

总糖含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHD8-C48	植物总糖含量试剂盒	48T	常量法

产品说明:

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。

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，在碱性溶液中呈红棕色，还原糖的量与桔红色物质颜色的深浅成正比关系，以此测定样本中的总糖含量。

试剂组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三	液体 13 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
标准品	粉剂×1支	2-8℃ 保存

溶液的配制:

1. 标准品: 10 mg 无水葡萄糖。临用前加 1 mL 蒸馏水溶解为 10 mg/mL 的葡萄糖标准品备用, 2-8℃ 保存两周。

操作步骤:

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1、组织样本的处理: 称取约0.1g 样本于10mLEP 管中, 加入1mL 试剂一, 1.5mL 蒸馏水, 研磨匀浆, 沸水浴30min, 加入1mL 试剂二, 涡旋混匀, 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)。

2、血清(浆)、液体样本的处理: 取0.1mL 血清(浆)于1mLEP 管中, 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, 涡旋混匀, 用蒸馏水定容至1mL, 8000g, 25℃离心10min, 取上清液待测。(注意稀释, 见注意事项)。

二、测定步骤

- 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、0.5、0.2、0.1mg/mL，标准液稀释可参考下表：

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	100	900	1
2	1	160	40	0.8
3	1	100	100	0.5
4	1	40	160	0.2
5	1	20	180	0.1

备注：实验中每个标准管需 150μL 标准溶液。

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
涡旋混匀，沸水浴 10min（盖紧，以防止水分散失），冷却至室温			
蒸馏水	900	900	900

涡旋混匀，在 540nm 下测定吸光值，分别记为 A 空白管、A 测定管、A 标准管。计算 ΔA 测定 = A 测定管 - A 空白管、 ΔA 标准 = A 标准管 - A 空白管。标准曲线和空白管只需测 1-2 次。

三、总糖含量计算

1、标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度 ΔA 标准 (y, ΔA 标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定 (y, ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

2、按样本质量计算：总糖 (mg/g 质量) = $(x \times V_{\text{样总}}) \div W \times \text{稀释倍数} = 10 \times x \div W \times \text{稀释倍数}$

3、按血清（浆）、液体体积计算：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：样本质量，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。

注意事项：

1、此试剂盒对于纤维素的分解程度无法达到 100%。

2、如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。注意同步修改计算公式。