

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0416

Size: 100T/96S

植物蔗糖含量检测试剂盒说明书

微量法

***正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定**

一、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。

二、测定原理：

先用碱与样品共热，破坏其中的还原糖。酸性条件下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。

三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 10mg×1 支	4℃保存	临用前加入 1mL 蒸馏水溶解，用水稀释 10 倍，备用，即 1mg/mL
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 5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	粉剂 0.5g×1 瓶	常温保存	

五、操作步骤

● 样品制备：

称取 0.1g 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，25℃离心 10min，取上清，加入 2mg 试剂五，80℃脱色 30min，再加入 0.5mL 提取液，4000g，25℃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			25
试剂一		25	
蒸馏水	25		
试剂二	15	15	15

混匀，100℃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，沸水浴反应 10min 左右，冷却后取 200μL 至微量玻璃比色皿或 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。

六、蔗糖含量计算：

1、按照蛋白质含量计算

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

$$= (A3-A1) \div (A2-A1) \div Cpr$$

此法需要自行测定蛋白浓度。

2、按照样品质量计算

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

$$= (A3-A1) \div (A2-A1) \div W$$

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。