

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 有效期：6 个月)

一、指标介绍：

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：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
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 6mL 试剂 C 溶解备用，-20℃分装冻存。
试剂 B	液体×1 瓶	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℃ 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、实验器材：

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）、96 孔板、离心管、酶标仪、**浓硫酸**（不允许快递）、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、食品（肉制品）中总糖含量的测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

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、检测步骤:

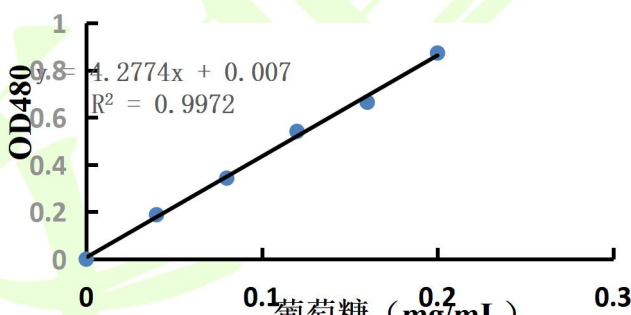
- ① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 480nm, 调节水浴锅或金属浴至 95-100℃。
- ② 在 EP 管中依次加入:

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℃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:

$$\begin{aligned} \text{总糖(\%重量)} &= [(\Delta A - 0.007) \div 4.2774 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= [0.468 \times (\Delta A - 0.007) \div W \times D]\% \end{aligned}$$

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℃ 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。