

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-S0885

Size: 50T/48S

总多糖含量检测试剂盒说明书

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：

多糖是生物体中广泛存在的物质，是一类由醛糖或酮糖通过糖苷键连接而成的天然高分子多聚物，它是生物体内重要的生物大分子，是维持生命活动正常运转的基本物质之一。

二、测定原理：

利用水提醇沉法提取总多糖，苯酚-硫酸法测定总多糖含量。

三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、无水乙醇、浓硫酸、蒸馏水、水浴锅。

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	12mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	无水乙醇	自备	
试剂三	浓硫酸	自备	

五、总多糖提取：

组织样本：样本烘干粉碎，称取约 0.05g 样本，加入 1mL 水，充分匀浆。100℃水浴提取 2h（必须盖紧盖子防止水分流失），冷却后 10000g 离心 10min，取上清。吸取 0.2mL 上清，慢慢加入 0.8mL 无水乙醇，混匀后 4℃静置过夜，10000g 离心 10min，弃上清，沉淀中加入 1mL 水，充分混匀溶解沉淀后待测。

液体样本：取 0.2mL 样本，慢慢加入 0.8mL 无水乙醇，混匀后 4℃静置过夜，10000g 离心 10min，弃上清，沉淀中加入 1mL 水，充分混匀溶解沉淀后待测。

六、测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 490nm，蒸馏水调零。

2、吸取 400μL 待测样本，加入 200μL 试剂一和 1mL 浓硫酸，混匀后 90℃水浴 20min，流水冷却。取 1mL 加入比色皿，于 490nm 下测定吸光值 A。

七、总多糖含量计算：

以葡萄糖作为对照品，标准条件下测定回归方程为 $y = 15.962x - 0.0037$ ， $R^2 = 0.9973$ ，x 为葡萄糖含量（mg/mL），y 为吸光值。

组织样本：

$$\begin{aligned} \text{总多糖含量}(\mu\text{g/g 干重}) &= (A + 0.0037) \div 15.962 \times V1 \div V2 \times V3 \div W \times 1000 \\ &= 313.24 \times (A + 0.0037) \div W \end{aligned}$$

液体样本：

$$\text{总多糖含量}(\mu\text{g/mL}) = (A + 0.0037) \div 15.962 \times V1 \div V2 \times 1000 = 313.24 \times (A + 0.0037) \div W$$

V1：醇沉后重新溶解后的体积，1mL；V2：进行醇沉的体积，0.2mL；V3，提取时加入水的体积，1mL；W：样本质量，g；1000，mg 到 μg 的换算系数。