硫代葡萄糖苷（Glucosinolates）试剂盒说明书

微量法 100T/48S

注意： 正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义

硫代葡萄糖苷（Glucosinolates），简称硫苷， 是十字花科蔬菜中的一种重要的次生代谢产物，根据侧链基团的不同，可以把硫苷分为脂肪族、芳香族和吲哚族三大类。

测定原理

硫葡糖苷酶催化硫代葡萄糖苷反应产生葡萄糖。 葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化成葡萄糖酸，并产生过氧化氢；过氧化物酶催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚，生成有色化合物，在 505 nm有特征吸收峰。

自备实验用品及仪器

天平、研钵、离心机、酶标仪、96 孔板、恒温水浴锅、蒸馏水。

试剂组成和配制

试剂一：粉剂×1 瓶，-20℃保存，临用前加入 0.6mL 试剂二溶解待用，用不完的试剂分装后-20℃保存；

试剂二：液体 5mL×1 瓶，4℃保存；

试剂三：液体 8mL×1 瓶， 4℃避光保存；

试剂四：液体 8mL×1 瓶， 4℃避光保存。

样本处理

样本烘干粉碎， 过 100 目筛。称 0.1g 样本， 加入 1mL 蒸馏水， 100℃水浴提取 60min。冷却至室温，10000g 4℃离心 10min，取上清待测。

测定操作

在 96 孔板中加入如下试剂

	对照管	测定管
样品（μL）	50	50
试剂一（μL）		10
试剂二（μL）	10	
充分混匀， 37℃反应 120min		
试剂三（μL）	70	70
试剂四（μL）	70	70
充分混匀，37℃反应 30min，测定 505nm 处吸光值，记为 A 对照和 A 测定，△A=A 测定-A 对照。		

计算公式

标准曲线： $y = 0.9345x + 0.0043$，$R^2 = 0.9999$；x 为标准品浓度： μmol/mL；y 为吸光度△A。

硫代葡萄糖苷含量(μmol/g 鲜重）=（△A -0.0043）÷ 0.9345×V 样÷(V 样÷V 样总×W)

=1.07×（△A -0.0043）÷ W

V 样， 加入样本上清体积， 0.05mL；V 样总： 加入提取液体积， 1mL；W：样本质量， g。