CheKine™ 可溶性果胶（WSP）含量检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB1583 Size: 48 T/24 S 96 T/48 S

	可溶性果胶（WSP）含量检测试剂盒（微量法）		
REF	**货号：**KTB1583	LOT	**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		

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）和共价结合果胶（CSP）。CheKine™ 可溶性果胶（WSP）含量检测试剂盒（微量法）提供了一种简单、方便、快速的 WSP 含量检测方法，适用于植物组织样本。其原理是利用酸溶液提取得到 WSP，采用咔唑比色法测定果胶含量。果胶水解成半乳糖醛酸，在硫酸溶液中与咔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

- 酶标仪或可见光分光光度计（能测 530 nm 处的吸光度）
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、1.5 mL 离心管
- 水浴锅、恒温箱、分析天平、涡旋仪、制冰机、低温离心机
- 去离子水、80%乙醇、丙酮、浓硫酸
- 匀浆器

试剂准备

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

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 有刺激性气味，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. WSP 的提取：称取烘干的 3 mg CWM ，加入 1mL 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 $A_{测定}$、$A_{对照}$、$A_{空白}$、$A_{标准}$。计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。				

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 $A_{测定}$小于 0.1，可适当增大样本量，如果 $A_{测定}$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。

WSP 含量的计算:

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

$C_{标准}$：标准管浓度，0.05 mg/mL；V_1：加入样本体积，0.05 mL；V_2：加入提取液体积，1 mL；W：样本干重，g；F：稀释倍数。

注意事项

Abbkine, Inc • • www.abbkine.com
Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

1. 最低检测限为 50 μg/g 干重。

结果展示

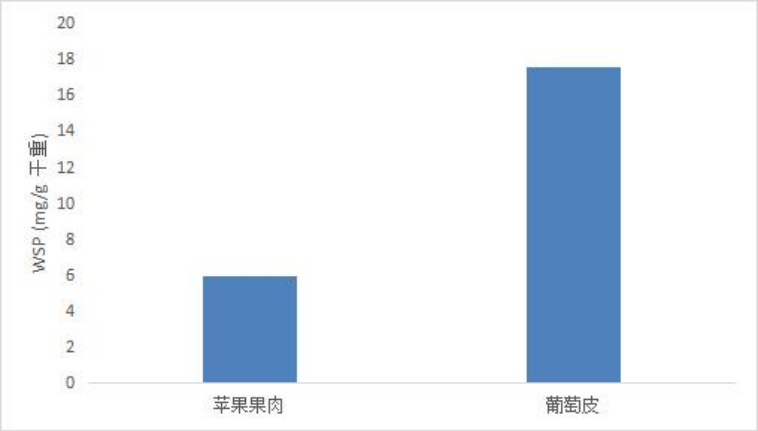


Figure 1. 本试剂盒测定苹果果肉和葡萄皮中 WSP 的含量

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1015	CheKine™ α-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）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。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.