

食品（肉制品）中总糖含量检测试剂盒说明书

（货号：BP10313F 分光法 48 样 有效期：6 个月）

一、产品简介：

样本中的糖经热水提取后，用硫酸脱水生成糠醛或糠醛衍生物。生成物与苯酚反应缩合成橙黄色物质，该有色物质在 480nm 处有最大吸收，在一定范围内其吸光度值同糖的浓度呈正比，再利用标准曲线定量算出样本中总糖含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂 A	粉剂×2 瓶	4℃保存	每瓶： 1. 开盖前注意使粉剂落入底部（可手动甩一甩）； 2. 每瓶分别加 3mL 试剂 C 溶解备用，-20℃分装冻存。
试剂 B	液体×1 支	4℃避光保存	
试剂 C	液体×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×3 支	4℃保存	每支： 1. 临用前 8000g 4 ° C 离心 2min 使试剂落入管底（可手动甩一甩）； 2. 每支分别加 2mL 水溶解备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	1. 若重新做标曲，则用到该试剂； 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制； 3. 溶解后的标品一周内用完。

三、所需的仪器和用品：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、浓硫酸、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

建议：选取样本做几个梯度的稀释，选取适合本次实验的稀释倍数 D。

1、总糖上清液制备：

① 组织样本：

称取 0.1g 样本至 2mLEP 管中，加入 1mL 蒸馏水，研磨匀浆，于 95℃加热 30min（若放在金属浴上面可用重物压盖防止 EP 管崩开；间隔 10min 带防护手套轻轻晃动混匀几下），冷却后加水定容至 2mL，12000rpm 室温离心 10min，取上清液待测。

② 含淀粉的组织样本：

称取 0.1g 样本至 2mLEP 管中，加入 1mL 蒸馏水，研磨匀浆，于 95℃加热 30min（若放在金属浴上面可用重物压盖防止 EP 管崩开；间隔 10min 带防护手套轻轻晃动混匀几下），加热后冷却到 60℃，加 0.1mL 试剂 A 混匀，于 55℃水浴 1h，再加 20μL 试剂 B 混匀，观察颜色，若显蓝色，再加 0.1mL 试剂 A 混匀，再于 55℃水浴 1h；最后于 95℃加热 5min，冷却至室温后加水定容至 2mL，12000rpm 室温离心 10min，取上清液待测。

2、上机检测：

① 分光光度计预热 30min，设置温度在 25℃，蒸馏水调零，设定波长 480nm。

② 在 EP 管中依次加入：

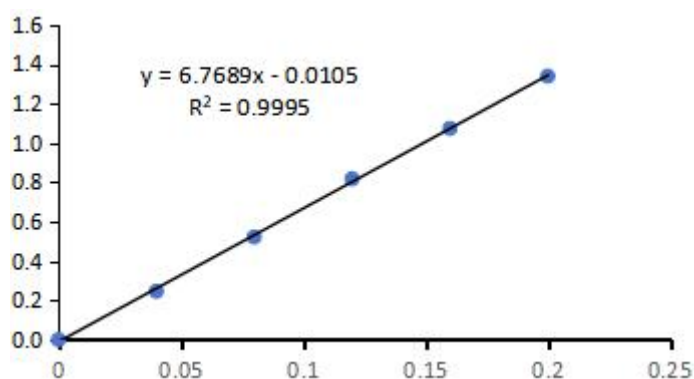
试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	100	
蒸馏水		100
试剂一	100	100
浓硫酸(务必缓慢加入)	500	500
混匀后，放入 95℃水浴 20min（封口膜缠紧，防止水分散失），自然冷却至室温，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 480 nm 处读取各管吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

【注】：1.如果 ΔA 大于 1，需要将样本上清液用蒸馏水稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数 D。

2.若 ΔA 值在零附近即低于 0.01，则可增加样本取样质量 W，则改变后的 W 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准方程为 $y = 6.7689x - 0.0105$ ；x 为标准品质量 (mg/mL)，y 为吸光值 ΔA 。



2、按样本重量计算：

$$\text{总糖(mg/g 重量)} = [(\Delta A + 0.0105) \div 6.7689 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D = 0.295 \times (\Delta A + 0.0105) \div W \times D$$

3、按质量分数 (%) 计算：

$$\begin{aligned} \text{总糖(\%重量)} &= [(\Delta A + 0.0105) \div 6.7689 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= [0.295 \times (\Delta A + 0.0105) \div W \times D]\% \end{aligned}$$

4、按照蛋白浓度计算：

$$\text{总糖(mg/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0105) \div 6.7689 \times V1] \div (Cpr \times V1 \div V) \times D = 0.295 \times (\Delta A + 0.0105) \div Cpr \times D$$

V---样品提取液总体积，2mL； V1---测定时待检液体积，0.1mL；

W---样本质量，g； D---自行稀释倍数，未稀释即为 1；

Cpr---蛋白浓度 (mg/mL)； 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

- 1 从标准品管中称量取出 2mg 至一新 EP 管中，再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即 1mg/mL 的葡萄糖（母液需在两天内用且-20℃保存）。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.2 mg/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。

- 2 标品稀释参照表如下：

吸取标准品母液 200uL，加入 800uL 蒸馏水，混匀得到 0.2mg/mL 的标品稀释液待用。						
标品浓度 mg/mL	0	0.04	0.08	0.12	0.16	0.2
标品稀释液 uL	0	40	80	120	160	200
水 uL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

- 3 依据测定管加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	100	
蒸馏水		100
试剂一	100	100
浓硫酸(务必缓慢加入)	500	500
混匀后，放入 95℃水浴 20min（封口膜缠紧，防止水分散失），自然冷却至室温，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 480 nm 处读取各管吸光值 A， $\Delta A = A_{测定} - A_{0 浓度管}$ 。		