

食品（肉制品）中总糖含量检测试剂盒说明书

（货号：ADS-W-TDX065 微板法 96 样）

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°C保存	临用前甩几下使试剂落入底部，每瓶分别加 6mL 试剂 C 溶解备用，-20°C分装冻存。
试剂 B	液体×1 瓶	4°C保存	
试剂 C	液体×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉剂×3 支	4°C保存	临用前甩几下使试剂落入底部，每支分别加 2mL 水溶解备用。
标准品	粉剂×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、水浴锅/金属浴、可调式移液器、浓硫酸（不允许快递）、研钵。

四、食品（肉制品）中总糖含量的测定：

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°C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°C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°C，加 0.1mL 试剂 A 混匀，于 55°C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°C水浴 1h；最后于 95°C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 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 480nm，调节水浴锅或金属浴至 95-100°C。

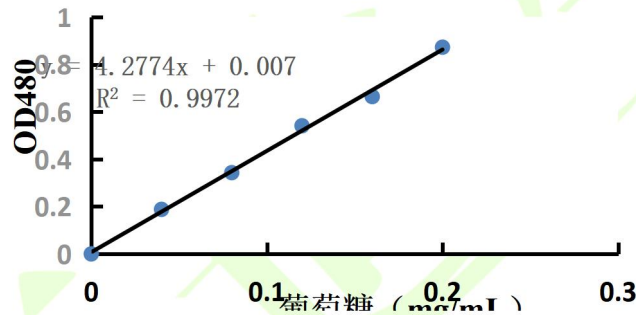
② 在 EP 管中依次加入：

试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	50	
蒸馏水		50
试剂一	50	50
浓硫酸(务必缓慢加入)	250	250
混匀后，放入 95°C 水浴 20min（封口膜缠紧，防止水分散失），冷却至室温后，取 200μL 转移至 96 孔板中，于 480nm 读取吸光值 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 $y = 4.2774x + 0.007$ ；x 为标准品质量 (mg/mL)，y 为吸光值 ΔA 。



2、按样本重量计算：

$$\text{总糖(mg/g 重量)} = [(\Delta A - 0.007) \div 4.2774 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D = 0.468 \times (\Delta A - 0.007) \div W \times D$$

3、按质量分数 (%) 计算：

$$\begin{aligned} \text{总糖(\%重量)} &= [(\Delta A - 0.007) \div 4.2774 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= [0.0468 \times (\Delta A - 0.007) \div W \times D]\% \end{aligned}$$

V---样品提取液总体积，2mL；

V1---测定时待检液体积，0.05mL；

W---样本质量，g；

D---自行稀释倍数，未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液 (1mg/mL)：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°C保存）。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.2. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。