

半乳糖醛酸 (galacturonic acid) 试剂盒说明书

微量法 100T/96S

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义

果胶是一类广泛存在于植物细胞壁的初生壁和细胞中间片层的杂多糖。半乳糖醛酸是果胶酸的组成单位，也是果胶的主要成分，存在于植物的粘液、树胶和细菌多糖中。

测定原理

半乳糖醛酸在 70℃ 下与浓硫酸反应生成 5-甲酰基-2-呋喃甲酸，5-甲酰基-2-呋喃甲酸与 3,5-二甲基苯酚反应产生有色物质，在 450nm 下有最大吸光值。

自备实验用品及仪器

天平、低温离心机、酶标仪、96 孔板、恒温水浴锅、硫酸、蒸馏水。

试剂组成和配制

提取液：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂一：液体 3mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 2.5mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

酶液提取

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 蒸馏水，进行冰浴匀浆。10000g 4℃ 离心 10min，弃上清，留沉淀。沉淀中加入 1mL 提取液，混匀后 90℃ 水浴 2h，冷却至室温，10000g 4℃ 离心 10min，取上清待测。

测定操作表

试剂名称 (μL)	测定管
样本	25
试剂一	25
浓硫酸	400
70℃ 水浴 10min，冷却至室温	
试剂二	20
充分混匀，静置 10min 后取 200μL 于 96 孔板测定 450nm 处吸光值 A1 与 400nm 吸光值 A2， $\Delta A = A1 - A2$ 。	

计算公式

标准曲线为 $y = 2.2514x - 0.3763$ ， $R^2 = 0.9969$ ；x 为标准品浓度，mg/mL；y 为吸光值 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{半乳糖醛酸 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.3763) \div 2.2514 \div W \times V \text{ 样总} \div 194 \times 1000 \\ &= 2.29 \times (\Delta A + 0.3763) \div W \end{aligned}$$

V 样总：加入提取液体积，1mL；W，样本质量，g；194，半乳糖醛酸分子量。