

Soluble Sugar Content Assay Kit

可溶性糖含量测定试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL864B	可溶性糖含量测定试剂盒	96T

产品简介:

糖类物质是构成植物体的重要组成成分之一，也是新陈代谢的主要原料和贮存物质。糖类在浓硫酸作用下经脱水反应生成糠醛或羟甲基糠醛，生成的糠醛或羟甲基糠醛与蒽酮脱水缩合，形成糠醛的衍生物，呈蓝绿色物质，其在可见光区 620nm 波长处有最大吸收，且其光吸收值在一定范围内与糖的含量成正比关系。该方法用于可溶性单糖、寡糖和多糖的含量测定，具有灵敏度高、简便快捷、适用于微量样品的测定等优点。

该方法的特点是几乎可以测定所有的碳水化合物（包括单糖：戊糖、己糖、蔗糖、糖原、多缩葡萄糖等），所以用该方法测出的糖类含量是溶液中全部可溶性糖类含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉末×2 瓶	4°C避光保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂

工作液配制：吸取 2mL 试剂二加入到一瓶试剂一中，混匀并充分溶解，即得工作液。（如难溶解，可 60°C 水浴溶解；剩余试剂 4°C保存一周）

使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费。

一、样本准备:

1. 组织样本:

- 称取 0.1g 样本（若是干样，如烘干烟叶等可取 0.05g；若是水分充足的样本可取 0.2g），加入 0.8mL 的 80%乙醇，冰浴匀浆；
- 研磨液全部转入离心管中，再用 80%乙醇冲洗研钵并转移至同一离心管，使离心管中粗提液终体积定容为 1.5mL（若用自动研磨机可直接加入 1.5mL 的 80%乙醇研磨）；
- 置 50°C水浴 20min（封口膜缠紧，防止液体散失，且间隔 2min 振荡混匀一次）；
- 取出冷却（若有损失，可加 80%乙醇补齐至 1.5mL），12000rpm，室温离心 10min，取上清液备用。

2. 细菌/细胞样本:

- 收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 取约 5×10^6 个细菌或细胞至离心管中，加入 1.5mL 的 80%乙醇，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；
- 置 50°C水浴 20min（封口膜缠紧，防止液体散失，且间隔 2min 振荡混匀一次）；
- 取出冷却（若有损失，可加 80%乙醇补齐至 1.5mL），12000rpm，室温离心 10min，取上清液备用。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



【注】:若增加样本量,可按照每 $0.5\sim 1\times 10^7$ 个细菌或细胞加入 1.5ml 80%乙醇的比例进行提取

3. 液体样本:

澄清的液体样本直接检测,若浑浊则需 12000rpm,室温离心 10min,取上清液备用。

二、样品测定:

1. 酶标仪预热 30min,调节波长到 620 nm。
2. 调节水浴锅至 $95\sim 100^{\circ}\text{C}$,工作液用前需完全溶解。
3. 大多数样本可溶性糖含量较高,为使 ΔA 值在 1 以内,实验前可选取几个样本做预测定,用蒸馏水把上清液稀释成不同浓度,找出适合本次检测样本的稀释倍数 D
4. 在离心管中依次加入:

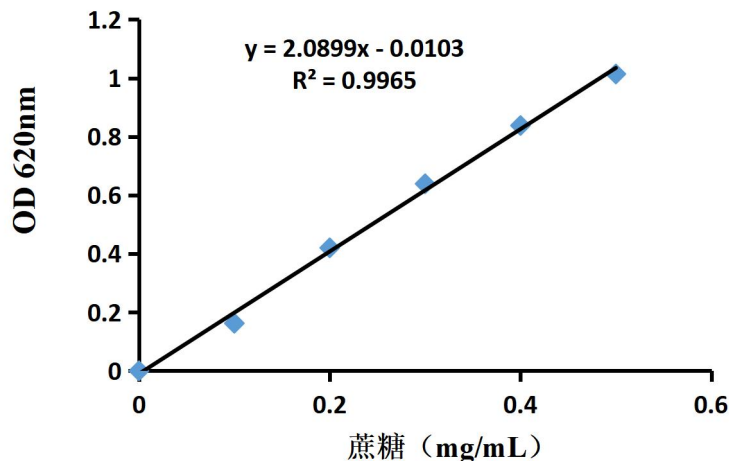
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	25	-
蒸馏水	75	100
工作液	30	30
浓硫酸(缓慢加入)	250	250

混匀,置 $95\sim 100^{\circ}\text{C}$ 水浴中 10min (盖紧,以防止水分散失),冷却至室温后,取 $200\mu\text{L}$ 转移至 96 孔板中,于 620nm 读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

【注】:若 ΔA 的值接近零,可增加样本加样体积 V1 (如由 $25\mu\text{L}$ 增至 $50\mu\text{L}$,则蒸馏水相应减少),则改变后的 V1 代入公式重新计算。

三、结果计算

- 1、标准方程为 $2.0899x - 0.0103$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值 ΔA 。



- 2、按样本重量计算:

$$\begin{aligned} \text{可溶性糖}(\text{mg/g 重量}) &= [(\Delta A + 0.0103) \div 2.0899 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.718 \times (\Delta A + 0.0103) \div W \times D \end{aligned}$$

- 3、按质量分数 (%) 计算:

$$\begin{aligned} \text{可溶性糖}(\% \text{重量}) &= [(\Delta A + 0.0103) \div 2.0899 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= [0.718 \times (\Delta A + 0.0103) \div W \times D] \% \end{aligned}$$

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



4、按细菌/细胞数量计算:

$$\text{可溶性糖(mg/g 重量)}=[(\Delta A+0.0103)\div 2.0899\times V1]\div(500\times V1\div V)\times D$$
$$=0.00144\times(\Delta A+0.0103)\times D$$

5、按液体体积计算:

$$\text{可溶性糖(mg/mL)}=(\Delta A+0.0103)\div 2.0899\times D$$
$$=0.479\times(\Delta A+0.0103)\times D$$

V---样品提取液总体积, 1.5mL

V1---加入样本体积, 0.025mL

W---样本重量, g

500---细胞数量, 万

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): 向标准品管中称取 2mg 标准品至新离心管中, 加入 2mL 蒸馏水 (母液需在两天内用且-20°C保存)。
- 2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作, 根据结果即可制作标准曲线。

注意事项:

- 1、 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 2、 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

4°C避光保存六个月。

