

还原糖检测试剂盒（斐林微板法）

产品货号：BA1613

产品规格：50T/200T

产品简介：

斐林试剂(Fehling's Reagent)又称菲林试剂或裴林试剂，是德国化学家Hermann von Fehling 1849年所发明。斐林试剂与班氏试剂(Benedict's Reagent)相似，均是用来检测还原糖的存在。其原理是与可溶性的还原性糖(葡萄糖、果糖和麦芽糖)在加热的条件下，能够生成砖红色的氧化亚铜沉淀。

还原糖检测试剂盒(斐林微板法)，主要由酒石酸钠钾、硫酸铜等组成。其测定原理是还原糖具有醛基和酮基，在碱性溶液中煮沸，能把斐林试剂中的Cu还原成Cu₂O，使蓝色的斐林试剂脱色，脱色程度与溶液中还原糖含量成正比，在590nm下可用比色法测定吸光度，查标准曲线即可计算出样品中还原糖的含量。本产品主要用于含淀粉食品、酒精饮料、碳酸饮料、肉制品、蜜饯等食品和植物等样品中还原糖的定量检测；总糖的含量也可以测定，但需要提前水解后才能检测，也可用于还原糖的定性试验。本产品仅用于科研。

产品组成：

产品名称	50T	200T	保存条件
试剂(A): Glu标准(1 mg/ ml)	5ml	10ml	2-8℃
试剂(B): Fehling's Reagent A	10ml	40ml	室温
试剂(C): Fehling's Reagent B	10ml	40ml	室温，避光
试剂(D): 甲基红指示剂	5ml	20ml	室温
试剂(E): pH中和液(10×)	25ml	100ml	室温

自备材料：

1. 试管或离心管
2. 锥形瓶、容量瓶、玻璃珠
3. 水浴锅或酒精灯
4. 果糖、转化糖等还原糖标准(1mg/ml)
5. 盐酸水溶液、氢氧化钠溶液
6. 10%乙酸铅溶液、饱和硫酸钠溶液
7. 蒸馏水、碘液
8. 酶标仪、96孔板

操作步骤：

1. 配置斐林试剂：Fehling's Reagent A液和B液等比例混合即成，不可久置。
2. 配置pH中和液(1×)：pH中和液(10×)和水按1:9比例混合即成。
3. 样品中还原糖的提取：
 - a 固体样品(如含淀粉食品、植物样品等)：称取粉碎或混匀后的试样10~20g（精确到0.01g），置250ml容量瓶中，当体积接近150ml时，滴加1~3滴甲基红指示剂，如呈红色，可用pH中和液调至微黄色。若用风干样品，可称取3g，直接加入容量瓶，加入少量水湿润后，再加水至150ml左右加入指示剂和中和液。将容量瓶置于80℃的恒温水浴中保温30min，期间摇动数次，以便将还原糖充分提取出来。对于含蛋白质较多的样品，



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

此时可加入乙酸铅溶液除去蛋白质，至不再产生白色絮状沉淀时，加入饱和的硫酸钠溶液除去多余的铅离子。30min后取出冷却并定容至刻度，摇匀后取滤液备用。

b 酒精饮料：称取混匀后的试样100g（精确到0.1g），置于蒸发皿上，滴加1~3滴甲基红指示剂，用pH中和液调至微黄色，在水浴上蒸发至原体积的1/4后，移入250ml容量瓶中，置于80℃的恒温水浴中保温30min，期间摇动数次。含蛋白质较多的样品参考上述方法。滤液备用。

c 碳酸饮料：称取混匀后的试样100g（精确到0.1g），置于蒸发皿上，在水浴上微微搅拌除去二氧化碳后，移入250容量瓶中，用水洗涤蒸发皿，并入容量瓶，加水至刻度，混匀后备用。

d 总糖的水解和提取：称取植物样品0.5~3g，剪碎，加入蒸馏水约3ml匀浆，转移至三角烧瓶中，用12ml蒸馏水冲洗研磨器2~3次，冲洗液也转移至烧瓶中。向三角烧瓶中加入10ml 6M盐酸溶液，摇匀，煮沸30min，并不时搅拌。取2滴加于小离心管中，再滴加1滴碘液，检查水解是否完全，如已经水解完全，则不显示蓝色。水解完毕后，冷却至室温，滴加6M氢氧化钠溶液，使溶液pH接近中性。含蛋白质较多的样品参考上述方法。滤液或上清液用蒸馏水定容至100ml，混匀。取10ml，用蒸馏水定容至100ml，摇匀备用。

4. 制作还原糖标准曲线：按下表设置空白管(0号)、梯度标准管(1~6号)，按顺序依次加入。

加入物质(ul)	0	1	2	3	4	5	6
Glu标准(1mg/ml)	0	100	200	300	400	500	600
蒸馏水	600	500	400	300	200	100	0
葡萄糖含量(mg)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
斐林试剂	400						

将各管混匀后，沸水浴加热15min。冷水或自来水冷却，2500r/min离心5~10min。

取上清280ul，按顺序依次加入到96孔板中，酶标仪测定590nm的吸光度。以各标准管吸光度减去空白管吸光度的差值为纵坐标、对应葡萄糖含量为横坐标，绘制标准曲线。

5. 样品还原糖的测定：

吸取准备好的还原糖提取液3ml，加入2ml斐林试剂，混匀。沸水浴加热、冷却、离心、取上清、测定等操作方法同标准曲线。用样品管的吸光度减去空白管吸光度的差值带入回归方程即可计算出样品中还原糖的含量。

结果计算：

$$\text{样品还原糖含量(\%)} = \frac{m \times V_T \times N}{(m_0 \times V_S \times 1000)} \times 100$$

式中：m=样品中还原糖的含量(mg)

V_T =提取液总体积(ml)

N=稀释倍数

m_0 =样品质量(g)

V_S =测定时取用的提取液体积(ml)

1000=单位换算系数。

附：还原糖的定性试验

1. 配制斐林试剂工作液：临用前，取适量试剂(A)、试剂(B)等量混合即成，即配即用。
2. 向洁净试管中加入1~2ml待测样品。
3. 向该试管中加入1ml斐林试剂工作液，充分摇匀。
4. 将上述混合液置于沸水浴中，并持续1~3min。
5. 观察试管内混合液颜色是否发生变化，其颜色变化顺序应为浅蓝色-棕色-砖红色(沉淀)。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

鉴定结果:

还原性糖(如核糖、葡萄糖、果糖等)	砖红色沉淀
非还原性糖(蔗糖、淀粉等)	无颜色变化

注意事项:

1. 样品提取液中还原糖浓度过高时，应适当稀释后再行测定。
2. 样品提取液中还原糖浓度过低时，可提高样品的浓度或增加提取液的用量。
3. 可合理减少或增加提取液和斐林试剂的用量。
4. 斐林试剂的A、B液须分开储存，临用前按要求混合使用。
5. 斐林试剂B液呈强碱性，需小心操作。
6. 6M盐酸配制：用市售盐酸和蒸馏水或去离子水等比例混合即成6M盐酸，该过程会放热，应小心操作，避免伤人。

有效期: 12个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>