

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0790

Size: 50T/24S

## 蔗糖酶检测试剂盒说明书

### 可见分光光度法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、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。

#### 二、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。

#### 三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、恒温水浴锅、可调式移液器、玻璃比色皿、冰和蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 30mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 4mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂二	粉剂 × 1 支	4°C 保存	用时加入 2.5mL 蒸馏水充分溶解；用不完的试剂 4°C 可保存一周；
试剂三	液体 7mL × 1 瓶	常温保存	
标准品	粉剂 × 1 支	4°C 保存	用时加入 1mL 蒸馏水充分溶解，制备 10mg/mL 葡萄糖标准溶液待用；用不完的试剂 4°C 保存一周。

## 五、操作步骤：

### ● 样品测定的准备：

1. 样品的准备：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1:5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液)，进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2. 标准品的制备：将标准品用蒸馏水稀释至 3、2、1.5、1、0.5、0.25、0mg/mL (0mg/mL 为空白管) 绘制标准曲线。

### ● 加样表和测定步骤：

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

混匀，540nm 蒸馏水调零，测定各管吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ，每个测定管设一个对照管。标准曲线的建立：以标准品的浓度为 x 轴，540nm 下的吸光度 ( $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ ) 为 y 轴，绘制标准曲线。

## 六、蔗糖酶活力计算：

1、 根据标准曲线，将 $\Delta A$  (y) 带入公式中计算出 x 值 (mg/mL)。

2、 按照蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化水解 1  $\mu$ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

蔗糖酶活力 ( $\mu$ g/min/mg prot) =  $(1000 \times x \times V1) \div (V1 \times Cpr) \div T = 100 \times x \div Cpr$

3. 按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化水解 1  $\mu$ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

蔗糖酶活力 ( $\mu$ g/min/g 鲜重) =  $(1000 \times x \times V1) \div (V1 \times W) \div T = 100 \times x \div W$

1000: 1mg/mL=1000  $\mu$ g/mL; V1: 加入反应体系中样本体积, 0.1mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 10min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g。