

可溶性糖含量(SS)试剂盒

- 【产品简介】 ◆糖类物质是构成植物体的重要组成成分之一，也是新陈代谢的主要原料和贮存物质。糖类在浓硫酸作用下经脱水反应生成糠醛或羟甲基糠醛，生成的糠醛或羟甲基糠醛与蒽酮脱水缩合，形成糠醛的衍生物，呈蓝绿色物质，其在可见光区620nm 波长处有最大吸收，且其光吸收值在一定范围内与糖的含量成正比关系。该方法用于可溶性单糖、寡糖和多糖的含量测定，具有灵敏度高、简便快捷、适用于微量样品的测定等优点。
- ◆该方法的特点是几乎可以测定所有的糖类(包括单糖:戊糖、己糖、蔗糖、糖原、多缩葡萄糖等)，所以用该方法测出的糖类含量是溶液中全部可溶性糖类含量。

【货 号】 TPL007

【规 格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
试剂一	粉剂×2瓶	4℃避光	
试剂二	液体5mL×1瓶	4℃	
标准品	粉剂×1支	4℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

工作液配制:吸取2mL试剂二加入到一支试剂一中，混匀并充分溶解，即得工作液。(如难溶解，可超声溶解或者60℃水浴溶解;剩余试剂4℃保存一周)。

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备：

①组织样本：

称取0.1g样本(若是干样，如烘干烟叶等可取 0.05g;若是水分充足的样本可取 0.2g)，先加入0.8mL的80%乙醇(自备：取80mL乙醇溶于20mL蒸馏水中)，冰浴匀浆，倒入有盖离心管中，再用 80%乙醇冲洗研钵并转移至同一EP管中，使EP管中粗提液终体积定容为1.5mL(若用自动研磨机可直接加入1.5mL的80%乙醇研磨)；置 50℃水浴20min(封口膜缠紧，防止液体散失，且间隔2min振荡混匀一次)，冷却后(若有损失，可加80%乙醇补齐至 1.5mL)，12000rpm，室温离心10min，取上清液备用。

注：若增加样本量，可按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为1:15 的比例进行提取。

②细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约500万细菌或细胞至EP管中，加入1.5mL的80%乙醇(自备：取80mL乙醇溶于20mL蒸馏水中)超声波破碎细菌或细胞(冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次)；置50℃水浴20min(封口膜缠紧，防止液体散失，且间隔 2min 振荡混匀一次)，冷却后(若有损失，可加 80%乙醇补齐至 1.5mL)，12000rpm，室温离心10min，取上清液备用。

注：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4)：提取液(mL)为500~1000:1.5的比例进行提取。

③液体样本：

澄清的液体样本直接检测，若浑浊则需12000rpm，室温离心10min，取上清液备用。

2、上机检测：

①酶标仪预热30min以上，调节波长至620nm。

②调节水浴锅至 95-100℃，工作液用前需完全溶解。

③提示：大多数样本可溶性糖含量较高，为使 ΔA 值在1以内，实验前可选取几个样本做预测定，用蒸馏水把上清液稀释成不同浓度，找出适合本次检测样本的稀释倍数D(强调：严禁稀释加热反应后的混合液，否则会出现浑浊现象)。

④在EP管中依次加入：

试剂名称(uL)	测定管	空白管（仅做一次）
样本	25	0
蒸馏水	75	100
工作液	30	30
浓硫酸（缓慢加入）	250	250
混匀后，放入95-100℃水浴中10min(封口膜缠紧，防止水分散失)，冷却至室温后，取200uL转移至96孔板中，于620nm读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

④标准曲线结果计算①由标准品测定获得，如需重制见随货说明书或咨询。

3、结果计算

①标准曲线方程： $y=2.0899x-0.0103$ ； x 为标准品浓度（mg/mL）， y 是 ΔA 。

②按样本重计算：

$$\begin{aligned}\text{可溶性糖 (mg/g重量)} &= [(\Delta A + 0.0103) \div 2.0899 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.718 \times (\Delta A + 0.0103) \div W \times D\end{aligned}$$

③按质量分数(%)计算：

$$\begin{aligned}\text{可溶性糖 (%重量)} &= [(\Delta A + 0.0103) \div 2.0899 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= [0.0718 \times (\Delta A + 0.0103) \div W \times D]\%\end{aligned}$$

④按细菌/细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{可溶性糖 (mg/10}^4\text{cell)} &= [(\Delta A + 0.0103) \div 2.0899 \times V1] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.00144 \times (\Delta A + 0.0103) \times D\end{aligned}$$

⑤按液体体积计算：

$$\text{可溶性糖 (mg/mL)} = (\Delta A + 0.0103) \div 2.0899 \times D = 0.479 \times (\Delta A + 0.0103) \times D$$

V ——样品提取液总体积，1.5mL； $V1$ ——测定时所取样本的体积，0.025mL；

W ——样本质量，g； 500——细胞数量，万；

D ——自行稀释倍数，未稀释即为 1。

- 【注意事项】**
- 1、浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需特别注意，建议枪头置于液面以下并缓慢加入，以防止液面沸腾烫伤且样本碳化，95℃水浴结束后需冷却至室温再打开离心管，防止液体飞溅。
 - 2、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
 - 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。