

多糖中糖醛酸含量试剂盒说明书

货号: BN72204 | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

一、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。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃保存	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	4℃保存	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 1.5mL×1 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、浓硫酸(自备)、研钵。

四、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,了解本批样品和实验流程,避免样本和试剂浪费!

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 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 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。

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 30 分钟，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 1mL80%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**）；

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）即待检液。

2、上机检测：

① 可见分光光度计 30min 以上，调节波长至 525nm，调节水浴锅或金属浴至 95-100℃。

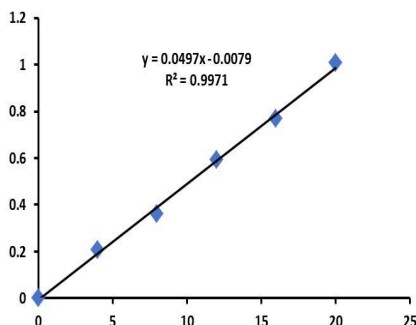
② 在 EP 管中依次加入：

试剂（μL）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	40	
蒸馏水	60	100
试剂一	600	600
混匀，95℃孵育 5min 后，取出冷却至室温待用		
试剂二	8	8
混匀后，室温静置 5min 后，于 525nm 读取吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

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 $y = 0.0497x - 0.0079$ ；x 为标准品质量（μg），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：

$$\begin{aligned} \text{糖醛酸}(\text{mg/g 重量}) &= [(\Delta A + 0.0079) \div 0.0497] \div 10^3 \div (W \times V1 \div V) \times 10 \times D \\ &= 10.06 \times (\Delta A + 0.0079) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按液体体积计算：

$$\begin{aligned} \text{糖醛酸}(\text{mg/mL 液体}) &= [(\Delta A + 0.0079) \div 0.0497] \div 10^3 \div (V2 \times V1 \div V) \times D \\ &= 1.006 \times (\Delta A + 0.0079) \div V2 \times D \end{aligned}$$

V—样品提取液总体积，2mL； V1—测定时待检液体积，0.04mL； 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。

附：标准曲线制作过程（标曲为非必做实验，可直接用试剂盒自带的标曲计算结果）：

- 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、0.5 mg/mL。
- 3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。