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℃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（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，ΔA=A 测定管-A 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）= [(ΔA＋0.0507) ÷0.4503×V1]÷（W×V1÷V2）×稀释倍数=22.207×(ΔA＋0.0507) ÷W×稀释倍数。

3、按样本蛋白浓度计算：

总糖（mg /mg prot）=[(ΔA＋0.0507) ÷0.4503×V1]÷(V1×Cpr) ×稀释倍数=2.2207×(ΔA＋0.0507) ÷Cpr×稀释倍数。

4、按照液体体积计算：

总糖（mg /mL）=[(ΔA＋0.0507) ÷0.4503×V1]÷（V3×V1÷V2）×稀释倍数=77.73×(ΔA＋0.0507)×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