

还原糖含量检测试剂盒 (分光光度计法)

(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0107	还原糖含量检测试剂盒 (分光光度计法)	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 100mL × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 15mL × 1 瓶	4℃

一、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,即可求出样品中还原糖的量。

二、自备材料

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品准备

- 1、组织:按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例(建议称取约 0.2g 组织,加入 2mL 试剂一),进行冰浴匀浆,转移到有盖离心管中(防止加热时水分散失),80℃ 水浴 40min,期间震荡 8-10 次,8000g 25℃ 离心 10min,取上清,置冰上待测。
- 2、细胞/细菌: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):试剂一体积(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 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 40min,期间震荡 8-10 次,8000g 25℃ 离心 10min,取上清,置冰上待测。
- 3、血浆/血清:按照血清(浆)体积(mL):试剂一体积(mL)为 1: 5~10 的比例(建议取 0.2mL 血清(浆)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℃ 水浴中 40min 并且振荡 8-10 次,8000g,25℃ 离心 10min,取上清供测定用。

四、操作步骤

正式测定前,必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 540nm,蒸馏水调零。
- 2、调节水浴锅至 95℃。
- 3、在 EP 管中按照下表操作:

试剂名称 (μL)	对照管	测定管
样本	700	700
试剂二		500
蒸馏水	500	
将各管摇匀, 在 95℃ 水浴中加热 5min (盖紧, 防止水分散失), 取出后立即冷却至室温, 混匀。在 540nm 波长下读取对照管和测定管吸光值。计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设一个对照管。		

五、含量的计算

标准条件下测定回归方程为 $y = 8.3796x - 0.3034$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值。

1、按照组织蛋白浓度计算

还原糖($\mu\text{g}/\text{mg prot}$)= $[1000 \times (\Delta A + 0.3034) \div 8.3796 \times V1] \div (V1 \times Cpr) = 119.34 \times (\Delta A + 0.3034) \div Cpr$ 。

2、按照样本鲜重计算

还原糖($\mu\text{g}/\text{g 鲜重}$)= $[1000 \times (\Delta A + 0.3034) \div 8.3796 \times V1] \div (W \times V1 \div V2)$
= $238.67 \times (\Delta A + 0.3034) \div W$ 。

3、按照细菌/细胞密度计算

还原糖($\mu\text{g} / 10^4 \text{ cell}$)= $[1000 \times (\Delta A + 0.3034) \div 8.3796 \times V1] \div (1000 \times V1 \div V2)$
= $0.239 \times (\Delta A + 0.3034)$ 。

4、按照血清/血浆体积计算

还原糖($\mu\text{g}/\text{mL}$)= $[1000 \times (\Delta A + 0.3034) \div 8.3796 \times V1] \div (V3 \times V1 \div V2) = 1193.4 \times (\Delta A + 0.3034)$ 。

1000: 1mg/mL=1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$; V1: 加入样本体积, 0.7mL; V2: 加入提取液体积, 2 mL;

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: 细菌或细胞总数, 1000 万。

六、注意事项

1、如果 ΔA 大于 2, 需要将样本用试剂一稀释, 计算公式中乘以相应稀释倍数 (若显色后出现分层现象, 可改用蒸馏水稀释)。

2、最低检测限为 1mg/g 鲜重或 10 $\mu\text{g}/\text{mg prot}$ 。