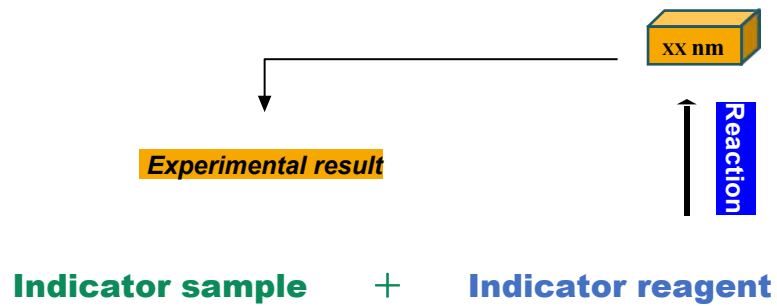


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 总多糖含量测定试剂盒说明书

### 分光光度法

**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℃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℃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、分光光度计、台式离心机、可调式移液器、比色皿、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℃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。

#### 二、测定步骤

1、酶标仪或者分光光度计预热 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℃水浴 20min，流水冷却。取 750μL 加入比色皿，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 200 $\mu$ L 上清，加入 100 $\mu$ L 试剂一和 0.5mL 浓硫酸，混匀后 90 $^{\circ}$ C 水浴 20min，流水冷却。取 750 $\mu$ L 加入比色皿，于 490nm 下测定吸光值  $\Delta A$ 。

### 三、总多糖含量计算

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

(1) 按样本鲜重计算

$$\text{总多糖 (mg /g 干重)} = 5y \div W$$

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  $\mu$ 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