



总糖含量试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 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、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°C 保存;

试剂二:液体 50mL×1 瓶,4°C 保存;

试剂三:液体 5mL×1 瓶,4°C 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°C 水浴中加热 30min,加入 1mL 试剂二,混匀,用蒸馏水定容至 10mL,8000g 25°C 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°C 水浴中加热 30min,加入 1mL 试剂二,8000g 25°C 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 (μL)	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 ΔA 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) = $[(\Delta A + 0.0507) \div 0.4503 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \times \text{稀释倍数} = 22.207 \times (\Delta A + 0.0507) \div W \times \text{稀释倍数}$ 。



北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com

Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

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) = $[(\Delta A + 0.0507) \div 0.4503 \times V1] \div [V3 \times V1 \div (V2 + V3)] \times \text{稀释倍数} = 79.95 \times (\Delta A + 0.0507) \times \text{稀释倍数}$ 。

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

