

D-木糖含量检测试剂盒说明书 (微板法 96 样)

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 100mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	粉体 mg×2 瓶	4℃ 保存	临用前甩几下使粉体落入底部，每瓶加入 18mL 冰乙酸，混匀溶解后，再慢慢加入 1.08mL 浓盐酸混匀；用不完的试剂 4℃ 保存一个星期。
标准品	液体×1 支	4℃ 保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、D-木糖含量检测：

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 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：

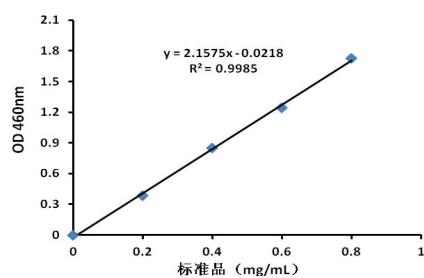
试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	60	
蒸馏水		60
试剂一	300	300

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： $y = 2.1575x - 0.0218$ ；x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为 ΔA 。



2、按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{木糖含量 (mg/g)} &= [(\Delta A + 0.0218) \div 2.1575 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 0.4635 \times (\Delta A + 0.0218) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按液体体积计算：

$$\text{木糖含量 (mg/L)} = [(\Delta A + 0.0218) \div 2.1575 \times V1] \div V1 \times 10^3 \times D = 463.5 \times (\Delta A + 0.0218) \times D$$

$$\text{木糖含量 (mmol/L)} = [(\Delta A + 0.0218) \div 2.1575 \times V1] \div V1 \times 10^3 \div Mr \times D = 3.09 \times (\Delta A + 0.0218) \times D$$

V1---加入样本体积，0.06mL；

V---提取液体积，1mL；

Mr---D-木糖分子量，150；

D---稀释倍数。