

(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-K161-S**

**产品规格：50 assays(48 samples)/100 assays(96 samples)**

**检测仪器：紫外-可见光分光光度计 (290 nm)**

## **Elabscience<sup>®</sup>蔗糖比色法测试盒**

### **Sucrose 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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://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。

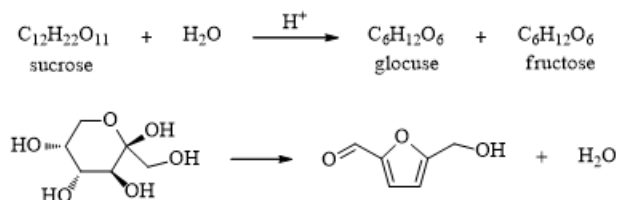
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

## 用途

本试剂盒适用于检测植物组织中的蔗糖含量。

## 检测原理

植物组织中的蔗糖在酸性条件下，沸水浴加热水解成葡萄糖和果糖。果糖在酸性条件下失水得 5-羟甲基糠醛，从而产生紫外吸收。葡萄糖必须先异构化为酮糖结构，之后再失水得 5-羟甲基糠醛，但葡萄糖异构化为酮糖的速度很慢。因此，葡萄糖产生的紫外吸收远小于果糖。



本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法（货号：E-BC-K168-M）。

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	水解液 (Hydrolysate Solution)	60 mL×2 瓶	60 mL×4 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	100 μmol/mL 蔗糖标准品 (100 μmol/mL Sucrose Standard)	1 mL×1 支	1 mL×1 支	2-8°C 保存 6 个月

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：**紫外-可见分光光度计（290 nm）

**试剂：**双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）

## 试剂准备

① 试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 20  $\mu\text{mol/mL}$ 蔗糖标准品的配制：

按试剂二：双蒸水为1：4的体积比混匀即可，现用现配，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 可保存7天。

## 样本准备

① 样本处理

组织样本：取 0.020-1 g 新鲜组织块，用 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 的 PBS（0.01 M，pH 7.4）漂洗，去除血液，滤纸吸干，称重，放入匀浆容器中，按照重量（g）：体积（mL）=1: 9 的比例加入 PBS（0.01 M，pH 7.4），进行匀浆，4 $^{\circ}\text{C}$ ，3100  $\times$  g 离心 10 min，取上清置于冰上待测，留取部分上清用于蛋白测定。

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，结合本试剂盒的线性范围（0.32-70  $\mu\text{mol/mL}$ ），选取最佳稀释倍数，进行正式批量实验。不同样本的稀释比例范围如下表（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%青椒匀浆	不稀释	10%黄瓜匀浆	不稀释
10%绿萝匀浆	不稀释		

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

## 实验关键点

- ① 严格控制水浴温度 95°C 以上。
- ② 必须使用玻璃试管。

## 操作步骤

- ① 空白管：取 0.03 mL 双蒸水，加入 5 mL 玻璃试管中；  
标准管：取 0.03 mL 20  $\mu\text{mol/mL}$  蔗糖标准品，加入 5 mL 玻璃试管中；  
测定管：取 0.03 mL 待测样本，加入 5 mL 玻璃试管中。
- ② 向步骤①中的各管加入 2 mL 试剂一，涡旋混匀。
- ③ 用保鲜膜扎紧，扎一个小孔，100°C 水浴 8 min，取出后立刻流水冷却。
- ④ 波长 290 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定 OD 值。

## 操作表

	空白管	标准管	测定管
双蒸水(mL)	0.03	--	--
20 $\mu\text{mol/mL}$ 蔗糖(mL)	--	0.03	--
待测样本(mL)	--	--	0.03
试剂一(mL)	2	2	2
混匀，100°C 水浴 8 min，取出后立刻流水冷却，波长 290 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定 OD 值。			

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法（货号：E-BC-K168-M）。

## 结果计算

$$\begin{array}{l} \text{蔗糖含量} \\ (\mu\text{mol/mgprot}) \end{array} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f \div C_{\text{pr}}$$

### 注解:

$\Delta A_1$ : 样本 OD 值-空白 OD 值

$\Delta A_2$ : 标准 OD 值-空白 OD 值

c: 标准品浓度 (20  $\mu\text{mol/mL}$ )

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

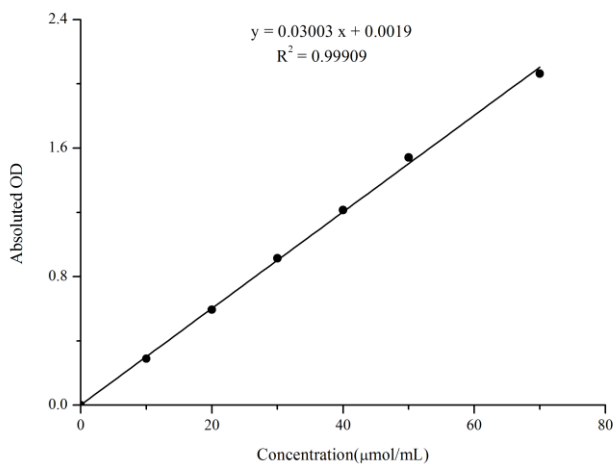
$C_{\text{pr}}$ : 样本的蛋白浓度 (mgprot/mL)

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

检测范围	0.32-70 $\mu\text{mol/mL}$	平均批间差	8.5 %
灵敏度	0.32 $\mu\text{mol/mL}$	平均批内差	3.4 %
平均回收率	102 %		

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)



## 附录2 实例分析

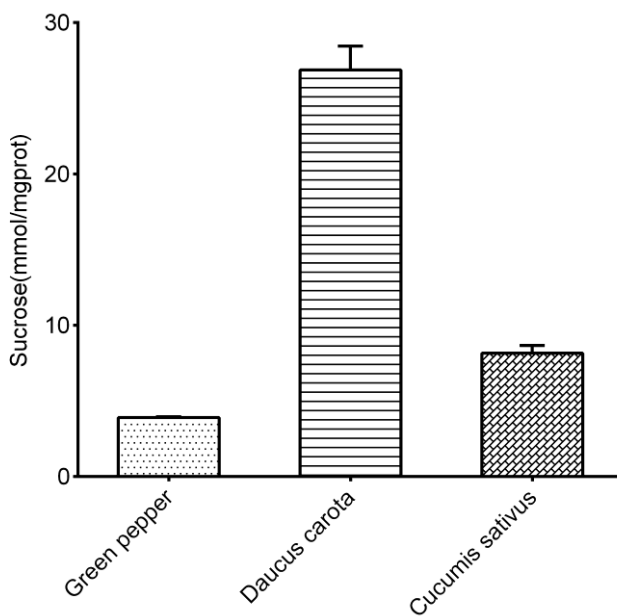
例如检测青椒(数据仅供参考):

取0.03 mL 10%青椒组织匀浆, 按操作表操作, 结果如下:

空白管平均OD值为0.001, 标准管平均OD值为0.675, 测定管平均OD值为0.229, 同时测得10%匀浆蛋白浓度1.73 mg/mL, 计算结果为:

$$\text{蔗糖含量} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{mgprot}} \right) = \frac{0.229-0.001}{0.675-0.001} \times 20 \div 1.73 = 3.91 \mu\text{mol}/\text{mgprot}$$

按照操作过程, 测定青椒 (10%组织匀浆的蛋白含量1.73 mg/mL, 加样量0.03 mL)、胡萝卜 (10%组织匀浆的蛋白含量0.74 mg/mL, 加样量0.03 mL)、黄瓜 (10%组织匀浆的蛋白含量0.69 mg/mL, 加样量0.03 mL) 中蔗糖的含量 (如下图):



### 附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	微量移液器使用不熟练	小心加样,避免液体溅到其它测样管中
	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测
样本测量结果 >70 $\mu\text{mol/mL}$	样本浓度太高	选择合适稀释倍数,重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

#### 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。