

多糖中糖醛酸含量测定试剂盒（微板法）

产品货号：BA2633

产品规格：96样

产品简介：

天然植物的多糖以酸性杂多糖的形式存在较多，糖醛酸是糖的衍生物，对从天然植物中得到的多糖，在结构研究中对糖组成分析，确定其中是否含有糖醛酸残基具有重要的意义。

糖醛酸与硫酸硼砂溶液在沸水浴中水解，水解产物将进一步和间羟基联苯反应，产生粉红色衍生物，在525nm处和一定的浓度范围内有最高吸收峰。

试剂盒组成：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂×1瓶	2-8℃	临用前甩几下使粉体落入底部，再缓慢加入35mL浓硫酸，混匀，完全溶解备用。
试剂二	粉剂×1支	2-8℃	临用前甩几下使粉体落入底部，再加0.65mL试剂三混匀溶解备用。
试剂三	液体1mL×1支	2-8℃	
标准品	粉剂×1支	2-8℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

所需仪器和用品：

酶标仪、96孔板、水浴锅/金属浴、可调式移液器、浓硫酸（自备）、研钵。

多糖中糖醛酸含量的测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

建议：选取样本做几个梯度的稀释，选取适合本次实验的稀释倍数D。

1. 待检液制备：

a. 组织样本：

- (1) 若是烘干研磨且过40目筛后的样本，称取3mg过筛后的细末，至2mL EP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 EP管中，加入2mL蒸馏水），于沸水浴（95-100℃）加热1小时（若放在金属浴上面可用重物压盖防止EP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），最后于8000rpm室温离心5min，上清液待用。
- (2) 取0.2mL上步离心后的上清液至新EP管中，再加入1mL乙醇混匀，于4℃放置30分钟，取出后8000rpm离心5min后弃上清，留沉淀。
- (3) 上步所得沉淀中再加入1mL的80%乙醇混匀（自备：取80mL乙醇溶于20mL蒸馏水中），8000rpm离心5min后弃上清，留沉淀（可将EP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）。
- (4) 向上步所得沉淀中加入2mL蒸馏水，于沸水浴（95-100℃）加热直到沉淀全部溶解（约5min）即待检液。

2. 上机检测：

- (1) 酶标仪预热30min以上，调节波长至525nm，调节水浴锅或金属浴至95-100℃。
- (2) 在EP管中依次加入：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

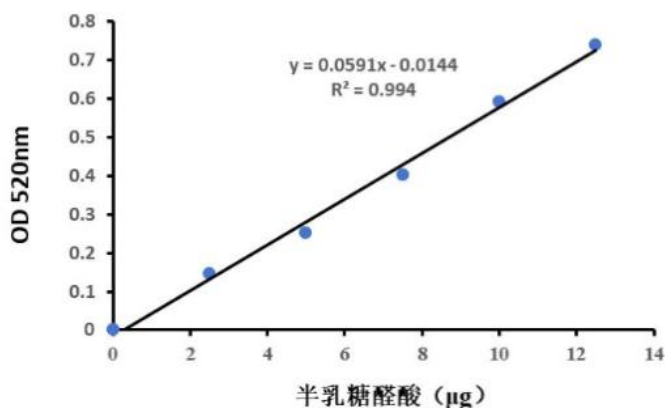
http://www.saint-bio.com

试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	25	
蒸馏水	25	50
试剂一	300	300
混匀, 95°C 孵育 5min 后, 取出冷却至室温待用		
试剂二	4	4
混匀后, 室温静置 5min 后, 取 200μL 转移至 96 孔板中, 于 525nm 读取吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

- 【注】：1. 如果 ΔA 大于 1, 需要将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 值在低于 0.01, 则可增加样本取样质量 W 或增加样本量 V1 (如 25μL 增至 50μL, 则蒸馏水相应减少), 则改变后的 W 和 V1 需代入公式重新计算。

结果计算:

1. 标准方程为 $y = 0.0591x - 0.0144$; x 为标准品质量 (μg), y 为吸光值 ΔA 。



2. 按样本重量计算:

$$\begin{aligned} \text{糖醛酸(mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0144) \div 0.0591] \div 10^3 \div (W \times V1 \div V) \times 10 \times D \\ &= 13.54 \times (\Delta A + 0.0144) \div W \times D \end{aligned}$$

V---样品提取液总体积, 2mL; V1---测定时待检液体积, 0.025mL;
W---样本质量, g; 10---②步中取 0.2mL 处理后变成 2mL 体积;
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 (20mg/mL): 标准品管中加入 0.5mL 蒸馏水混匀溶解即 20mg/mL 的半乳糖醛酸 (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, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5mg/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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路 2518 弄 14 号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com