

多糖中糖醛酸含量试剂盒说明书

货号: BN72205 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、产品简介:

天然植物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°C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°C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 1mL×1 支	4°C保存	
标准品	粉剂×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、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°C) 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°C 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°C) 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°C 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：

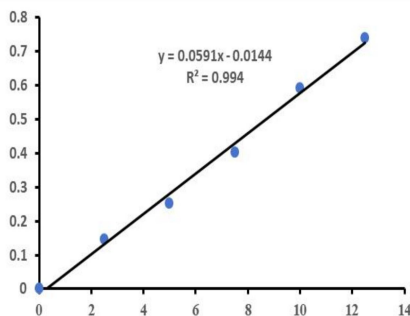
- ① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 525nm，调节水浴锅或金属浴至 95-100℃。
- ② 在 EP 管中依次加入：

试剂（μL）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	25	
蒸馏水	25	50
试剂一	300	300
混匀，95℃孵育 5min 后，取出冷却至室温待用		
试剂二	4	4
混匀后，室温静置 5min 后，取 200μL 转移至 96 孔板中，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 $y = 0.0591x - 0.0144$ ；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：

$$\text{糖醛酸(mg/g 重量)} = [(\Delta A + 0.0144) \div 0.0591] \div 10^3 \div (W \times V1 \div V) \times 10 \times D$$

$$= 13.54 \times (\Delta A + 0.0144) \div W \times D$$

- 3、按液体体积计算：

$$\text{糖醛酸(mg/mL 液体)} = [(\Delta A + 0.0144) \div 0.0591] \div 10^3 \div (V2 \times V1 \div V) \times D$$

$$= 13.54 \times (\Delta A + 0.0144) \div V2 \times D$$

V---样品提取液总体积，2mL；

V1---测定时待检液体积，0.025mL；

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。