

可溶性糖含量(SS)试剂盒（微板法）

产品货号：BA2699

产品规格：96样

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碳水化合物(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。

产品内容：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂×2瓶	2-8℃，避光	
试剂二	液体5mL×1瓶	2-8℃	
标准品	粉剂×1支	2-8℃	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)

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、水浴锅、可调式移液器、乙醇、浓硫酸（不允许快递）、研钵。

可溶性糖含量(SS)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！

建议：选取样本做几个梯度的稀释，选取适合本次实验的稀释倍数D。

1、样品制备

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。



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

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信数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)。

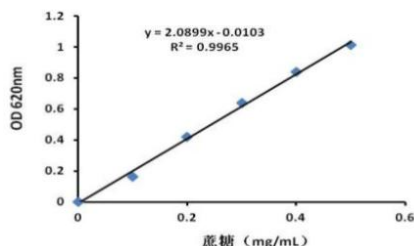
④ 在EP管中依次加入：

试剂名称 (μL)	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°C水浴中10min(封口膜缠紧，防止水分散失)，冷却至室温后，取200 μL 转移至96孔板中，于620nm读取吸光值 ΔA ， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

【注】：1. 若 ΔA 的值接近零，可增加样本加样体积V1(如由25 μL 增至50 μL ，则蒸馏水相应减少)，则改变后的V1代入公式重新计算。

结果计算：

1. 标准方程为 $y = 2.0899x - 0.0103$ ：x为标准品(mg/mL)，y为吸光值 ΔA 。



2. 按样本重量计算：

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

3. 按质量分数(%)计算：

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

4. 按细菌/细胞数量计算：

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

5. 按液体体积计算：

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

V---样品提取液总体积，1.5mL；V1---测定时所取样本的体积，0.025mL；500---细胞数量，万；

W---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的标准品(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、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5mg/mL。
3. 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。



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