

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-S0994

Size: 50T/24S

β-葡聚糖 (β-Glucan) 检测试剂盒说明书

分光光度法

*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:

分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、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 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 75 μL×1 瓶	4°C避光保存	临用前加入 1.5mL 试剂一,充分溶解待用,用不完的试剂分装后-20°C保存,禁止反复冻融;
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂五	粉剂×1 瓶	4°C避光保存	临用前加入 3mL 试剂四,充分溶解待用,用不完的试剂分装后-20°C保存,禁止反复冻融;
试剂六	液体 25mL×1 瓶	4°C避光保存	

试剂七	液体 25mL×1 瓶	4°C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4目以上筛。取0.05g左右样本，加入1mL80%乙醇，充分震荡混匀后，95°C水浴加热5min。取出冷却至室温，25°C3000g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°C5000g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°C3000g离心10min，去除上清。沉淀中再加入0.8mL50%乙醇，混匀后再次25°C3000g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°C5000g离心10min，取上清待测。

六、测定步骤

1、分光光度计预热30min，调节波长至505nm，蒸馏水调零。

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°C反应 20min，然后 3000g 离心 5min，取上清液待用，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
显色液	900	900
充分混匀，37°C反应 30min，转移至 1mL 玻璃比色皿中测定 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 $y = 4.642x + 0.0053$ ， $R^2 = 0.9999$ ；x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为吸光值。

1、按样本质量计算

$$\beta\text{-葡聚糖含量 (mg/g 干重)} = (\Delta A - 0.0053) \div 4.642 \times V1 \div (W \times V2 \div V3)$$

$$= 0.797 \times (\Delta A - 0.0053) \div W$$

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。

$$\beta\text{-葡聚糖含量 (mg/mL)} = (\Delta A - 0.0053) \div 4.642 \times V1 \div (V4 \times V2 \div V3) = 1.594 \times (\Delta A - 0.0053)$$

V1：反应总体积，0.2mL；V2：反应体系中样本体积，0.1 mL；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。