

## 还原糖含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：AC10111

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 25mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 支	2-8°C保存

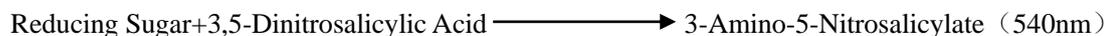
溶液的配制：

标准品：10 mg 无水葡萄糖（干燥失重<0.2%）。临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解备用，2-8°C保存 2 周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间。

### 产品说明：

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，即可求出样本中还原糖的含量。



### 技术指标：

最低检出限：0.0487 mg/mL

线性范围：0.05-0.25 mg/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、离心机，可调式移液器、超声破碎仪，1mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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 1000 万细菌或细胞加入 2mL 试剂一），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 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°C 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 0.2g 组织加入 2mL 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°C 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 0.2mL 血清（浆）加入 1.8mL 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°C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、测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
2. 标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至 0.25、0.2、0.15、0.1、0.05 mg/mL。
3. 标准品稀释表

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	100	900	1
2	1	250	750	0.25
3	1	200	800	0.2
4	1	150	850	0.15
5	1	100	900	0.1
6	1	50	950	0.05

实验中每个标准管需 700μL 标准溶液。

4. 在 EP 管中加入下列试剂：

试剂 (μL)	对照管	测定管	标准管	空白管
样本	700	700		
标准品			700	
试剂二		500	500	500
蒸馏水	500			700

混合均匀，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 1mL 至玻璃比色皿中，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  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。空白管和标准曲线只需做 1-2 次。

## 三、还原糖含量计算

- 1、标准曲线的建立：

根据标准管的浓度（y，mg/mL）和吸光度  $\Delta A_{\text{标准}}$ （x， $\Delta A_{\text{标准}}$ ），建立标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A_{\text{测定}}$ （x， $\Delta A_{\text{测定}}$ ）带入公式计算样本浓度（y，mg/mL）。

- 2、按样本质量计算：

$$\text{还原糖}(\mu\text{g/g 质量}) = 1000 \times y \times V1 \div W = 2000 \times y \div W$$

- 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、按细菌或细胞数量计算：

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

- 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=1000μg/mL; V1: 加入试剂一体积, 2mL; V2: 加入血清（浆）和试剂一总体积, 2mL; V3:

加入血清（浆）体积，0.2mL；Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL；W: 样本质量，g；1000: 细菌或细胞数量，1000万。

**注意事项：**

1. 每个测定管需设定一个对照管。
2. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。

**参考文献：**

[1] Lindsay H. A colorimetric estimation of reducing sugars in potatoes with 3, 5-dinitrosalicylic acid[J]. Potato Research, 1973, 16(3): 176-179.

[2] Breuil C, Saddler J N. Comparison of the 3, 5-dinitrosalicylic acid and Nelson-Somogyi methods of assaying for reducing sugars and determining cellulase activity[J]. Enzyme and microbial technology, 1985, 7(7): 327-332.

[3] Brunton N P, Gormley T R, Murray B. Use of the alditol acetate derivatisation for the analysis of reducing sugars in potato tubers[J]. Food chemistry, 2007, 104(1): 398-402.

**相关系列产品：**

- AC10132/AC10133 海藻糖含量检测试剂盒
- AC10134/AC10135 糖原含量检测试剂盒
- AC10459/AC10460 山梨醇脱氢酶活性检测试剂盒
- AC10073/AC10074 植物可溶性糖含量检测试剂盒