

# 植物可溶性糖检测试剂盒

(货号: BC095 规格: 50T/48 样 蒽酮比色法)

## 一、试剂组成与配制: (试剂盒有效期 3 个月)

**试剂一:** 粉剂×1 瓶, 4°C避光保存;

**试剂二:** 液体×1 瓶, 4°C密封保存;

**底物液的配制:** 在试剂一粉剂中加入5mL试剂二, 充分溶解, 如较难溶解, 可微热搅拌或者摇晃, 溶解后待用; 配好的底物液4°C避光可保存一周。

**试剂三: 1mg/mL标准品贮备液** 0.3mL×1 支, 4°C保存;

**标准品稀释液** 10mL×1 支, 4°C保存; 临用时取**1mg/mL标准品贮备液**0.1mL, 加入0.9mL的**标准品稀释液**(即**标准品贮备液: 标准品稀释液=1:9**), 混匀, 制备成100μg/mL的标准品应用液。

**试剂四:** 浓硫酸 (60mL-100mL) (分析纯) 自备。

## 二、所需仪器及试剂:

可见光分光光度计及 1cm 光径(4mm 内径)比色皿, 涡旋混匀器、95-100°C水浴锅, 试管或离心管, 蒸馏水, 浓硫酸(分析纯), 秒表, 各种规格移液器。

## 三、操作步骤:

**1、可溶性糖的提取:** 称取待测样本0.1~0.2g (新鲜植物叶片, 擦干表面污物, 剪碎混匀), 按照待测样本质量 (g) : 蒸馏水 (mL) =1:10比例加入蒸馏水, 用匀浆器研磨成匀浆液, 倒入有盖离心管中, 沸水浴10min (盖紧, 管盖上扎一小孔, 以平衡气压和减少水分散失), 冷却后, 4000转/分钟, 常温离心10min, 取上清液用蒸馏水10倍稀释, 摇匀制备样本上清液备用。(通过蛋白浓度校正计算结果需另外订购蛋白定量试剂盒, 本公司有售)

### 2、操作表:

试剂	空白管	标准管	测定管
蒸馏水 (μL)	200		
100μg/mL标准品应用液 (μL)		200	
样本上清液 (μL)			200
底物液 (μL)	100	100	100
浓硫酸 (μL)	1000	1000	1000

充分混匀, 置沸水浴 (95~100°C) 中反应10min (水浴时需盖紧管盖或封口, 管盖或封口膜上扎一小孔, 以减少水分散失及平衡气压), 取出流水冷却后再次混匀, 波长620nm, 1cm光径4mm内径比色皿, 蒸馏水调零, 测定各管吸光度值A ( $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ )。

**注:** 1、空白管、标准管一般只要各做1-2管; 1cm光径4mm内径比色皿或0.5cm光径比色皿本公司有售。

2、正式试验前需先做预实验, 若待测样本上清液 $\Delta A$ 值 ( $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ) 大于1, 需要将样本用蒸馏水稀释后测定, 计算时乘以相应的稀释倍数。

3、由于浓硫酸具有强腐蚀性，请谨慎操作；测定采用硬质塑料离心管或者玻璃试管，若采用玻璃试管可用塑料薄膜封住试管口，并在薄膜上扎一小孔维持气压并减少反应液挥发。

#### 四、计算公式：

##### 1、标准品校正计算方法：

$$\text{可溶性糖含量} \begin{matrix} (\mu\text{g/g湿重}) \end{matrix} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \times C_{\text{标准}} \div \frac{W}{V_{\text{提}}} \times N$$

注：W 为组织鲜重,g;V<sub>提</sub>为加入的提取液(蒸馏水)的总体积,mL;N 为样本测试前稀释倍数。

##### 2、标准曲线拟合计算方法：(标准曲线制作方法见附录 I)

(1)、将ΔA带入标准条件下测定的回归方程，求得含糖量。

(2)、按样本鲜重计算：

$$\text{可溶性糖含量} \begin{matrix} (\mu\text{g/g湿重}) \end{matrix} = \frac{\text{从标准曲线计算得糖含量} \times V_{\text{样}} \times N}{W}$$

注：V<sub>样</sub>为加入样本体积，0.2mL；W 为样本鲜重，g；N 为样本测试前稀释倍数。

#### 五、计算举例：

取植物叶片组织 0.1g，按照待测样本质量 (g)：蒸馏水 (mL) =1:10 比例加入蒸馏水，用匀浆器研磨成匀浆液，倒入有盖离心管中，沸水浴 10min (盖紧，管盖上扎一小孔，以平衡气压和减少水分散失)，冷却后，4000 转/分钟，常温离心 10min；同时取部分上清液用蒸馏水 10 倍稀释，摇匀制备样本上清液测定数据如下：空白管吸光度值为 0.039、标准管吸光度值为 0.530、测定管吸光度值为 0.651。测计算结果：

$$\begin{aligned} \text{可溶性糖含量} \begin{matrix} (\mu\text{g/g湿重}) \end{matrix} &= \frac{(0.651 - 0.039)}{(0.531 - 0.039)} \times 100 \div \frac{0.1}{1} \times 10 \\ &= 12439.05\mu\text{g/g湿重} = 12.439\text{mg/g湿重} \end{aligned}$$

#### 六、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。不同栽培条件，不同成熟度都可以影响水果、蔬菜中糖类的含量。因此对水果、蔬菜中可溶性糖的测定，可以了解和鉴定水果、蔬菜品质的高低。总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。

#### 七、测定原理：

糖 (sugar) 在浓硫酸作用下，可经脱水反应生成糖醛或羟甲基糖醛，生成的糖醛或羟甲基糖醛可与蒽酮反应生成蓝绿色糠醛衍生物，在一定范围内，颜色的深浅与糖的含量成正比，故可用于糖的定量。糖类与蒽酮反应生成的有色物质，在可见光区的吸收峰为 620nm，可在此波长下进行比色。本试剂盒采用的蒽酮比色法，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。

## 附录 I：可溶性糖标准曲线

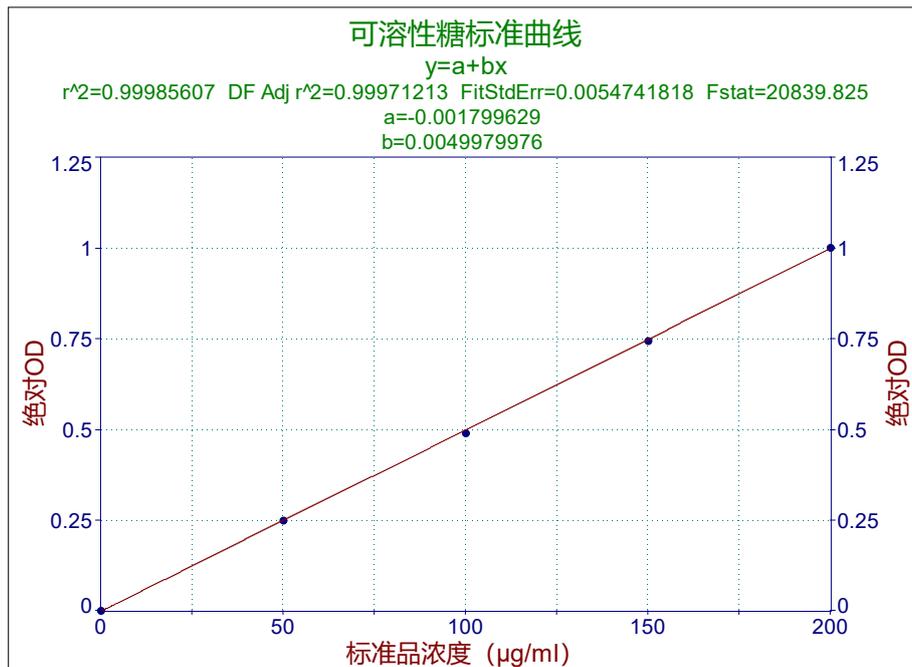
一、标准曲线制备：(先将 1mg/mL 标准品贮备液用蒸馏水 1: 4 稀释成 200 $\mu$ g/mL 标准应用液后，再按下表操作)

稀释管	S1	S2	S3	S4	S5
200 $\mu$ g/mL 标准应用液	0 $\mu$ L	50 $\mu$ L	100 $\mu$ L	150 $\mu$ L	200 $\mu$ L
双蒸水	200 $\mu$ L	150 $\mu$ L	100 $\mu$ L	50 $\mu$ L	0 $\mu$ L
底物液	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L
浓硫酸	1000 $\mu$ L	1000 $\mu$ L	1000 $\mu$ L	1000 $\mu$ L	1000 $\mu$ L
混匀，置沸水浴 (95 ~ 100 $^{\circ}$ C) 中 10min (盖紧，管盖上扎一小孔，以减少水分散失)，流水冷却后再次混匀，620nm 波长，1cm 光径比色皿，蒸馏水调零后测定各管吸光度值。					
相当于含糖量	0 $\mu$ g/mL	50 $\mu$ g/mL	100 $\mu$ g/mL	150 $\mu$ g/mL	200 $\mu$ g/mL

二、测定结果(附参考标准曲线):

标准品管	相当于含糖量 ( $\mu$ g/mL)	测定吸光度值	绝对吸光度值
S1	0	0.032	0.000
S2	50	0.283	0.251
S3	100	0.524	0.492
S4	150	0.776	0.744
S5	200	1.035	1.003

以绝对吸光值为纵坐标，以含糖量为横坐标，绘制标准曲线，并求出标准线性方程。标准条件下测定的回归方程为  $y = a + bx$ ， $x$  为标准品浓度 ( $\mu$ g/mL)， $y$  为绝对吸光值。



[注]: 为方便计算, 以绝对吸光值为横坐标, 含糖量为纵坐标, 求出标准线性方程。标准条件下测定的回归方程为  $y=a+bx$ , X 为绝对吸光值, y 为标准品浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )。

