

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 12g×1 瓶, 常温保存。

蔗糖提取:

称取约 0.1g 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, 加入一药匙 (约 50-100mg) 试剂五, 震荡混匀后 80℃ 水浴脱色 30min, 取出冷却后 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

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 标准管×V1)×(A3-A1)÷(A2-A1)÷(W×V1÷V2)=(A3-A1)÷(A2-A1)÷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