

蔗糖（sucrose）含量试剂盒说明书

微量法 100管/96样

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

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

此法需要自行测定蛋白浓度。

2、按照样品质量计算

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

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