

## 还原糖含量检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1153

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

还原糖广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。植物体内的还原糖主要包括葡萄糖、果糖和麦芽糖等，是最常见的单糖和双糖，其中葡萄糖和果糖不仅是呼吸作用的主要底物，也是进一步合成蔗糖、淀粉和纤维素的底物。

加热促进碱性溶液中3,5-二硝基水杨酸溶液与还原糖生成棕红色氨基化合物，在540nm有特征吸收峰；在一定的浓度范围内，还原糖含量与540nm吸光度成线性关系，根据标准曲线，即可求出样品中还原糖的量。

### 产品内容：

试剂一：液体100mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体20mL×1瓶，4℃保存。

标准品：粉剂×1支，4℃保存，含10mg无水葡萄糖（干燥失重<0.2%），临用前加入1mL蒸馏水溶解备用，4℃可保存1周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间。

标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至0.3、0.25、0.2、0.15、0.1、0.05mg/mL。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样品中还原糖的提取：

1、细菌或细胞的处理：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ $10^4$ 个）：试剂一（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细菌或细胞加入1mL试剂一），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；转移到有盖离心管中（防止加热时水分散失），80℃水浴中40min并且振荡8~10次，8000g，常温离心10min，取上清供测定用。

2、组织的处理：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织加入1mL试剂一），冰浴匀浆。转移到有盖离心管中（防止加热时水分散失），80℃水浴中40min并且振荡8~10次，8000g，常温离心10min，取上清供测定用。

3、血清（浆）的处理：按照血清（浆）体积（mL）：试剂一体积（mL）为1：5~10的比例（建议取约0.1mL血清（浆）加入0.9mL试剂一），冰浴匀浆。转移到有盖离心管中（防止加热时水分散失），80℃水浴中40min并且振荡8~10次，8000g，常温离心10min，取上清供测定用。

#### 二、测定操作表：

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。

2. 在 EP 管中加入下列试剂：

试剂名称（ $\mu$ L）	对照管	测定管	标准管	空白管
样本	175	175		
标准液			175	



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂二		125	125	125
蒸馏水	125			175

将各管摇匀，在沸水浴加热5min（盖紧，防止水分散失），取出后立即冷却至室温，混匀。取200 $\mu$ L至微量玻璃比色皿或96孔板中，在540nm波长下读取标准管、对照管、测定管和空白管吸光值。计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

根据标准管浓度和吸光度（为A标准-A空白）建立标准曲线，x为吸光度，y为标准品浓度（mg/mL）。

### 三、还原糖含量计算：

1、根据标准曲线计算样品中还原糖的含量，即将 $\Delta A$ （A测定管-A对照管）带入x计算出y值。

2、按样本鲜重计算：

$$\text{还原糖}(\mu\text{g/g 鲜重}) = 1000 \times y \times V1 \div W = 1000 \times y \div W$$

3、按样本蛋白浓度计算：

$$\text{还原糖}(\mu\text{g/mg prot}) = 1000 \times y \times V1 \div (V1 \times Cpr) = 1000 \times y \div Cpr$$

4、按细菌或细胞密度计算：

$$\text{还原糖}(\mu\text{g} / 10^4 \text{cell}) = 1000 \times y \times V1 \div 500 = 2 \times y$$

5、按血清（浆）体积计算：

$$\text{还原糖}(\mu\text{g/mL}) = 1000 \times y \times V2 \div V3 = 10000 \times y$$

1000: 1mg/mL=1000 $\mu$ g/mL; V1: 加入试剂一体积, 1mL; V2: 加入血清（浆）和试剂一总体积, 1mL; V3: 加入血清（浆）体积, 0.1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞密度, 500万/mL。

**注意：最低检测限为0.5mg/g鲜重或10 $\mu$ g/mg prot**

### 注意事项：

1、每个测定管需设定一个对照管。

2、如果 $\Delta A$  大于 2，需要将样本用试剂一稀释，计算公式中乘以相应的稀释倍数。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com