总糖含量检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1.使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2.正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测，如果ΔA 大于 2，需要将上清液用蒸馏水稀释至小于 2，计算公式中乘以相应稀释倍数。

3.本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	100 mL×1	4℃	
试剂二	100 mL×1	4℃	
试剂三	5 mL×1	4℃避光	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一），1.5 mL 超纯水/蒸馏水，匀浆，95℃水浴中加热 30 min，然后加入 1 mL 试剂二，混匀，用超纯水/蒸馏水定容至 10 mL，10000 g，室温离心 10 min，上清为待测样本。

2. 液体样本：取 0.1 mL 样本，加入 1 mL 试剂一，1.5 mL 超纯水/蒸馏水，匀浆，95℃水浴中加热 30 min，然后加入 1 mL 试剂二，10000 g，室温离心 10 min，上清为待测样本。

五、测定步骤

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 540 nm 处。

2.调节水浴锅至 95℃。

3.在 1.5 mL 离心管中依次加入：

	测定管	空白管

样本（μL）	12	-
超纯水（μL）	12	24
试剂三（μL）	18	18
混匀，置 95℃水浴中 10 min（盖紧，以防止水分散失），然后冷却至室温		
超纯水（μL）	258	258
充分混匀后，取 200 μL 反应液至 96 孔板中于 540 nm 测定吸光值，记 A 测定、A 空白，ΔA=A 测定管-A 空白管，空白管只需做 2~3 管。		

六、计算

标准方程

标准条件下测得回归方程为为 y=0.3002x-0.0507，x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按照液体样本体积计算：

总糖含量（mg/mL）=[（ΔA＋0.0507）÷0.3002×V1]÷[V3×V1÷（V2+V3）]×F=119.9×（ΔA＋0.0507）×F

2. 按照样本质量计算：

总糖含量（mg/g 鲜重）=[（ΔA＋0.0507）÷0.3002×V1]÷（W×V1÷V2）×F=33.311×（ΔA＋0.0507）÷W×F

3. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

总糖含量（mg/mg prot）=[（ΔA＋0.0507）÷0.3002×V1]÷（V1×Cpr）×F=3.3311×（ΔA＋0.0507）÷Cpr×F

V1：加入样本体积，0.012mL；V2：液体加入提取液体积，3.5mL；V3:液体样本，0.1mL；V4：组织样品加入提取液体积，10mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g。

七、产品简介

总糖包含单糖、寡糖与多糖，是动植物、微生物主要的能源物质，可为各类生命活动供能，也参与细胞识别、信号传递；同时糖类可构成植物细胞壁、动物结缔组织等结构组分，还能作为储能物质储存于淀粉、糖原中维持机体物质稳态。