

总多糖含量测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

多糖是生物体中广泛存在的物质，是一类由醛糖或酮糖通过糖苷键连接而成的天然高分子多聚物，它是生物体内重要的生物大分子，是维持生命活动正常运转的基本物质之一。

测定原理：

利用水提醇沉法提取总多糖，苯酚-硫酸法测定总多糖含量。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、无水乙醇、浓硫酸、蒸馏水、水浴锅。

试剂的组成和配制：

试剂一：12mL×1 瓶，4℃保存；

试剂二：无水乙醇，自备；

试剂三：浓硫酸，自备。

总多糖提取：

组织样本：样本烘干粉碎，称取约 0.05g 样本，加入 1mL 水，充分匀浆。100℃水浴提取 2h（必须盖紧盖子防止水分流失），冷却后 10000g 离心 10min，取上清。吸取 0.2mL 上清，慢慢加入 0.8mL 无水乙醇，混匀后 4℃静置过夜，10000g 离心 10min，弃上清，沉淀中加入 1mL 水，充分混匀溶解沉淀后待测。

液体样本：取 0.2mL 样本，慢慢加入 0.8mL 无水乙醇，混匀后 4℃静置过夜，10000g 离心 10min，弃上清，沉淀中加入 1mL 水，充分混匀溶解沉淀后待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 490nm，蒸馏水调零。
- 2、吸取 400μL 待测样本，加入 200μL 试剂一和 1mL 浓硫酸，混匀后 90℃水浴 20min，流水冷却。取 1mL 加入比色皿，于 490nm 下测定吸光值 A。

总多糖含量计算：

以葡萄糖作为对照品，标准条件下测定回归方程为 $y = 15.962x - 0.0037$ ， $R^2 = 0.9973$ ，x 为葡萄糖含量（mg/mL），y 为吸光值。

组织样本：总多糖含量($\mu\text{g/g}$ 干重) = $(A + 0.0037) \div 15.962 \times V1 \div V2 \times V3 \div W \times 1000$
 $= 313.24 \times (A + 0.0037) \div W$

液体样本：总多糖含量($\mu\text{g/mL}$) = $(A + 0.0037) \div 15.962 \times V1 \div V2 \times 1000$
 $= 313.24 \times (A + 0.0037) \div W$

V1：醇沉后重新溶解后的体积，1mL；V2：进行醇沉的体积，0.2mL；V3，提取时加入水的体积，1mL；W：样本质量，g；1000，mg 到 μg 的换算系数。