

硫代葡萄糖苷（Glucosinolates）试剂盒

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：

硫葡萄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

	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°C 反应 120min		
试剂三 (μL)	70	70
试剂四 (μL)	70	70
充分混匀, 37°C 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) = $(A - 0.0043) \div 0.9345 \times V_{样} \div (V_{样} \div V_{样总} \times W)$

$$= 1.07 \times (A - 0.0043) \div W$$

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。