

## 粗多糖含量检测试剂盒（微量法）

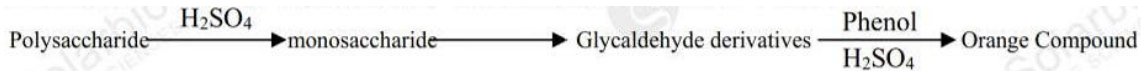
产品货号：BA3445

产品规格：100T/96S

### 产品简介：

多糖广泛存在生物体中，是由醛基和酮基通过糖苷键连接而成的高分子聚合物，是构成生命的四大基本物质之一，其功能广泛，具有非常重要和特殊的生理活性。**本试剂盒所用于测定可溶性多糖，不包含淀粉和纤维素。**

多糖在浓硫酸的作用下，先水解成单糖，并迅速脱水生成糖醛衍生物，与苯酚反应生成橙黄色溶液，在490nm处有特征吸收峰，因为吸光度值与葡萄糖含量成正比，因此可通过测定490nm处的吸光度值来测定样本的粗多糖含量。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。

### 试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体6mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

标准品：临用前加入1mL蒸馏水溶解，配制成10mg/mL葡萄糖。2-8℃可保存4周。

### 所需的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、台式离心机、水浴锅、涡旋混匀仪、可调式移液器、研钵/匀浆器、无水乙醇(>99%，AR)、浓硫酸(>95%，AR)、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理：

称取约0.1g样本，加入1mL蒸馏水进行冰浴匀浆，8000g 4℃离心10分钟，取上清液0.4mL，加入1.6mL无水乙醇(样本上清：无水乙醇=1：4，V/V)，涡旋振荡混匀1min，12000g 4℃离心10分钟，弃上清留沉淀，加入0.4mL蒸馏水充分溶解(加入蒸馏水的量与最初取的上清液量保持一致)，8000g 4℃离心10分钟，取上清置冰上待测。

注：若改变提取比例，需注意：①样本上清：无水乙醇的比例保持1：4(V/V)；②(第二次加入蒸馏水溶解沉淀的量和最初匀浆离心取的上清液量保持一致)。

#### 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 490nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至 0.2、0.16、0.08、0.04、0.02、0.01mg/mL。
3. 标准品稀释表

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准品体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	20	980	0.2
2	0.2	640	160	0.16
3	0.2	320	480	0.08
4	0.08	400	400	0.04
5	0.04	400	400	0.02
6	0.02	400	400	0.01



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

备注：下述实验中每个标准管需50 $\mu$ L标准品(注意不要在此步骤直接检测吸光值)。

4. 加样表(在 EP 管中依次加入以下试剂):

试剂名称 ( $\mu$ L)	测定管	空白管	标准管
样本	50	-	-
蒸馏水	-	50	-
标准品	-	-	50
试剂一	50	50	50
浓硫酸	250	250	250

混合均匀，沸水浴中反应20min(缠封口膜，防止爆盖)，取出后立即冷却至室温，混匀。取200 $\mu$ L在490nm波长下测定，读取测定管、空白管、标准管吸光值。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。空白管和标准曲线只需做1-2次。  
 注：1.加入浓硫酸时，为防止瞬时爆沸，造成危险，请将浓硫酸沿着EP管壁缓慢加入。  
 2.推荐使用螺旋口或者有锁扣的EP管以防止爆盖，也可用注射器针头在普通EP管盖上扎一小孔(仍需缠封口膜)。

三、粗多糖含量计算

1. 标准曲线的建立:

根据标准管的浓度(x, mg/mL)和吸光度 $\Delta A$ 标准(y,  $\Delta$ 标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A(y)$ 带入公式计算样本浓度(x, mg/mL)。

2. 按照样本质量计算

粗多糖含量(mg/g质量) =  $x \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{提}} \times V_{\text{样}}) \times F = x \div W \times F$

V样：样本体积，0.05mL；V提：加入蒸馏水体积，1mL；W：样本质量，g；F：样本稀释倍数。

**注意事项:**

1. 实验前用 1-2 个样本做预实验，保证 $\Delta A$  在 0.02-1.2 之间；如果 A 测定管大于 1.2，建议将最后一步的样本上清用蒸馏水稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。

**实验实例:**

1. 取 0.1033g 榆叶梅叶片，加入 1mL 蒸馏水进行冰浴匀浆，离心取上清 0.4mL，加入 1.6mL 无水乙醇，充分混匀 1min，离心后弃上清留沉淀，加入 0.4mL 蒸馏水溶解，充分混匀后离心，取上清按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}} = 0.568 - 0.2279 = 0.3401$ ，带入标准曲线  $y = 6.0552x - 0.0149$ ，得  $x = 0.0586$ ， $R^2 = 0.9959$ ，按样本质量计算：

粗多糖含量(mg/g质量) =  $x \div W \times F = 0.57 \text{mg/g质量}$ 。

2. 取 0.1031g 宽叶苔草叶片，加入 1mL 蒸馏水进行冰浴匀浆，离心取上清 0.4mL，加入 1.6mL 无水乙醇，充分混匀 1min，离心后弃上清留沉淀，加入 0.4mL 蒸馏水溶解，充分混匀后离心，取上清按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}} = 0.482 - 0.2279 = 0.2541$ ，带入标准曲线  $y = 6.0552x - 0.0149$ ， $R^2 = 0.9959$ ，得  $x = 0.0444$ ，按样本质量计算：

粗多糖含量(mg/g质量) =  $x \div W \times F = 0.43 \text{mg/g质量}$ 。



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