植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 微板法)

产品简介:

植物体内的碳素营养状况以及农产品的品质形状，常以糖含量作为重要指标，单糖和某些寡糖(如麦芽糖)含有游离的醛基或酮基，具有还原性，属于还原糖；多糖和蔗糖等属于非还原糖，可以利用非还原糖能被酸水解为单糖的特性通过测定水解后的单糖含量对总糖进行测定。

植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 微板法)检测原理是还原糖在碱性加热条件下被氧化成糖酸，3,5-二硝基水杨酸被还原为棕红色的氨基化合物，在一定范围内还原糖的量与棕红色产物的颜色深浅程度呈一定比例关系，在 540nm 处用酶标仪测定棕红色物质的吸光度，该吸光度值与还原糖含量呈线性关系，利用标准曲线计算样品中的还原糖和总糖的含量。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCTC0698 100T	GCTC0698 300T	Storage
试剂(A): Glu 标准(1mg/ml)	1ml	1ml	4℃
试剂(B): DNS 检测液	10ml	30ml	RT 避光
试剂(C): 显色液(总糖使用)	5ml	10ml	RT 避光
使用说明书	1 份		

自备材料:

1、 蒸馏水、盐酸溶液、氢氧化钠溶液

2、 50ml 离心管、1ml 离心管、离心机、水浴锅或恒温箱、酶标仪、96 孔板

操作步骤(仅供参考):

1、 还原糖的提取:

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。

②50℃水浴 30min，并不时搅拌，以便还原糖彻底浸出。

③将沉淀和浸出液转移至 50ml 离心管，4000g 离心 5min。

④留取上清液，向沉淀中加入 20ml 蒸馏水，混匀，再次 4000g 离心 5min。

⑤留取上清液，将 2 次获得的上清液合并，用蒸馏水定容至 100ml(提取液)，混匀，作为还原糖待测液。

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 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 50ul 总糖水解液，测定其还原糖的含量。

3、 稀释葡萄糖标准：取干净离心管或试管，按下表操作，依次获得系列浓度的 Glu 标准。

加入物(ml)	1	2	3	4	5
Glu 标准(1mg/ml)	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
蒸馏水	0.04	0.03	0.02	0.01	0
标准葡萄糖浓度(mg/ml)	**0.2**	**0.4**	**0.6**	**0.8**	**1.0**

4、 加样：取 1ml 离心管，按照下表设置空白孔、标准孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡，小心混匀；如果样品中的糖浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2~3 平行孔，求平均值。

加入物(ul)	空白孔	标准孔	测定孔
蒸馏水	50	—	—
系列 Glu 标准(1~5 号)	—	50	—
提取液	—	—	50
DNS 检测液	100	100	100
沸水浴中准确煮沸 5min，取出，自来水冷却至室温。补加蒸馏水 250ul。			

5、 还原糖测定：混匀，依次抽取 300ul 转移至相应 96 孔板中，以空白孔调零，测定 540nm 处标准孔、测定孔的吸光度。

计算：以系列 Glu 标准(1~5 号)，即标准葡萄糖浓度(mg/ml)为横坐标，以相应的吸光度为纵坐标，作图得标准曲线，根据提取液的吸光度在标准曲线上查出相应的葡萄糖浓度。

还原糖的百分含量：

100g 样品中还原糖含量(g)=$(c\times V_T)/(m\times 1000)\times 100=(c\times V_T)/(m\times 10)$

总糖的百分含量：

100g 样品中总糖含量(g)=$(c\times N\times V_T)/(m\times 1000)\times 100\times 0.9$

$=(c\times N\times V_T)/(m\times 10)\times 0.9$

式中：c=从标准曲线查的糖量(mg/ml)

V_T=提取液的总体积(ml)=100

m=植物样品的质量(g)

N=总糖水解液的稀释倍数=10

注意事项：

1、 上述低温试剂避免反复冻融，以免失效或效率下降。
2、 待测样品如不能及时测定，应置于 2~8℃保存，3 天内稳定。
3、 如果样品还原糖浓度过高，应用蒸馏水稀释后重测，结果乘以稀释倍数。
4、 总糖计算公式在测定干扰杂质很少、还原糖含量相对总糖含量很少时使用，×0.9 是为了从测定出的总糖水解成单糖中，扣除水解时所消耗的水量。
5、 6M 盐酸配制：一般市售的浓盐酸为 11.6~12M，用蒸馏水或去离子水与浓盐酸 1：1 混合即配制成 6M，盐酸溶于水会放热，应小心操作，避免伤人。
6、 6M 氢氧化钠配制：氢氧化钠 24g 溶解于蒸馏水或去离子水，补至 100ml，氢氧化钠溶于水会放热，应小心操作，避免伤人。
7、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：12 个月有效。室温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDM0007	瑞氏-姬姆萨复合染色液
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCDZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)

附录 1：标准曲线制作：按说明书操作，通过分光光度计对系列标准进行吸光度的测定，其数值及标准曲线如下(仅供参考)：

标准葡萄糖浓度(mg/ml)	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
吸光度	0.256	0.635	1.043	1.409	1.746

