

蔗糖 (sucrose) 含量试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

注 意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

蔗糖是植物光合作用的主要产物，也是糖分运输和储藏的主要形式。因此，测定蔗糖含量对于植物糖代谢具有重要意义。此外，蔗糖含量是饮料、蜂蜜、果脯、糖果和乳制品等产品质量控制的重要指标之一。

测定原理：

先用碱与样品共热，破坏其中的还原糖。然后在酸性条件下将蔗糖水解生成葡萄糖和果糖，果糖进一步与间苯二酚反应，生成有色物质，在 480nm 下有特征吸收峰。

所需的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

- 提取液：液体 100ml×1 瓶，4℃保存；
- 试剂一：液体 10mL×1 瓶，4℃保存；
- 试剂二：液体 2ml×1 瓶，4℃保存；
- 试剂三：液体 20ml×1 瓶，4℃保存；
- 试剂四：液体 6ml×1 瓶，4℃避光保存；
- 试剂五：粉剂 0.5g×1 瓶，常温保存。

蔗糖提取：

称取 0.1~0.2g 样本，常温研碎，加入 0.5mL 提取液，适当研磨后快速转移到离心管中，置于 80℃水浴锅中 10min，振荡 3-5 次，冷却后，4000g，常温离心 10min，取上清，加入 2mg 试剂五，80℃脱色 30min，再加入 0.5mL 提取液，冷却后，4000g，常温离心 10min，取上清液测定。

测定步骤：

- 1、 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 480nm，蒸馏水调零。
- 2、 样本测定，（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂 (μL)	空白管	标准管	测定管
样本			25
试剂一		25	
蒸馏水	25		
试剂二	15	15	15
混匀，沸水浴煮沸 5min 左右（盖紧，防止水分散失）			
试剂三	175	175	175

试剂四	50	50	50
-----	----	----	----

混匀，沸水浴 30min，冷却后取 200 μ L 至微量石英比色皿或 96 孔板中测定 480nm 处光吸收值，空白管、标准管和测定管分别记为 A1、A2 和 A3。空白管和标准管只要做一管。

蔗糖含量计算：

1、按照蛋白质含量计算

$$\text{蔗糖含量(mg/mg prot)} = (C \text{ 标准管} \times V1) \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div (V1 \times Cpr) = (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div Cpr$$

此法需要自行测定蛋白浓度。

2、按照样品质量计算

$$\text{蔗糖含量(mg/g 鲜重)} = (C \text{ 标准管} \times V1) \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div (W \times V1 \div V2) = (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div W$$

C 标准管：标准管浓度，1mg/mL； V1：加入样本体积，0.025mL； V2：加入提取液体积，1mL； Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL； W：样本鲜重，g。

注意：最低检测限为 100ng/g 鲜重或 1ng/mg prot