

总糖含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

货号：BC2715

规格：100T/96S

产品内容：

试剂一：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂二：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂三：液体 5mL×1 瓶，4℃ 避光保存；

标准品：粉剂×1 支，10mg 无水葡萄糖，4℃ 保存；临用前加 1mL 蒸馏水溶解为 10mg/mL 的葡萄糖标准品备用。

产品说明：

糖类物质是构成植物体的重要成分之一，也是新陈代谢的主要原料和贮存物质。总糖主要指具有还原性的葡萄糖，果糖，戊糖，乳糖和在测定条件下能水解为还原性的单糖的蔗糖，麦芽糖以及可能部分水解的淀粉。

总糖酸水解为还原糖，还原糖在碱性条件下与 DNS 试剂共热后被还原成氨基化合物，在碱性溶液中呈桔红色，还原糖的量与桔红色物质颜色的深浅成正比关系，以此测定样品中的总糖含量。

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、蒸馏水。

操作步骤：

一、样品中总糖的提取：

组织：称取约 0.1g 样品，加入 1mL 试剂一，1.5mL 蒸馏水，匀浆，沸水浴 30min，加入 1mL 试剂二，混匀，用蒸馏水定容至 10mL，8000g 25℃ 离心 10min，取上清液待测。（注意稀释，见注意事项）

血清（浆）、液体体积：取 0.1mL 血清（浆），加入 0.1mL 试剂一，0.15mL 蒸馏水，匀浆，沸水浴 30min，加入 0.1mL 试剂二，混匀，用蒸馏水定容至 1mL，8000g 25℃ 离心 10min，取上清液待测。（注意稀释，见注意事项）

二、测定操作表：

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。

2、标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至 1.5、1、0.8、0.6、0.5、0.4、0.2、0.1mg/mL。

3、加样表：

试剂 (μL)	空白管	测定管	标准管
蒸馏水	30		
样本		30	
标准品			30

试剂三	30	30	30
混匀，沸水浴 10min（盖紧，以防止水分散失），冷却至室温			
蒸馏水	180	180	180

混匀，取出 200 μ L 在 540nm 下测定吸光值，并计算 $\Delta A_{测} = A_{测定管} - A_{空白管}$ 、 $\Delta A_{标} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。

三、总糖含量计算：

1、标准曲线的绘制：

以标准管的浓度为x轴，对应的 $\Delta A_{标}$ 为y轴绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{测}$ 带入方程中计算得x（mg/mL）。

2、按样本鲜重计算：

总糖（mg/g 鲜重）= $(x \times V_{样总}) \div W \times \text{稀释倍数} = 10 \times x \div W \times \text{稀释倍数}$

3、按血清（浆）、液体体积计算：

总糖（mg/mL）= $(x \times V_{提}) \div V_{样} \times \text{稀释倍数} = 10 \times x \times \text{稀释倍数}$

$V_{样总}$ ：组织样本总体积，10mL； W ：样本鲜重，g； $V_{提}$ ：血清或液体样本总体积，1mL；
 $V_{样}$ ：血清或液体体积，0.1mL。

注意事项：

- 1、空白管只需做一管。
- 2、如果 ΔA 大于 1.2，需要将上清液用蒸馏水稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数。
- 3、此试剂盒对于纤维素的分解程度无法达到 100%。

注意：最低检测限为 5mg/g 鲜重。