

还原糖含量试剂盒说明书

(货号: G0502F 分光法 48 样)

一、产品简介:

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。

在碱性条件下, DNS 试剂与还原糖共热生成棕红色氨基化合物,经过 480nm 到 540nm 波长扫描发现在 500nm 有特征吸收峰;在一定的浓度范围内,还原糖含量与 500nm 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、测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该试剂

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、水浴锅、可调式移液器、研钵、乙醇。

四、还原糖含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

称取 0.1g 样本(若是干样,如烘干烟叶等可取 0.05g;若是水分充足的样本可取 0.2g),先加入 0.8mL 的 80%乙醇(自备:取 80mL 乙醇溶于 20mL 蒸馏水中),冰浴匀浆,倒入有盖离心管中,再用 80%乙醇冲洗研钵并转移至同一 EP 管中,使 EP 管中粗提液终体积定容为 1.5mL(若用自动研磨机可直接加入 1.5mL 的 80%乙醇研磨);置 50°C水浴 20min(封口膜缠紧,防止液体散失,且间隔 2min 振荡混匀一次),冷却后(若有损失,可加 80%乙醇补齐至 1.5mL),12000rpm,室温离心 10min,取上清液备用。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取

② 液体样本:

澄清的液体样本直接检测,若浑浊则需 12000rpm,室温离心 10min,取上清液备用。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 500nm,蒸馏水调零。

② 调节水浴锅至 95°C。

③ 上清液稀释:可先取 2 个样本检测,确定适合本批样本的稀释浓度 D:叶片类样本可稀释 10 倍,含糖量高的果肉类样本可稀释 20 倍左右。

④ 在 EP 管中加入下列试剂:

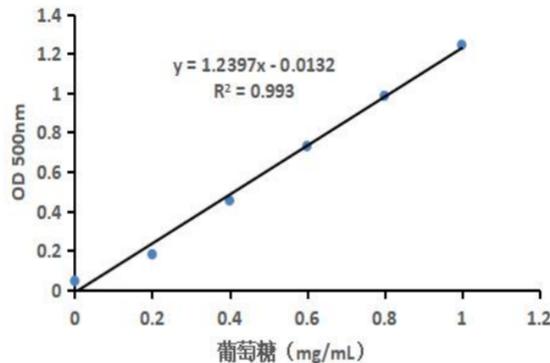
试剂(μL)	测定管	空白管(仅做一次)
样本	100	
蒸馏水		100
试剂一	100	100
混匀,在 95°C水浴中加热 10min(盖紧封口,防止水分散失),取出后立即过冷水冷却至室温。		
蒸馏水	1000	1000
混匀,全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)中,500nm 读取吸光值 A, $\Delta A = A_{测定} - A_{空白}$ 。		

【注】: 1.若 ΔA 值大于 1.5, 样本可用蒸馏水再稀释, 稀释倍数 D 代入公式计算。

2.若 ΔA 值小于 0.01, 则可加大样本加样体积 V_1 (如由 $100\mu\text{L}$ 增至 $200\mu\text{L}$, 则最后一步的蒸馏水相应减少, 样本相当于浓缩 2 倍, 则计算公式需除以 2; 或增加样本取样质量 W , 则改变后的 W 需带入公式计算。

五、结果计算:

1、标准曲线方程为 $y = 1.2397x - 0.0132$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值 ΔA 。



2、按样本重量计算:

$$\begin{aligned} \text{还原糖}(\text{mg/g 重量}) &= [(\Delta A + 0.0132) \div 1.2397 \times V_1] \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 1.21 \times (\Delta A + 0.0132) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按质量分数 (%) 计算:

$$\begin{aligned} \text{还原糖}(\% \text{重量}) &= [(\Delta A + 0.0132) \div 1.2397 \times V_1] \div (W \times V_1 \div V) \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= [0.121 \times (\Delta A + 0.0132) \div W \times D] \% \end{aligned}$$

4、按液体体积计算:

$$\text{还原糖}(\text{mg/mL}) = (\Delta A + 0.0132) \div 1.2397 \times D = 0.807 \times (\Delta A + 0.0132) \times D$$

V ---样品提取液总体积, 1.5mL;

V_1 ---测定时所取样本的体积, 0.1mL;

W ---样本质量, g;

D ---自行稀释倍数, 未稀释即为 1。

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (1mg/mL): 从标准品管中称量取出 2mg 至一新 EP 管中, 再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即 1mg/mL 的葡萄糖 (母液需在两天内用且 -20°C 保存)。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作, 根据结果即可制作标准曲线。