

## 海藻糖含量试剂盒(酶法-可见显色) (微板法)

产品货号: BA2673

产品规格: 96样

### 产品简介:

海藻糖(trehalose)是一种非还原性双糖,广泛存在于动植物、微生物和培养细胞中。具有在干燥、干旱、冷冻、高渗透压等恶劣环境下保护核酸和蛋白质等生物大分子的作用,被广泛用于医药、保健品、酶、食品等制品的保存。

本试剂盒提供一种海藻糖特异检测方法,即先用海藻糖酶特异性水解海藻糖分解成2分子葡萄糖,再用GOPOD方法检测葡萄糖含量,并且通过校正游离的葡萄糖背景值进而得到海藻糖含量,且其他二糖如麦芽糖和乳糖不会干扰本测定。

### 产品内容:

产品名称	规格	保存条件	备注
试剂一	液体1mL×1支	-20℃	可-20℃分装冻存,禁止反复冻融。
试剂二	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下使粉体落入底部,再加2.2mL的蒸馏水溶解。
试剂三	液体20mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体16mL×1瓶	2-8℃	
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	从标准管中称量取出2mg至一新EP管中,再加2mL蒸馏水混匀溶解即1mg/mL的葡萄糖标准品溶液,备用。

### 所需的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、天平、可调式移液器、研钵、离心机和蒸馏水。

### 海藻糖含量检测:

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!

#### 1. 样本制备:

##### ① 组织样本:

取0.1g组织样本(水分充足的样本建议取0.2g左右),加1mL的蒸馏水研磨,粗提液全部转移到EP管中,再至于90℃条件下孵育10min,拿出冷却至室温后,于8000rpm室温(25℃)离心10min,上清液待检测。

##### ② 细菌/真菌样本:

先收集细菌或真菌到离心管内,离心后弃上清;取500万细菌或真菌加入1mL的蒸馏水,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率20%或200W,超声3s,间隔10s,重复30次),再至于90℃条件下孵育10min,拿出冷却至室温后,8000rpm室温(25℃)离心10min,取上清液待测。

**【注】:**若增加样本量,可按照提取液体积(mL):细菌或真菌数量( $10^4$ 个)为1:500~1000的比例提取。

##### ③ 液体样品:

近似中性的澄清液体样本可直接检测;若为酸性样本则需先用NaOH(2M)调PH值约7.4,然后室温静置30min,取澄清液体直接检测。

#### 2. 上机检测:

① 酶标仪预热30min,设置温度在25℃,设定波长到510nm。



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

- ② 做实验前可以选取几个样本，找出适合本次检测样本的稀释倍数D。  
 ③ 在96孔板中依次加入：

试剂名称(μL)	测定管	对照管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	10	10		
标准品			10	
试剂一	10			
试剂二	10	10	10	10
试剂三	90	100	100	110
试剂四	80	80	80	80

混匀，室温（25℃）避光反应30min，510nm下读取吸光值A， $\Delta A_{\text{海藻糖}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

【注】1. 若A测定管超过1，可把样本用蒸馏水稀释后再检测，则稀释倍数D代入计算公式。

2. 若 $\Delta A$ 小于0.01，且A测定管低于1，则可加大样本量V1(如增至40μL，则试剂三相应减少)，或加大样本取样质量W(如0.2g或更大)，则改变后的V1和W需代入计算公式重新计算。

### 结果计算：

1. 按照质量计算：

$$\text{海藻糖含量(mg/g 鲜重)} = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 2 \times 342.3 \div 180.16 \div (W \times V_1 \div V) \times D$$

$$= 0.95 \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

2. 按细菌或真菌密度计算：

$$\text{海藻糖含量}(\mu\text{g}/10^4\text{cell}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 2 \times 342.3 \div 180.16 \div (\text{细胞数量} \times V_1 \div V)$$

$$= 0.95 \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div \text{细胞数量} \times D$$

3. 按照体积计算：

$$\text{海藻糖含量(mg/mL)} = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 2 \times 342.3 \div 180.16 \div V_1 \times D$$

$$= 0.95 \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

海藻糖分子量---342.3；葡萄糖分子量---180.16；C标准---葡萄糖标准品的浓度，1mg/mL；V---加入提取液体积，1mL；V1---加入样本体积，0.01mL；W---样本鲜重，g；2---1分子海藻糖分解成2分子葡萄糖；细胞数量---500万；D---稀释倍数，未稀释即为1。



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