

蔗糖 (sucrose) 含量试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 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、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

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 3ml×1 瓶，4℃ 保存；

试剂三：液体 40ml×1 瓶，4℃ 保存；

试剂四：液体 15ml×1 瓶，4℃ 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 1mL 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，25℃ 离心 10min，取上清，加入 2mg 试剂五，80℃ 脱色 30min，再加入 1mL 提取液，4000g，25℃ 离心 10min，取上清液测定。

测定操作表（在 1.5mL 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			100
试剂一		100	
蒸馏水	100		
试剂二	50	50	50

混匀，沸水浴煮沸 5min 左右（盖紧，防止水分散失）

试剂三	700	700	700
试剂四	200	200	200

混匀，沸水浴 30min，冷却后 480nm 处蒸馏水调零，空白管、标准管和测定管分别记为 A1、A2 和 A3。

蔗糖含量计算：

1、按照蛋白质含量计算

蔗糖含量(mg/mg prot)=(C 标准管×V1×(A3-A1)÷(A2-A1)÷(V1×Cpr))=(A3-A1)÷(A2-A1)÷Cpr

此法需要自行测定蛋白浓度。

2、按照样品质量计算

蔗糖含量(mg/g 鲜重)=(C 标准×V1)×(A3-A1)÷(A2-A1)÷(W×V1÷V2)=2×(A3-A1)÷(A2-A1)÷W。

C 标准管：标准管浓度，1mg/mL；V1：加入样本体积，0.1mL；V2：加入提取液体积，2mL；

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