

D-木糖含量检测试剂盒说明书

(货号: BP10316W 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 100mL×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、实验器材:

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)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

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、检测步骤:

① 酶标仪预热 30min, 设定波长到 460nm。

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。

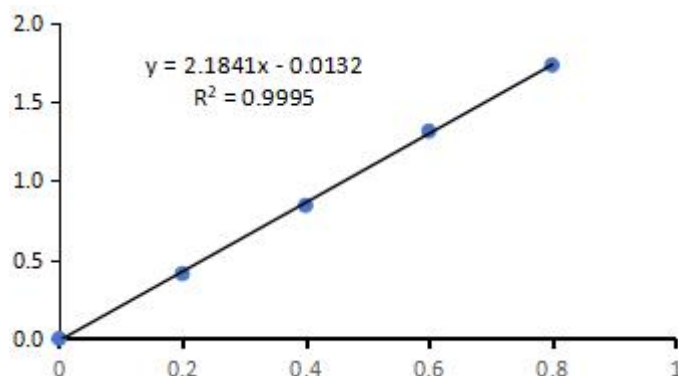
③ 所有试剂解冻至室温, 在 EP 管中依次加入:

试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	60	
蒸馏水		60
试剂一	300	300
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 200μL 至 96 孔板中, 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： $y = 2.1841x - 0.0132$ ； x 为标准品浓度（mg/mL）， y 为 ΔA 。



2、按样本质量计算：

$$\text{木糖含量(mg/g)} = [(\Delta A + 0.0132) \div 2.1841 \times V_1] \div (V_1 \div V \times W) \times D = 0.458 \times (\Delta A + 0.0132) \div W \times D$$

3、按蛋白浓度计算：

$$\text{木糖含量(mg/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0132) \div 2.1841 \times V_1] \div (V_1 \div V \times C_{pr}) \times D = 0.458 \times (\Delta A + 0.0132) \div C_{pr} \times D$$

4、按液体体积计算：

$$\text{木糖含量(mg/L)} = [(\Delta A + 0.0132) \div 2.1841 \times V_1] \div V_1 \times 10^3 \times D = 457.9 \times (\Delta A + 0.0132) \times D$$

$$\text{木糖含量(mmol/L)} = [(\Delta A + 0.0132) \div 2.1841 \times V_1] \div V_1 \times 10^3 \div M_r \times D = 3.05 \times (\Delta A + 0.0132) \times D$$

V_1 ---加入样本体积， 0.06mL；

V ---提取液体积， 1mL；

M_r ---D-木糖分子量， 150；

D ---稀释倍数，未稀释即为 1。

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, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 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 800uL，加入 200uL 蒸馏水，混匀得到 0.8mg/mL 的标品稀释液待用。					
标品浓度 mg/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8
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（ μ L）	标准管	0 浓度管（仅做一次）
标品	60	
蒸馏水		60
试剂一	300	300
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 200 μ L 至 96 孔板中，于 460nm		

处读取吸光值 A ， $\Delta A = A$ 测定-0 浓度管。