

## 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（ $\mu\text{L}$ ）	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 $\mu\text{L}$  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

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

此法需要自行测定蛋白浓度。

- 2、按照样品质量计算

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

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**

Lifemall.asia

To be with you