

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-M96	植物总糖含量试剂盒	96T	微量法

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 100 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	液体 100 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三	液体 5 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 10mL EP 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、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 540nm, 分光光度计用蒸馏水调零。

2、标准品准备: 将标准品用蒸馏水稀释至 1.6、1.0、0.8、0.4、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	32	168	1.6
2	10	100	900	1
3	1	160	40	0.8
4	0.8	100	100	0.4
5	0.4	100	100	0.2
6	0.2	100	100	0.1

备注：实验中每个标准管需30μL 标准溶液。

3、加样表：

试剂 (μL)	空白管	测定管	标准管
蒸馏水	30	-	-
样本	-	30	-
标准品	-	-	30
试剂三	30	30	30
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	180	180	180

涡旋混匀，取出200μL 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：总糖含量 (mg/g 质量) = (x×V 样总) ÷W×稀释倍数=10×x÷W×稀释倍数

3、按血清（浆）、液体体积计算：总糖含量 (mg/mL) = (x×V 提) ÷V 样×稀释倍数=10×x×稀释倍数

V 样总：组织样本总体积，10mL；W：样本质量，g；V 提：血清或液体样本总体积，1mL；V 样：血清或 液体体积，0.1mL。

注意事项：

1、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。

2、此试剂盒对于纤维素的分解程度无法达到 100%。