

Sucrose Content Kit

蔗糖含量检测试剂盒（酶法）说明书

货号：G0531F | 方法：可见分光法 | 规格：48 样

一、产品简介：

蔗糖（C₁₂H₂₂O₁₁; FW: 342.3），是产生通用能量分子 ATP 的最重要的来源之一。蔗糖是一种二糖，可分解为葡萄糖和果糖。

本试剂盒提供一种特异的蔗糖检测方法，蔗糖酶转化蔗糖成葡萄糖和果糖，葡萄糖被特异性氧化以产生与显色剂反应的（粉）红色产物，该产物在 520nm 处有最大吸收峰，通过校正游离的葡萄糖背景值进而得到蔗糖含量，且其他二糖如麦芽糖和乳糖不会干扰本测定。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 8mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 55mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 mL×1 支	-20°C保存	临用前甩几下，使液体落入底部，再加 4mL 的试剂一混匀备用。
试剂四	液体 22mL×1 瓶	4°C保存	临用前加 44mL 的试剂二混匀。
试剂五	粉体 mg×1 瓶	-20°C保存	临用前甩几下，使液体落入底部，再加 8.4mL 的试剂二溶解。
标准管	粉体 mg×1 支	室温干燥保存	用前准确称取 2mg 粉体即葡萄糖至一新 EP 管中，再加 2mL 蒸馏水充分溶解即得 1mg/mL 标准品，再用蒸馏水稀释 4 倍成 0.25mg/mL，待用。（该标准品粉体开封后也需干燥保存和使用）

三、所需仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、移液器、研钵、常温离心机、蒸馏水。

四、蔗糖含量检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

取 0.1g 组织样本（水分充足的果实样本建议取 0.2g 左右），加 1mL 的蒸馏水研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，12000rpm 室温离心 10min，上清液待测。注：若组织样本蛋白含量很高，可先进行脱蛋白处理。

【注】：若组织样本蛋白含量较高，可先进行脱蛋白处理：取 0.1g 组织样本（水分充足的果实样本建议取 0.2g 左右），加 1mL 的蒸馏水研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，再于 95°C 水浴 5min 后冷却至室温，若水分蒸发可用蒸馏水补齐至 1mL，最后于 12000rpm，常温离心 10min，上清液待测。

② 液体样品：

近似中性的澄清液体样本可直接检测；若为酸性样本则需先用 NaOH(2M)调 PH 值约 7.4，然后室温静置 30min，取澄清液体直接检测。可选取几个样本，进行不同倍数的稀释，选取适合本次样本的稀释倍数 D。

2、上机检测：

- ① 可见分光光度计预热 30min，设置温度在 25℃，设定波长到 520nm，蒸馏水调零。
- ② 一般组织样本（如叶片等）检测前需稀释 5 倍，果实类样本，需稀释 10-20 倍。做实验前可以选取几个样本，找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。
- ③ 所有试剂解冻至室温（25℃），在 EP 管中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管	标准管 （仅做一次）	空白管 （仅做一次）
样本	40	40		
标准品			40	
蒸馏水				40
试剂一		80		
试剂三	80		80	80
务必混匀（可用枪吹打混匀），37℃条件下孵育 20min				
试剂四	600	600	600	600
试剂五	80	80	80	80
混匀，37℃条件下避光孵育 30min，转移全部澄清液体至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 520nm 下读取吸光值 A， ΔA 蔗糖=A 测定-A 对照-A 空白（每个样本做一个自身对照）。				

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照质量计算：

$$\text{蔗糖含量(mg/g 鲜重)} = (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 蔗糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times 342.3 \div 180.16 \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 0.475 \times \Delta A \text{ 蔗糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D$$

2、按照体积计算：

$$\text{蔗糖含量(mg/mL)} = (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 蔗糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times 342.3 \div 180.16 \div V1 \times D$$

$$= 0.475 \times \Delta A \text{ 蔗糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D$$

蔗糖分子量---342.3；

葡萄糖分子量---180.16；

C 标准---葡萄糖标准品的浓度，0.25mg/mL；

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.04mL；

W---样本鲜重，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。