

(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-K755-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(530-550 nm)

Elabscience®总碳水化合物比色法测试盒

Total Carbohydrate 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血清(浆)和动、植物组织样本中总碳水化合物含量。

检测原理

碳水化合物是构成各种机体的重要成分之一，也是新陈代谢的主要原料和贮存物质。总碳水化合物(Total Carbohydrate)主要指具有还原性的葡萄糖，果糖，戊糖，乳糖和在测定条件下能水解为还原性的单糖的蔗糖，麦芽糖以及可能部分水解的淀粉。总碳水化合物水解为还原糖，还原糖在碱性条件下与 3,5-二硝基水杨酸共热后被还原成氨基化合物，在碱性溶液中呈红棕色，还原糖的量与红棕色物质颜色的深浅成正比关系，以此测定样本中的总碳水化合物含量。

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)	提取液 A (Extraction Solution A)	30 mL×1 瓶	55 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	提取液 B (Extraction Solution B)	30 mL×1 瓶	55 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	2 mL×1 瓶	4 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	标准品 (Standard)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8°C 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(530-550 nm，最佳检测波长 540 nm)、水浴锅。

试剂准备

- ① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25℃。
- ② 样本检测前，试剂三需75℃水浴加热10 min，流水冷却至25℃后待用。
- ③ 10 mg/mL标准品溶液的配制：

取一支试剂四用1 mL双蒸水溶解得到10 mg/mL的标准品溶液，未使用完的试剂可2-8℃保存一个月。

- ④ 1 mg/mL标准品溶液的配制：

将10 mg/mL标准品溶液和双蒸水按照体积比=1:9稀释成1 mg/mL的标准品溶液。未使用完的试剂可2-8℃保存两周。

- ⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mg/mL)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	1.0
1 mg/mL 标准品(μL)	0	20	40	60	80	120	160	200
双蒸水(μL)	200	180	160	140	120	80	40	0

实验关键点

此试剂盒对于纤维素的分解程度无法达到 100%。

样本准备

① 样本处理

血清(浆)等液体样本：取0.1 mL血清(浆)于2 mL EP管中，加入0.1 mL试剂一，0.15 mL双蒸水，混匀，95℃水浴30 min；加入0.1 mL试剂二，混匀，25℃，8000×g，离心10 min，取上清液待测。

组织样本：称取0.05 g样本于2 mL EP管中，加入0.5 mL试剂一，0.75 mL双蒸水，机械匀浆，95℃水浴30 min；加入0.5 mL试剂二，混匀，25℃，8000×g，离心10 min，取上清液待测。

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，结合本试剂盒的线性范围：0.036-1 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%小麦组织	30-60 倍	10%稻谷组织	30-60 倍
10%玉米组织	30-60 倍	10%南瓜组织	30-50 倍
10%小鼠肝组织	3-10 倍	人血清	不稀释

注：稀释液为试剂一。

操作步骤

- ① 标准管：取 30 μL 不同浓度的标准品溶液加入相应的 0.5 mL EP 管中。
测定管：取 30 μL 待测样本加入相应的 0.5 mL EP 管中。
- ② 向步骤①中的每管加入 30 μL 试剂三。
- ③ 混匀，95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min，流水冷却。
- ④ 向步骤③中每管加入 180 μL 双蒸水。
- ⑤ 混匀，取 200 μL 加入酶标板孔，540 nm 测定各孔 OD 值。

操作表

	标准管	测定管
不同浓度标准品(μL)	30	--
待测样本(μL)	--	30
试剂三(μL)	30	30
混匀，95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min，流水冷却		
双蒸水(μL)	180	180
混匀，取 200 μL 加入酶标板孔，540 nm 测定各孔 OD 值		

结果计算

标准品拟合曲线： $y = a x + b$.

① 血清(浆)等液体样本中总碳水化合物含量计算公式：

$$\text{总碳水化合物含量 (mg/mL)} = \frac{\Delta A - b}{a} \times V_2 \div V_3 \times f$$

② 组织样本中总碳水化合物含量计算公式：

$$\text{总碳水化合物含量 (mg/g wet weight)} = \frac{\Delta A - b}{a} \times V_1 \div m \times f$$

注解：

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA : 测定孔 OD 值-空白孔 OD 值

V_1 : 组织样本处理后总体积, 1.75 mL

m: 样本质量, 0.05 g

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

V_2 : 血清(浆)或液体样本处理后总体积, 0.45 mL

V_3 : 血清(浆)或液体样本体积, 0.1 mL

附录1 关键数据

1. 技术参数

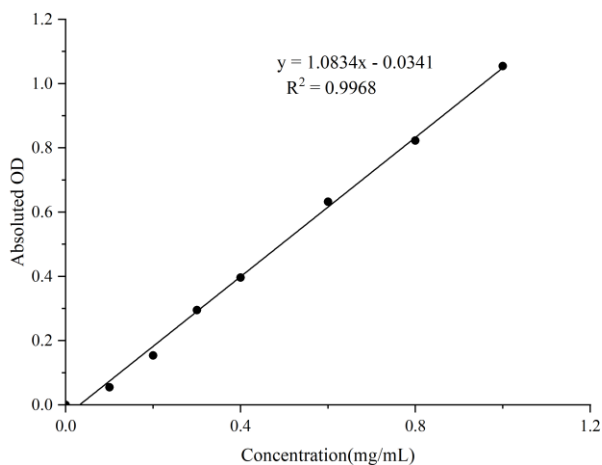
检测范围	0.036-1.0 mg/mL	批间差	2.1-5.3%
灵敏度	0.036 mg/mL	批内差	1.0-2.9%
加标回收率	103-106%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量30 μ L, 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

标准品浓度(mg/mL)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	1.0
OD 值	0.055	0.109	0.215	0.352	0.458	0.675	0.882	1.104
	0.055	0.111	0.203	0.349	0.444	0.700	0.874	1.115
平均 OD 值	0.055	0.110	0.209	0.351	0.451	0.688	0.878	1.110
绝对 OD 值	0.000	0.055	0.154	0.296	0.396	0.633	0.823	1.055

② 绘制标曲(如下图):



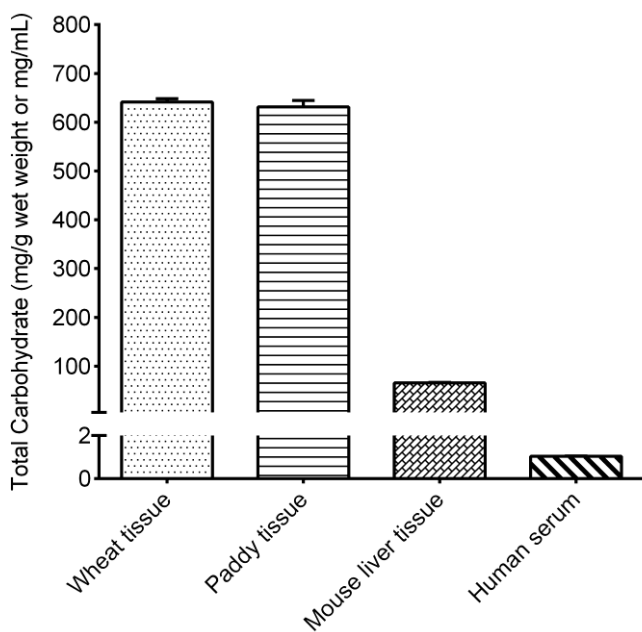
附录2 实例分析

例如检测小麦组织(数据仅供参考):

取 30 μL 稀释 50 倍后的小麦组织上清液, 按操作表操作, 结果如下: 标准曲线 $y = 1.0834x - 0.0341$, 测定孔 OD 值为 0.418, 空白孔 OD 值为 0.055, 计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{总碳水化合物含量}(\text{mg/g wet weight}) &= (0.418 - 0.055 + 0.0341) \div 1.0834 \times 1.75 \div 0.05 \times \\ &50 = 641.43 \text{ mg/g wet weight} \end{aligned}$$

按照说明书操作, 测定小麦组织(稀释 50 倍, 加样量 30 μL)、稻谷组织(稀释 50 倍, 加样量 30 μL)、小鼠肝组织(稀释 10 倍, 加样量 30 μL)、人血清(加样量 30 μL)中总碳水化合物的含量。(如下图):



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。

