

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-S0805

Size: 50T/48S

总糖含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*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：

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。

二、测定原理：

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。

三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、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 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 13mL×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

五、操作步骤：

● 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°C离心 10min，取上清液待测。（注意稀释，见注意事项）

血清（浆）液体样本：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°C离心 10min，取上清液待测。（注意稀释，见注意事项）

● 测定操作表：

1、分光光度计预热 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、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	150		
样本		150	
标准品			150
试剂三	150	150	150
混匀，沸水浴 10min（盖紧，以防止水分散失）冷却至室温			
蒸馏水	900	900	900

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

六、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 ΔA 标为 y 轴绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测带入方程中计算得 x (mg/mL)

2、按样本鲜重计算：

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

3、按血清（浆）液体体积计算：

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

V 样总：样本体积总体积，10mL； W：样本鲜重，g； V 提：液体或血清样本总体积，1mL； V 样：液体或血清体积，0.1mL。

七、注意：

- 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。