

## β-葡聚糖含量测试盒(微量法)

产品货号: BA2308

产品规格: 100管/48样

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

### 测定意义:

β-葡聚糖是由葡萄糖单位组成的多聚糖,它们大多数是通过β-1,3结合,天然存在于真菌、细菌和植物的细胞壁中。

### 测定原理:

依次使用地衣聚糖酶和β-葡萄糖苷酶水解β-葡聚糖生成葡萄糖,然后使用GOD-POD试剂测定葡萄糖的含量。

### 产品组成:

试剂一:液体60mL×1瓶,4°C保存;

试剂二:液体150μL×1瓶,4°C避光保存;临用前加入3mL试剂一,充分溶解待用,用不完的试剂分装后-20°C保存;

试剂三:液体60mL×1瓶,4°C保存;

试剂四:液体12mL×1瓶,4°C保存;

试剂五:粉剂×1瓶,4°C避光保存;临用前加入6mL试剂四,充分溶解待用,用不完的试剂分装后-20°C保存。

试剂六:粉剂×1瓶,-20°C保存;临用前加入10mL试剂八溶解待用,用不完的试剂4°C保存;

试剂七:液体10ml×1瓶,4°C避光保存;

试剂八:液体12ml×1瓶,4°C保存;

标准液:0.1mg/mL葡萄糖溶液2mL×1瓶,4°C保存。

### 需自备的仪器和用品:

酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96孔板、研钵、乙醇和蒸馏水。

### 样品测定的准备:

#### 1. 燕麦、小麦、纤维等干样:

样本充分烘干粉碎,过40目以上筛。取0.05g左右样本,加入80%乙醇,充分震荡混匀后,95°C水浴加热5min。取出冷却至室温,25°C 3000g离心10min,去除上清。

沉淀中加入0.8mL试剂一,充分震荡混匀,95°C水浴加热5min。取出冷却至室温,加入50μL试剂二,混匀后50°C反应60min。

反应结束后加入1mL试剂三,充分混匀,25°C 5000g离心10min,取上清待测。

#### 2. 发酵液等液体样本:

取0.5mL样本,95°C水浴加热5min。取出冷却至室温后,分次缓慢加入0.8mL95%乙醇,充分混匀,25°C 3000g离心10min,去除上清。沉淀中再加入0.8mL50%乙醇,混匀后再次25°C 3000g离心10min,去除上清。

沉淀中加入0.8mL试剂一,再加入50μL试剂二,混匀后50°C反应60min。反应结束后加入1mL试剂三,充分混匀,25°C 5000g离心10min,取上清待测。

### 测定步骤:

#### 1. 酶标仪预热30min,调节波长至505nm。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

QQ: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- 显色液配制：临用前将试剂六和试剂七按 1:1 的比例混合，用多少配多少。
- 按下表在 EP 管中加入如下试剂：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	100	100
试剂四	-	100
试剂五	100	-
37°C反应 40min, 然后 3000g 离心 5min, 取反应液待用		

- 在 96 孔板中加入如下试剂：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
反应液	20	20	-	-
标准液	-	-	20	-
蒸馏水	-	-	-	20
显色液	180	180	180	180

充分混匀，37°C反应 15min，测定 540nm 处吸光值，分别记为 A 测定，A 对照，A 标准和 A 空白。计算  $\Delta A1 = A \text{ 测定} - A \text{ 对照}$ ， $\Delta A2 = A \text{ 标准} - A \text{ 空白}$ 。

#### β-葡聚糖含量计算：

- 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \beta\text{-葡聚糖含量}(\text{mg/g 干重}) &= 0.1 \times \Delta A1 \div \Delta A2 \times V1 \div (W \times V2 \div V3) \\ &= 0.37 \times \Delta A1 \div \Delta A2 \div W \end{aligned}$$

- 按样本体积计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol 对硝基酚定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \beta\text{-葡聚糖含量}(\text{mg/mL}) &= 0.1 \times \Delta A1 \div \Delta A2 \times V1 \div (V4 \times V2 \div V3) \\ &= 0.74 \times \Delta A1 \div \Delta A2 \end{aligned}$$

V1：反应总体积，0.2mL；V2：反应体系中样本体积，0.1mL；V3：提取液总体积，1.85mL；V4：液体样本体积，0.5mL；W：样本质量，g。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com