

海藻糖含量试剂盒(酶法-可见显色)（可见分光光度法）

产品货号：BA2672

产品规格：48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40mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体24mL×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，再用蒸馏水稀释成0.5mg/mL来测定。

所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿（光径1cm）、天平、水浴锅/金属浴、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：



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

- ① 可见分光光度计预热30min，设置温度在25℃，设定波长到510nm，蒸馏水调零。
- 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EP管中依次加入：

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	40	40		
标准品			40	
试剂一	20			
试剂二	20	20	20	20
试剂三	400	420	420	460
试剂四	240	240	240	240
混匀，室温（25℃）避光反应30min，全部液体转移至1mL玻璃比色皿（光径1cm）中，于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1.5，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 ΔA 小于0.01，且A测定管低于1，则可加大样本量V1(如增至80μL，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：

$$\begin{aligned} \text{海藻糖含量(mg/g 鲜重)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 2 \times 342.3 \div 180.16 \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 0.475 \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

2. 按细菌或真菌密度计算：

$$\begin{aligned} \text{海藻糖含量}(\mu\text{g}/10^4\text{cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 2 \times 342.3 \div 180.16 \div (\text{细胞数量} \times V_1 \div V) \\ &= 0.475 \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div \text{细胞数量} \times D \end{aligned}$$

3. 按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{海藻糖含量(mg/mL)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 2 \times 342.3 \div 180.16 \div V_1 \times D \\ &= 0.475 \times \Delta A_{\text{海藻糖}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

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，0.5mg/mL；V---加入提取液体积，1mL；V1---加入样本体积，0.03mL；W---样本鲜重，g；2---1分子海藻糖分解成2分子葡萄糖；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