

果胶甲酯化程度测试盒(微量法)

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。

产品货号：BA2336

产品规格：100管/96样

测定意义：

植物细胞壁中的果胶是植物初生细胞壁的主要成分，除了起结构支撑、物质运输等作用外，还具有抵抗逆境的作用。果胶甲酯化程度影响了细胞壁的坚韧程度及其抗性。

测定原理：

果胶甲酯键经皂化处理释放出甲醇，甲醇被醇氧化酶转化为甲醛，与4-氨基-3-胍基-5-巯基-1,2,4-三唑反应生成紫红色物质，在550nm下测定吸光值；同时半乳糖醛酸在强酸中与吡啶缩合生成紫红色化合物，在530nm处有特征吸收峰。以甲醇生成量与半乳糖醛酸含量的比值代表果胶甲酯化程度。

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、蒸馏水、丙酮、硫酸。

试剂组成和配制：

提取液：液体100mL×1瓶，4°C保存。

试剂一：液体20mL×1瓶，4°C保存。

试剂二：液体12mL×1瓶，4°C保存。

试剂三：液体15mL×1瓶，4°C保存。

试剂四：液体×2支，-20°C保存。临用前加入0.75mL试剂三溶解待用，现配现用。

试剂五：粉剂×2瓶，4°C保存；临用前加入3mL试剂一充分溶解待用，使用前现配现用，不可保存。

试剂六：液体5mL×1支，4°C保存。

试剂七：液体5mL×1瓶，4°C避光保存。

标准品：液体1mL×1支，4°C保存。

样本前处理：

称取约0.1g组织，加入1mL 80%丙酮，进行冰浴匀浆，10000g 4°C离心10min，弃上清，留沉淀。沉淀80°C烘干30min，加入1mL提取液，混匀后90°C水浴2h，冷却至室温，10000g 4°C离心10min，取上清待测。

测定操作表：

1. 甲醇生成量测定

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样本		100
蒸馏水	100	
试剂一	100	100
混匀，室温静置 60min		
试剂二	100	100
充分混匀，取反应液待用		
反应液	100	100



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂三	90	90
试剂四	10	10
混匀，37°C 反应 10min，取反应液待用。		

在 96 孔板中加入如下试剂

反应液	40	40
试剂五	40	40
震荡混匀，30°C 下反应 30min		
蒸馏水	120	120
混匀，测定 550nm 下吸光值 A 测定与 A 空白。ΔA1=A 测定-空白。		

2. 半乳糖醛酸含量测定

	空白管	标准管	对照管	测定管
样本 (μL)			30	30
标准品 (μL)		30		
浓硫酸 (μL)	180	180	180	180
混匀、90°C 水浴 10min，取出后冷却				
试剂六 (μL)			30	
试剂七 (μL)	30	30		30
混匀，25°C 静置 30min				
蒸馏水 (μL)	90	60	60	60
充分混匀，取 200μL 置于微量石英比色皿/96 孔板中，测定 530nm 处吸光值，分别记为 A1、A2、A3 和 A4。ΔA2=A2-A1，ΔA3=A4-A3。				

计算公式:

1. 甲醇生成量计算

标曲为 $y = 0.3954x + 0.0011$, $R^2 = 0.9999$; x 为标准品浓度, μmol/mL; y 为吸光值 ΔA1。

$$\begin{aligned} \text{甲醇生成量 } (\mu\text{mol/g}) &= (\Delta A1 - 0.0011) \div 0.3954 \div W \times V \text{ 样总} \\ &= 2.53 \times (\Delta A1 - 0.0011) \div W \end{aligned}$$

2. 半乳糖醛酸含量计算

$$\begin{aligned} \text{半乳糖醛酸 } (\mu\text{mol/g}) &= (C \text{ 标准} \times V \text{ 标}) \times \Delta A3 \div \Delta A2 \div (W \div V \text{ 样总}) \div 194 \times 1000 \\ &= 0.25 \times \Delta A3 \div \Delta A2 \div W \div 194 \times 1000 \end{aligned}$$

果胶甲酯化程度 (%) = 甲醇生成量 ÷ 半乳糖醛酸含量 × 100%

V 样总: 加入提取液体积, 1mL; C 标准: 标准品浓度, 0.25mg/mL; W, 样本质量, g。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com