

还原糖含量检测试剂盒说明书

微量法

货号：BC0235

规格：100T/48S

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃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，4℃可保存 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量。



技术指标：

最低检出限：0.0616 mg/mL

线性范围：0.1-0.6 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/酶标仪、水浴锅、离心机，可调式移液器、超声破碎仪，微量玻璃比色皿/96 孔板、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：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（功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），转移到有盖离心管中（缠封口膜，防止爆盖，也可同时在盖子上扎一小孔），80℃水浴中 40min 并且拿出上下颠倒 8~10 次，8000g，25℃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（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(缠封口膜, 防止爆盖, 也可同时在盖子上扎一小孔), 80°C水浴中 40min 并且拿出上下颠倒 8~10 次, 8000g, 25°C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 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(缠封口膜, 防止爆盖, 也可同时在盖子上扎一小孔), 80°C水浴中 40min 并且拿出上下颠倒 8~10 次, 8000g, 25°C离心 10min, 取上清供测定用。

二、测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 540nm, 分光光度计蒸馏水调零。
2. 标准品准备: 将标准品用蒸馏水稀释至 0.6、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1 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	300	2700	1
2	1	600	400	0.6
3	1	500	500	0.5
4	1	400	600	0.4
5	1	300	700	0.3
6	1	200	800	0.2
7	1	100	900	0.1

备注: 下述实验中每个标准管需 175μL 标准溶液(注意不要在此步骤直接检测吸光值)

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	175	175	-	-
标准品	-	-	175	-
试剂二	-	125	125	125
蒸馏水	125	-	-	175

混合均匀, 在沸水浴中加热 5min (缠封口膜, 防止爆盖), 取出后立即冷却至室温, 混匀。取 200μL 至微量玻璃比色皿或 96 孔板中, 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:

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

- 3、按样本蛋白浓度计算:

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

- 4、按细菌或细胞数量计算:

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



5、按血清（浆）体积计算：

还原糖含量($\mu\text{g/mL}$)= $1000 \times y \times V_2 \div V_3 = 10000 \times y$

1000：单位换算系数， $1\text{mg/mL} = 1000\mu\text{g/mL}$ ； V_1 ：加入试剂一体积， 1mL ； V_2 ：加入血清和试剂一总体积， 1mL ； V_3 ：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：细菌或细胞总数，500 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。

相关发表文献：

- [1] Kang L, Wu Y, Jia Y, Chen Z, Kang D, Zhang L, Pan C. Nano-selenium enhances melon resistance to *Podosphaera xanthii* by enhancing the antioxidant capacity and promoting alterations in the polyamine, phenylpropanoid and hormone signaling pathways. *J Nanobiotechnology*. 2023 Oct 16;21(1):377. doi: 10.1186/s12951-023-02148-y. PMID: 37845678; PMCID: PMC10577987.
- [2] Xu Y, Zhang Y, Zhu J, Sun Y, Guo B, Liu F, Huang J, Wang H, Dong S, Wang Y, Wang Y. Phytophthora sojae apoplastic effector AEP1 mediates sugar uptake by mutarotation of extracellular aldose and is recognized as a MAMP. *Plant Physiol*. 2021 Sep 4;187(1):321-335. doi: 10.1093/plphys/kiab239. PMID: 34618132; PMCID: PMC8418418.
- [3] Chen J, Lan M, Zhang X, Jiao W, Chen Z, Li L, Li B. Effects of Simulated In Vitro Digestion on the Structural Characteristics, Inhibitory Activity on α -Glucosidase, and Fermentation Behaviours of a Polysaccharide from *Anemarrhena asphodeloides* Bunge. *Nutrients*. 2023 Apr 19;15(8):1965. doi: 10.3390/nu15081965. PMID: 37111183; PMCID: PMC10145594.
- [4] Ye Z, Xu YJ, Liu Y. Influence of different dietary oil consumption on nutrient malabsorption: An animal trial using Sprague Dawley rats. *J Food Biochem*. 2021 Apr;45(4):e13695. doi: 10.1111/jfbc.13695. Epub 2021 Mar 11. PMID: 33694208.

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：

- BC0330/BC0335 海藻糖含量检测试剂盒
BC0340/BC0345 糖原含量检测试剂盒
BC2530/BC2535 山梨醇脱氢酶活性检测试剂盒
BC0030/BC0035 植物可溶性糖含量检测试剂盒

