

植物可溶性糖含量试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

注 意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

糖类物质是构成植物体的重要组成成分之一，也是新陈代谢的主要原料和贮存物质。可溶性糖是指样品中的还原单糖及在本法测定条件下能水解成还原单糖的蔗糖、麦芽糖和可部分水解为葡萄糖的淀粉。

测定原理：

蒽酮比色法。可用于可溶性单糖、寡糖和多糖的含量测定，具有灵敏度高、简便快捷、适用于微量样品的测定等优点。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、沸水浴、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、浓硫酸（不允许快递）研钵、和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

试剂一：粉剂×1 瓶，4℃避光保存；

试剂二：10mL×1 瓶，4℃保存；

样品中可溶性糖的提取：

称取 0.1~0.2g 样本，加入 1mL 蒸馏水研磨成匀浆，倒入有盖离心管中，95℃水浴 10min（盖紧，以防止水分散失），冷却后，8000g，25℃离心 10min，取上清液于 10ml 试管中，用蒸馏水定容至 10mL，摇匀备用。

测定步骤：

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 620nm，蒸馏水调零。
- 2、调节水浴锅至 95 度。
- 3、工作液的配制：在试剂一中加入 2.5mL 试剂二。充分溶解后使用，如较难溶解，可加热搅拌；用不完的试剂 4℃保存一周；
- 4、加样表（在 EP 管中反应）：

试剂 (μL)	空白管	测定管
样本		40
蒸馏水	80	40
工作液	20	20
浓硫酸	200	200

混匀，置 95 度水浴中 10min（盖紧，以防止水分散失），冷却至室温后，取 200 uL 转移至微量石英比色皿或 96 孔板中，于 620nm 处，分别读取空白管和测定管吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

注意：1、空白管只要做一管。

- 2、如果 ΔA 大于 1，需要将样本用蒸馏水稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数。
- 3、由于浓硫酸具有强腐蚀性，请谨慎操作。

可溶性糖含量计算：

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、标准条件下测定的回归方程为 $y = 8.55x - 0.07$ ；x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为吸光值。

2、按样本鲜重计算：

$$\text{可溶性糖 (mg /g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.07) \div 8.55 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 1.17 \times (\Delta A + 0.07) \div W。$$

3、按样本蛋白浓度计算：

$$\text{可溶性糖 (mg /mg prot)} = [(\Delta A + 0.07) \div 8.55 \times V1] \div (V1 \times Cpr) = 0.117 \times (\Delta A + 0.07) \div Cpr。$$

V1: 加入样本体积, 0.04mL; V2: 加入提取液体积, 10mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g。

b.用 96 孔板测定的计算公式如下

1、标准条件下测定的回归方程为 $y = 4.275x - 0.07$ ；x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为吸光值。

2、按样本鲜重计算：

$$\text{可溶性糖 (mg /g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.07) \div 4.275 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 2.34 \times (\Delta A + 0.07) \div W。$$

3、按样本蛋白浓度计算：

$$\text{可溶性糖 (mg /mg prot)} = [(\Delta A + 0.07) \div 4.275 \times V1] \div (V1 \times Cpr) = 0.234 \times (\Delta A + 0.07) \div Cpr。$$

V1: 加入样本体积, 0.04mL; V2: 加入提取液体积, 10mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g。

注意：最低检测限为 1mg/g 鲜重或 10ng/ mg prot