

食品（肉制品）中总糖含量检测试剂盒说明书

（货号：BN72447 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℃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℃分装冻存。
试剂 B	液体×1 瓶	4℃保存	
试剂 C	液体×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂×1 支	4℃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℃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：

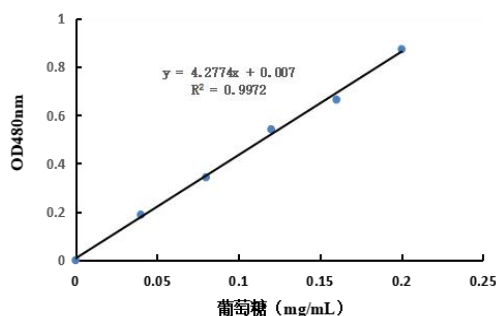
① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 480nm，调节水浴锅或金属浴至 95-100℃。

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°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, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

五、结果计算:

1、标准方程为 $y = 4.2774x + 0.007$; x 为标准品浓度 (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°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 以上面不同浓度点为横坐标 (x), 对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y) 绘制标准曲线, 得到线性回归方程 $y = kx + b$, 将 ΔA 测定带入公式中计算 x (mg/mL)。