

还原糖检测试剂盒（斐林比色法）

产品货号：BA1612

产品规格：50T/100T

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(斐林比色法)，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	100T	保存条件
试剂(A): Glu标准(1mg/ml)	30ml	50ml	2-8℃
试剂(B): Fehling's Reagent A	50ml	100ml	室温
试剂(C): Fehling's Reagent B	50ml	100ml	室温，避光
试剂(D): 甲基红指示剂	10ml	20ml	室温
试剂(E): pH中和液(10×)	50ml	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. 分光光度计、比色皿

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(ml)	0	1	2	3	4	5	6
Glu标准(1mg/ml)	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3
蒸馏水	3	2.5	2	1.5	1	0.5	0
葡萄糖含量(mg)	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3
斐林试剂	2						

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，1cm比色皿，空白管调零，用分光光度计测590nm的吸光度值。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15min。冷却、离心、取上清、测定等操作同标准曲线。空白管调零后，用样品管的吸光度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：

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

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>