

蔗糖 (sucrose) 含量 检测试剂盒微板法

使用说明书

产品货号: BP10505W

注意: 请在试剂盒保质期内使用, 具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用, 不能用于临床诊断。

检测范围: 0.05-10mg/mL

灵敏度: 0.05mg/mL

有效期: 6个月

保存温度: 2-8℃

检测原理:

蔗糖是植物光合作用的主要产物也是糖分运输和储存的主要形式。蔗糖含量在是饮料、蜂蜜、糖果和果脯等产品质量控制的重要指标之一。先用碱与样本共热，破坏其中的还原糖。然后在酸性条件下将蔗糖水解为葡萄糖和果糖，果糖进一步与间苯二酚反应，生成有色物质，在 480nm 下有特征吸收峰。

注意事项:

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，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。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

试剂盒组分：

试剂名称	规格（48T/40S）	规格（96T/88S）	保存条件
提取液	110mL×1 瓶	220mL×1 瓶	2-8℃
试剂一	1mL×1 瓶	2mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	9mL×1 瓶	18mL×1 瓶	2-8℃
试剂三	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃，避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃，避光

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、水浴锅、振荡器。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.05-10mg/mL, 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, 样本的稀释液为提取液。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本:** 按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例 (例如约 0.1g 组织, 常温研碎, 加入 1mL 提取液), 适当研磨后快速转移到离心管中, 置于 80° C 水浴锅中 10min (缠封口膜, 防止爆盖), 振荡 3~5 次, 冷却后, 4000 g, 25°C 离心 10min, 取上清, 加入 2mg 试剂四, 80° C 脱色 30min (缠封口膜, 防止爆盖), 再加入 1mL 提取液, 4000 g, 25°C 离心 10min, 取上清液测定。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **10mg/mL 标准品母液的配制:** 使用前取一瓶标准品加入 2mL 蒸馏水充分溶解（即为 10mg/mL 蔗糖标准液）
3. **标准工作液配置:** 把标准品母液 10mg/mL 标准品按下表用对应量的蒸馏水稀释成以下浓度的标准品工作液：0mg/mL、1mg/mL、1.5mg/mL、2mg/mL、2.5mg/mL、3mg/mL、3.5mg/mL、4mg/mL。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从对应浓度的标准品溶液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mg/mL)	0	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4
10mg/mL 标准品(μL)	0	20	30	40	50	60	70	80
蒸馏水(μL)	200	180	170	160	150	140	130	120

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准管加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 480nm。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂，操作有沸水浴加热，建议使用旋盖 EP 管防止爆盖）：

试剂名称(μL)	标准管	测定管
不同浓度标准品	25	
样本		25
试剂一	15	15
混匀，沸水浴煮沸 5min(缠封口膜防止爆盖)		
试剂二	175	175
试剂三	50	50
混匀，沸水浴煮沸 10min(缠封口膜防止爆盖)，冷却后在 480nm 处取 200 μL 测各管 OD 值。		

实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$

2. 按植物样本蛋白含量计算：

$$\begin{aligned} \text{植物蔗糖含量 (mg/mg prot)} &= (\Delta A - b) \div a \times V_{\text{样总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}) \times V_{\text{提取}} \times N \\ &= (\Delta A - b) \div a \div C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}} \times N \end{aligned}$$

3. 按植物样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{植物蔗糖含量(mg/g)} &= (\Delta A - b) \div a \times V_{\text{样总}} \div W \times V_{\text{提取}} \times N \\ &= (\Delta A - b) \div a \div W \times V_{\text{提取}} \times N \end{aligned}$$

注：

x: 标准品的浓度

$V_{\text{样总}}$: 待测样本总体积, 1 mL

b: 标曲的截距

$V_{\text{提取}}$: 样本处理加入提取液的量,
2mL

a: 标曲的斜率

C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL

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

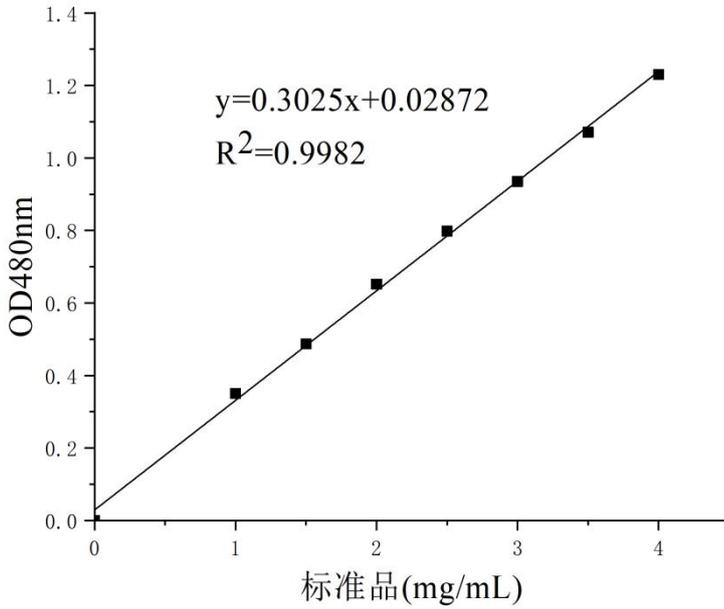
ΔA : 样本 OD 值-空白 OD 值 (标
准品浓度为 0 时的 OD 值)

N: 样本稀释倍数

W: 样本质量, g

参考曲线:

$y=0.3025x+0.02872, R^2=0.9982$, x 是标准品的浓度 (mg/mL), y 是 ΔA 。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。