

# 总糖含量试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

**注 意：**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、沸水浴、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、蒸馏水。

## 试剂的组成和配制：

试剂一：液体 50mL×1 瓶，4℃保存；

试剂二：液体 50mL×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           |     | 40  |
| 蒸馏水          | 80  | 40  |
| 试剂三          | 60  | 60  |

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 | 860 | 860 |
|-----|-----|-----|

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  $y = 0.4503x - 0.0507$ ；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）=  $[(\Delta A + 0.0507) \div 0.4503 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \times \text{稀释倍数} = 22.207 \times (\Delta A + 0.0507) \div W \times \text{稀释倍数}$ 。

3、按样本蛋白浓度计算：

总糖（mg /mg prot）=  $[(\Delta A + 0.0507) \div 0.4503 \times V1] \div (V1 \times Cpr) \times \text{稀释倍数} = 2.2207 \times (\Delta A + 0.0507) \div Cpr \times \text{稀释倍数}$ 。

4、按照液体体积计算：

总糖（mg /mL）=  $[(\Delta A + 0.0507) \div 0.4503 \times V1] \div (V3 \times V1 \div V2) \times \text{稀释倍数} = 77.73 \times (\Delta A + 0.0507) \times \text{稀释倍数}$ 。

V1：加入样本体积，0.04mL； 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