

## 植物蔗糖酶(sucrase)检测试剂盒说明书

(货号：ADS-F-ZT014 分光法 48 样)

有效期：3 个月

### 测定意义：

蔗糖酶（EC 3.2.1.26）是碳水化合物消化吸收的关键酶之一，能够水解蔗糖变成相应的单糖而被机体吸收。

### 测定原理：

本试剂盒采用 3,5-二硝基水杨酸法测定蔗糖酶催化产生的还原糖的含量，由此可得出蔗糖酶水解速度。其原理是 3,5-二硝基水杨酸与还原糖共热被还原成棕红色的氨基化合物，在一定范围内还原糖的量和反应液的颜色深度成正比。此法操作简便、迅速、杂质干扰较小。

### 所需的仪器和用品：

可见分光光度计、沸水浴、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

### 试剂的组成和配制：

提取液：液体 60mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂一：液体 5mL × 1 瓶，4℃ 保存；

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃ 保存，用时每瓶加入 5mL 蒸馏水充分溶解，现配先用；

试剂三：液体 5mL×1 瓶，常温避光保存；

### 样品测定的准备：

称取约 0.1g 组织加入 1mL 提取液，冰浴中匀浆。8000g，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

### 加样表和测定步骤：

试剂名称 (μL)	对照管	测定管
试剂一	50	50
蒸馏水	100	
样本		100
试剂二	50	50
置于 25℃ 准确水浴 10min		
试剂三	100	100
混匀，100℃ 水浴 5min 左右（盖紧，防止水分散失），冷却至室温		
蒸馏水	700	700

混匀，用对照管调零，测定 520nm 吸光值

### 蔗糖酶活力计算：

标准条件下测定的回归方程为  $y = 0.1296x - 0.1201$ ；x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为吸光值。

#### 1、按照蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

蔗糖酶活力 (μg /mg prot) =  $1000 \times (\Delta A + 0.1201) \div 0.1296 \div T \div Cpr = 772 \times (\Delta A + 0.1201) \div Cpr$ 。

#### 2、按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化产生 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

蔗糖酶活(μg /g 鲜重) =  $1000 \times (\Delta A + 0.1201) \div 0.1296 \div T \div (W \div V \text{ 样总}) = 772 \times (\Delta A + 0.1201) \div W$ 。

T：反应时间，10min；V 样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；

W：样本鲜重，g；1000：1mg/mL=1000 μg/ml。