

## Reducing Sugar Content Kit

### 还原糖含量试剂盒说明书

货号: G0502W | 方法: 微板法 | 规格: 96 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 12mL×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:

酶标仪、96 孔板、水浴锅、可调式移液器、研钵、乙醇、蒸馏水。

#### 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 管中粗提液终体积约为 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 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 500nm。

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

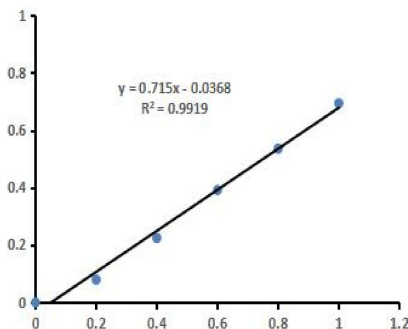
混匀,在 95°C水浴中加热 10min(盖紧封口,防止水分散失),取出后立即过冷水冷却至室温。

蒸馏水	1000	1000
混匀，取 200 $\mu$ L 于 96 孔板中，500nm 读取吸光值 A， $\Delta A = A - \text{测定} - A \text{ 空白}$ 。		

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  $y = 0.715x - 0.0368$ ；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值  $\Delta A$ 。



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：

$$\text{还原糖(mg/g 重量)} = [(\Delta A + 0.0368) \div 0.715 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D = 2.8 \times (\Delta A + 0.0368) \div W \times D$$

3、按质量分数（%）计算：

$$\text{还原糖(\%重量)} = [(\Delta A + 0.0368) \div 0.715 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times 10^{-3} \times 100\%$$

$$= [0.28 \times (\Delta A + 0.0368) \div W \times D] \%$$

4、按液体体积计算：

$$\text{还原糖(mg/mL)} = (\Delta A + 0.0368) \div 0.715 \times D = 1.4 \times (\Delta A + 0.0368) \times D$$

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。