北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

植物可溶性糖含量检测试剂盒说明书

微量法

货号：D17083

规格：100T/96S

产品内容：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×2 支	2-8℃保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

1、 标准品：含 10 mg 无水葡萄糖（干燥失重<0.2%），临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解，配制成 10 mg/mL 葡萄糖溶液备用，2-8℃保存 2 周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间。

2、 工作液的配制：在一支试剂一中加入 1.5 mL 试剂二，充分溶解后使用，如难溶解，可振荡溶解（用不完的试剂可 2-8℃保存 1 周）。

产品简介：

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。

检测原理为蒽酮比色法。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、适用于微量样本的测定等优点。

$$\text{Plant Soluble Sugar+ } H_2SO_4 \longrightarrow \text{Furfural+5-Hydroxymethylfurfural}$$

$$\text{Furfural+5-Hydroxymethylfurfural + Anthrone} \longrightarrow \text{Furfural Derivatives（620nm）}$$

技术指标：

最低检出限：0.0025 mg/mL

线性范围：0.003125-0.4 mg/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、浓硫酸、研钵/匀浆器和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

称取约 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，沸水浴 10min（盖紧，以防止水分散失），冷却后，8000g，常温离心 10min，取上清液于 10mL 试管中，用蒸馏水定容至 10mL，摇匀备用。

二、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，分光光度计蒸馏水调零。

2、调节水浴锅至 95℃。

3、标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至 0.3、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 mg/mL。

4、标准溶液稀释表：

序号	稀释前浓度（mg/mL）	标准液体积（μL）	蒸馏水体积（μL）	稀释后浓度（mg/mL）
1	10	100	900	1
2	1	60	140	0.3
3	1	80	320	0.2
4	0.2	200	200	0.1
5	0.1	200	200	0.05
6	0.05	200	200	0.025
7	0.025	200	200	0.0125

实验中每个标准管需 40μL 标准溶液。

4、加样表（在 EP 管中反应）：

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

混匀，置 95℃水浴中 10min（盖紧，以防止水分散失），冷却至室温后，取 200μL 转移至微量比色皿或 96 孔板中，于 620nm 处测定吸光值，分别记为 A 空白管、A 测定管、A 标准管，并计算 ΔA=A 测定管-A 空白管、ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。（空白管和标曲只要做 1-2 管）

三、可溶性糖含量计算

1、标准曲线的建立：

根据标准管的浓度（x，mg/mL）和吸光度 ΔA 标准（y，ΔA 标准），建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA（y，ΔA）带入公式计算样本浓度（x，mg/mL）。

2、按样本质量计算：

可溶性糖（mg/g 质量）=(x×V1)÷（W×V1÷V2）=10×x÷W

3、按样本蛋白浓度计算：

可溶性糖（mg/mg prot）= (x×V1)÷（V1×Cpr）=x÷Cpr

V1：加入样本体积，0.04mL；V2：样本总体积，10mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

注意事项：

1. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。
2. 由于浓硫酸具有强腐蚀性，请谨慎操作。

相关发表文献：

[1] Li B, Ding Y, Tang X, et al. Effect of L-Arginine on Maintaining Storage Quality of the White Button Mushroom (Agaricus bisporus)[J]. Food and Bioprocess Technology, 2019, 12(4): 563-574.

[2] Zeyong Zhang,Huanhuan Liu,Ce Sun,et al. A C2H2 zinc-finger protein OsZFP213 interacts with OsMAPK3 to enhance salt tolerance in rice. Journal of Plant Physiology. October 2018;(IF2.825)