**植物可溶性糖含量测定试剂盒说明书（货号：PYB2060,规格：100T）**

1. **实验原理：**

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。

Plant Soluble Sugar+H2SO4 Furfural+5-Hydroxymethylfurfural

植物可溶性糖+硫酸 糠醛+5-羟甲基糠醛

Furfural+5-Hydroxymethylfurfural+Anthrone Furfural Derivatives(620nm)

糠醛+5-羟甲基糠醛+蒽酮 糠醛衍生物

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。

1. **试剂组份**：

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

1、标准品：含10mg无水葡萄糖（干燥失重<0.2%），临用前加入1mL蒸馏水溶解，配制成10mg/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1.5mL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）。

1. **使用步骤：**

1、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。

2、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、0.0125mg/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）

3、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÷W3、按样本蛋白浓度计算：

可溶性糖（mg/mgprot）=(x×V1)÷（V1×Cpr）=x÷CprV1：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。

**四、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。

参考文献：

[1]Buysse J A N, Merckx R. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue[J]. Journal of Experimental Botany, 1993, 44(10): 1627-1629.

[2]Bodelón O G, Blanch M, Sanchez-Ballesta M T, et al. The effects of high CO2 levels on anthocyanin composition, antioxidant.