上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

可溶性糖含量测定试剂盒 微板法

货号：R32791

规格：96T

保存温度：2-8℃避光保存，有效期 6 个月。

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糖醛，生成的糠醛或羟甲基糖醛与蒽酮脱水缩合，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	2-8℃避光保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	2-8℃保存	
标准品	粉末×1 支	2-8℃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℃水浴溶解；剩余试剂 4℃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：

(a) 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；

(b) 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）；

(c) 置 50℃水浴 20min（封口膜缠紧，防止液体散失，且间隔 2min 振荡混匀一次）；

(d) 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：

(a) 收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；

(b) 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）；

(c) 置 50℃水浴 20min（封口膜缠紧，防止液体散失，且间隔 2min 振荡混匀一次）；

(d) 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。

【注】:若增加样本量，可按照每 0.5~1×10 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 95~100℃，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：

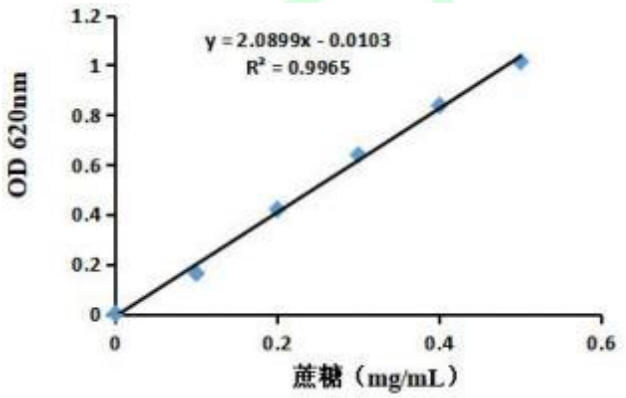
试剂名称 (μL)	测定管	空白管（仅做一次）

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~ 100℃水浴中 10min（盖紧， 以防止水分散失），冷却至室温后，取 200μL 转移至 96 孔板中，于 620nm 读取吸光值 A，ΔA=A 测定管-A 空白管。		

【注】：若ΔA 的值接近零，可增加样本加样体积 V1（如由 25μL 增至 50μL，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：

可溶性糖(mg/g 重量)=[(ΔA+0.0103)÷2.0899×V1]÷(W×V1÷V) ×D =0.718×(ΔA+0.0103)÷W×D

3. 按质量分数（%）计算：

可溶性糖(% 重量)=[(ΔA+0.0103)÷2.0899×V1]÷(W×V1÷V) ×10^{-3}×100% =[0.0718×(ΔA+0.0103)÷W×D]%

4. 按细菌/细胞数量计算：

可溶性糖(mg/g 重量)=[(△A+0.0103)÷2.0899×V1]÷(500×V1÷V)×D =0.00144×(ΔA+0.0103)×D

5. 按液体体积计算：

可溶性糖(mg/mL)=(ΔA+0.0103)÷2.0899×D=0.479×(ΔA+0.0103)×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℃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。