上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

还原糖检测试剂盒(斐林滴定法)

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。

源叶生物 还原糖检测试剂盒(斐林滴定法)是根据国家标准(GB/T 5009.7-2016 食品中还原糖的测定)推荐的方法(直接滴定法)而成的，主要由酒石酸钠钾、硫酸铜、亚甲蓝、亚铁氰化钾、葡萄糖标准等组成，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，该方法的检测原理是试样经去蛋白处理后，以亚甲蓝为指示剂，在加热条件下滴定标定过的斐林试剂(A液与B液等量混合生成的可溶性蓝色的酒石酸钾钠铜络合物，也称作碱性酒石酸铜溶液），样品中的还原糖将酒石酸钾钠铜中的二价铜还原成红色的氧化亚铜沉淀，氧化亚铜沉淀又与亚铁氰化钾反应生成可溶性的无色络合物，当二价铜全部被还原，稍过量的还原糖把亚甲蓝还原，溶液就由蓝色变为无色，即为滴定终点，根据样品液的消耗体积计算还原糖含量，本产品未经标定，需用户自行标定。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

组成：

编号 / 名称	R30281 40T	R30281 80T	Storage
试剂(A): 葡萄糖标准(1mg/ml)	50ml	100ml	4℃
试剂(B): Fehling's Reagent A	250ml	500ml	RT
试剂(C): Fehling's Reagent B	250ml	500ml	RT 避光
试剂(D): 乙酸锌溶液	200ml	400ml	RT
试剂(E): 亚铁氰化钾溶液	200ml	400ml	4℃ 避光
试剂(F): 碱性溶液	50ml	100ml	RT
使用说明书	1 份		

自备材料：

1、试管、锥形瓶、容量瓶、玻璃珠

2、水浴锅、酒精灯等加热装置

3、果糖、转化糖等还原糖标准(1mg/ml)

4、分析天平、酸式滴定管

操作步骤(仅供参考)：

1、Fehling's Reagent 的标定：25ml 的酸式滴定管中加入还原糖标准溶液(1mg/ml)约 15ml，向 150ml 锥形瓶中依次加入 Fehling's Reagent A 液和 B 液各 5ml，再向其中加入 10ml 水和 2~4 粒玻璃珠，加热锥形瓶，控制时间在 2min 内沸腾，保持沸腾以每 2 秒 1 滴的速度滴加还原糖标准溶液，直到溶液蓝色刚好褪去为终点，记录消耗标准溶液的总体积，平行操作 3 次，取平均值，计算每 10ml Fehling's Reagent(A、B 液各 5ml)相当于还原糖的质量(mg)。

2、试样准备：

1)含淀粉食品：称取粉碎或混匀后的试样 10~20g（精确到 0.001g），置于 250ml 容量瓶中加水 200ml，45℃水浴中加热 1h，并时时振摇，冷却后加水至

刻度，混匀，静置，沉淀，吸取 200.00ml 上清液置于另一 250ml 容量瓶中，缓慢加入乙酸锌溶液和亚铁氰化钾溶液各 5ml，加水至刻度，混匀静置 30min，用干燥滤纸过滤，弃去初滤液，后续滤液备用。

2)酒精饮料：称取混匀后的试样 100g(精确到 0.01g），置于蒸发皿上，用氢氧化钠溶液中和至中性，在水浴上蒸发至原体积的 1/4 后移入 250ml 容量瓶中，缓慢加入乙酸锌溶液和亚铁氰化钾溶液各 5ml，加水至刻度，混匀静置 30min，用干燥滤纸过滤，弃去初滤液，后续滤液备用。

3)碳酸饮料：称取混匀后的试样 100g(精确到 0.01g），置于蒸发皿上，在水浴上微微搅拌除去二氧化碳后移入 250ml 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。

4)其他食品： 称取粉碎后的固体试样 2.5~5g（精确到 0.001g）或混匀后的液体试样 5~25g（精确到 0.001g），置于 250ml 容量瓶中，加水 50ml，缓慢加入乙酸锌溶液和亚铁氰化钾溶液各 5ml，加水至刻度，混匀静置 30min，用干燥滤纸过滤，弃去初滤液，后续滤液备用。

3、试样溶液预测：25ml 的酸式滴定管中加入试样溶液约 15ml，向 150ml 锥形瓶中依次加入 Fehling's Reagent A 液和 B 液各 5ml，再向其中加入 10ml 水和 2~4 粒玻璃珠，加热锥形瓶，控制时间在 2min 内沸腾，保持沸腾以先快后慢的速度滴加试样溶液，待溶液颜色变浅时，以每 2 秒 1 滴的速度滴加，直到溶液蓝色刚好褪去为终点，记录消耗试样溶液的总体积。(注：试样溶液中还原糖浓度过高时，应适当稀释后再行测定。尽量使每次滴定消耗样液的体积和标定斐林试剂所消耗的还原糖标准溶液的体积相近，约 10ml。当浓度过低时，可直接加入 10ml 试样溶液，不再加 10ml 水，再用还原糖标准溶液滴定至终点，记录消耗的体积与标定时消耗的还原糖体积之差相当于 10ml 样液中所含还原糖的质量。)

4、试样溶液测定：25ml 的酸式滴定管中加入试样溶液约 20ml，向 150ml 锥形瓶中依次加入 Fehling's Reagent A 液和 B 液各 5ml，再向其中加入 10ml 水和 2~4 粒玻璃珠，加热锥形瓶，控制时间在 2min 内沸腾，保持沸腾以每 2 秒 1 滴的速度滴加试样溶液，直到溶液蓝色刚好褪去为终点，记录消耗试样溶液的

总体积，平行操作 3 次，取平均值。

结果计算：

试样中还原糖的含量（以某种还原糖计）按下边公式计算：

$$X=m_1\times100/(m\times F\times V/250\times1000)$$

当浓度过低时，试样中还原糖的含量（以某种还原糖计）按下边公式计算：

$$X=m_2\times100/(m\times F\times10/250\times1000)$$

备注：X=试样中还原糖的含量（以某种还原糖计）（g/100g）；

m_1=斐林试剂（A、B 液各半）相当于某种还原糖的质量(mg)；

m_2=标定时体积与加入样品后消耗的还原糖标准溶液体积之差相当于某种还原糖的质量(mg)；

m=试样质量(g)；

F=样品系数，含淀粉食品为 0.8，其他为 1；

V=测定时平均消耗试样溶液体积（ml）；

10=样液体积（ml）；

250=定容体积（ml）；

1000=单位换算系数。

还原糖含量≥10g/100g 时，计算结果保留三位有效数字；还原糖含量＜10g/100g 时，计算结果保留两位有效数字。

附录 1：还原糖的定性试验

1、配制斐林试剂工作液：临用前，取适量 Fehling's Reagent A 和 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，颜色变化顺序应为浅蓝色-棕色-

砖红色(沉淀)。

附录 2：总糖的水解和提取

1、称取植物样品 0.5~3g，剪碎，加入蒸馏水约 3ml 匀浆，转移至烧杯或三角瓶中，用 12ml 蒸馏水冲洗研磨器 2~3 次，洗出液也转移至该容器。

2、向容器中加入 10ml 6M 盐酸溶液，搅拌均匀，煮沸 30min，并不时搅拌。

3、取 2 滴滴加于载玻片上，滴加 1 滴显色液(约 50ul)，检查水解是否完全，如已经水解完全，则不显示蓝色。

4、水解完毕后，冷却至室温，加入 6M 氢氧化钠溶液，使溶液 pH 值至 7.4，用蒸馏水定容至 100ml，混匀，4000g 离心 5min 或过滤。

5、取上清或滤液 10ml，用蒸馏水定容至 100ml，成稀释 10 倍的总糖水解液(提取液)，取 0.5ml 总糖水解液，测定其还原糖的含量。

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、测样品总糖含量时应先水解成还原糖后参考还原糖的测定方法即可。

2、试样溶液中还原糖浓度过高时，应适当稀释后再行测定，尽量使每次滴定消耗样液的体积和标定斐林试剂所消耗的还原糖标准溶液的体积相近。

3、试样溶液中还原糖浓度过低时直接加入 10ml 试样溶液，不再加 10ml 水，再用还原糖标准溶液滴定至终点，记录消耗的体积与标定时消耗的还原糖体积之差相当于 10ml 样液中所含还原糖的质量。

4、也可按上述方法标定 4~20ml 斐林试剂(A、B 液各半)来适应试样中还原糖浓度的变化。

5、斐林试剂的 A、B 液须分开储存，临用前按比例混合使用。

6、斐林试剂 B 液呈强碱性，需小心操作，B 液含有亚铁氰化钾，可消除氧化亚铜沉淀对滴定终点的干扰。

7、该试剂盒适用于各类食品中还原糖的测定，但在分析酱油等深色样品时会受色素干扰，滴定终点模糊不清，影响准确性，应脱色后再进行测定，不同样品脱色方法和脱色剂用量不同，需自行查找文献资料，5%活性炭可用于红葡萄酒的脱色。

有效期：12 个月有效。