总糖含量试剂盒说明书

（货号：G0503W 微板法 96 样）

一、产品简介：

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。

总糖酸水解为还原糖，在碱性条件下，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，经过 500nm 到 540nm 波长扫描在 500nm 处有最大吸收峰，并且在一定的浓度范围内，还原糖含量与 500nm 吸光度成线性关系，根据标准曲线，以此测定样品中的还原糖含量，即样品中的总糖含量。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 80mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	空瓶×1 个	4℃保存	临用前加 30mL 水，再向水中缓慢加入 30mL 的市售盐酸（**盐酸有腐蚀性，加的过程中需缓慢谨慎加入**），混匀备用。
试剂二	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 12mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、水浴锅、可调式移液器、研钵、蒸馏水、盐酸。

四、总糖含量检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：称取约 0.1g 样品（水分充足的样本可取 0.5g）至 EP 管中，加入 750μL 提取液，匀浆后再加 500μL 试剂一，封口置于 90℃水浴中加热 30min，并且 15min 振荡一次，用冷水冷却至室温，加入 500μL 试剂二，用蒸馏水定容至 2mL，混匀，12000rpm，25℃离心 10min，取上清液备用。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：蒸馏水体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取

② 液体样本：取 0.1mL 液体样本至 EP 管中，加入 400μL 试剂一混匀，封口置于 90℃水浴中 30min，并且 15min 振荡一次，用冷水冷却至室温，再加入 400μL 试剂二混匀，最终用蒸馏水定容至 1mL，混匀，12000 rpm，25℃离心 10min，取上清液备用。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 500nm。

② **提示：大多数样本总糖含量较高，为使ΔA 值在 1 以内，实验前可选取几个样本做预测定，用蒸馏水把上清液稀释成不同浓度，找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。**

③ 调节水浴锅至 95℃。在 EP 管中依次加入：

试剂（μL）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	100	
蒸馏水		100
试剂三	100	100
混匀，在 95℃水浴中 10min（盖紧封口，以防止水分散失），取出后立即过冷水冷却至室温。		

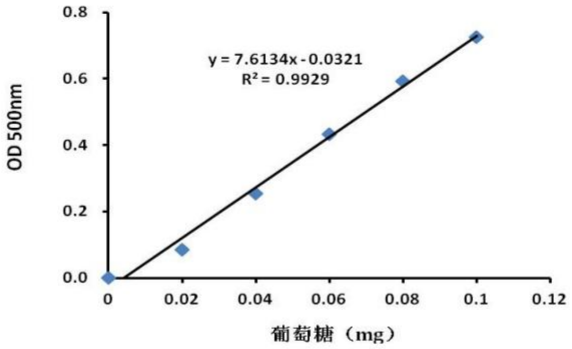
蒸馏水	1000	1000
混匀，取 200μL 于 96 孔板中，500nm 读取吸光值 A，△A=A 测定-A 空白。		

【注】：1.若△A 值大于 1.5，样本可用蒸馏水再行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式计算。

2.若ΔA 值小于 0.01，则可加大样本加样体积 V1（如由 100μL 增至 200μL，则最后一步的蒸馏水相应减少，样本相当于浓缩 2 倍，则计算公式需除以 2；或增加样本取样质量 W，则改变后的 W 需带入公式计算。

五、结果计算：

1、 标准曲线方程为 y = 7.6134x - 0.0321；x 为标准品质量（mg），y 为△A。



2、按样本鲜重计算：

总糖(mg/g 重量)=[(△A+0.0321)÷7.6134]÷(W×V1÷V)×D=2.63×(△A+0.0321)÷W×D

3、按液体体积计算：

总糖(mg/mL)=[(△A+0.0321)÷7.6134]÷[V2×V1÷V3]×D=13.15×(△A+0.0321)×D

V---组织样品的提取液总体积，2mL； V1---测定体系中样本加样体积，0.1mL；

V2---液体样品取样量，0.1mL； V3---液体样本的提取液总体积，1mL；

W---样本质量，g； D---稀释倍数，未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

1 制备标准品母液（1mg/mL）：从标准品管中称量取出 2mg 至一新 EP 管中，再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即 1mg/mL 的葡萄糖（母液需在两天内用且-20℃保存）。

2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。