

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

总糖含量试剂盒说明书

微量法

正式测定前请选择2-3个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

糖类物质是构成植物体的重要组成成分之一，也是新陈代谢的主要原料和贮存物质。总糖也可称为碳水化合物，包括可溶性的单糖，二糖以及不溶性的淀粉，纤维素，几丁质等。

测定原理：

总糖酸水解为还原糖，在 NaOH 和丙三醇存在下，DNS 试剂与还原糖共热后被还原成氨基化合物，在过量的 NaOH 碱性溶液中呈桔红色，在 540nm 处有最大吸收峰，以此测定样品中的总糖含量。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、沸水浴、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、蒸馏水。

试剂的组成和配制：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
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×10mg支	4℃保存	临用前加入 1mL 蒸馏水溶解，制备 10mg/mL 葡萄糖标准液。

样品中总糖的提取：

称取约 0.1g 样品，加入 1mL 试剂一，1.5mL 蒸馏水，匀浆，95℃水浴中加热 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）

测定步骤：

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、调节水浴锅至95度。

3、加样表：

试剂 (μL)	标准管	测定管
样本		8
标准品	8	
蒸馏水	8	8
试剂三	12	12
混匀，置 95 度水浴中 10min (盖紧，以防止水分散失)，冷却至室温		
蒸馏水	172	172

注意：如果 ΔA 大于3，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。

总糖含量计算：

以 1、0.75、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0 mg/mL 葡萄糖标准溶液为横坐标， ΔA 为纵坐标绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A'$ 代入方程得到 x (mg/mL)；

1、按样本鲜重计算

$$\text{总糖含量 (mg/g 鲜重)} = x \times \text{稀释倍数} \times V \text{ 提取} \div W = 10x \div W \times T$$

V 提取：提取后体积，10 mL； W ：样品质量，g；稀释倍数： T 。