（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®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

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。

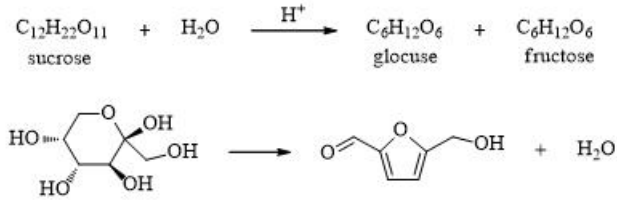
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

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℃ 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℃ 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-可见光分光光度计（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 μmol/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℃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℃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℃，3100 × 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 μmol/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℃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 μmol/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℃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 μmol/mL 蔗糖(mL)	--	0.03	--
待测样本(mL)	--	--	0.03
试剂一(mL)	2	2	2
混匀，100℃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

$$\text{蔗糖含量（μmol/mgprot）} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f \div C_{pr}$$

注解:

ΔA_1：样本 OD 值-空白 OD 值

ΔA_2：标准 OD 值-空白 OD 值

c：标准品浓度（20 μmol/mL）

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

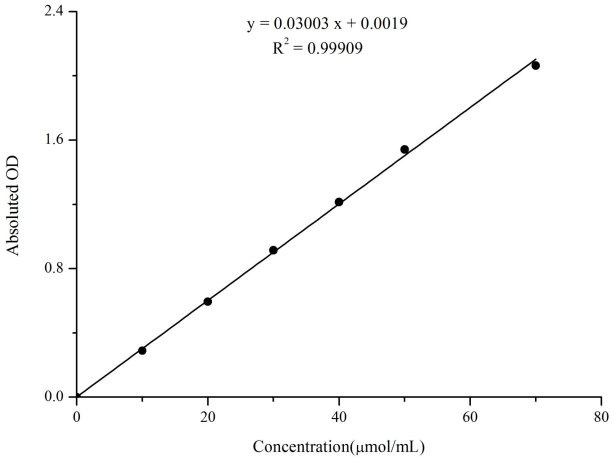
C_{pr}：样本的蛋白浓度（mgprot/mL）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.32-70 μmol/mL	**平均批间差**	8.5 %
灵敏度	0.32 μmol/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

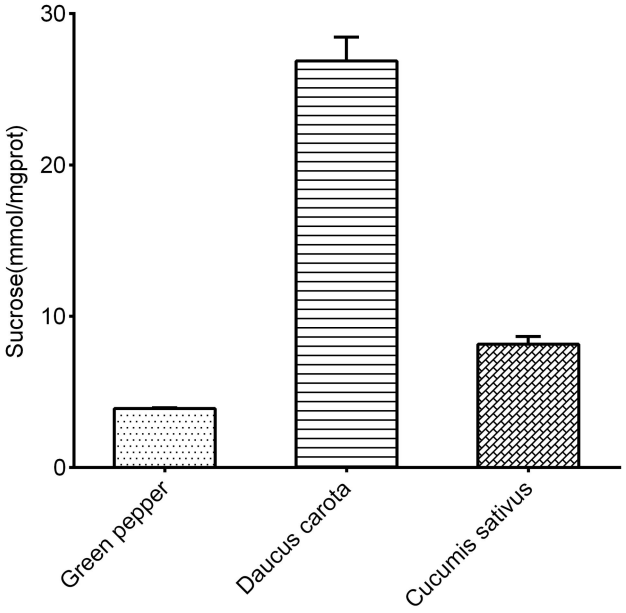
例如检测青椒(数据仅供参考):

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：

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

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 μmol/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。