

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

总多糖含量测定试剂盒说明书 微量法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

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°C保存	-
试剂二	无水乙醇	-	自备
试剂三	浓硫酸	-	自备
标准品	粉剂 10mg×1 支	4°C避光保存	-

产品说明：

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。

利用水提醇沉法提取总多糖，苯酚-硫酸法测定总多糖含量。

自备仪器和用品：

分析天平、酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96 孔板、无水乙醇、浓硫酸、蒸馏水、水浴锅。

操作步骤：

一、总多糖提取

样本烘干粉碎，称取约 0.05g 样本，加入 1mL 水，充分匀浆。100°C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°C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。

二、测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 490nm。
- 2、称 1mg 标准品用 1mL 蒸馏水溶解，浓度为 1mg/mL。取适当溶液配制浓度为 1mg/mL、0.5mg/mL、0.25mg/mL、0.125mg/mL、0.0625mg/mL 的标准品（蒸馏水进行稀释）。取 1.5mL EP 管吸取 200μL 标准品，加入 100μL 试剂一和 0.5mL 浓硫酸，混匀后 90°C水浴 20min，流水冷却。取 200μL 加入酶标板，于 490nm 下测定吸光值A。根据吸光度（x）和浓度（y，mg/mL）做出标准曲线。
- 3、吸取 200μL 上清，加入 100μL 试剂一和 0.5mL 浓硫酸，混匀后 90°C水浴 20min，流水冷却。取 200μL 加入酶标板，于 490nm 下测定吸光值 A。

三、总多糖含量计算

根据标准曲线，将样品 ΔA 带入公式中 (x)，计算出样品浓度 y (mg/mL)。

(1) 按样本鲜重计算

总多糖 (mg /g 干重) = $5y \div W$

V 样总：上清液总体积，mL；V 样：加入反应体系中上清液体积，20 μ L=0.02 mL；W：样品质量，g；样本体积已被稀释五倍，T。

注意事项：

1. 如果样品吸光值A 大于 最大浓度标准品吸光值，需要将样本用蒸馏水稀释，计算公式中再乘以相应稀释倍数。
2. 由于浓硫酸具有强腐蚀性，请谨慎操作