

Polysaccharide Content Assay Kit

多糖含量测定试剂盒(苯酚-硫酸法) 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1790A	多糖含量测定试剂盒(苯酚-硫酸法) 分光法	48T

产品简介:

糖在浓硫酸作用下, 水解生成单糖, 并迅速脱水生成糖醛衍生物, 然后与苯酚缩合成橙黄色化合物, 且颜色稳定, 在波长488 nm处和一定的浓度范围内, 其吸光度与多糖含量呈线性关系, 再利用标准曲线定量算出样品中的多糖含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	2mL×3 支	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

使用方法:

一、样本准备

1. 组织样本:

- 若是烘干且研磨过 40 目筛后的样本, 称取 3mg 过筛后细末至 2mL 离心管中, 加入 2mL 蒸馏水; (若是鲜样则可取 0.1g 或 0.5g (水份足的样本) 至 2mL 离心管中, 加入 2mL 蒸馏水);
- 沸水浴 (95-100°C) 加热 2 小时 (若放在金属浴上面可用重物压盖防止离心管崩开; 间隔 20min 带防护手套轻轻晃动混匀几下), 加热结束后取出放置至室温 (中间过程液体若挥发严重, 最后可用蒸馏水定容到 2mL);
- 8000rpm 室温离心 5min, 取 0.2mL 上清液至新离心管中, 再加入 1mL 乙醇混匀, 于 4°C 放置 1 小时, 取出后 8000rpm 离心 5min 后弃上清, 留沉淀;
- 上步所得沉淀中再加入 1mL 80%乙醇混匀几下(自备:取 80mL 乙醇溶于 20mL 蒸馏水中), 8000rpm 离心 5min 后弃上清, 留沉淀 (可采用使离心管轻轻倒置于吸水纸上约 5min 吸干剩余上清液, 尽量避免沉淀损失);
- 向上步所得沉淀中加入 2mL 蒸馏水, 于沸水浴 (95-100°C) 加热直到沉淀全部溶解 (约 5min) 即多糖待检液。

2. 液体样本:

- 取 0.2mL 液体(可先做两个样本预测定, 确定适合本批液体样本取样量 V2), 至新离心管中, 再加入 1mL 乙醇混匀 (使乙醇在整个液体中占比至少 80%), 于 4°C 放置 1 小时, 取出后 8000rpm 离心 5min 后弃上清, 留沉淀;
- 上步所得沉淀中再加入 1mL 80%乙醇混匀几下(自备:取 80mL 乙醇溶于 20mL 蒸馏水中), 8000rpm 离心 5min 后弃上清, 留沉淀 (可采用使离心管轻轻倒置于吸水纸上约 5min 吸干剩余上清液, 尽量避免沉淀损失);
- 向上步所得沉淀中加入 2mL 蒸馏水, 于沸水浴 (95-100°C) 加热直到沉淀全部溶解 (约 5min) 即多糖待检液。

二、样品测定

- 可见分光光度计预热 30min, 调节波长至 488nm, 调节水浴锅或金属浴至 95-100°C。
- 在离心管中加入下列试剂:

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。



试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
多糖待检液	200	-
蒸馏水	-	200
试剂一	100	100
浓硫酸(务必缓慢加入)	500	500

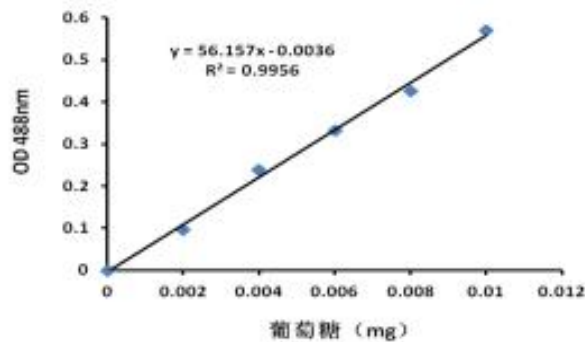
混匀放入 95°C 水浴 20min (封口膜缠紧, 防止水分散失), 冷却至室温后, 取全部澄清液体转移至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 于 488nm 读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

【注】: 1. 如果 ΔA 大于 1.5, 需要将多糖待检液用蒸馏水稀释, 计算公式中乘以相应稀释倍数 D。

2. 若 ΔA 值在零附近即低于 0.005, 则可增加样本取样质量 W, 则改变后的 W 需代入公式重新计算。

三、结果计算

1. 标准方程为 $y = 56.157x - 0.0036$; x 为标准品质量 (mg), y 为吸光值 ΔA 。



2. 按样本重量计算:

$$\text{多糖 (mg/g 重量)} = [(\Delta A + 0.0036) \div 56.157] \div (W \times V1 \div V) \times 10 \times D = 1.781 \times (\Delta A + 0.0036) \div W \times D$$

3. 按质量分数 (%) 计算:

$$\begin{aligned} \text{多糖 (%重量)} &= [(\Delta A + 0.0036) \div 56.157] \div (W \times V1 \div V) \times 10 \times D \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= [0.1781 \times (\Delta A + 0.0036) \div W \times D]\% \end{aligned}$$

4. 按液体体积计算:

$$\text{多糖 (mg/mL 液体)} = [(\Delta A + 0.0036) \div 56.157] \div (V2 \times V1 \div V) \times D = 0.1781 \times (\Delta A + 0.0036) \div V2 \times D$$

V---样品提取液总体积, 2mL

V1---测定时待检液体积, 0.2mL

V2---液体取样体积, mL

10---0.2mL 上清处理后变成 2mL 体积

W---样本质量, g

D---自行稀释倍数, 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 至一新离心管中, 再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即 1mg/mL 的葡萄糖 (母液需在两天内用且 -20°C 保存)。
2. 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05. 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 保存三个月。

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。

