

## 总多糖含量测定试剂盒说明书

微量法 100管/96样

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

利用水提醇沉法提取总多糖，苯酚-硫酸法测定总多糖含量。

需自备的仪器和用品：

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。

试剂的组成和配制：

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。

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。

测定步骤

1. 酶标仪预热30min以上，调节波长至490nm。
2. 吸取200μL上清，加入100μL试剂一和0.5mL浓硫酸，混匀后90℃水浴20min，流水冷却。取200μL加入酶标板，于490nm下测定吸光值A。

总多糖含量计算：

以葡萄糖作为对照品，标准条件下测定回归方程为 $y = 7.981x - 0.0037$ ， $R^2 = 0.9973$ ，x为葡萄糖含量（mg/mL），y为吸光值。

总多糖含量(μg/g干重) =  $(A + 0.0037) \div 7.981 \times V1 \div V2 \times V3 \div W \times 1000$

=  $626.49 \times (A + 0.0037) \div W$

V1：醇沉后重新溶解后的体积，1mL；V2：进行醇沉的体积，0.2mL；V3，提取时加入水的体积，1mL；W：样本质量，g；1000，mg到μg的换算系数。