

总糖含量试剂盒说明书

微量法 100管/96样

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：

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；

样品中总糖的提取：

组织：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）

液体样本：取0.1mL样本，加入1mL 试剂一，1.5mL蒸馏水，匀浆，95℃水浴中加热30min，加入1mL试剂二，8000g 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（ $\mu$ L）	空白管	测定管
样本		8
蒸馏水	16	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
-----	-----	-----

混匀，540nm测定吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$

注意：1、空白管只要做一管。

2、如果 $\Delta A$ 大于2，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：

1、标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.3002x - 0.0507$ ； $x$ 为标准品浓度（mg/mL）， $y$ 为吸光值。

2、按样本鲜重计算：

总糖（mg /g鲜重）= $[(\Delta A + 0.0507) \div 0.3002 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \times \text{稀释倍数} = 33.311 \times (\Delta A + 0.0507) \div W \times \text{稀释倍数}$ 。

3、按样本蛋白浓度计算：

总糖（mg /mg prot）= $[(\Delta A + 0.0507) \div 0.3002 \times V1] \div (V1 \times Cpr) \times \text{稀释倍数} = 3.3311 \times (\Delta A + 0.0507) \div Cpr \times \text{稀释倍数}$ 。

$V1$ ：加入样本体积，0.008mL； $V2$ ：加入提取液体积，10mL； $Cpr$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL； $W$ ：样本鲜重，g。

4、按照液体体积计算：

总糖（mg /mL）= $[(\Delta A + 0.0507) \div 0.3002 \times V1] \div (V3 \times V1 \div V2) \times \text{稀释倍数} = 116.59 \times (\Delta A + 0.0507) \times \text{稀释倍数}$ 。

$V1$ ：加入样本体积，0.008mL； $V2$ ：加入提取液体积，10mL/3.5mL； $V3$ ：液体样本，0.1mL； $Cpr$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL； $W$ ：样本鲜重，g。

**注意：最低检测限为1mg/g鲜重或10ng/mg prot**