

D-木糖含量检测试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TDX044 微板法 96 样)

一、产品简介:

本试剂盒利用在强酸溶液中, D-木糖脱水产生糠醛, 后者与间苯三酚反应成粉红色物质, 经光谱扫描该有色物质在460nm处有最大吸收峰, 通过测定该有色物质的吸光值即可计算得出D-木糖的含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 2 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 每瓶加入 18mL 冰乙酸, 混匀溶解后, 再慢慢加入 1.08mL 浓盐酸混匀; 用不完的试剂 4℃保存一个星期。
标准品	粉体 1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、D-木糖含量检测:

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:

称取约 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液, 研磨成匀浆, 倒入有盖离心管中, 置 80℃水浴 5min (封口膜缠紧, 防止水分散失), 冷却后, 12000rpm, 25℃离心 10min, 取上清液待测。

② 液体样品: 澄清的液体可直接检测; 若浑浊则离心后取上清液检测。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min, 设定波长到 460nm。

② 做实验前选取 2 个样本, 找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。

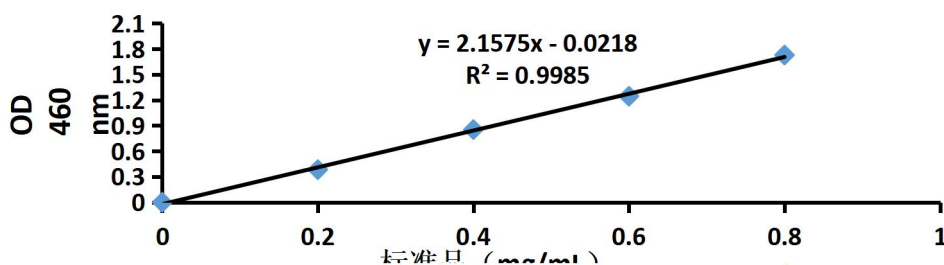
③ 所有试剂解冻至室温, 在 EP 管中依次加入:

试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	60	
蒸馏水		60
试剂一	300	300
混匀, 沸水浴 (95℃) 水浴 8min (精确时间; 防止水份散失, 可用封口膜缠紧), 冷却后取 200μL 至 96 孔板中, 于 460nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

【注】: 测定管的 A 值若超过 1, 可把样本再进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

五、结果计算:

1、标准曲线方程: $y = 2.1575x - 0.0218$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为 ΔA 。



2、按样本质量计算：

木糖含量(mg/g)=[(ΔA+0.0218)÷2.1575×V1]÷(V1÷V×W)×D=0.4635×(ΔA+0.0218)÷W×D

3、按液体体积计算：

木糖含量(mg/L)=[(ΔA+0.0218)÷2.1575×V1]÷V1×10³×D=463.5×(ΔA+0.0218)×D

木糖含量(mmol/L)=[(ΔA+0.0218)÷2.1575×V1]÷V1×10³÷Mr×D=3.09×(ΔA+0.0218)×D

V1---加入样本体积， 0.06mL；

V---提取液体积， 1mL；

Mr---D-木糖分子量， 150；

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）：从标准品管中称量取出 2mg 至一新 EP 管中，再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即 1mg/mL 的标准品（母液需在两天内用且-20℃保存）。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成如下浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 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。