

Polysaccharide Content Kit

多糖含量试剂盒说明书

货号: BN72203 | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

一、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正比, 再利用标准曲线定量算出样品中的多糖含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 2mL×3 支	4℃保存	
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、水浴锅/金属浴、可调式移液器、乙醇、浓硫酸 (不允许快递)、研钵。

四、多糖含量的测定:

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!

1 多糖待检液制备:

a. 组织样本:

- ①若是烘干且研磨过 40 目筛后的样本, 称取 3mg (若多糖含量低或经预测定后值比较低, 可增加干样质量至 50mg 或更多) 过筛后细末至 2mLEP 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 2mLEP 管中, 加入 2mL 蒸馏水), 于沸水浴 (95-100℃) 加热 2 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 1 小时, 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 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 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) 即多糖待检液。

b. 液体样本:

- ①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 EP 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℃放置 1 小时, 取出后 8000rpm 离心 5min 后弃上清, 留沉淀;
- ②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 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**);

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

- ③ 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）即多糖待检液。

2、上机检测：

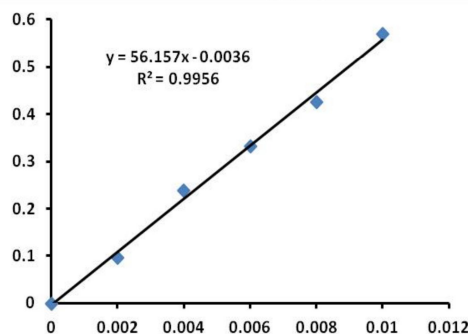
- ① 可见分光光度计预热 30min，调节波长至 488nm，调节水浴锅或金属浴至 95-100℃。
② 在 EP 管中依次加入：

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℃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， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、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 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

- 2、按样本重量计算：

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

- 3、按质量分数（%）计算：

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

- 4、按液体体积计算：

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

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---②步中取 0.2mL 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。