

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：E-BC-K866-M

产品规格：48T(44 samples)/96T(92 samples)

检测仪器：酶标仪(610-630 nm)

Elabscience®植物可溶性糖比色法测试盒

Plant Soluble Sugar Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测植物组织样本中的可溶性糖的含量。

检测原理

糖类物质是构成植物体的重要组成成分之一，也是新陈代谢的主要原料和贮存物质。该试剂盒用于可溶性单糖、寡糖和多糖的含量测定，具有灵敏度高、便快捷、适用于微量样品的测定等优点。

检测原理为蒽酮比色法。糖类和蒽酮反应生成有色物质，该物质在 620 nm 处有最大吸收峰，可通过测定吸光度值大小来判断可溶性糖含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	底物 (Substrate)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	1 mg/mL 标准品 (1 mg/mL Standard)	1 mL×1 支	1 mL×2 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(610-630 nm, 最佳波长 620 nm)、低温离心机、水浴锅

试剂：浓硫酸、乙酸乙酯

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂一工作液的配制：

取一瓶试剂一用6 mL乙酸乙酯完全溶解（60℃水浴加热1-2 min至完全溶解），未用完部分2-8℃避光保存7天。

③ 0.1 mg/mL标准品溶液的配制：

将试剂二与双蒸水按照1：9体积比进行稀释，按需配制，配制好的标准品2-8℃保存，3天内使用完毕。

样本准备

① 样本处理

组织样本：将植物组织样本(g)与双蒸水(mL)按照1:9进行匀浆，4℃条件下10000 ×g离心10 min，取上清备用。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的检测范围：0.003-1.5 mg/mL，请参考下表稀释(仅供参考)

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%芒果肉	150-250	10%红枣	150-250
10%红葡萄	150-200	10%糯玉米粒	100-200
10%苹果	100-150	10%香蕉	150-200
10%黄瓜	20-50	10%西红柿	30-60
10%香菇	不稀释	10%胡萝卜	40-60
10%毛豆	1-10	10%黑布林	50-100

注：稀释液为双蒸水。

实验关键点

- ① 试剂一工作液配制需在60℃水浴1-2 min至澄清状态。
- ② 加浓硫酸过程放热可能会使液体飞溅，加样过程需贴试管壁缓慢加入。
- ③ 该实验加样过程尽量在通风橱进行。
- ④ 浓硫酸浓度需大于95%方可使用，长期放置的浓硫酸可能吸收了一定的水分，影响检测结果。

操作步骤

- ① 空白管：向 2 mL EP 管中加入 0.2 mL 双蒸水；
标准管：向 2 mL EP 管中先加入 0.2 mL 0.1 mg/mL 标准品；
测定管：向 2 mL EP 管中先加入 0.2 mL 待测样本上清液；
- ② 向步骤①各 EP 管加入 0.1 mL 试剂一工作液和 1 mL 浓硫酸。
- ③ 充分混匀，置于 95 ~ 100 °C 沸水浴反应 7 min（水浴时需盖紧管盖或封口），取出立即用流水冷却；
- ④ 取 200 μ L 步骤③各 EP 管中的反应液加入到对应酶标孔，于酶标仪 620 nm 波长处测定各孔 OD 值。

操作表

	空白管	标准管	测定管
双蒸水(mL)	0.2	--	--
0.1 mg/mL 标准品(mL)	--	0.2	--
待测样本(mL)	--	--	0.2
试剂一工作液(mL)	0.1	0.1	0.1
浓硫酸(mL)	1.0	1.0	1.0
充分混匀，置于 95 ~ 100 °C 沸水浴中反应 7 min（水浴时需盖紧管盖），取出冷却。			
取各 EP 管中的反应液 200 μ L 加入对应酶标孔，于酶标仪 620 nm 波长处测定各孔 OD 值。			

结果计算

植物中可溶性糖含量计算公式：

$$\text{可溶性糖含量 (mg/g wet weight)} = \frac{A_{\text{测}} - A_{\text{空}}}{A_{\text{标}} - A_{\text{空}}} \times C_{\text{标}} \div \frac{W}{V_{\text{提}}} \times f$$

注解：

A_标：标准孔 OD 值

A_空：空白孔 OD 值

A_测：测定孔 OD 值

C_标：标准品浓度，0.1 mg/mL

V_提：加入提取液体积，mL

W：样本鲜重，g

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.003-1.5 mg/mL	批间差	5.3 %
灵敏度	0.003 mg/mL	批内差	1.7 %
回收率	102 %		

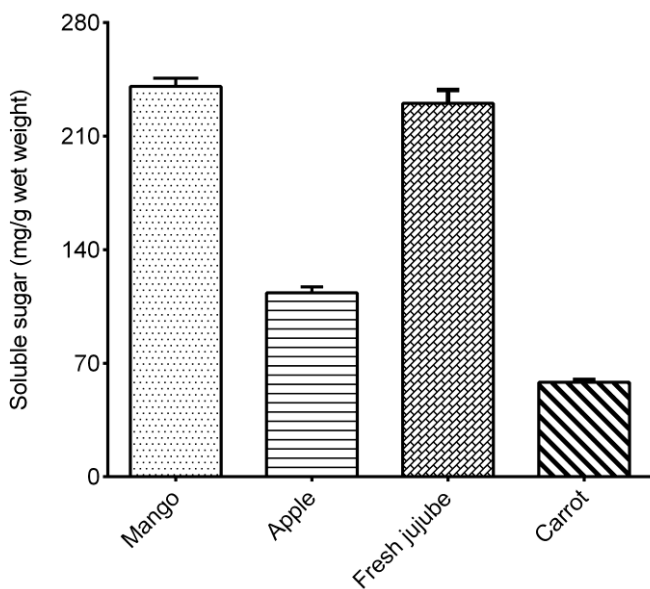
附录2 实例分析

例如检测芒果肉组织样本(数据仅供参考):

取10%的芒果肉样本匀浆上清稀释200倍, 取200 μL 匀浆上清, 按操作表操作, 结果如下: 空白孔OD值为0.068, 标准孔的OD值为0.375, 测定孔的OD值为0.478, 计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{可溶性糖含量} &= (0.478 - 0.068) \div (0.375 - 0.068) \times 0.1 \div (0.1 \div 0.9) \times 200 \\ (\text{mg/g wet weight}) &= 240.39 \text{ mg/g wet weight} \end{aligned}$$

按照说明书操作, 测定10% 芒果肉(稀释200倍, 加样量200 μL)、10% 苹果(稀释100倍, 加样量200 μL)、10% 新鲜红枣(稀释200倍, 加样量200 μL ,)及10% 胡萝卜(稀释50倍, 加样量200 μL)中的可溶性糖含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本测定 OD 值大于 1.5	样本稀释倍数较小	增加样本稀释倍数

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

