

总多糖含量测试盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号：BP10492W

有效期：6个月

规格：48T(39S)/96T(87S)

保存温度：2-8℃

实验原理：

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。利用水提醇沉法提取总多糖，苯酚-硫酸法测定总多糖含量。

检测范围：0.001-0.2mg/mL 灵敏度：0.001mg/mL

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。

产品组成:

试剂名称	规格 (48T/39S)	规格 (96T/87S)	保存条件
试剂一	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶	2-8°C, 避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、96 孔板、可调式移液器、蒸馏水、无水乙醇、浓硫酸、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：0.001-0.2mg/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**：样本烘干粉碎，称取约 0.05g 样本（若是鲜样则可取 0.05g 或 0.1g 水份足的样本），加入 1mL 蒸馏水，充分匀浆。100°C 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°C 静置过夜，10000g 离心 10min 弃上清，沉淀中加入 1mL 蒸馏水，充分混匀溶解沉淀后待测。
4. **血清（浆）等液体样本**：取 0.2mL 样本，慢慢加入 0.8mL 无水乙醇，混匀后 4°C 静置过夜，10000g 离心 10min，弃上清，沉淀中加入 1mL 蒸馏水，充分混匀溶解沉淀后待测。

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**：取一支标准品加入 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°C保存）。标准品母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0、0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1、0.16、0.2mg/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	⑧	⑨
标准品浓度 (mg/mL)	0	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.16	0.2
1mg/mL 标 准品 (μL)	0	10	20	40	60	80	100	160	200
蒸馏水 (μL)	1000	990	980	960	940	920	900	840	800

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 490nm。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入）：

试剂名称(μL)	标准管	测定管
不同浓度标准品	100	
样本		100
试剂一	50	50
浓硫酸(务必缓慢加入)	250	250

混匀后 90°C 水浴 20min（推荐使用防爆夹，防止爆盖），流水冷却。取 200 μL 加入 96T 孔中，在 490nm 波长处读取吸光值。

注:

1. 如果 ΔA 大于 1.2，需要将多糖待检液用蒸馏水稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数 N。
2. ΔA 值在零附近即低于 0.005，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。

实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$ 。

2. 按照液体体积计算：

$$\text{总多糖含量 (mg/mL)} = (\Delta A - b) \div a \times V_{\text{溶}} \div V_{\text{醇}} \times N = 5 \times (\Delta A - b) \div a \times N$$

3. 按照样本质量计算：

$$\text{总多糖含量 (mg/g 鲜重)} = (\Delta A - b) \div a \times V_{\text{溶}} \div V_{\text{醇}} \times V_{\text{提取}} \div W \times N = 5 \times (\Delta A - b) \div a \div W \times N$$

注：

y: 标准品 OD 值-空白管 OD 值
(标准品浓度为 0 时的标准品)

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

a: 标曲的斜率

$V_{\text{溶}}$: 醇沉后重新溶解后的体积, 1mL;

b: 标曲的截距

$V_{\text{醇}}$: 进行醇沉的体积, 0.2mL;

x: 标准品浓度

$V_{\text{提取}}$, 提取时加入水的体积, 1mL

N: 样本稀释倍数

W: 样本鲜重, g

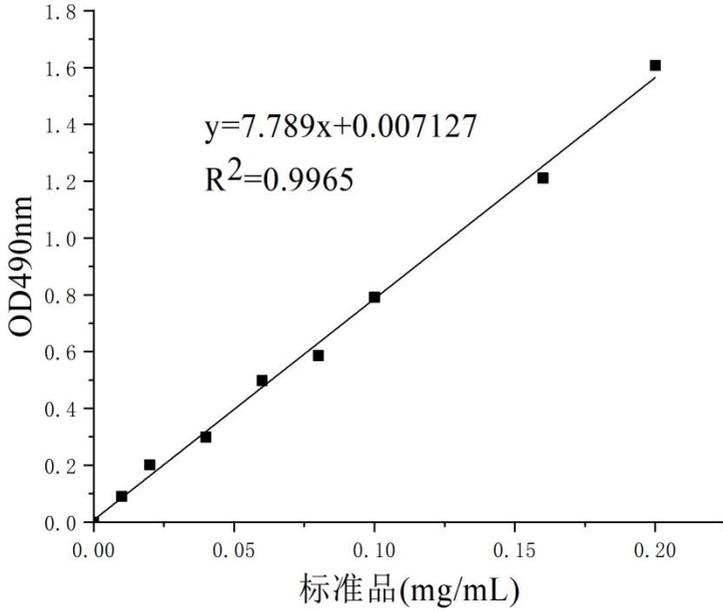
参考样本数据：

以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
绿萝 (5%匀浆)	不稀释	1.506mg/g
菠菜 (5%匀浆)	不稀释	5.154mg/g
香蕉 (5%匀浆)	5 倍稀释	21.362mg/g

参考曲线:

$y=7.789x+0.007127, R^2=0.9965$, 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。