

## 植物可溶性糖检测试剂盒(苯酚比色法)

### 产品简介

植物体内的可溶性糖主要是指能溶于水及乙醇的单糖和寡聚糖，植物体内的碳素营养状况以及农产品的品质、性状，常以糖含量作为重要指标，植物为了适应逆境条件如干旱、低温等条件会主动积累一些可溶性糖，降低渗透势和冰点，以适应外界环境条件的变化，测定植物体内可溶性糖的方法有：蒽酮比色法、3,5-二硝基水杨酸比色法、苯酚比色法、斐林试剂比色法等化学方法。

植物可溶性糖检测试剂盒(苯酚比色法)检测原理是还原糖在浓硫酸作用下，可经脱水反应生成糖醛或羟甲基糠醛，生成物可与苯酚反应生成橙红色化合物，在一定范围内颜色的深浅与还原糖的含量成正比，在 485nm 处有最大吸收峰。本法可以测定甲基化糖、戊糖(木糖、核糖、阿拉伯糖)、和多聚糖的测定，方法简单、试剂便宜、灵敏度高，实验时基本不受蛋白质存在的影响，并且产生的颜色可稳定 160min 以上。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成

名称 \ 编号	ADS166TC0	Storage
	50T	
试剂(A): 蔗糖标准溶液(10mg/ml)	1ml	4°C
试剂(B): 苯酚溶液(10×)	6ml	RT 避光
使用说明书	1 份	

### 自备材料

- 1、蒸馏水、浓硫酸
- 2、电子天平、剪刀、研钵或匀浆器、水浴锅或电磁炉、分光光度计、比色杯
- 3、50ml 烧杯或三角瓶、容量瓶、20ml 刻度试管或 10ml 螺旋盖离心管

### 操作步骤(仅供参考)

- 1、可溶性糖的提取：
  - ①称取新鲜的植物样品(干样品亦可)0.5~1g，剪碎，加入蒸馏水约 3ml 匀浆，转移至刻度试管中，用 12ml 蒸馏水冲洗研磨器 2~3 次，洗出液也转移至该容器。
  - ②塑料薄膜封口，于沸水浴中提取 30min，待冷却后过滤，将滤液转入 50ml 容量瓶。
  - ③收集残渣再次匀浆、加水提取、合并滤液，定容。
- 2、配制苯酚工作液：取 1 份苯酚溶液(10×)，再加入 9 份蒸馏水，混匀即可，现用现配。
- 3、稀释蔗糖标准：取 1ml 蔗糖标准溶液(10mg/ml)加入 100ml 容量瓶中，用蒸馏水定容

至刻度，即为蔗糖标准(100ug/ml)；取干净离心管或试管，按下表操作，依次获得系列质量的蔗糖标准。

加入物质(ml)	1	2	3	4	5
蔗糖标准(100ug/ml)	0.2	0.4	0.6	0.8	1
蒸馏水	1.8	1.6	1.4	1.2	1
<b>相当于蔗糖质量(ug)</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>
<b>蔗糖标准浓度(ug/ml)</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>40</b>	<b>50</b>

4、加样：取 10ml 螺旋盖离心管，按照下表设置空白管、标准管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡，小心混匀；如果样品中的糖浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2~3 平行管，求平均值(各种试剂的加入量可以等比例的缩小，但应保证最小的所需量)。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	2	—	—
系列蔗糖标准(1~5 号)	—	2	—
提取液	—	—	2
苯酚工作液	1	1	1
浓硫酸 <sup>[注意事项 3-5]</sup>	5	5	5

5、可溶性糖测定：加入浓硫酸后充分振荡，室温下反应 30min。以空白管调零，比色杯光径 1cm，分光光度计测定 485nm 处标准管、测定管的吸光度。

## 计算

以系列蔗糖标准(1~5 号)的质量(ug)为横坐标，以相应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线并求出线性回归方程，根据测定管的吸光度计算出相应的可溶性糖的质量及含量；亦可根据蔗糖标准浓度(ug/ml)与吸光度值绘制标准曲线，并求出样品的可溶性糖浓度。可溶性糖的含量，以质量分数(%)表示：

$$\begin{aligned} \text{可溶性糖含量(\%)} &= (m_1 \times V_T \times N) / (m_0 \times V_S \times 1000000) \times 100\% \\ &= (c \times V_T \times N) / (m_0 \times 1000000) \times 100\% \end{aligned}$$

式中： $m_1$  = 从标准曲线查得的可溶性糖的质量(ug)

$V_T$  = 提取液的总体积(ml)

$N$  = 样品提取液的稀释倍数

$m_0$  = 植物样品的质量(g)

$V_S$  = 测定时所取样品提取液体积(ml) = 2

$c$  = 样品的可溶性糖浓度(ug/ml)

1000000：为 ug 与 g 的换算系数

## 注意事项

- 1、实验前建议选择 2~3 个预期差异大的样本做预实验，如果样本吸光值不在建议测量范围内应稀释或者增加样本量进行检测。
- 2、如果样品可溶性糖浓度过高，应用蒸馏水稀释，糖的浓度在 10~50ug/ml 时线性梯度良好，最低检出限为 1ug/ml，并且产生的颜色可稳定 160min 以上。
- 3、浓硫酸(相对密度 1.84)有强氧化性、强腐蚀性，危险性极大，操作应十分小心。
- 4、加浓硫酸时应缓慢加入，以免产生大量热量而爆沸，灼伤皮肤和衣服，如出现此类现象，应迅速用自来水冲洗，如有必要应及时就医。
- 5、浓硫酸的纯度、滴加方式和速度，如直接加在液面还是慢加等，都会对实验结果产生影响。因此，操作方式一定要一致才能获得较好的重现性。一般建议加浓硫酸时应从管液正面在 5~20s 内加完，并摇匀。
- 6、如果样品中葡萄糖含量较多时，显色时间可相应延长至 45min。
- 7、样品中可溶性糖含量的测定过程和时间必须与标准曲线的时间一致。
- 8、苯酚溶液在低温条件下可能会结晶，应在 45~70°C 水浴或温箱中充分溶解后使用。
- 9、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**12 个月；低温运输，按要求保存。

**附录 1：**标准曲线制作：按说明书操作，通过分光光度计 485nm 对系列标准进行吸光度的测定，其数值及标准曲线如下(仅供参考)：

蔗糖标准(ug/ml)	0	10	20	30	40	50
吸光度	0.266	0.462	0.635	0.802	0.961	1.122

由结果可知，蔗糖标准在 10~50ug/ml 以内线性梯度良好，蔗糖浓度超过 50ug/ml 时偏差较大。

植物可溶性糖检测试剂盒(苯酚比色法)



