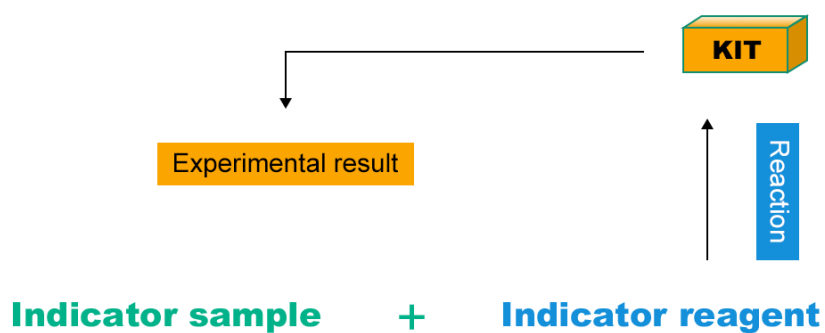


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0993

Size: 100T/48S

β -葡聚糖 (β -Glucan) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、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。

三、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。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 150 μL×1 瓶	4℃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℃保存，禁止反复冻融；
试剂三	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 12mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	粉剂×1 瓶	4℃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℃保存，禁止反复冻融；
试剂六	液体 12mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂七	液体 12mL×1 瓶	4℃避光保存	

五、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 1mL80%乙醇，充分震荡混匀后，95℃水浴加热 5min。取出冷却至室温，25℃ 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℃水浴加热 5min。取出冷却至室温，加入 50 μL 试剂二，混匀后 50℃反应 60min。反应结束后加入 1mL 试剂三，充分混匀，25℃5000g 离心 10min，取上清待测。

2、发酵液等液体样本：

取 0.5mL 样本，95℃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℃ 3000g 离心 10min，去除上清。沉淀中再加入 0.8mL50%乙醇，混匀后再次 25℃ 3000g 离心 10min，去除上清。沉淀中加入 0.8mL 试剂一，再加入 50 μL 试剂二，混匀后 50℃反应 60min。反应结束后加入 1mL 试剂三，充分混匀，25℃ 5000g 离

心 10min，取上清待测。

六、测定步骤

1、酶标仪预热 30min，调节波长至 505nm。

2、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

3、按下表在 EP 管中加入如下试剂

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	100	100
试剂四		100
试剂五	100	
37℃反应 20min，然后 3000g 离心 5min，取上清液待用		

在 96 孔板中加入如下试剂

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	20	20
显色液	180	180

充分混匀，37℃反应 30min，测定 505nm 处吸光值，记为 A 对照和 A 测定， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

七、β-葡聚糖含量计算：

标准条件下测定回归方程为 $y = 2.321x + 0.0053$ ， $R^2 = 0.9999$ ；x 为标准品浓度(mg/mL)，y 为吸光值。

1、按样本质量计算

$\beta\text{-葡聚糖含量 (mg/g 干重)} = (\Delta A - 0.0053) \div 2.321 \times V1 \div (W \times V2 \div V3)$

$= 1.594 \times (\Delta A - 0.0053) \div W$

2、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。

$$\beta\text{-葡聚糖含量 (mg/mL)} = (\Delta A - 0.0053) \div 2.321 \times V1 \div (V4 \times V2 \div V3)$$

$$= 3.188 \times (\Delta A - 0.0053)$$

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, 1.85 mL; V4: 液体样本体积, 0.5mL; W: 样本质量, g。