

D-木糖含量检测试剂盒说明书

(货号: ADS-F-TDX044 分光法 48 样 有效期: 6 个月)

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 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 2 瓶	4℃避光保存	每瓶: 1. 开盖前注意使粉体落入底部(可手动甩一甩); 2. 每瓶加入 18mL 冰乙酸, 混匀溶解后; 3. 再慢慢加入 1.08mL 浓盐酸混匀; 4. 用不完的试剂 4℃保存一个星期。
标准品	粉体 1 支	4℃保存	1. 若重新做标曲, 则用到该试剂; 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制; 3. 溶解后的标品一周内用完。

三、所需仪器和用品:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

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 可见分光光度计预热 30min, 设定波长到 460nm, 蒸馏水调零。

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:

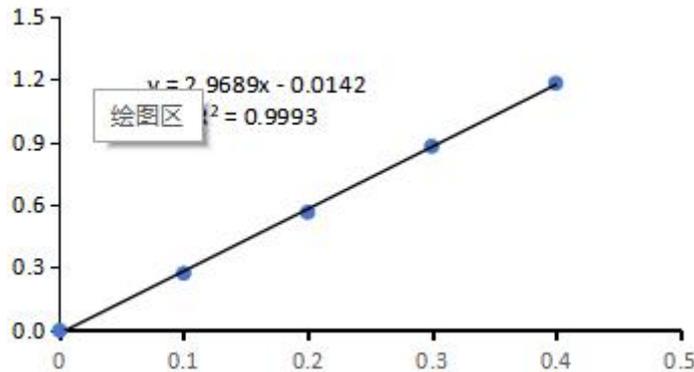
试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	120	
蒸馏水		120
试剂一	600	600

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），冷却后取全部液体至 1mL 玻璃比色皿中，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： $y = 2.9689x - 0.0142$ ；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)=[$(\Delta A + 0.0142) \div 2.9689 \times V1$] $\div (V1 \div V \times W) \times D = 0.3368 \times (\Delta A + 0.0142) \div W \times D$

3、按照蛋白浓度计算：

木糖含量(mg/mg prot)=[$(\Delta A + 0.0142) \div 2.9689 \times V1$] $\div (V1 \div V \times Cpr) \times D = 0.3368 \times (\Delta A + 0.0142) \div Cpr \times D$

4、按液体体积计算：

木糖含量(mg/L)=[$(\Delta A + 0.0142) \div 2.9689 \times V1$] $\div V1 \times 10^3 \times D = 336.8 \times (\Delta A + 0.0142) \times D$

木糖含量(mmol/L)=[$(\Delta A + 0.0142) \div 2.9689 \times V1$] $\div V1 \times 10^3 \div Mr \times D = 2.246 \times (\Delta A + 0.0142) \times D$

V1---加入样本体积，0.12mL；

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；

Cpr---蛋白浓度（mg/mL）；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1 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）。将母液用蒸馏水稀释成五个浓度梯度的标准品，例如：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 mg/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。

2 标品稀释参照表如下：

吸取标准品母液 400uL，加入 600uL 蒸馏水，混匀得到 0.4mg/mL 的标品稀释液待用。					
标品浓度 mg/mL	0	0.1	0.2	0.3	0.4
标品稀释液 uL	0	50	100	150	200
水 uL	200	150	100	50	0
各标准管混匀待用。					

3 依据测定管加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	120	
蒸馏水		120
试剂一	600	600

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)，冷却后取全部液体至 1mL 玻璃比色皿中，于 460nm 处读取吸光值 A， $\Delta A=A$ 测定-0 浓度管。