

半乳糖醛酸含量试剂盒 48 样

编号：ml300878

分光法 48 样

注 意：正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

半乳糖醛酸是果胶多糖链中的一个重要组成单元，通过与其他单糖单元形成连接，构成了果胶的多糖结构，半乳糖醛酸的存在使果胶具有一定的黏性和胶凝性，使其在植物细胞壁中起到增强细胞结构和保持细胞形态稳定性的作用，在果胶的结构和功能中发挥着重要的作用。

测定原理：

半乳糖醛酸在硫酸溶液中与吡啶进行缩合反应生成紫红色物质，该有色物质在 530nm 处有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测半乳糖醛酸的含量。

自备仪器和用品：

分光光度计/酶标仪、96 孔板、水浴锅、可调式移液器、浓硫酸、研钵、离心机。

试剂清单：

试剂名称	规格	数目	贮藏
提取液	液体 50mL	x1	4°C
试剂一	液体 3mL	x1	4°C
标准品	粉剂	x1	4°C

样品处理（按照步骤依次操作）：

- 1、按照组织质量 (g)：蒸馏水体积 (mL) 为 1:(5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 蒸馏水）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 10 min，弃上清，留沉淀。
- 2、沉淀中加入 1 mL 提取液充分混匀，90℃提取 2 h，期间振荡混匀 3-5 次，冷却至室温。
- 3、提取完成后，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清液即为待测样本。

测定操作：

- 1、分光光度计/酶标仪调节波长至 530nm；
- 2、在 EP 管中依次操作

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (只做一管)
待检液	140	-
蒸馏水	-	140
浓硫酸	840	840
可用封口膜缠紧，85℃水浴 15min 后， 流水冷却至室温。		
试剂一	28	28
混匀，室温 (25℃) 暗处反应 30min (间隔 10min 混匀一次)，立即取出 1mL 于比色皿中，于 530nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{测定} - A_{空白}$ 。		

3、结果计算

标准曲线方程： $y = 5.7602x + 0.0009$ $R^2 = 0.9954$ ，x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 是 ΔA 。

半乳糖醛酸含量(μmol/g 重量)

$$= [(\Delta A - 0.0009) \div 5.7602 \times V \div 194.5 \times 10^3] \div W \times D$$

$$= 0.89 \times (\Delta A - 0.0009) \div W \times D$$

W: 样本重量, g;

Mr: 半乳糖醛酸分子量, 194.5;

V: 样本提取体积, 1mL;

D: 稀释倍数, 未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程

1. 制备标准品母液 (1mg/mL): 从标准品管中称量取出 2mg 至一新 EP 管中, 再加 2ml 蒸馏水混匀溶解即得 1mg/mL 半乳糖醛酸。
2. 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1mg/ml.也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3.依据加样表操作, 根据结果即可制作标准曲线。

预实验的意义:

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测, 以免造成试剂盒和样本的浪费 (比如低表达处理的样本);
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程, 尤其是初次使用生化试剂盒测定;
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适;
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题, 以便于及时作出调整;
- 5、通过 3 - 5 组预实验, 判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围, 指导实验样本稀释比例。