匀浆器匀浆）。8,000 g，4℃离心 10 min，取上清液待测。

注意：丙酮有刺激性气味，建议在通风橱使用。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30 min，调节波长到 530 nm。可见光分光光度计用去离子水调零。

2. Reagent III 和 Standard 在 37℃预热 10 min 以上。

3. 操作表（下述操作在 1.5 mL EP 管中进行）：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	空白管 (μL)	标准管 (μL)
样本	50	50	0	0
Standard	0	0	0	50
去离子水	0	50	50	0
Reagent III	50	0	50	50
混匀				
浓硫酸	400	400	400	400

混匀，95℃水浴 5 min 后，冷却至室温，取 200 μL 至微量玻璃比色皿或 96 孔板中，于 530 nm 下测定各管吸光值，分别记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：（1）实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。标准管和空白管只需做 1-2 次，每个测定管需要设置一个对照管。如果 $A_{\text{测定}}$ 小于 0.1，可适当增大样本量，如果 $A_{\text{测定}}$ 大于 2，需将待测样本用去离子水稀释（可稀释 10 倍或 20 倍）。（2）浓硫酸有较强腐蚀性，请做好防护谨慎操作。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

CSP 含量的计算：

$$\text{CSP (mg/g 干重)} = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (W \times V_1 \div V_2) \times F = 0.05 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F$$

$C_{\text{标准}}$ ：标准管浓度，0.05 mg/mL； V_1 ：加入样本体积，0.05 mL； V_2 ：加入 Reagent II 体积，1 mL； W ：样本干重，g； F ：样本稀释倍数。

注意事项

1. 最低检测限为 50 µg/g 干重。

结果展示

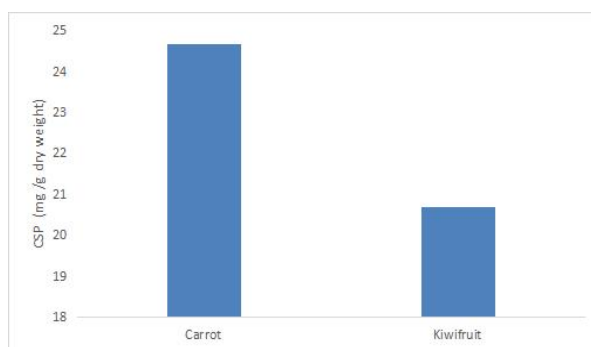


Figure 1. 本试剂盒测定胡萝卜和猕猴桃中 CSP 的含量

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1583	CheKine™ 可溶性结合型果胶（WSP）含量检测试剂盒（微量法）
KTB3016	CheKine™ 离子结合型果胶（ISP）含量检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。