

## 蔗糖 (sucrose) 含量试剂盒 (微量法)

**注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。**

### 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。

### 试剂组成和配制：

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 200μL 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

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

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。

## 注意事项:

最低检测限为 100ng/g 鲜重或 1ng/mg prot。