

植物组织蔗糖(sucrose)含量检测试剂盒说明书

(货号：ADS-W-ZT015 微板法 96 样)

有效期：3 个月

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：

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。

所需的仪器和用品：

可见分光光度计/微量法、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、蒸馏水、盐酸。

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：盐酸，自备；取 4ml 蒸馏水，缓慢加入 16ml 盐酸，混匀；

试剂四：液体 5ml×1 瓶，4℃ 保存；

试剂五：粉剂×1 瓶，常温保存。

蔗糖提取：

1、组织样本：称取约 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，离心取上清，加入 2mg 试剂五，80℃ 脱色 30min，再加入 0.5mL 提取液，室温 12000rpm 离心 10min 后取上清液测定。

2、液体样本：澄清的液体样本直接检测，若浑浊则需 12000rpm，室温离心 10min，取上清液备用。

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，80℃ 水浴内反应 10min 左右，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。

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 × (A3 - A1) ÷ (A2 - A1) ÷ Cpr = 1 × (A3 - A1) ÷ (A2 - A1) ÷ Cpr

2、按照样品质量计算

蔗糖含量(mg/g 鲜重) = C 标准管 × (A3 - A1) ÷ (A2 - A1) ÷ (W ÷ V 样总) = 1 × (A3 - A1) ÷ (A2 - A1) ÷ W

3、按液体体积计算

蔗糖含量 (mg/ml) = C 标准管 × (A3 - A1) ÷ (A2 - A1) = 1 × (A3 - A1) ÷ (A2 - A1)

C 标准管: 标准管浓度, 1mg/mL; V 样总: 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

