

土壤多糖含量试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TR071 微板法 96 样)

一、产品简介:

土壤多糖是土壤有机质研究的重要组成部分, 大量的研究证实, 土壤多糖对促进土壤水稳性团粒的形成、增强土壤结构的稳定性、提高土壤抗侵蚀能力和保肥、保水能力具有重要作用, 因此对土壤多糖的研究有重要意义。

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测定样品中多糖含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	空瓶 2 个	室温	自备: 向其中一个空瓶中加入 73mL 的蒸馏水, 再继续缓慢的加入 9.5mL 的浓硫酸 (市售, 浓度为 98%) (可带上手套等防护措施, 务必缓慢加入浓硫酸)。此混合液即做为提取液备用。
试剂一	粉剂 3 支	4℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 每支分 别加 1.9mL 水溶解备用。
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:

酶标仪、96 孔板、水浴锅/金属浴、可调式移液器、浓硫酸 (不允许快递)。

四、土壤多糖含量的测定:

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、样本处理:

称取 0.15g 土壤 (若鲜土呈松散状, 尽可能过 40 目筛网备用。)至 EP 管中, 再加入 1.5mL 的提取液 (需自备), 沸水水解 6 个小时, 取出冷却至室温后, 再于 8000rpm 室温离心 10min, 取上清液备用 (若上清液不澄清, 可增加离心时间或 离心率直到上清液澄清为止)。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 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:

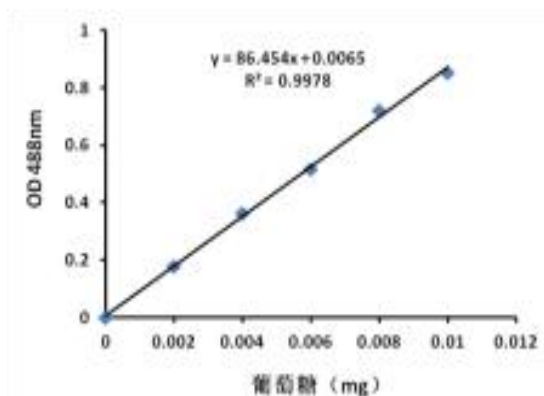
试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
上清液	100	
蒸馏水		100
试剂一	50	50
浓硫酸(务必缓慢加入)	250	250
混匀后, 放入95℃水浴20min (封口膜缠紧, 防止水分散失), 冷却至室温后, 取200μL 转移至96 孔板中, 于 488nm 读取吸 光值A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

【注】:1. 如果 ΔA 大于 1, 需将上清液用蒸馏水稀释, 计算公式中乘以相应稀释倍数D。

2. 若 ΔA 值在零附近即低于0.005, 则可增加土壤取样质量W, 则改变后的W 需代入公式 重新计算。

五、结果计算:

1、标准方程为 $y=86.454x + 0.0065$; x 为标准品质量 (mg) , y 为吸光值 ΔA 。



2、按样本重量计算:

$$\begin{aligned}\text{土壤多糖}(\text{mg} / \text{g} \text{ 重量}) &= [(\Delta A - 0.0065) \div 86.454] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.174 \times (\Delta A - 0.0065) \div W \times D\end{aligned}$$

V---样品提取液总体积, 1.5mL;

V1---测定时待检液体积, 0.1mL;

W---土壤样本质量, g;

D--- 自行稀释倍数, 未稀释即为 1。

附: 标准曲线制作过程:

- 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 的葡萄糖 (母液需在两天内用且-20℃保存)。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1. 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。