

Reducing Sugar Content Kit

还原糖含量试剂盒说明书

货号: G0502F | 方法: 可见分光法 | 规格: 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 0.01g; 若是水分充足的样本可取 0.2g), 先加入 1mL 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 管中粗提液约为 1.5mL (若用自动研磨机可先加入 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, 再加 80%乙醇最终定容至 2mL, 混匀, 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

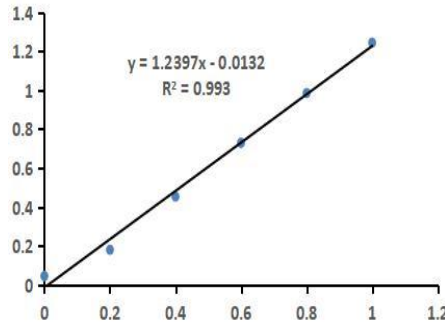
混匀, 在 95°C水浴中加热 10min (盖紧封口, 防止水分散失), 取出后立即过冷水冷却至室温。

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， $\Delta A = A - A_{\text{空白}}$ 测定-A 空白。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

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 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本重量计算：

$$\begin{aligned} \text{还原糖(mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0132) \div 1.2397 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 1.61 \times (\Delta A + 0.0132) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按质量分数（%）计算：

$$\begin{aligned} \text{还原糖(%重量)} &= [(\Delta A + 0.0132) \div 1.2397 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= [0.161 \times (\Delta A + 0.0132) \div W \times D]\% \end{aligned}$$

4、按液体体积计算：

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

V---样品提取液总体积，2mL；

V1---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。