

总糖含量 检测试剂盒微板法

使用说明书

产品货号：BP10383W

注意：请在试剂盒保质期内使用，具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用，不能用于临床诊断。

检测范围：0.05-1.8mg/mL

灵敏度：0.05mg/mL

有效期：6个月

保存温度：2-8℃

检测原理:

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。总糖酸水解为还原糖，在碱性条件下，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，540nm 处有最大吸收峰，根据标准曲线，以此测定样品中的还原糖含量，即样品中的总糖含量。

注意事项:

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。
6. 此试剂盒对于纤维素的分解程度无法达到 100%。

试剂名称	规格（48T/41S）	规格（96T/89S）	保存条件
试剂一	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃
试剂三	2.5mL×1 瓶	5mL×1 瓶	2-8℃，避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃

试剂盒组分：

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、水浴锅。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.05-1.8mg/mL, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩, 样本的稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本**: 称取约 0.1g 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, 混匀, 用蒸馏水定容至 10mL, 10000 g 25°C 离心 10min, 取上清液待测。
4. **血清(浆)等液体样本**: 直接取 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, 10000 g 25°C 离心 10min, 取上清液待测。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温，
2. **标准品溶液的配制：**使用前取一支加 1mL 蒸馏水，配置成 10mg/mL 标准品母液，2-8℃保存两周。把标准品母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0、0.1、0.2、0.4、0.8、1、1.6mg/mL。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
标准品浓度(mg/mL)	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1	1.6
10mg/mL 标准品(μL)	0	5	10	20	40	50	80
蒸馏水(μL)	500	495	490	480	460	450	420

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准管加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 540nm。
2. 样本测定 (在 EP 管中依次加入):

试剂名称(μ L)	标准管	测定管
不同浓度标准品	30	
样本		30
试剂三	30	30
混匀, 沸水浴 10min(推荐使用防爆夹, 防止爆盖)后, 冷却至室温		
蒸馏水	180	180
混匀, 取出 200 μ L 加入 96 孔中, 在 540nm 下测定 OD 值。		

实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$ 。

2. 按样本质量计算：

$$\text{总糖含量(mg/g)}=(\Delta A-b)\div a\times V_{\text{样总}}\div W\times N=10\times(\Delta A-b)\div a\div W\times N$$

3. 按照液体体积计算：

$$\text{总糖含量(mg/mL)}=(\Delta A-b)\div a\times V_{\text{提}}\div V_{\text{样}}\times N=10\times(\Delta A-b)\div a\times N$$

注：

y: 标准品 OD 值-空白管 OD 值
(标准品浓度为 0 的 OD 值)

x: 标准品浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

$V_{\text{提}}$: 液体或血清样本总体积, 1mL

ΔA : 测定管 OD 值-空白管 OD 值
(标准品浓度为 0 的 OD 值)

$V_{\text{样总}}$: 样本体积总体积, 10mL

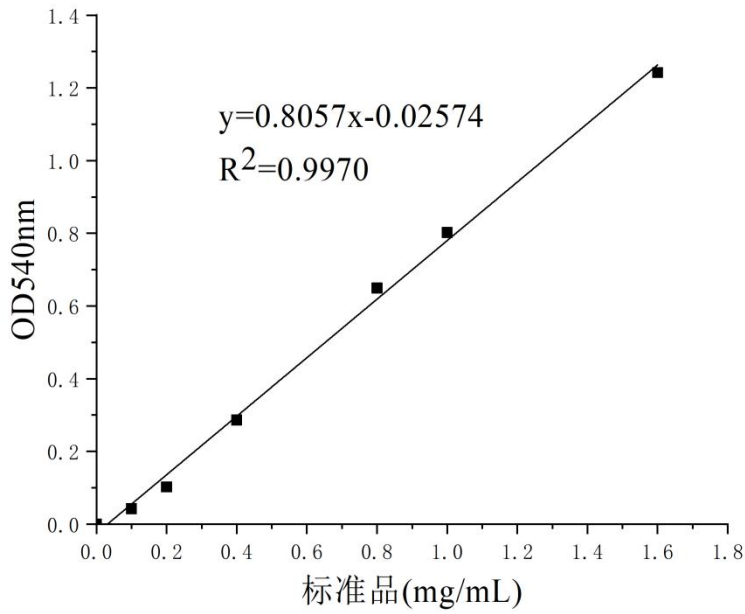
W: 样本质量, g

$V_{\text{样}}$: 液体或血清体积, 0.1mL

N: 样本稀释倍数

参考曲线:

$y=0.8057x-0.02574, R^2=0.9970$, x 是标准品的浓度 (mg/mL), y 是 ΔA 。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。