

土壤多糖含量试剂盒说明书

(货号：ADS-F-TR071 分光法 48 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×1 个	室温	自备： 向空瓶中加入 88.5mL 的蒸馏水，再继续缓慢的加入 11.5mL 的浓硫酸（市售，浓度为 98%）（可戴上手套等防护措施，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°C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°C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（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 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°C。
- ② 在 EP 管中依次加入：

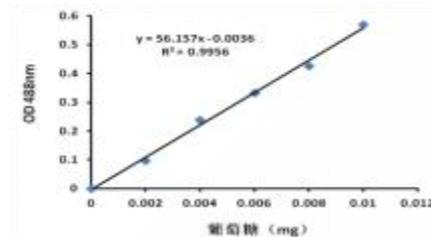
试剂(μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
上清液	200	
蒸馏水		200
试剂一	100	100
浓硫酸(务必缓慢加入)	500	500

混匀放入95°C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】:1. 如果 ΔA 大于 1.5, 需要将样本用蒸馏水稀释, 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, 则可增加样本取样质量 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 $y = 56.157x - 0.0036$; x 为标准品质量 (mg), y 为吸光值 ΔA 。



2、按样本重量计算:

$$\begin{aligned} \text{土壤多糖}(\text{mg/g 土壤}) &= [(\Delta A + 0.0036) \div 56.157] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.1335 \times (\Delta A + 0.0036) \div W \times D \end{aligned}$$

V---样品提取液总体积, 1.5mL; V1---测定时待检液体积, 0.2mL;

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°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, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05. 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。