还原糖含量检测试剂盒说明书

规格：48 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	60 mL×1	4℃	
试剂二	7 mL×1	4℃避光	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 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 0.1 g 组织，加入 1 mL 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℃中水浴 40 min 并且期间振荡 8~10 次，8000 g，常温离心 10 min，上清供测定用。

2. 细菌/细胞：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 500 万细菌/细胞加入 1 mL 试剂一），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），转移到有盖离心管中（防止加热时水分散失），80℃中水浴 40 min 并且期间振荡 8~10 次，8000 g，常温离心 10 min，上清供测定用。

3. 液体样本：按照样本体积（mL）：试剂一体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议取 0.1mL 样本加入 1 mL 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 中℃水浴 40 min 并且期间振荡 8~10 次，8000 g，常温离心 10 min，上清供测定用。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 540 nm 处。

2. 调节水浴锅至 95℃。

2.在 1.5 mL 离心管中依次加入：

	测定管	对照管
样本（μL）	175	175
试剂二（μL）	125	-
蒸馏水（μL）	-	125
混匀，在 95℃水浴中加热 5 min（盖紧，防止水分散失），取出后立即冷却至室温，混匀。吸取 200 μL 至 96 孔板中，540 nm 波长下测定吸光度值，记 A 测定、A 对照。计算ΔA=A 测定-A 对照。每个测定管需设一个对照管。		

六、计算

标准方程

标准条件下测得回归方程为为 y = 4.1898x - 0.3034， R2 = 0.9997；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按照样本质量计算：

还原糖（μg/g 鲜重）＝[1000×（ΔA+ 0.3034）÷4.1898×V1]÷（W×V1÷V2）

=238.67×（ΔA+0.3034）÷W

2. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

还原糖（μg/mg prot）=[1000×（ΔA +0.3034）÷4.1898×V1]÷（V1×Cpr）

=238.67×（ΔA+0.3034）÷Cpr

3. 按细菌/细胞数量计算：

还原糖（μg/10^4cell）=[1000×（ΔA+ 0.3034）÷4.1898×V1]÷（N×V1÷V2）

=238.67×（ΔA+0.3034）÷N

4. 按样本体积计算

还原糖（μg/mL）=[1000×（ΔA0.3034）÷4.1898×V1]÷[V3×V1÷（V2+V3）]

=2625.4×（ΔA＋0.3034）

1000：1 mg/mL=1000 μg/mL；V1：加入样本体积，0.175 mL；V2：加入提取液体积，1 mL；V3：加入血清（浆体积），0.1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；

W：样本质量，g；N：细菌或细胞总数，万个。

七、产品简介

还原糖是生物重要可溶性碳水，其含量可评判样品营养、风味，也是发酵、抗逆研究常用检测指标。